



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2016년08월09일
(11) 등록번호 10-1646960
(24) 등록일자 2016년08월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07H 15/24 (2006.01) A61K 31/702 (2006.01)
C07H 3/06 (2006.01) C07J 9/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2010-7010506
(22) 출원일자(국제) 2008년10월16일
심사청구일자 2013년04월05일
(85) 번역문제출일자 2010년05월13일
(65) 공개번호 10-2010-0097111
(43) 공개일자 2010년09월02일
(86) 국제출원번호 PCT/AU2008/001535
(87) 국제공개번호 WO 2009/049370
국제공개일자 2009년04월23일
(30) 우선권주장
2007905680 2007년10월16일 오스트레일리아(AU)
(56) 선행기술조사문헌
WO2005085264 A1*
CN100347919 A
EP0771815 A
US20060147415 A1
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
프로젠 피지500 시리즈 피티와이 리미티드
오스트레일리아 3000 빅토리아 멜버른 콜린스 스트리트 101 레벨 18
(72) 발명자
페로 비토
오스트레일리아 퀸즈랜드 4074 앰티 움마니 라니 클로즈 8
캐롤리 토미슬라브
영국 셰어번 도르셋 디티9 3에이치이 호오스캐슬즈 테라스 뷰 4
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
제일특허법인

전체 청구항 수 : 총 13 항

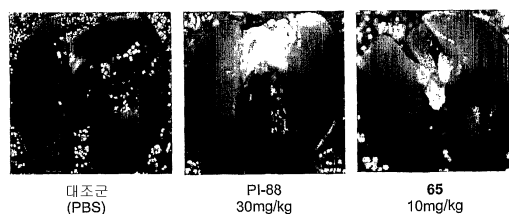
심사관 : 김정아

(54) 발명의 명칭 신규한 황산화된 올리고사카라이드 유도체

(57) 요약

본 발명은 헤파란 설페이트-결합 단백질의 억제제로서의 용도를 갖는 신규한 화합물; 상기 화합물을 포함하는 조성물, 및 및 포유동물 개체의 혈관신생 방지, 전이 방지, 소염, 항균, 항응집 및/또는 항혈전 치료를 위한 상기 화합물 및 이들의 조성물의 용도에 관한 것이다.

대표도 - 도5



마우스에서 B16F1 흑색종의 폐 콜로니(어두운 점)의 형성을 차단하는 시험 화합물의 예

(72) 발명자

리우 리공

오스트레일리아 퀸즈랜드 4113 에이트 마일 플레인
스 매너 스트리트 33

핸드레이 폴 뉴튼

오스트레일리아 퀸즈랜드 4078 포레스트 레이크 가
먼먼트 로드 6/210

존스톤 케네쓰 데이비드

오스트레일리아 퀸즈랜드 4031 고돈 파크 고돈 스
트리트 2/91

웜머 노베르트

오스트레일리아 퀸즈랜드 4105 무루카 와튼 스트리
트 28

해몬드 에드워드 티모시

오스트레일리아 퀸즈랜드 4068 타링가 스탠리 테라
스 154

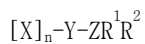
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 I의 화합물:

[화학식 I]



상기 식에서,

X 및 Y는 각각 모노사카라이드 단위이고, 이때, 글리코사이드 연결기에 포함되지 않은 각각의 하이드록실 기는 SO_3M 또는 H에 의해 독립적으로 치환되고, M은 임의의 약학적으로 허용가능한 양이온이고;

X 및 Y는 임의의 D- 또는 L-헥소스 또는 펜토스이고;

Y는 환상 또는 열린 고리 형태이고;

Z는 O, N, S 또는 C이거나 결합이고, Y가 환원성 모노사카라이드인 경우 아노머성 탄소에 결합되고;

R^1 은 $-C_{1-6}$ 알킬, $-(CO)-C_{1-6}$ 알킬-O-, $-(CO)-NH-C_{1-6}$ 알킬-O-, $-(CS)-NH-C_{1-6}$ 알킬-O-, 트라이아졸릴 및 치환된 트라이아졸릴로 이루어진 군에서 선택되는 연결기이거나, 결합이고;

R^2 는 콜레스타닐, 콜레이트, 데옥시콜레이트 및 프로필스테아르아미드로 이루어진 군에서 선택되는 친유성 잔기이고;

n은 0 내지 6의 정수이고;

각각의 화합물의 황산화 수준은 총 하이드록실 기의 70 내지 100% 범위이다.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

R^2 가 콜레스타닐인 화합물.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

R^2 가 프로필스테아르아미드인 화합물.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

R^1 이 옥시메틸[1,2,3]-트라이아졸-1-일 연결기인 화합물.

청구항 5

제 1 항에 있어서,

R^1 이 결합인 화합물.

청구항 6

제 1 항에 있어서,

Z가 0인 화합물.

청구항 7

제 1 항에 있어서,

n이 3인 화합물.

청구항 8

제 1 항에 있어서,

3 β -콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-O-나트륨 설포나토- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-O-나트륨 설포나토- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-O-나트륨 설포나토- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-O-나트륨 설포나토- β -D-글루코피라노사이드(화합물 65);

4-(콜레스탄-3-일-옥시메틸)[1,2,3]트리아졸-1-일 2,3,4,6-테트라-O-나트륨 설포나토- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-O-나트륨 설포나토- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-1-데옥시-2,3,6-트라이-O-나트륨 설포나토- β -D-글루코피라노사이드(화합물 70);

4-(콜레스탄-3 β -일-옥시메틸)[1,2,3]트리아졸-1-일 2,3,4,6-테트라-O-나트륨 설포나토- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-O-나트륨 설포나토- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-1-데옥시-2,3,6-트라이-O-나트륨 설포나토- β -D-글루코피라노사이드(화합물 76);

3 β -콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-O-나트륨 설포나토- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-O-나트륨 설포나토- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-O-나트륨 설포나토- β -D-글루코피라노사이드(화합물 87);

3-스테아르아미도프로필 2,3,4,6-테트라-O-설포- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-O-설포- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-O-설포- β -D-글루코피라노사이드, 데카나트륨 염(화합물 123); 및

3-스테아르아미도프로필 2,3,4,6-테트라-O-설포- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-O-설포- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-O-설포- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-O-설포- β -D-글루코피라노사이드, 트라이데카나트륨 염(화합물 128)

으로 이루어진 군에서 선택되는 화합물.

청구항 9

제 1 항에 있어서,

3 β -콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-O-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-O-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-O-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 2)-3,4,6-트라이-O-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노사이드(화합물 20);

3-스테아르아미도프로필 2,3,4,6-테트라-O-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-O-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-O-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 2)-3,4,6-트라이-O-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노사이드(화합물 24);

3 β -콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-O-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-O-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-O-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 2)-3,4,6-트라이-O-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노사이드(화합물 27);

3 β -콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-O-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 2)-3,4,6-트라이-O-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노사이드(화합물 33);

3 β -콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-O-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-O-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 2)-3,4,6-트라이-O-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노사이드(화합물 39);

3-스테아르아미도프로필 2,3,4,6-테트라-O-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-O-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-O-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-O-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노사이드(화합물 39);

O-나트륨 셀포나토- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 2)-3,4,6-트라이-*O*-나트륨 셀포나토- α -D-만노피라노사이드(화합물 44);

3-{4-(콜레스탄-3 β -일-옥시메틸)-[1,2,3]트리아아졸-1-일}프로필 2,3,4,6-테트라-*O*-나트륨 셀포나토- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-*O*-나트륨 셀포나토- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 2)-3,4,6-트라이-*O*-나트륨 셀포나토- α -D-만노피라노사이드(화합물 48);

3'-콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-*O*-나트륨 셀포나토- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-*O*-나트륨 셀포나토- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-3,4,6-트라이-*O*-나트륨 셀포나토- α -D-만노피라노사이드(화합물 56);

3-{4-(콜레스탄-3 β -일-옥시메틸)-[1,2,3]트리아아졸-1-일}프로필 2,3,4,6-테트라-*O*-나트륨 셀포나토- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-*O*-나트륨 셀포나토- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-3,4,6-트라이-*O*-나트륨 셀포나토- α -D-만노피라노사이드(화합물 60);

3 β -콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-*O*-나트륨 셀포나토- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-나트륨 셀포나토- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-나트륨 셀포나토- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-나트륨 셀포나토- β -D-글루코피라노사이드(화합물 65);

4-(콜레스탄-3-일-옥시메틸)[1,2,3]트리아아졸-1-일 2,3,4,6-테트라-*O*-나트륨 셀포나토- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-나트륨 셀포나토- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-1-데옥시-2,3,6-트라이-*O*-나트륨 셀포나토- β -D-글루코피라노사이드(화합물 70);

4-(콜레스탄-3 β -일-옥시메틸)[1,2,3]트리아아졸-1-일 2,3,4,6-테트라-*O*-나트륨 셀포나토- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-나트륨 셀포나토- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-1-데옥시-2,3,6-트라이-*O*-나트륨 셀포나토- β -D-글루코피라노사이드(화합물 76);

3 β -콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-*O*-셀포나토- α -D-만노피라노사이드 테트라나트륨 염(화합물 79);

3 β -콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-*O*-나트륨 셀포나토- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-나트륨 셀포나토- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-나트륨 셀포나토- β -D-글루코피라노사이드(화합물 87);

4-(콜레스탄-3 β -일-옥시메틸)[1,2,3]트리아아졸-1-일 2,3,4,6-테트라-*O*-셀포- β -D-갈락토피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-셀포- β -D-글루코피라노사이드, 헵타나트륨 염(화합물 93);

4-(콜레스탄-3 β -일-옥시메틸)[1,2,3]트리아아졸-1-일 2,3,4,6-테트라-*O*-셀포- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-셀포- β -D-글루코피라노사이드, 헵타나트륨 염(화합물 97);

3'-콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-*O*-셀포- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-셀포- β -D-글루코피라노사이드, 헵타나트륨 염(화합물 102);

3'-콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-*O*-셀포- β -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-셀포- β -D-글루코피라노사이드, 헵타나트륨 염(화합물 107);

3'-콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-*O*-셀포- β -D-갈락토피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-셀포- β -D-글루코피라노사이드, 헵타나트륨 염(화합물 112);

3'-콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-*O*-셀포- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-셀포- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-셀포- β -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 6)-2,3,4-트라이-*O*-셀포- α -D-만노피라노사이드, 트라이데카나트륨 염(화합물 119);

3-스테아르아미도프로필 2,3,4,6-테트라-*O*-셀포- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-셀포- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-셀포- β -D-글루코피라노사이드, 데카나트륨 염(화합물 123);

3-스테아르아미도프로필 2,3,4,6-테트라-*O*-셀포- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-셀포- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-셀포- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-셀포- β -D-글루코피라노사이드, 트라이데카나트륨 염(화합물 128);

2-(콜레스탄-3-일옥시)아세트아미도 2,3,4,6-테트라-*O*-셀포- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-셀포- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-셀포- β -D-글루코피라노사이드, 데카나트륨 염(화합물 134); 및

1-[(콜레스탄-3-일옥시)프로필]-3-[2,3,4,6-테트라-*O*-셀포- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-셀포- α -

-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-설포-β-D-글루코피라노사이드] 티오우레아, 데카나트륨 염(화합물 139)

으로 이루어진 군에서 선택되는 화합물.

청구항 10

제 1 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에 따른 하나 이상의 화합물을 이룰 위한 약학적으로 또는 수의학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제와 함께 포함하는, 포유동물 개체에서 암, 고중성지방혈증 또는 심혈관 질환을 예방 또는 치료하거나, 또는 항염증제, 혈관신생 억제제, 항바이러스제, 전이 억제제, 항응집제, 항혈전제 또는 항미생물제로서 사용하기 위한 약학 또는 수의학 조성물.

청구항 11

제 1 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에 따른 효과량의 하나 이상의 화합물 또는 상기 하나 이상의 화합물을 포함하는 조성물을 인간을 제외한 포유동물 개체에게 투여함을 포함하는, 인간을 제외한 포유동물 개체에서 암, 고중성지방혈증 또는 심혈관 질환을 예방 또는 치료하거나, 또는 항염증제, 혈관신생 억제제, 항바이러스제, 전이 억제제, 항응집제, 항혈전제 또는 항미생물제로서 사용하는 방법.

청구항 12

제 11 항에 있어서,

화합물이 3β-콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-O-나트륨 설포나토-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-나트륨 설포나토-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-나트륨 설포나토-β-D-글루코피라노사이드(화합물 65); 4-(콜레스탄-3-일-옥시메틸)[1,2,3]트라이아졸-1-일 2,3,4,6-테트라-O-나트륨 설포나토-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-나트륨 설포나토-α-D-글루코피라노실-(1→4)-1-데옥시-2,3,6-트라이-O-나트륨 설포나토-β-D-글루코피라노사이드(화합물 70); 4-(콜레스탄-3β-일-옥시메틸)[1,2,3]트라이아졸-1-일 2,3,4,6-테트라-O-나트륨 설포나토-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-나트륨 설포나토-α-D-글루코피라노실-(1→4)-1-데옥시-2,3,6-트라이-O-나트륨 설포나토-β-D-글루코피라노사이드(화합물 76); 3β-콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-O-나트륨 설포나토-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-나트륨 설포나토-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-나트륨 설포나토-β-D-글루코피라노사이드(화합물 87); 3-스테아르아미도프로필 2,3,4,6-테트라-O-설포-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-설포-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-설포-β-D-글루코피라노사이드, 데카나트륨 염(화합물 123); 및 3-스테아르아미도프로필 2,3,4,6-테트라-O-설포-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-설포-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-설포-β-D-글루코피라노사이드, 트라이데카나트륨 염(화합물 128)으로 이루어진 군에서 선택되는, 방법.

청구항 13

제 10 항에 있어서,

화합물이 3β-콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-O-나트륨 설포나토-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-나트륨 설포나토-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-나트륨 설포나토-β-D-글루코피라노사이드(화합물 65); 4-(콜레스탄-3-일-옥시메틸)[1,2,3]트라이아졸-1-일 2,3,4,6-테트라-O-나트륨 설포나토-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-나트륨 설포나토-α-D-글루코피라노실-(1→4)-1-데옥시-2,3,6-트라이-O-나트륨 설포나토-β-D-글루코피라노사이드(화합물 76); 3β-콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-O-나트륨 설포나토-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-나트륨 설포나토-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-나트륨 설포나토-β-D-글루코피라노사이드(화합물 87); 3-스테아르아미도프로필 2,3,4,6-테트라-O-설포-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-설포-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-설포-β-D-글루코피라노사이드, 데카나트륨 염(화합물 123); 및 3-스테아르아미도프로필 2,3,4,6-테트라-O-설포-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-설포-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-설포-β-D-글루코피라노사이드, 트라이데카나트륨 염(화합물 128)으로 이루어진 군에서 선택되는, 약학 또는 수의학 조

성물.

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 본원에 기재된 발명은 효소 헤파라나제를 포함하는 헤파란 설페이트-결합 단백질의 저해제로서의 활성을 갖는 화합물에 관한 것이다. 구체적으로, 본 발명은 그 범위가 이것으로 반드시 제한되는 것은 아니지만 황산화(sulfated) 올리고사카라이드 유도체에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 특이적인 매우 친유성인 기로 개질된 다중 황산화(polysulfated) 올리고사카라이드 유도체에 관한 것이다. 본 발명은 또한 상기 화합물의 제조 방법, 이들 화합물을 포함하는 조성물, 및 포유동물 개체의 혈관신생 방지, 전이 방지, 소염, 항균, 항응집 및/또는 항혈전 치료를 위한 상기 화합물 및 조성물의 용도에 관한 것이다. 이들 화합물은 추가적으로 포유동물 개체에 게 투여될 때 상기 장애를 예방하는 데에도 사용된다.

배경 기술

- [0002] PI-88[1,2]로 공지되어 있는 황산화 올리고사카라이드제는 종양 성장 및 전이의 유망한 억제제이며[3,4,1], 암 환자에서 임상 시험이 진행되고 있다[5,6]. PI-88은 다이- 내지 헥사사카라이드의 크기 범위인 매우 황산화된, 단일인산화된 만노즈 올리고사카라이드의 혼합물이다[7,8]. PI-88은 혈관신생 성장 인자(주로 FGF-1, FGF-2 및 VEGF) 및 이들의 수용체와 헤파란 설페이트의 상호작용을 억제함으로써 혈관신생 방지 효과를 나타낸다[9,1]. 또한, PI-88은 효소 헤파라나제, 즉 종양 세포를 둘러싸는 세포외 매트릭스(ECM) 및 기저막의 주요 구성성분인 프로테오글라이칸의 헤파란 설페이트 측쇄를 절단하는 글라이코시다제의 강력한 저해제이다[1,2]. 헤파라나제는 혈관신생에 강하게 연루되어 있는데, 이는 활성 헤파란 설페이트-결합된 혈관신생 성장 인자를 ECM으로부터 유리시킬 수 있고, 새 혈관의 싹 형성(sprouting)에 수반되는 ECM의 퇴화 및 후속적인 조직 리모델링에 관련된다[10]. 헤파라나제에 의한 ECM의 퇴화는 또한 종양 세포를 혈류 내로 통과시켜 먼 부위(여기에서 종양 세포가 2차 종양을 형성할 수 있음)에 보내는 것을 허용함으로써 종양 세포의 전파(전이)에 결정적이다[11,10].
- [0003] 혈관신생 방지 효과에 덧붙여, PI-88은 (i) 프로테아제를 고유 경로로 저해하고, (ii) 조직 인자 경로 저해제(TFPI)의 방출을 자극하며, (iii) 트롬빈의 헤파린 보조인자 II-매개되는 저해를 활성화시킴으로써 혈액 응집 캐스케이드를 억제한다. 그러나, PI-88은 AT III과 반응하지 않고, 따라서 항-Xa 또는 AT III-매개되는 항-IIa 활성을 나타내지 않는다[12,13]. 원숭이에서의 생체내 연구에서는, 낮은 투여량의 PI-88이 모든 헤파란 설페이트 결합 TFPI의 혈관 세포벽으로부터의 방출을 자극하는 것으로 밝혀졌다[12]. 응집에 대한 그의 효과와는 별도로, 최근 TFPI는 혈관신생 방지제[14] 및 전이 억제제[15]인 것으로 밝혀졌다. PI-88은 또한 혈관 평활근 세포 증식 및 내막 비후를 차단하고[16], 세포의 단순 헤르페스 바이러스(HSV) 감염 및 HSV-1 및 HSV-2의 세포-대-세포 전파를 억제하며[17], Deng 및 뇌염 플라비바이러스의 설치류 모델에서의 감염을 억제하고 생존성을 개선시키고[18], 수동 헤이만(Heymann) 신장염에서 단백뇨를 억제하고[18], 플라스모듐 팔시파룸(Plasmodium falciparum)에 대한 생체 외 항말라리아 활성을 나타내는[20] 것으로 밝혀졌다.

- [0004] 다양한 다른 다중 황산화 올리고- 및 폴리사카라이드 및 이들의 유도체는 PI-88과 유사한 유형의 생물학적 활성을 나타내는 것으로 잘 알려져 있다[21-26]. 이들 생물학적 활성은 다양한 헤파란 설페이트(HS)-결합 단백질의 억제에 기인한다. 최근, 개선된 약동학 및/또는 ADME(흡수, 분포, 대사, 분비) 프로파일을 갖는 일부 황산화된 올리고사카라이드 유도체가 개시되었다[27, 28]. 화합물은 단일 탄소 주쇄를 포함하고, 따라서, PI-88과 같은 혼합물에 대해 합성 및 특성화 이점을 제공한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0005] 본 발명의 목적은 더 큰 효능, 개선된 약동학 성질 및 감소된 부작용 프로파일을 갖는 HS-미메틱(mimetic)을 제조하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0006] 본 발명의 제 1 양태에 따르면, 하기 화학식 I의 화합물이 제공된다:
- [0007] [화학식 I]
- [0008] $[X]_n-Y-ZR^1R^2$
- [0009] 상기 식에서,
- [0010] X 및 Y는 각각 모노사카라이드 단위이고, 이때, 글리코사이드 연결기에 포함되지 않은 각각의 하이드록실 기는 SO_3M 또는 H에 의해 독립적으로 치환되고, 이때 M은 임의의 약학적으로 허용가능한 양이온이고;
- [0011] X 및 Y는 임의의 D- 또는 L-헥소스 또는 펜토스이고;
- [0012] Y는 환상 또는 열린 고리 형태이고;
- [0013] Z는 O, N, S 또는 C이거나, 이들의 더 높은 산화 상태이거나, 결합이고, Y가 환원성 모노사카라이드인 경우 아노머성 탄소에 결합되고;
- [0014] R^1 은 알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴, 헤테로알킬, 헤테로아릴, 아실, 아로일, 알킬아미도, 알킬티오아미도 및 트리아졸릴로 이루어진 군에서 선택되는 연결기이거나, 결합이고;
- [0015] R^2 는 콜레스테릴, 콜레스타닐, 콜레이트, 데옥시콜레이트, 직쇄 알킬, 분지된 알킬, 치환된 알킬, 직쇄 아실, 분지쇄 아실 및 치환된 아실로 이루어진 군에서 선택되는 친유성 잔기이고;
- [0016] n은 0 내지 6의 정수이고;
- [0017] 각각의 화합물의 황산화 수준은 총 하이드록실 기의 70 내지 100% 범위이고;
- [0018] 이때, R^1 이 결합이면, R^2 는 글리시레틴산 또는 이의 유도체가 아니고,
- [0019] R^1 이 결합이고, n이 0 또는 1이고, Z가 S이면, R^2 는 C_8 내지 C_{18} 직쇄 알킬 기가 아니고,
- [0020] n이 3 내지 6이고, R^1 이 결합이고, X 및 Y가 $\alpha(1\rightarrow4)$ -결합된 글루코스이면, R^2 는 C_{12} 내지 C_{18} 직쇄 알킬 기가 아니고,
- [0021] n이 3 내지 5이고, R^1 이 결합이고, X 및 Y가 $\beta(1\rightarrow3)$ -결합된 글루코스이면, R^2 는 C_4 내지 C_{12} 직쇄 알킬 기 또는 콜레스테릴 기가 아니고,
- [0022] X 및 Y가 리보스이고, R^1 이 결합이면, R^2 는 C_{18} 기가 아니다.
- [0023] 본 발명의 제 2 실시양태에 따르면, 제 1 실시양태에 따른 하나 이상의 화합물용의 약학적으로 또는 수의학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제와 함께 상기 하나 이상의 화합물을 포함하는, 포유동물 개체에서 혈관신생, 전이, 염증, 응집/혈전, 상승된 혈중 트라이글라이세라이드 수준, 미생물 감염 및/또는 심혈관 질환으로부터 발생하는 장애를 예방 또는 치료하기 위한 약학 또는 수의학 조성물이 제공된다.
- [0024] 본 발명의 제 3 실시양태는 포유동물 개체에서 혈관신생, 전이, 염증, 응집/혈전, 상승된 혈중 트라이글라이세라이드 수준, 미생물 감염 및/또는 심혈관 질환으로부터 발생하는 장애를 예방 또는 치료하기 위한 약제를 제조함에 있어서 하기 화학식 II의 화합물의 용도를 포함한다:
- [0025] [화학식 II]
- [0026] $[X]_n-Y-ZR^1R^2$
- [0027] 상기 식에서,
- [0028] X 및 Y는 각각 모노사카라이드 단위이고, 이때, 글리코사이드 연결기에 포함되지 않은 각각의 하이드록실 기는

기 SO_3M 또는 H에 의해 독립적으로 치환되고, 이때 M은 임의의 약학적으로 허용가능한 양이온이고;

[0029] X 및 Y는 임의의 D- 또는 L-헥소스 또는 펜토스이고;

[0030] Y는 환상 또는 열린 고리 형태이고;

[0031] Z는 O, N, S 또는 C이거나, 이들의 더 높은 산화 상태이거나, 결합이고, Y가 환원성 모노사카라이드인 경우 아노머성 탄소에 결합되고;

[0032] R^1 은 알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴, 헤테로알킬, 헤테로아릴, 아실, 아로일, 알킬아미도, 알킬티오아미도 및 트리아졸릴로 이루어진 군에서 선택되는 연결기이거나, 결합이고;

[0033] R^2 는 콜레스테릴, 콜레스타닐, 콜레이트, 데옥시콜레이트, 직쇄 알킬, 분지된 알킬, 치환된 알킬, 직쇄 아실, 분지쇄 아실 및 치환된 아실로 이루어진 군에서 선택되는 친유성 잔기이고;

[0034] n은 0 내지 6의 정수이고;

[0035] 각각의 화합물의 황산화 수준은 총 하이드록실 기의 70 내지 100% 범위이다.

[0036] 본 발명의 제 4 실시양태에 따르면, 하나 이상의 화학식 II의 화합물 또는 상기 하나 이상의 화합물을 포함하는 조성물 효과량을 포유동물 개체에게 투여함을 포함하는, 혈관신생, 전이, 염증, 응집/혈전, 상승된 혈중 트라이글라이세라이드 수준, 미생물 감염 및/또는 심혈관 질환으로부터 발생하는 장애를 예방 또는 치료하는 방법이 제공된다.

[0037] 본 발명이 보다 쉽게 이해되고 실시될 수 있도록, 이의 하나 이상의 바람직한 실시양태를 첨부된 도면을 참고하여 단지 예로서 개시할 것이다.

도면의 간단한 설명

[0038] 도 1은 화합물의 신생혈관 방지 활성을 입증하기 위해 사용되는 래트의 대동맥 혈관신생 분석법에서의 혈관신생 싹 형성 정도의 예를 나타낸다.

도 2는 제0일부터 7일동안 48일마다 배지(처리되지 않은 대조군) 또는 시험 화합물로 처리된 대동맥 배양물의 자료를 나타낸다. 제7일에 VEGF(10mg/mL)를 추가 7일동안 2, 3일마다 배지에 첨가한 후, 혈관신생 정도를 채점하여 화합물이 조직 상에 미치는 독성 효과의 유도와는 반대되는 혈관신생 방지 기작을 통해 이들의 억제 효과를 발휘한다는 것을 입증하였다. 모든 3개의 화합물은 혈관신생을 강력하게 억제하였다(표 4 참조).

도 3은 B16 마우스 흑색종 모델에서 처리되지 않은 대조군 마우스와 선택된 시험 화합물로 처리된 마우스의 중간값 종양 체적을 보여준다. 본 발명의 화합물의 경우 투여 수준이 감소되거나, 노출 기간이 제한됨에도 불구하고, PI-88 또는 비-친유성 동족체와 비교하였을 때 항-종양 활성이 여전히 증가되었다. Bid는 1일 2회를 의미하고, sid는 1일 1회를 의미하고, qd는 매일을 의미한다.

도 4는 B16 마우스 흑색종 모델에서 선택된 시험 화합물로 처리된 종양을 갖고 있는 마우스로부터 수득된 종양 성장 억제율(%TGI) 자료를 보여준다. 본 발명의 화합물의 경우 투여 수준이 감소되었음에도 불구하고, %TGI 값은 PI-88 또는 비-친유성 동족체에 비해 여전히 개선되었다. Bid는 1일 2회를 의미하고, sid는 1일 1회를 의미한다.

도 5는 마우스의 B16F1 흑색종 세포의 폐 콜로니 형성을 차단하는 시험 화합물의 예를 보여준다. 화합물 및 투여된 투여량은 각각의 영상 아래에 개시되어 있다.

도 6은 B16 폐 전이 모델에서, 염수 대조군과 비교된 %로서 표현된, 선택된 시험 화합물의 폐 전이 결절(nodule) 수를 나타낸다. PI-88 및 선택된 화합물로 처리된 마우스는 염수 대조군과 비교하였을 때 훨씬 더 적은 폐 전이 결절을 나타내었다. 본 발명의 화합물의 경우 대부분 투여 수준이 낮음에도 불구하고, 전이 억제율은 더 높은 투여량의 PI-88을 이용하여 관찰된 결과와 비슷하다. Bid는 1일 2회를 의미하고, sid는 1일 1회를 의미한다.

도 7은 직장결장암 HT29 이종이식 모델에서 선택된 시험 화합물로 처리된 종양을 갖는 마우스에서 나온 종양 성장 억제율(%TGI)을 보여준다. 본 발명의 화합물의 투여 수준이 감소되었음에도 불구하고, %TGI 값은 PI-88 또

는 비-친유성 동족체에 비해 여전히 개선되었다. Bid는 1일 2회를 의미하고, sid는 1일 1회를 의미한다.

도 8은 HSV의 세포에서 세포로의 전이에 대한 시험 화합물의 효과를 보여준다. 세포를 약 200 PFU의 HSV-1 또는 HSV-2중 하나로 감염시킨 후, 1% 메틸셀룰로스 및 10 μ g/ml의 시험 화합물로 보충된 EMEM을 덮었다. 결과는 모의-처리된 대조군에 비해 화합물로 처리된 세포에서 발생하는 바이러스 플라크의 평균 면적의 %로서 표현된다. 20개의 바이러스 플라크의 영상을 포착하고 IM500 소프트웨어를 이용하여 면적을 측정한다.

도 9는 HSV 비리온이 세포에 결합하는데 미치는 시험 화합물의 영향을 나타낸다. 바이러스가 GMK AH1 세포에 흡착되는 2시간의 기간동안 특정한 농도의 시험 화합물을 메틸-[³H]티미딘 라벨링된 HSV-1 또는 HSV-2와 함께 4℃에서 배양한다. 결과를 모의 처리된 대조군과 비교한 화합물 처리된 비리온을 이용한 경우 발견된 부착된 바이러스 cpm의 %로서 표현한다. 화합물(4)을 이용한 실험에서, 4℃에서 세포에 부착된 모의-처리된 바이러스의 부착된 cpm의 평균 수는 HSV-1의 경우 4263이고, HSV-2의 경우 1742이다. 도시된 값은 2회의 별개의 실험에서의 4회 측정치의 평균이다.

도 10 내지 40은 본 발명의 반응식과 화학 구조를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0039] 제W02005/085264호에 개시되어 있는 황산화된 올리고사카라이드 유도체는 혈관신생 및 HS-결합 단백질에 의해 매개되는 다른 과정의 우수한 억제제이다. 이런 화합물은 혈관신생, 전이, 염증, 응집, 혈전, 상승된 혈중 트라이글라이세라이드 수준, 미생물 감염 및/또는 심혈관 질환으로부터 발생하는 장애를 포유동물 개체에서 예방 또는 치료하는데에 유용성을 갖는다. 이러한 유용성은 화합물이 HS-결합 단백질, 예를 들면 성장 인자 FGF-2 및 VEGF 및 효소 헤파라나제의 활성을 억제하는 능력으로부터 기인한다. 본 발명자들은 황산화된 올리고사카라이드가 매우 친유성인 기, 예를 들면 콜레스탄올 또는 스테아르산(상기 기는 탄화수소에 직접 부착되거나 연결기를 통해 부착된다)으로 개질되면, 생성된 새로운 화합물이 혈관신생 방지제로서 상당히 증가된 효능과 개선된 약동학적 성질을 갖는다는 것을 발견하였다. 이는 다양한 시험관내 및 생체 외 혈관신생 분석법, 예를 들면 성장 인자-유도된 내피 세포 증식 및 이동 분석법, 매트릭젤(Matrigel, 등록상표) 상의 내피 관 형성 분석법 및 래트 대동맥 분석법에서의 이들의 활성에 의해 입증된다. 이 증가된 효능은 또한 암 성장의 동물 모델에서 명확하다. 더 긴 동족체에 비해 일반적으로 불활성이거나 매우 약한 혈관신생 방지 활성(또는 다른 HS-미메틱 활성)을 갖는 더 작은 황산화된 사카라이드(예를 들면 모노- 내지 트라이사카라이드)가, 일단 개질되면, 이들의 더 길지만 개질되지 않은 유사종과 비슷하거나 더 좋은 상당히 증가된 활성을 갖는다는 점에 특히 유의해야만 한다.
- [0040] 화합물중 일부는 또한 항바이러스제로서 증가된 효능을 나타낸다. 예를 들면 친유성 개질로 인해 단순 허피스 바이러스(HSV), 호흡기 세포융합 바이러스(RSV) 또는 HIV의 세포 감염 및 세포에서 세포로의 전달을 억제하는 능력이 개선되었다. 또한, 개질로 인해, 일부 화합물에 바이러스 입자를 완전히 불활성화시키는 능력을 제공하여 이들이 개질되지 않은 황산화된 올리고사카라이드(이들은 비리온을 불활성화시키지 않고 바이러스 결합/입장 단계를 억제할 수 있으며, 예를 들면 PI-88이다)에 비해 보다 강력한 항바이러스제가 되게 하였다.
- [0041] 개질되지 않은 황산화된 올리고사카라이드의 부작용중 하나는 항응집 활성이다. 본원에 개시된 친유성 개질은 PI-88에 비해 상당히 감소된 항응집 활성을 갖는 새로운 화합물을 생성하고, 이는 더 넓은 치료 창을 생성할 수 있다. PI-88로 치료된 동물에서 흔히 나타나는 주사 부위 타박상 또한 없어지고, 따라서, 환자의 순응성을 개선시킬 수 있다.
- [0042] 본 명세서에 개시된 황산화된 올리고사카라이드 유도체는 하기에 널리 개시되고 실시예에 예시된 다수의 상이한 전략을 이용하여 합성될 수 있다.
- [0043] 화학식 I 및 II의 본 발명의 화합물의 경우, 모노사카라이드 단위 X 및 Y는 예를 들면 임의의 헥소스 또는 펜토스일 수 있고, D 또는 L 이성질체중 하나일 수 있다. 이런 헥소스는 글루코스, 만노스, 알트로스, 알로스, 탈로스, 갈락토스, 이도스 및 굴로스를 포함한다. 이런 펜토스는 리보스, 아라비노스, 자일로스 및 릭소스를 포함한다. 모노사카라이드 단위의 글리코사이드 결합은 배열 및 결합의 측면에서 배타적으로 한가지 유형이거나 다른 유형일 수 있다.
- [0044] 약학적으로 허용가능한 양이온 M은 임의의 이런 양이온일 수 있지만, 바람직하게는 나트륨이다.
- [0045] 정수 n의 경우, n은 트라이, 테트라- 또는 펜타사카라이드인 화합물을 제공하도록, 0 내지 6의 정수, 바람직하

게는 2, 3 또는 4이다.

- [0046] R^2 기는 임의의 적합한 친유성 잔기이지만, 바람직하게는 콜레스타닐 또는 프로필 스테아르아미드이다.
- [0047] 적용가능한 경우, 화학식 I의 화합물의 ZR^1 에서의 아노머 배열은 α 또는 β 중 하나이거나, 아노머 α/β 혼합물일 수 있다.
- [0048] 화학식 I 및 II의 화합물의 정의에서 상기의 치환체의 경우, 용어 "알킬"은 단독으로 사용되거나 "아릴알킬"과 같은 화합물에서 사용될 경우 직쇄, 분지쇄 또는 환상 탄화수소 기를 의미한다.
- [0049] 용어 "아릴"은 단독으로 사용되거나 "아릴알킬"과 같은 화합물에서 사용될 경우 방향족 탄화수소의 단일, 다핵, 컨주게이트된 또는 축합된 잔기를 의미한다. 아릴 기는 선택적으로 하나 이상의 선택적인 치환체로 치환될 수 있다.
- [0050] 용어 "아실"은 기 $-C(O)-R$ 을 의미하고, 이때 R은 알킬 또는 아릴 기이다. R 기가 상기 개시된 바와 같이 선택적으로 치환될 수 있기 때문에, "아실"은 선택적으로 치환된 아실을 의미하는 것으로 간주된다.
- [0051] 알킬, 아릴 또는 아실에 대한 선택적인 치환기는 할로(브로모, 플루오로, 클로로, 요도), 하이드록시, C_{1-6} 알킬 [예: 메틸, 에틸, 프로필(n- 및 i- 이성질체)], C_{1-6} 알콕시[예: 메톡시, 에톡시, 프로폭시(n- 및 i- 이성질체), 부톡시(n-, sec- 및 tert-이성질체)], 나이트로, 아미노, C_{1-6} 알킬아미노[예: 메틸 아미노, 에틸 아미노, 프로필(n- 및 i- 이성질체) 아미노], C_{1-6} 다이알킬아미노(예: 다이메틸아미노, 다이에틸아미노, 다이아이소프로필아미노), 할로메틸(예: 트라이플루오로메틸, 트라이브로모메틸, 트라이클로로메틸), 할로메톡시(예: 트라이플루오로메톡시, 트라이브로모메톡시, 트라이클로로메톡시) 및 아세틸을 포함한다.
- [0052] 본 발명에 따른 화합물의 황산화도는 전형적으로 70% 이상이다. 즉, 글리코사이드 결합에 관여하고 있지 않은 올리고사카라이드 유도체의 하이드록실 기의 70% 이상이 SO_3M 으로 치환되어 있다. 황산화도는 전형적으로 70 내지 100%, 바람직하게는 90% 이상이다.
- [0053] 화학식 I 및 II의 화합물은 탄화수소 구축 블록으로부터 단계적 합성 경로를 통해, 또는 적절한 길이의 올리고사카라이드로부터 출발하여 이의 바람직한 개질을 제조함으로써 제조될 수 있다. 화학식 I의 모노사카라이드는 모노사카라이드 출발 물질로부터 직접적으로 제조될 수 있다. 친유성 개질은 당 분야의 숙련자들에게는 명확한 다수의 서로 다른 방법에 의해 사카라이드로 도입될 수 있다. 예를 들면 친유성 기는 O-, N-, S- 또는 C-글리코사이드 결합을 통해 환원성 말단 당의 아노머 위치에 도입될 수 있고, 상기 기는 아노머 위치에 직접 결합되거나, 연결기를 통해 부착될 수 있다. 당 분야의 숙련자들은 여러 유형의 적합한 연결기가 있음을 인식할 것이다.
- [0054] 그런 다음, 상기 개시된 바와 같이 제조된 모든 유도체를 탈보호(전형적으로 NaOMe를 이용한 탈아세틸화)시키고, 생성된 폴리올을 설폰화제, 예를 들면 삼산화황 피리딘 복합체 또는 삼산화황 트라이메틸아민 복합체로 설폰화시킨다는 점에 유의해야만 한다.
- [0055] 상기 개시된 바와 같이, 본 발명에 따른 화합물은 혈관신생, 전이, 염증, 응집, 혈전, 상승된 혈중 트라이글라이세라이드 수준, 미생물 감염 또는 심혈관 질환으로부터 발생하는 장애를 포유동물 개체에서 예방 또는 치료하는데에 유용하다. 화합물은 특히 인간에서 전술된 장애를 치료하는데 유용하다. 화합물은 전형적으로 하기 문단에 개시된 바와 같은 약학 조성물의 성분으로서 투여된다.
- [0056] 경구 투여용 약학 조성물은 정제, 캡슐, 분말 또는 액체 형태일 수 있다. 정제는 젤라틴 같은 고체 담체, 또는 보조제, 또는 불활성 희석제를 포함할 수 있다. 액체 약학 조성물은 통상적으로 물, 석유, 동물유, 식물유, 광유 또는 합성유 같은 액체 담체를 포함한다. 생리 식염수 용액 또는 글라이콜(예: 에틸렌 글라이콜, 프로필렌 글라이콜 또는 폴리에틸렌 글라이콜)을 포함시킬 수 있다. 이러한 조성물 및 제제는 통상적으로 0.1중량% 이상의 화합물을 함유한다.
- [0057] 비경구 투여는 하기 경로에 의한 투여를 포함한다: 정맥내, 피부 또는 피하, 비강, 근육내, 안내, 경피, 복강내 및 국부. 국부 투여는 피부, 눈, 직장, 비강 및 흡입 또는 에어로졸 수단에 의한 투여를 포함한다. 정맥내, 피부 또는 피하 주사, 또는 치료가 필요한 부위에서의 주사의 경우, 활성 성분은 발열원을 함유하지 않고 적합한 pH, 등장성 및 안정성을 갖는 비경구적으로 허용가능한 수용액의 형태일 것이다. 당해 분야의 숙련자는 예

컨대 본 화합물 또는 그의 유도체의 용액을 사용하여 적합한 용액을 제조할 수 있다.

[0058] 하나 이상의 화합물 및 담체 또는 희석제에 덧붙여, 본 발명에 따른 조성물은 약학적으로 또는 수의학적으로 허용가능한 부형제, 완충액, 안정화제, 등장성화제, 보존제 또는 산화방지제 또는 당해 분야의 숙련자에게 공지되어 있는 임의의 다른 물질을 추가로 포함할 수 있다. 당해 분야의 숙련자는 이들 물질이 비-독성이어야 하고 화합물(들)의 효능을 방해해서는 안됨을 알 것이다. 임의의 첨가제의 정확한 특성은 조성물의 투여 경로, 즉 조성물이 경구 투여될지 또는 비경구 투여될지의 여부에 따라 달라질 수 있다. 완충액과 관련하여, 수성 조성물은 조성물을 생리학적 pH와 근접하게 또는 적어도 약 pH 5.0 내지 8.0의 범위로 유지시키기 위하여 이러한 성분을 전형적으로 포함한다.

[0059] 본 발명에 따른 조성물은 또한 하나 이상의 화합물에 덧붙여 활성 성분을 포함할 수도 있다. 이러한 성분은 주로 혈관신생 방지, 전이 방지, 소염, 항응집, 항균 및 항혈전제, 및 높은 혈중 트라이글라이세라이드 수준 및 심혈관 질환에 대해 효과적인 제제로서의 효능 때문에 선택되지만, 임의의 관련 질환에 대한 효능 때문에도 선택될 수 있다.

[0060] 본 발명에 따른 약학 또는 수의학적 조성물은 고려되는 특정 상황에 필요한 만큼의 예방 효과량 또는 치료 효과량으로 개체에게 투여된다. 조성물에 의해 투여되는 하나 이상의 화합물의 실제 양, 및 투여량 및 시간은 치료되거나 예방되어야 하는 질환의 특성 및 중증도에 따라 달라진다. 투여량 등에 대한 결정 같은 치료 처방은 개체를 돌보는 의료진 또는 의사의 기술 범위에 속한다. 그러나, 전형적으로 인간에게 투여하기 위한 조성물은 체중 1kg당 약 0.01 내지 100mg, 더욱 바람직하게는 약 0.1 내지 10mg의 화합물을 포함한다.

[0061] 화합물은 약학적으로 또는 수의학적으로 허용가능한 그의 유도체로서 조성물에 포함될 수 있다. 본원에 사용되는 화합물의 "유도체"는 염, 금속 이온(예: Mn^{2+} 및 Zn^{2+})과의 배위 착체, 생체내에서 가수분해될 수 있는 에스터 같은 에스터, 유리 산 또는 염기, 수화물 또는 전구약물을 포함한다. 포스페이트 또는 설페이트 같은 산성기를 갖는 화합물은 Na, K, Mg 및 Ca 같은 알칼리금속 또는 알칼리 토금속과, 또한 트라이에틸아민 및 트리(2-하이드록시에틸)아민 같은 유기 아민과 염을 형성할 수 있다. 화합물과 염기성 기(예: 아민), 무기 산(예: 염산, 인산 또는 황산) 또는 유기 산(예: 아세트산, 시트르산, 벤조산, 푸마르산 또는 타타르산) 사이에서도 염이 생성될 수 있다. 산성 기 및 염기성 기 둘 다를 갖는 화합물은 내부 염을 형성할 수 있다.

[0062] 당해 분야의 숙련자에게 널리 알려져 있는 기법을 이용하여, 화합물에 존재하는 하이드록실 또는 카복실산기 및 적절한 카복실산 또는 알콜 반응 상대로부터 에스터를 형성할 수 있다.

[0063] 본 발명의 화합물의 전구약물 유도체는 생체 내에서 또는 시험관 내에서 모 화합물로 변형될 수 있다. 전형적으로, 모 화합물의 생물학적 활성중 하나 이상은 화합물의 전구약물 형태에서 억제될 수 있으며, 전구약물을 모 화합물 또는 그의 대사산물로 전환시킴으로써 활성화될 수 있다. 본 발명의 화합물의 전구약물은 생체 내에서 제거되어 활성 화합물을 방출할 수 있거나 약물의 제거를 억제하는 작용을 할 수 있는 보호기의 사용을 포함한다. 적합한 보호기는 당해 분야의 숙련자에게 공지되어 있다.

[0064] 또한 상기 나타낸 바와 같이, 본 발명에 따른 화합물은 포유동물 개체에서 혈관신생, 전이, 염증, 응집/혈전, 미생물 감염, 높은 혈중 트라이글라이세라이드 수준 및/또는 심혈관 질환으로부터 발생하는 장애를 치료 또는 예방하기 위한 약제를 제조하는데 유용하다. 이러한 약제의 제조 방법은 당해 분야의 숙련자에게 공지되어 있으며, 상기 기재된 약학 조성물을 제조하는 데에 이용되는 방법을 포함한다.

[0065] 이제, 본 발명에 따른 화합물을 제조하는 합성 경로에 대해 개괄적으로 기재한다.

[0066] 일반적인 절차

[0067] 탈아세틸화의 일반적인 절차

[0068] 무수 MeOH(또는 MeOH-THF)중 피아세테이트의 용액(0.1M)을 MeOH중 NaOMe의 용액(1.35M, 0.2 내지 0.6당량)으로 처리하였다. 혼합물을 실온에서 1 내지 3시간동안 교반하였다(TLC에 의해 모니터링함). 산성 수지인 AG(등록상표)-50W-X8(H^+ 형태)을 첨가하여 pH를 6 내지 7로 조정하고, 혼합물을 여과한 다음 수지를 메탄올로 세정하였다. 모아진 여액 및 세척액을 진공에서 농축시키고 완전히 건조시켜, 폴리올 생성물을 제공하였다.

[0069] 설폰화의 일반적인 절차

[0070] DMF중 폴리올 및 $SO_3 \cdot$ 트라이메틸아민 또는 $SO_3 \cdot$ 피리딘 착체(알콜당 2당량)의 혼합물을 가열하였다($60^\circ C$, o/n).

냉각된(실온) 반응 혼합물을 MeOH로 처리한 다음 Na_2CO_3 (10% w/w)를 첨가함으로써 염기성으로 만들었다(pH > 10 까지). 혼합물을 여과하고 여액을 증발시킨 다음 동시 증발시켰다(H_2O). 조질의 다중 황산화된 물질을 H_2O 에 용해시키고 크기 배제 크로마토그래피(아래 참조)시킴으로써 황산화된 생성물을 수득하였다. 필요한 경우, 동결 건조시킨 후, 생성물을 균일하게 나트륨 염 형태로 만들기 위하여 생성물을 이온-교환 수지 칼럼[AG(등록상표)-50W-X8, Na^+ 형태, 1×4cm, 탈이온화 H_2O , 15mL]을 통해 통과시켰다. 수거된 용액을 증발시키고 동결 건조시켜, 최종 생성물을 무색 유리 또는 백색 분말로서 수득하였다.

[0071] 크기 배제 크로마토그래피

[0072] 5×100cm 칼럼의 바이오-겔(Bio-Gel) P-2 상에서 0.1M $\text{NH}_4^+ \cdot \text{HCO}_3^-$ 2.8mL/분의 유속으로 크기 배제 크로마토그래피를 수행하여 2.8분(7.8mL) 분획을 수거하였다. 분획을 실리카겔 플레이트에 스폿팅하고 태움으로써 가시화시켜 탄수화물 함량에 대해 분석하고/하거나 다이메틸 메틸렌 블루(DMB) 시험에 의해 다중-하전된 화합물에 대해 분석하였다[29]. 마지막으로, CE¹⁵에 의해 분획을 순도에 대해 점검하고, 염을 함유하지 않는 것으로 간주되는 분획을 모으고 동결 건조시켰다.

[0073] 실시예 1: 도데실 2,3,4,6-테트라-O-아세틸- α -D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-O-아세틸- α -D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-O-아세틸- α -D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-O-아세틸- α -D-만노피라노실-(1→2)-3,4,6-트라이-O-아세틸- α -D-만노피라노사이드(2)

[0074] DCM(15 mL)중의 트라이클로로아세트이미데이트(1)[28](0.469 g, 0.285 mmol)의 용액에 1-도데칸올(0.849 mmol, 3 eq) 및 3Å MS(50 mg)를 첨가하였다. 혼합물을 -20 °C에서 20분간 교반하였다. TMSOTf(103 μ L, 0.57 mmol, 2 eq)를 첨가하고, 혼합물을 -20 °C에서 50분간 교반한 후 Et_3N (38 mL, 0.285 mmol, 1 eq)으로 급냉시켰다. 실온으로 가온한 후, 혼합물을 여과하고, 고형물을 DCM으로 세척하였다. 조합된 여과액 및 세척액을 실리카겔 상에서 증발시키고 컬럼 크로마토그래피(실리카 2x20 cm, CHCl_3 , CHCl_3 -MeOH 99:1 내지 98:2를 이용한 농도구배 용출)로 정제하여 글리코사이드(2)를 무색 검으로 수득하였다. 각각 부산물 BnNHAc(76 mg, 2: BnNHAc = 5:3; 179 mg, 2: BnNHAc = 5:11)을 함유하는 2개의 분획을 수득하였다.

¹H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): 5.30-5.16 (m, 8H), 4.99-4.87 (m, 8H), 4.31-3.77 (m, 19H), 3.68-3.61 (m, 1H, OCH_2), 3.44-3.36 (m, 1H, OCH_2), 2.18, 2.17, 2.15, 2.11, 2.10, 2.09, 2.07, 2.06, 2.05, 2.02, 2.01, 1.97, 1.95 (각각 s, 총 48H, 16×Ac), 1.58 (중선, 2H, $J=6.7$, CH_2), 1.33-1.22 (m, 18H, 9× CH_2), 0.86 (t, 3H, $J=6.7$, CH_3).

[0075] 도데실 α -D-만노피라노실-(1→3)- α -D-만노피라노실-(1→3)- α -D-만노피라노실-(1→3)- α -D-만노피라노실-(1→2)- α -D-만노피라노사이드(3)

[0076] 탈아세틸화를 위한 일반적인 공정에 따라, MeOH(3 mL) 중의 글리코사이드(2)(72 mg, 0.043 mmol)를 NaOMe(MeOH 중의 11 M, 5 μ L, 0.055 μ mol)로 처리하였다. 혼합물을 실온에서 20시간동안 교반하고, AG50WX8 수지(H^+ 형태)를 첨가하여 중화시키고, 여과하고, 물로 세정하였다. BnNHAc을 제거하기 위해 용액을 EtOAc (2x)로 추출하였다. 수성 상을 건조되도록 증발시키고, 잔사를 동결건조시켜 폴리올(3)을 무정형 고체로서 수득하고, 다음 단계에 직접 사용하였다.

¹H NMR (D_2O , 400 MHz, 4.60ppm 에서의 내부 DOH) δ 4.97-4.83 (m, 5H), 4.06-3.21 (m, 32H), 1.41 (br s, 2H), 1.11 (br s, 18H), 0.71 (t, 3H, $J=6.7$, CH_3).

[0077]

[0078] 도데실 2,3,4,6-테트라-O-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-O-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-O-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-O-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노사이드(4)

[0079] 설포화를 위한 표준 절차에 따라, 폴리올(3)(0.43 mmol)을 황산화시키고, SEC로 정제하여 생성물(4)을 백색 분말로서 수득하였다(77 mg).

¹H NMR (D₂O, 400 MHz, 4.60ppm

에서의 내부 DOH) δ 5.19 (s, 1H), 5.15 (d, 1H, *J* = 1.9), 5.10 (d, 1H, *J* = 1.9), 5.07 (d, 1H, *J* = 1.9), 4.89 (m, 1H), 3.77-3.64 (m, 30H, 당), 3.48-3.41 (m, 1H, OCH₂), 3.33-3.27 (m, 1H, OCH₂), 1.30 (m, 2H, CH₂), 1.10-0.90 (m, 18H, 9xCH₂), 0.54 (t, 3H, *J* = 6.7, CH₃).

[0080]

[0081] 실시예 2: 12-아지도-1-도데칸올

[0082] *t*-부탄올(1.8 mL, 0.5 M) 중의 12-브로모-1-도데칸올(246 mg, 0.927 mmol)의 혼합물을 순서대로 나트륨 아지드(121 mg, 1.855mmol, 2 eq), 테트라부틸암모늄 요오다이드(17 mg, 0.0464 mmol, 0.05 eq) 및 포화 수성 중탄산 나트륨 용액(0.9 mL)으로 처리하였다. 혼합물을 실온에서 4일동안 교반하였다. 혼합물을 셀라이트 플러그를 통해 여과하고, 암분체를 에틸 아세테이트(20 mL)로 세척하였다. 조합된 여과액과 세척액을 실리카 겔 상에서 증발시키고, 플래쉬 컬럼(2.5X8 cm, 헥산-에틸 아세테이트 6:1, 4:1 내지 2:1를 이용한 농도구배 용출)으로 정제하여 12-아지도-1-도데칸올을 무색 오일로서 수득하였다(193 mg, 92%).

¹H NMR (CDCl₃, 400

MHz): 3.62 (t, 2H, *J* = 7.0, OCH₂), 3.24 (t, 2H, *J* = 7.0, NCH₂), 1.61-1.51 (m, 4H), 1.35-1.25 (m, 16H).

[0083]

[0084] 12-아지도도데실 2,3,4,6-테트라-*O*-아세틸- α -D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-*O*-아세틸- α -D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-*O*-아세틸- α -D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-*O*-아세틸- α -D-만노피라노실-(1→2)-3,4,6-트라이-*O*-아세틸- α -D-만노피라노사이드(5)

[0085] DCM(15 mL) 중의 트라이클로로아세트이미데이트(1)(0.325 g, 0.197 mmol)의 용액에 12-아지도도데칸올(1.5 eq) 및 3Å MS(50 mg)를 첨가하였다. 혼합물을 -20 °C에서 20분간 교반하였다. TMSOTf(54 μ L, 0.296 mmol, 1.5 eq)를 첨가하고, 혼합물을 -20 °C에서 30분간 교반한 후 Et₃N(1 eq)으로 급냉시켰다. 실온으로 가온한 후, 혼합물을 여과하고, 고형물을 DCM으로 세척하였다. 조합된 여과액 및 세척액을 실리카 겔 상에서 증발시키고, 컬럼 크로마토그래피(실리카 2x20 cm, CHCl₃, CHCl₃-MeOH 99:1 내지 98:2를 이용한 농도구배 용출)로 정제하여 글리코사이드(5)를 부산물 BnNHAc(71.1 mg, 5:BnNHAc = 1:1)을 함유하는 무색 검으로서 수득하였다.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 5.29-5.14 (m, 8H), 5.01-4.86 (m, 8H),

4.28-3.75 (m, 19H), 3.64 (dt, 1H, *J* = 9.5, 7.0, OCH₂), 3.39 (dt, 1H, *J* = 9.5, 7.0, OCH₂), 3.22 (t, 2H, *J* = 7.0, NCH₂), 2.16, 2.15, 2.11, 2.10, 2.09, 2.09, 2.09, 2.09, 2.07, 2.06, 2.04, 2.04, 2.01, 1.95 (각각 s, 총 48H, 16xAc), 1.57 (m, 4H, 2xCH₂), 1.36-1.22 (m, 16H, 8xCH₂).

[0086]

[0087] 12-(4-페닐-[1,2,3]트리아아졸-1-일)도데실 2,3,4,6-테트라-*O*-아세틸- α -D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-*O*-아세틸- α -D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-*O*-아세틸- α -D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-*O*-아세틸- α -D-만노피라노실-(1→2)-3,4,6-트라이-*O*-아세틸- α -D-만노피라노사이드(6)

[0088] 1 mL HPLC 시료 바이얼중에 아지드 5(71 mg, 41.5 μ mol), *t*-부탄올(100 μ L, 0.4 M), 페닐아세틸렌(83 μ mol, 2 eq), 황산 구리 용액(물 중의 0.3 M, 14 μ L, 4.2 μ mol, 10 mol%) 및 나트륨 아스코베이트 용액(물 중의 1M, 12.4 μ L, 12.4 μ mol, 30 mol%)를 순서대로 부하하였다. 혼합물을 실온에서 2일동안 교반하였다. 그런 다음, 혼합물을 실리카 겔 상으로 증발시키고, 플래쉬컬럼 크로마토그래피(1x18 cm, 헥산-에틸 아세테이트 6:1, 4:1, 2:1, 1:1, 1:2 내지 1:3를 이용한 농구배)하여 페닐트리아아졸(6)을 무색 검으로서 수득하였다(46.3 mg, 62%).

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 7.82 (d, 2H, *J* = 7.2, Ph), 7.75 (s, 1H, 트리아아졸), 7.41 (t,

2H, *J* = 7.2, Ph), 7.31 (t, 1H, *J* = 7.2, Ph), 5.30-5.15 (m, 8H), 5.03-4.87 (m, 8H), 4.38 (t, 2H, *J* = 7.2, NCH₂), 4.29-3.77 (m, 19H), 3.64 (dt, 1H, *J* = 9.6, 6.8, OCH₂), 3.40 (dt, 1H, *J* = 9.6, 6.8, OCH₂), 2.17, 2.16, 2.16, 2.13, 2.11, 2.11, 2.11, 2.10, 2.09, 2.07, 2.05, 2.05, 2.02, 2.00, 1.96 (각각 s, 총 48H, 16xAc), 1.93 (m, 2H, CH₂), 1.57 (m, 2H, CH₂), 1.34-1.24 (m, 16H, 8xCH₂).

[0089]

[0090] 12-(4-페닐-[1,2,3]트리아졸-1-일)도데실 2,3,4,6-테트라-*O*-나트륨 설푸나토- α -D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-*O*-나트륨 설푸나토- α -D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-*O*-나트륨 설푸나토- α -D-만노피라노실-(1→2)-3,4,6-트라이-*O*-나트륨 설푸나토- α -D-만노피라노사이드(8)

[0091] (a) 탈아세틸화를 위한 일반적인 공정에 따라, MeOH(4.5 mL) 중의 피아세테이트(6)(46 mg, 0.0254 mmol)를 NaOMe(MeOH 중의 11 M, 50 μ L, 0.55 μ mol)로 처리하였다. 혼합물을 18시간동안 실온에서 교반하고, AG50WX8 수지(H⁺ 형태)를 첨가하여 중성화시키고, 여과하고, MeOH로 세정하였다. 여과액을 증발시키고, 잔사를 P₂O₅ 하에서 진공 건조기에서 건조시키고, 추가의 정제 또는 특성화없이 이용하였다. (b) 설푸나화를 위한 표준 절차에 따라, 상기 폴리올(7)을 설푸나화시키고, SEC로 정제하여 생성물(8)을 백색 분말로서 수득하였다(45 mg).

¹H NMR (D₂O, 400 MHz, 4.60 ppm 에서의 내부 DOH) δ

7.88 (s, 1H, 트리아졸CH), 7.47-7.44 (m, 2H), 7.21-7.10 (m, 3H), 5.23 (br s, 1H), 5.19 (d, 1H, $J=1.5$), 5.12 (d, 1H, $J=1.8$), 5.10 (d, 1H, $J=1.5$), 4.91 (m, 1H), 4.76-3.72 (m, 32H, 당 및 NCH₂), 3.37-3.30 (m, 1H, OCH₂), 3.23-3.17 (m, 1H, OCH₂), 1.51 (m, 2H, CH₂), 1.12 (m, 2H, CH₂), 0.90-0.63 (m, 16H, 8×CH₂).

[0092]

[0093] 실시예 3: 12-(4-나프탈렌-1-일-[1,2,3]트리아졸-1-일)도데실 2,3,4,6-테트라-*O*-아세틸- α -D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-*O*-아세틸- α -D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-*O*-아세틸- α -D-만노피라노실-(1→2)-3,4,6-트라이-*O*-아세틸- α -D-만노피라노사이드(9)

[0094] 1 mL HPLC 시료 바이알에 아지드(5)(86 mg, 50.3 μ mol), *t*-부탄올(100 μ L, 0.4 M), 1-에틸나프탈렌(83 μ mol, 2 eq), 황산 구리 용액(물 중의 0.3 M, 14 μ L, 4.2 μ mol, 10 mol%) 및 나트륨 아스코베이트 용액(물 중의 1 M, 12.4 μ L, 12.4 μ mol, 30 mol%)를 순서대로 부하하였다. 혼합물을 11일동안 실온에서 교반하였다. 그런 다음, 혼합물을 실리카 겔 상으로 증발시키고, 플래쉬컬럼 크로마토그래피(1x18 cm, 헥산-에틸 아세테이트 6:1, 4:1, 2:1, 1:1, 1:2 내지 1:3)로 정제하여 나프틸트리아졸(9)을 무색 검으로서 수득하였다(24.2 mg, 26%).

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 8.38-8.33 (m, 1H), 7.92-7.86 (m,

2H), 7.80 (s, 1H, 트리아졸-CH), 7.72 (dd, 1H, $J=7.3, 1.5$), 7.54-7.48 (m, 3H), 5.31-5.15 (m, 8H), 5.03-4.87 (m, 8H), 4.47 (t, 2H, $J=7.3$, N-CH₂), 4.30-3.77 (m, 19H), 3.64 (dt, 1H, $J=9.7, 6.8$, OCH₂), 3.40 (dt, 1H, $J=9.7, 6.8$, OCH₂), 2.17, 2.16, 2.16, 2.13, 2.12, 2.11, 2.11, 2.10, 2.09, 2.07, 2.06, 2.05, 2.02, 2.00, 1.97, 1.57 (15s, each 3H, except 2.100 (6H), 16×Ac), 2.07-1.95 (m, Ac 단일선과 겹침, 2H, CH₂), 1.57 (m, 1H, CH₂), 1.42-1.23 (m, 16H, 8×CH₂).

[0095]

[0096] 12-(4-나프탈렌-1-일-[1,2,3]트리아졸-1-일)도데실 2,3,4,6-테트라-*O*-나트륨 설푸나토- α -D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-*O*-나트륨 설푸나토- α -D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-*O*-나트륨 설푸나토- α -D-만노피라노실-(1→2)-3,4,6-트라이-*O*-나트륨 설푸나토- α -D-만노피라노사이드(11)

[0097] (a) 탈아세틸화를 위한 일반적인 공정에 따라, MeOH(3 mL) 중의 글리코사이드(9)(39.6 mg, 0.0213 mmol)를 NaOMe(MeOH 중의 11 M, 40 μ L, 0.44 μ mol)로 처리하였다. 혼합물을 실온에서 24시간동안 교반하고, AG50WX8 수지(H⁺ 형태)를 첨가하여 중화시키고, 여과하고, MeOH로 세정하였다. 여과액을 증발시키고, 잔사를 P₂O₅ 하에서 진공 건조기에서 건조시켰다. (b) 설푸나화를 위한 표준 절차에 따라, 상기 폴리올(10)을 설푸나화시키고, SEC로 정제하여 생성물(11)을 백색 분말로서 수득하였다(40 mg, 68%).

¹H NMR (D₂O, 400 MHz,

4.60 ppm에서의 내부 DOH) δ 8.05 (s, 1H, 트리아졸 -CH), 7.97 (d, 1H, $J=8.3$), 7.90 (d, 2H, $J=7.8$), 7.55-7.40 (m, 4H), 5.44-5.22 (m, 4H), 5.09-3.82 (m, 33H, 당 및 NCH₂), 3.41-3.33 (m, 1H, OCH₂), 3.25-3.16 (m, 1H, OCH₂), 1.78 (오중선, 2H, CH₂), 1.14-0.79 (m, 18H, 9×CH₂).

[0098]

[0099] 실시예 4: 2,3,4,6-테트라-*O*-아세틸- α -D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-*O*-아세틸- α -D-만노피라노실-(1→

3)-2,4,6-트라이-*O*-아세틸- α -D-만노피라노실-(1→2)-2,3,4,6-테트라-*O*-아세틸-D-만노피라노스(13)

[0100] 테트라사카라이드(12)[30]를 피아세틸화(Ac_2O , 피리딘, DMAP, 실온, 4일)하고, 플래쉬 크로마토그래피(실리카 겔, 헥산-EtOAc 농도구배)로 정제하여 피아세테이트(13)를 오일로서 수득하였다.

^1H

[0101] NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 6.20 (d, 1H, $J_{1,2} = 1.8$, H-1), 5.35-5.15 (m, 7H), 5.05-4.92 (m, 5H), 4.30-3.85 (m, 15H), 2.18 (s, 6H, OAc), 2.14 (s, 6H, OAc), 2.12 (s, 6H, OAc), 2.10 (s, 3H, OAc), 2.08 (s, 6H, OAc), 2.06 (s, 3H, OAc), 2.03 (s, 3H, OAc), 2.02 (s, 6H, OAc), 1.97 (s, 3H, OAc).

[0102] 2,3,4,6-테트라-*O*-아세틸- α -D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-*O*-아세틸- α -D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-*O*-아세틸- α -D-만노피라노실-(1→2)-3,4,6-트라이-*O*-아세틸- α -D-만노피라노실 트라이클로로아세트이미데이트(14)

[0103] 0 °C에서 다이에틸 에터(3.0 mL) 및 THF(750 μL) 중의 피아세테이트(13)(500 mg, 398 μmol)를 벤질아민(0.137 g, 1.3 mmol, 139 μL)으로 처리하였다. 혼합물을 실온으로 서서히 가온시키고, 하룻밤동안 반응시켰다. 용매를 증발시키고, 잔사를 DCM에 취하고, 차가운 0.5 M HCl(x3) 및 이어서 염수로 세척하고, 유기 용액을 건조(Na_2SO_4)시키고, 여과하고, 증발시켰다. 잔사를 무수 DCM에 취하고, 분자 체(3Å, 30 mg), 무수 탄산 세슘(12.9 mg, 39.8 μmol) 및 탄산 칼륨(110 mg, 796 μmol)을 첨가하였다. 혼합물을 0 °C에서 교반한 후, 트라이클로로아세토니트릴(115 mg, 80 μL , 796 μmol)을 첨가하였다. TLC에 의해 완전한 전환이 확인될 때까지 혼합물을 실온에서 5시간동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 용매를 증발시켜 조질 생성물을 생성하고, 이를 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 , 6:1 헥산:EtOAc 내지 1:3 헥산:EtOAc, 1:2 헥산:EtOAc으로 용출된 생성물)하여 트라이클로로아세트이미데이트(14)(307.5 mg, 57 %)를 투명한 오일로서 수득하고, 이를 냉장고에서 정치시켜 고형화시켰다.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 6.40 (d,

[0104] 0.7H, $J_{1,2} = 1.5$, H-1 $^\alpha$), 6.22 (d, 0.3H, $J_{1,2} = 1.5$, H-1 $^\beta$), 5.40-5.14 (m, 7H), 5.05-4.89 (m, 5H), 4.31-3.84 (m, 15H), 2.19-1.98 (m, 39H, OAc).

[0105] 3 β -콜레스테릴 2,3,4,6-테트라-*O*-아세틸- α -D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-*O*-아세틸- α -D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-*O*-아세틸- α -D-만노피라노사이드(15)

[0106] -20 °C에서 DCE(3Å MS 상에서 건조됨, 0.7 mL, 0.094M) 중의 (14)(90 mg, 0.0663 mmol) 및 콜레스테롤(39.8 mg, 0.0995 mmol, 1.5 eq)의 용액을 3Å MS(~50 mg)과 함께 교반하고, 이동안 TMSOTf(18 mL, 0.0995 mmol, 1.5 eq)를 주사기로 첨가하였다. 온도(외부)를 40분동안 -5 °C까지 가온시켰다. 황색이 서서히 오렌지색(적색을 띠는)으로 변하였다. Et_3N (50 μL)을 첨가하였다. 색이 즉각적으로 사라졌다. 혼합물을 DCM(20 mL)로 희석시키고, 포화 Na_2CO_3 -염수로 세척하고, 건조(Na_2SO_4)시키고, 여과하였다. 여과액을 실리카 겔 상으로 증발시키고, 컬럼 크로마토그래피(실리카 1x18 cm, 헥산-EtOAc 4:1, 2:1, 1:1, 1:2 내지 1:3를 이용한 농도구배 용출)로 정제하여 글리코사이드(15)를 무색 검으로서 수득하였다(58 mg, 55%).

[0107] ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): 5.34-5.14 (m, 8H, 당 및 콜레스테롤 -H6), 5.05-4.90 (m, 6H, 당), 4.30-3.84 (m, 15H, 당), 2.34-0.80 (m, 30H, 콜레스테롤), 2.17, 2.16, 2.13, 2.06, 2.05, 2.02, 2.01, 2.01, 1.96 (각각 s, 각각 3H, 9xAc), 2.11, 2.10 (각각 s, 각각 6H, 4xAc), 0.98 (s, 3H, Me), 0.90 (d, 3H, $J = 6.4$, Me), 0.85 (d, 3H, $J = 6.4$, Me), 0.84 (d, 3H, $J = 6.4$, Me), 0.66 (s, 3H, Me); ESMS: m/z 1604 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$).

[0108] 3 β -콜레스테릴 α -D-만노피라노실-(1→3)- α -D-만노피라노실-(1→3)- α -D-만노피라노실-(1→2)- α -D-만노피라노사이드(16)

[0109] MeOH(3Å MS 상에서 건조됨, 3 mL) 중의 (15)(56 mg, 0.0354 mmol)의 용액을 MeOH(50 μL) 중의 11M NaOMe와 함께 40분동안 교반하였다. 백색 침전물이 형성되었다. THF(1 mL)를 첨가하였으나 용해성이 개선되지 않았다. DMF(4 mL)를 첨가하였다. 일부 침전물이 용해되었다. 혼합물을 총 6시간동안 교반하였다. 물(0.8 mL)을 첨가

하여 투명한 용액을 만들었다. AG50W-X8 수지(H^+ 형태)를 첨가하여 pH를 6 내지 7로 조절하였다. 혼합물을 여과하고, 수지를 MeOH(1 mL)로 세척하였다. 심한 기포가 발생하면 회전 증발기상에서의 증발을 중단하였다. 혼합물을 공기-흐름으로 증발시키고, 8시간동안 동결건조시켜 폴리올(16)을 백색 고형물로서 수득하고, 이를 P_2O_5 하에서 진공 건조기에서 하룻밤동안 건조시키고, 다음 단계에 직접 사용하였다.

[0110] **3 β -콜레스테릴 2,3,4,6-테트라-O-나트륨 설프onato- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-O-나트륨 설프onato- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-O-나트륨 설프onato- α -D-만노피라노사이드(17)**

[0111] 설폰화를 위한 표준 절차에 따라, 폴리올(16)(0.0354 mmol)을 설폰화시켰다. 5 M NaOH(561 mL, 2.81 mmol, 2.05 eq, SO_3 피리딘 복합체 기준)를 첨가함으로써 냉각된 조절 혼합물을 염기화시켰다. 증발시킨 후, 잔사물(3 mL)에 용해시키고, SEC로 정제하였다. 순수한 분획을 조합하고, 1M Na_2CO_3 가 첨가된 순수한 물 중의 슬라이드-A-라이저(Slide-A-Lyser: 등록상표) 카세트 2K(0.5-3 mL)를 이용하여 하룻밤동안 투석시켰다. 또다른 부하량의 1M Na_2CO_3 를 첨가하고, 신선한 정제된 물을 교환하였다. 하룻밤동안 계속 투석하였다. 황색 용액을 제거하고, 동결건조시켜서 생성물(17)을 회백색 분말(34.8 mg, 42%)로서 수득하였다.

1H NMR (D_2O , 400 MHz) δ 6.41-6.26 (m, 4H, 당 및 콜레스테릴 -H6), 5.09 (s, 1H), 5.03 (d, 1H, $J=2.2$), 4.86 (s, 1H), 4.73-3.94 (m, 22H), 3.51 (m, 1H, 콜레스테릴 -H3), 2.35 (dm, 1H, $J=11.7$, 콜레스테릴 -H4), 2.24 (dm, 1H, $J=11.7$, 콜레스테릴 -H4), 1.90-0.51 (m, 0.869 [s, 3H], 0.766 [d, 3H, $J=6.6$], 0.689 [d, 3H, $J=6.6$], 0.686 [d, 3H, $J=6.6$], 및 0.533 [s, 3H], 43H, 콜레스테릴 포함).

[0112]

[0113] **실시예 5: 콜레스탄올**

[0114] 콜레스테롤(500 mg)을 에틸 아세테이트에 취하였다. 탄소상의 10% 팔라듐(촉매)을 첨가하고, 혼합물을 수소 풍선 하에서 하룻밤동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 용매를 증발시켜 생성물을 정량 수율의 백색 고형물로서 수득하였다.

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 3.58 (m, 1H, CHOH), 2.44 (넓음, 1H, OH), 1.97-0.83 (m, 31H), 0.88 (d, 3H, $J=6.6$, CH_3), 0.85 (dd, 6H, $J=1.5$, $J=6.6$, CH_3), 0.79 (s, 3H, CH_3), 0.64 (s, 3H, CH_3).

[0115]

[0116] **3 β -콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-O-아세틸- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-O-아세틸- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-O-아세틸- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 2)-3,4,6-트라이-O-아세틸- α -D-만노피라노사이드(18)**

[0117] 아르곤 하에서, DCM(32 mL) 중의 (14)(600 mg, 4.42×10^{-4} moles)의 용액에 콜레스탄올(300 mg)을 첨가하였다. 혼합물을 $-20^\circ C$ 에서 20분간 교반하였다. TMSOTf(40 μl)를 첨가하였다. 혼합물을 $-20^\circ C$ 에서 40분간 교반한 후, 20분동안 $-10^\circ C$ 로 가온시켰다. 트라이에틸아민(70 μl)을 혼합물에 첨가하고, 이를 실온으로 가온시켰다. 용매를 증발시켰다. 조절 생성물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 : 3:1 Hex:EtOAc 내지 1:2 Hex:EtOAc)로 정제하여 글리코사이드(18)(220 mg, 31 %)를 투명한 오일로서 수득하였다.

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.35-5.15 (m, 7H), 5.03-4.91 (m, 6H), 4.31-3.85 (m, 15H), 3.51 (m, 1H, C-3), 2.18 (s, 3H, OAc), 2.17 (s, 3H, OAc), 2.14 (s, 3H, OAc), 2.12 (s, 6H, OAc), 2.11 (s, 3H, OAc), 2.10 (s, 3H, OAc), 2.07 (s, 3H, OAc), 2.06 (s, 3H, OAc), 2.05 (s, 3H, OAc), 2.03 (s, 3H, OAc), 2.00 (s, 3H, OAc), 1.97-0.78 (m, 31H, 콜레스탄올), 1.97 (s, 3H, OAc), 0.88 (d, 3H, $J=6.6$, CH_3), 0.85 (dd, 6H, $J=1.5$, $J=6.6$, CH_3), 0.79 (s, 3H, CH_3), 0.63 (s, 3H, CH_3).

[0118]

[0119] **3 β -콜레스타닐 α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 2)- α -D-만노피라노사이드(19)**

[0120] 글리코사이드(18)(43.1 mg)을 일반적인 방법에 따라 탈아세틸화시켜 폴리올(19)을 백색 고형물(21 mg, 74 %)로

서 수득하고, 이를 추가의 정제 또는 특성화없이 반응시켰다.

[0121] 3 β -콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-*O*-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-*O*-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-*O*-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 2)-3,4,6-트라이-*O*-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노사이드(20)

[0122] 폴리올(19)(19 mg, 18.3 μ mol)을 DMF(1.3 mL, 0.015 M)에 용해시켰다. SO₃.피리딘(6 당량/OH, 1.43 mmol, 227 mg)을 첨가하고, 혼합물을 60 °C에서 하룻밤동안 교반하였다. 혼합물을 빙수에 냉각시킨 후, 5M NaOH(613 μ l)을 한번에 모두 첨가하여 용액을 중화시켰다. 용매를 증발시켰다. 잔사를 C18 SPE 카트리지를 이용하여 탈색시키고, 48시간동안 3회 물을 갈아주면서 2000 MWC0 투석 카트리지를 이용한 투석에 의해 탈염시킨 후, 동결 건조시켜 생성물(20)을 백색 고형물(19.2 mg, 44 %)로서 수득하였다.

[0123] ¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 5.52-5.46 (m, 3H), 5.26-5.20 (m, 2H), 5.04 (m, 1H), 4.88 (m, 1H), 4.84-4.15 (m, 21H), 3.76 (m, 1H, C-3), 2.00-0.81 (m, 31H, 콜레스탄올), 0.91 (d, 3H, CH₃), 0.86 (d, 6H, J = 6.2, CH₃), 0.81 (s, 3H, CH₃), 0.66 (s, 3H, CH₃).

[0124] 실시예 6. 3-아지도프로프-1-일 2,3,4,6-테트라-*O*-아세틸- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-*O*-아세틸- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-*O*-아세틸- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 2)-3,4,6-트라이-*O*-아세틸- α -D-만노피라노사이드(21)

[0125] BF₃·Et₂O(78 mg, 550 μ mol)를 무수 DCE(8 mL) 중의 피아세테이트(13)(276 mg, 220 μ mol) 및 3-아지도프로판-1-올[31](67 mg, 660 μ mol)의 용액에 첨가하였다. 밀봉된 용기에서 용액을 60 °C에서 2시간동안 교반한 후, 추가 부분의 BF₃·Et₂O(115 mg, 810 μ mol)를 첨가하고, 용액을 추가 3시간동안 가열하였다. 용액을 실온으로 냉각시키고, 분쇄된 얼음, NaHCO₃(포화 수용액) 및 염수의 혼합물에 부었다. 혼합물을 EtOAc로 추출하고, 유기층을 1:1 염수:NaHCO₃(포화 수용액)으로 추가로 세척한 후, 건조(Na₂SO₄)시키고, 증발시키고, 무수 톨루엔과 함께 증류하였다. 무수 DCM(5 mL), 아세트산 무수물(66 mg, 648 μ mol), Et₃N(89 mg, 875 μ mol) 및 DMAP(결정)을 첨가하고, 용액을 -20 °C에서 하룻밤동안 저장하였다. 용액을 제조된 플래쉬 크로마토그래피 컬럼(17X2 cm 실리카 겔, 60:40 내지 75:25 EtOAc:Hx 농도구배 용출)에 직접 가하여 글리코사이드(21)(176 mg, 61%)를 오일로서 수득하였다.

[0126] ESMS: m/z 1319.69 ([M+Na]⁺). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.31-5.12 (m, 7H), 5.00-4.87 (m, 6H), 4.26-3.94 (m, 11H), 3.90-3.81 (m, 2H), 3.77 (dt, 1H, J = 9.9, 6.0), 3.47 (dt, 1H, J = 9.9, 6.0), 3.42-3.32 (m, 2H), 2.14(1), 2.13(5), 2.10, 2.08 \times 2, 2.06 \times 2, 2.05, 2.03(2), 2.02(5), 1.99, 1.98, 1.93 (13 \times s, 13 \times 3H, OAc \times 13), 1.84 (오중선, 1H, J = 6.2). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ :170.6, 170.5, 170.4, 170.3, 170.1(4), 170.0(9), 169.9(2), 169.8(8), 169.7, 169.6, 169.5(4), 169.4(5), 169.3, 99.4, 98.9, 98.8, 98.1, 76.8, 75.1(5), 75.1(1), 70.9, 70.8, 70.1, 69.6, 69.5, 69.4, 69.2, 68.5, 68.3, 67.3, 66.6, 66.1, 65.5, 64.7, 62.5, 61.9, 61.7, 48.0, 28.5, 20.8(4), 20.7(6), 20.7, 20.6, 20.5(4), 20.5(2), 20.4(9), 20.4(7).

[0127] 3-스테아르아미도프로필 2,3,4,6-테트라-*O*-아세틸- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-*O*-아세틸- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-*O*-아세틸- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 2)-3,4,6-트라이-*O*-아세틸- α -D-만노피라노사이드(22)

[0128] (a) 글리코사이드(21)(500 mg, 386 μ mol)를 THF(10 mL)에 용해시켰다. 중합체 결합된 트라이페닐포스핀(725 mg)을 첨가하고, 혼합물을 1시간동안 실온에서 교반하였다. 물(210 μ l)을 첨가하고, 혼합물을 50 °C에서 4시간동안 교반하였다. 혼합물을 냉각시키고, 여과하고, 용매를 증발시켜 백색 고형물을 수득하고, 이를 추가의 정제 또는 특성화없이 다음 단계에서 이용하였다.

[0129] (b) 상기 아민(250 mg, 197 μ mol)을 DCM(6 mL)에 용해시켰다. 스테아로일 클로라이드(2 당량, 394 μ mol, 119 mg, 133 μ l) 및 이어서 트라이에틸아민을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 5시간동안 교반하였다. 용매를 증발시키고, 잔사를 DCM에 취한 후, NaHCO₃(포화)로 세척하고, 건조(Na₂SO₄)시키고, 용매를 증발시켰다. 조질 생성물

을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂: DCM → 4% MeOH/DCM)로 정제하여 아미드(22)를 투명한 오일(102 mg, 33 %)로서 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.86 (m, 1H, NH), 5.32-5.12 (m, 7H), 5.02-4.88 (m, 6H), 4.28-3.96 (m, 15H), 3.73 (m, 1H, CH₂O), 3.45 (m, 1H, CH₂O), 3.32 (m, 2H, CH₂N), 2.15 (s, 3H, OAc), 2.15 (s, 3H, OAc), 2.12 (m, 2H, CH₂CO), 2.11 (s, 3H, OAc), 2.10 (s, 6H, OAc), 2.08 (s, 6H, OAc), 2.06 (s, 3H, OAc), 2.04 (s, 6H, OAc), 2.00 (s, 3H, OAc), 1.99 (s, 3H, OAc), 1.95 (s, 3H, OAc), 1.79 (m, 2H, CH₂), 1.58 (m, 2H, CH₂), 1.28-1.20 (m, 28H, CH₂), 0.84 (t, 3H, CH₃).

[0130]

3-스테아르아미도프로필 α-D-만노피라노실-(1→3)-α-D-만노피라노실-(1→3)-α-D-만노피라노실-(1→2)-α-D-만노피라노사이드(23)

[0131]

아미드(22)(101.6 mg)를 일반적인 절차에 따라 탈아세틸화시켜 폴리올(23)(61 mg, 93%)을 백색 고형물로서 수득하고, 이를 추가의 정제 또는 특성화 없이 반응시켰다.

[0132]

3-스테아르아미도프로필 2,3,4,6-테트라-O-나트륨 설포나토-α-D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-O-나트륨 설포나토-α-D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-O-나트륨 설포나토-α-D-만노피라노실-(1→2)-3,4,6-트라이-O-나트륨 설포나토-α-D-만노피라노사이드(24)

[0133]

폴리올(23)(60.9 mg, 62 μmol)을 DMF(0.02 M, 3.1 mL)에 용해시켰다. SO₃.피리딘(3 equiv/OH, 2.42 mmol, 385 mg)을 첨가하고, 용액을 60 °C에서 하룻밤동안 교반하였다. 혼합물을 빙수에서 냉각시키고, 5M NaOH(2.1 equiv/SO₃.피리딘, 5.08 mmol, 1.02 mL)을 한번에 모두 첨가한 후, 용매를 증발시켰다. 화합물을 물 중의 1% MeOH에 취하고, C18 SPE 카트리지를 상에서 정제하였다. 그런 다음, 화합물을 2000 MWCO 투석 카트리지를 이용하여 이틀 밤동안 투석한 후, 동결건조시켜 생성물(24)(113 mg, 79 %)을 백색 고형물로서 수득하였다.

[0134]

¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 5.56 (m, 1H), 5.48 (m, 2H), 5.28 (m, 1H), 5.11 (m, 1H), 5.06 (m, 1H), 4.91-4.13 (m, 22H), 3.87 (m, 1H, CH₂O), 3.70 (m, 1H, CH₂O), 3.32 (m, 2H, CH₂N), 2.29 (t, 2H, CH₂CO), 1.88 (m, 2H, CH₂), 1.62 (m, 2H, CH₂), 1.33-1.28 (m, 28H, CH₂), 0.90 (t, 3H, CH₃).

[0135]

실시예 7. 3β-콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-O-아세틸-α-D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-O-아세틸-α-D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-O-아세틸-α-D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-O-아세틸-α-D-만노피라노실-(1→2)-3,4,6-트라이-O-아세틸-α-D-만노피라노사이드(25)

[0136]

트라이클로로아세트이미데이트 1(165 mg, 0.1 mmol), 콜레스타놀(78 mg, 2 eq, 0.2 mmol) 및 3 Å 분자 체(100 mg)를 무수 DCM 중에서 2시간동안 교반하였다. 무수 DCM(0.4 M, 0.075 mL, 0.03 mmol, 0.3 eq)중의 TMS-트라이플레이트 용액을 0 °C에서 적가하고, 동일한 온도에서 40분동안 계속 교반하였다. Et₃N(5 mL)를 첨가하여 반응을 급냉시키고, EtOAc(100 mL)로 희석시키고, 초음파처리(3분)하고, 따라내었다. 유기 용액을 포화 NaHCO₃-용액(3x20 mL)으로 세척하고, 유기 상을 EtOAc(3x20 mL)로 추출하고, 염수(1x20 mL)로 세척하고, 건조(Na₂SO₄)시키고, 진공 하에서 농축하여 글리코사이드를 무색 포움으로서 수득하였다. 생성물을 실리카 겔(20X2 cm, 톨루엔:EtOAc, 1:2)의 컬럼 상에서 정제하였다. 정제는 2가지 분획(A, B)을 생성하고, 분획 A(90 mg, 48 % 수율)는 순수한 생성물을 함유하지만, 분획 B는 순수한 생성물과 탈아세틸화된 생성물의 혼합물(1:1, 74 mg)을 함유한다. 바람직한 글리코사이드의 수율을 개선시키기 위해서, 건조된 분획 B 및 DMAP(cat)을 무수 피리딘(2 mL)에 용해시키고, 0 °C에서 Ac₂O(0.1 mL)를 적가함으로써 탈아세틸화시키고, 실온에서 2시간동안 계속 교반하였다. 0 °C에서 무수 MeOH(5 mL)를 첨가함으로써 혼합물을 급냉시키고, 30분동안 계속 교반하였다. 용액을 진공 하에서 농축시키고, 톨루엔(3x20 mL)과 함께 추출하여 순수한 글리코사이드(25)(71 mg, 38 % 수율)를 86 %의 총 수율로서 수득하였다.

[0137]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 5.14-5.32 (m, 9 H, 5 H-4, 2 H-3, H-2^{IV}), 4.90-5.05 (m, 8 H, 5 H-1, 3 H-3), 3.90-4.31 (m, 19 H, H-2, H-3^I, H-3^{II}, H-3^{III}, 5 H-5, 5 H-6^a, 5 H-6^b), 3.80 (ddd, 1 H, H-5), 3.52 (m, 1 H, H-3 Chol.), 2.18, 2.17, 2.14, 2.12, 2.11, 2.10, 2.08, 2.07, 2.06, 2.03, 2.01, 1.98, (s, 48H, 16 × Ac), 0.55-1.82 (m, 33 H, 12 CH₂, 9 CH), 0.89 (d, 3H, *J* = 6.8, 콜레스타닐 -CH₃), 0.857 (d, 3H, *J* = 6.8, 콜레스타닐 -CH₃), 0.853 (d, 3H, *J* = 6.6, 콜레스타닐 -CH₃), 0.79 (s, 3H, 콜레스타닐 -CH₃), 0.64 (s, 3H, 콜레스타닐 -CH₃).

[0138]

3β-콜레스타닐 α-D-만노피라노실-(1→3)-α-D-만노피라노실-(1→3)-α-D-만노피라노실-(1→3)-α-D-만노피라노실-(1→2)-α-D-만노피라노사이드(26)

[0139]

글리코사이드(25)(181 mg, 0.097 mmol)를 일반적인 절차에 따라 탈아세틸화시켜 백색 결정성 폴리올(26)(116 mg, 100%)을 수득하고, 이를 다음 단계에서 추가의 정제 또는 특성화없이 이용하였다.

[0140]

3β-콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-O-나트륨 설포나토-α-D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-O-나트륨 설포나토-α-D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-O-나트륨 설포나토-α-D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-O-나트륨 설포나토-α-D-만노피라노사이드(27)

[0141]

무수 폴리올 (26)(40 mg, 0.033 mmol)을 무수 DMF(0.83 mL)에 용해시키고, 새로 세척되고 건조된 SO₃.피리딘 (250 mg, OH-기 당 3 당량, 1.85 mmol)을 첨가하고, 60 °C에서 16시간동안 교반하였다. 0 °C에서(pH 12) 수성 NaOH 용액(5 M, 2.1 eq SO₃, 0.66 mmol)를 적가함으로써 반응을 급냉시키고, 40 °C에서 진공에서 농축하여 황색 분말을 수득하였다. 분말을 물(HPLC 등급, 12 mL)에 용해시키고, 정제된 물에 대해 2K 카트리지에서 36시간동안 투석하였다. 16시간 후에, NH₄HCO₃(0.1 M, 0.5 mL) 수용액을 카트리지에 첨가하여 pH가 7보다 높아지게 하였다. 생성물을 10 % MeCN-물 → 35 % MeCN-물의 농도 구배 및 5mL/분의 유속을 이용하고, ELS로 검출되는 역상 HPLC로 정제하였다. 순수한 생성물을 함유한 분획을 수집하고, 동결건조하여 (27)을 백색의 솜털같은 분말 (23.8 mg, 25 % 수율)로서 수득하였다.

[0142]

¹H NMR (400 MHz, D₂O): ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.48-5.57 (m, 4 H, 4 H-2), 5.29, 5.23 (bs, 4 H, H-1', H-1'', H-1''', H-1'''), 4.35-4.90 (m, 23 H, H-1, 5 H-3, 5 H-4, 2 H-5, 5 H-6^a, 5 H-6^b, 4.28 (t, 1 H, H-2), 4.15-4.24 (m, 3 H, 3 H-5), 3.81 (m, 1 H, H-3 Chol.), 0.66-2.05 (m, 33 H, 12 CH₂, 9 CH), 0.96, 0.94, 0.90, 0.88, 0.85, 0.70 (s, 15 H, CH₃), 0.85 (d, 3H, *J* = 6.8, 콜레스타닐 -CH₃), 0.88 (d, 6H, *J* = 6.8, 2 × 콜레스타닐 -CH₃), 0.85 (s, 3H, 콜레스타닐 -CH₃), 0.70 (s, 3H, 콜레스타닐 -CH₃).

[0143]

실시예 8. 벤질 2,3,4,6-테트라-O-벤조일-α-D-만노피라노실-(1→2)-3,4,6-트라이-O-벤조일-α-D-만노피라노사이드(28)

[0144]

2,3,4,6-테트라-O-벤조일-α-D-만노피라노실 트라이클로로아세트이미데이트 [32](0.609 g, 0.822 mmol, 1.1 eq) 및 벤질 3,4,6-트라이-O-벤조일-α-D-만노피라노사이드[33](0.435 g, 0.747 mmol)를 무수 DCM(6 mL)에 용해시켰다. 분말 MS 3Å(80 mg, 새로 활성화됨)를 첨가하였다. 혼합물을 0 °C에서 40 분동안 교반하였다. DCM(1.5 mL) 중의 TMSOTf(0.027 mL, 0.149 mmol, 0.2eq)의 용액을 적가하였다. 혼합물을 0 °C에서 교반하고, 이동한 반응을 TLC(헥산-EtOAc = 65:35)로 모니터링하였다. 40분 후에, 반응이 종료되고, Et₃N(0.3 mL, 2.15 mmol)를 첨가하였다. 조질 혼합물을 다른 배치(TCA: 1.42 g, 2.098 mmol; 2-알콜: 1.22 g, 2.098 mmol, TMSOTf: 0.114 mL, 0.629 mmol, 0.3 eq, 0 °C, 40 분)에서 나온 조질물과 조합하였다. 혼합물을 셀라이트 플러그를 통해 여과하고, DCM(3X1 mL)로 세정하였다. 조합된 여과액 및 세척액을 첨가하고, 피리딘(0.121 mL, 1.494 mmol, 2 eq) 및 벤조일 클로라이드(0.130 mL, 1.212 mmol, 1.5 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 교반하고, 실리카 겔 상으로 증발시키고, 컬럼 크로마토그래피(실리카 겔 3X20 cm, 헥산-EtOAc 200:20, 400:80, 200:50, 240:80, 200:90, 200:100를 이용한 농도구배 용출)로 정제하여 다이사카라이드(28)를 무색 점으로서 수득하였다(594 mg, 68%).

[0145]

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 8.15-7.88 (m, 14H, Ph), 7.59-7.25 (m, 26H, Ph), 6.16-5.94 (m, 5H), 5.30-5.27 (m, 2H), 4.82 (d, 1H, *J* = 11.7), 4.68-4.39 (m, 8H).

[0146]

[0147]

2,3,4,6-테트라-*O*-벤조일-α-D-만노피라노실-(1→2)-3,4,6-트라이-*O*-벤조일-D-만노피라노스(29)

[0148]

다이사카라이드 28(670 mg, 0.577 mmol)를 MeOH(3 mL) 및 EtOAc(30 mL)에 용해시켰다. 차콜 상의 팔라듐(5%, 80 mg)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 50 psi의 수소 하에서 교반하였다. TLC는 약 60%의 전환을 나타내었다. 보다 많은 차콜 상의 팔라듐(5%, 80 mg)을 첨가하였다. 50 psi에서 3일동안 계속 교반하였다. TLC는 전환이 종료되었음을 나타내었다. 혼합물을 셀라이트 플러그를 통해 여과하고, EtOAc(5X1 mL)로 세정하였다. 조합된 여과액 및 세척액을 건조되도록 증발시켜 표제 화합물(29)을 무색 포움(609 mg, 99%)으로서 수득하였다. 생성물을 정제하지 않고 다음 단계에 직접 사용하였다.

[0149]

2,3,4,6-테트라-*O*-벤조일-α-D-만노피라노실-(1→2)-3,4,6-트라이-*O*-벤조일-D-만노피라노실 트라이클로로아세트 이미데이트(30)

[0150]

무수 DCM(2.8 mL, 0.2 M) 중의 (29)(609 mg, 0.569 mmol)의 미리 냉각된(0 °C) 용액에 트라이클로로아세트니트릴(114 μL, 1.138 mmol, 2 eq)을 첨가하였다. 무수 DCM(0.3 mL) 중의 DBU(4.3 μL, 0.05 eq, 0.0285 mmol)의 용액을 첨가하였다. 혼합물을 0 °C에서 4시간동안 교반하고, TLC(헥산-EtOAc = 65:35)는 완전한 전환을 나타내었다. 조질 혼합물을 실리카 겔 상으로 증발시키고, 실리카 컬럼 크로마토그래피(2.5X14 cm, 헥산-EtOAc-Et₃N 210:20:0.5, 200:50:0.5, 180:60:0.5, 150:70:0.5를 이용한 농도구배 용출)에 의해 정제하였다. 생성물 분획을 조합하고, 증발시키고, P₂O₅ 상에서 진공 건조기에서 건조시켜 트라이클로로아세트이미데이트(30)를 백색 포움(530 mg, 77%)으로서 수득하고, 이를 추가의 정제없이 다음 단계에서 이용하였다.

[0151]

3β-콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-*O*-벤조일-α-D-만노피라노실-(1→2)-3,4,6-트라이-*O*-벤조일-α-D-만노피라노사이드(31)

[0152]

무수 DCM(3.8 mL) 중의 트라이클로로아세트이미데이트(30)(260 mg, 0.214 mmol) 및 3β-콜레스타닐(166 mg, 0.428 mmol, 2 eq)의 용액에 신선하게 활성화된 분말 분자 체 3Å(50 mg)를 첨가하였다. 혼합물을 0 °C에서 0.5시간동안 교반하고, 0 °C에서 무수 DCM(0.3 mL) 중의 TMSOTf(7.7 μL, 0.0428 mmol, 0.2 eq)의 용액을 적가하였다. 혼합물을 0 °C에서 1.5시간동안 교반하고, TLC는 반응의 종료를 나타내었다. Et₃N(150 μL)를 첨가하고, 혼합물을 실리카 겔 상으로 증발시키고, 실리카 컬럼 크로마토그래피(2X15 cm, 헥산-EtOAc 210:20, 200:50, 180:60, 180:90를 이용한 농도구배 용출)로 정제하여 글리코사이드(31)를 백색 포움으로서 수득하였다(301 mg, 98%).

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 8.11-7.28 (m, 35H, Bz), 6.09 (dd, 1H, *J*_{H3(II)-H4(II)} = 10.3, *J*_{H4(II)-H5(II)} = 9.6, H⁴), 5.97-5.87 (m, 3H, H², H³ 및 H⁴), 5.28 (d, 1H, *J*_{H1-H2} = 2.2, H¹), 5.28 (d, 1H, *J*_{H1-H2} = 1.5, H¹), 4.69-4.44 (m, 6H, H⁵, H⁵, H⁶ 및 H⁶), 4.33 (br s, 1H, H²), 3.59 (m, 1H, OCH-*chol*), 3.02 (dd, 1H, *J*_{H2(II)-H3(II)} = 2.9, H³), 1.99-0.47 (m, 31H, 콜레스타닐), 0.91 (d, 3H, *J* = 6.6, 콜레스타닐 -CH₃), 0.872 (d, 3H, *J* = 6.6, 콜레스타닐 -CH₃), 0.867 (d, 3H, *J* = 6.6, 콜레스타닐 -CH₃), 0.75 (s, 3H, 콜레스타닐 -CH₃), 0.65 (s, 3H, 콜레스타닐 -CH₃).

[0153]

[0154]

3β-콜레스타닐 α-D-만노피라노실-(1→2)-α-D-만노피라노사이드(32)

[0155]

무수 THF(4 mL) 및 MeOH(6 mL) 중의 (31)(293 mg, 0.203 mmol)의 용액을 MeOH(0.1 mL, 1.1 mmol, 5.4 eq) 중의 11 M NaOMe의 용액으로 처리하였다. 혼합물을 실온에서 교반하였다. 현탁액을 AcOH(50 mL)로 처리하여 투명한 용액을 수득하였다. AG50WX8 수지(H⁺ 형태)를 첨가하여 pH를 6으로 조절하였다. 혼합물을 여과하고, 수지를 MeOH(2X2 mL)로 세척하였다. 조합된 여과액 및 세척액을 건조되도록 증발시키고 진공 건조기에서 건조시켜 폴리올(32)을 담황색 분말(171 mg, 118%)로서 수득하고, 이를 추가의 정제없이 다음 단계에서 이용하였다.

[0156]

3β-콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-*O*-나트륨 설포나토-α-D-만노피라노실-(1→2)-3,4,6-트라이-*O*-나트륨 설포나토-α-D-만노피라노사이드(33)

[0157]

폴리올(32)(96 mg, 0.135 mmol)을 무수 DMF(3.4 mL, 0.04 M)에 용해시켰다. 삼산화황-피리딘 복합체(451 mg,

2.835 mmol, 하이드록실 당 3당량, 물, 톨루엔, EtOH, DCM으로 신선하게 세척되고, 진공 건조기에서 P_2O_5 하에서 1시간동안 건조시킴)를 첨가하였다. 혼합물을 60 °C에서 교반하고, 0 °C로 냉각시켰다. 5 M NaOH(794 μ L, 3.969 mmol, SO_3 에 근거한 1.4 당량) 및 포화 Na_2CO_3 (2.5 M, 690 mL, 1.701 mmol, SO_3 기준으로 0.6 당량)를 첨가하였다. 색이 약간 더 어둡게 변하였다(황색-주황색). 혼합물을 건조되도록 증발시켰다. 잔사를 4 mL의 물(pH >9)에 용해시키고, 바이오-겔(Bio-Gel) P-2 컬럼 크로마토그래피(196 mL/h의 0.1 M NH_4HCO_3 으로 용출, 수집당 6분)으로 정제하였다. 생성물 분획을 MBT 및 CE으로 확인하였다. 동결건조시켜 생성물(33)을 담황색 분말(33 mg, 2 단계에 20%)로서 수득하였다.

1H NMR (D_2O , 300 MHz) δ 5.27 (s, 1H), 4.98 (s, 1H), 4.81 (s, 1H), 4.64-4.48 (m, 4H), 4.38-4.18 (m, 4H), 4.08-3.85 (m, 4H), 3.50 (m, 1H, OCH), 1.75-0.49 (m, 46H, 콜레스타닐).

[0158]

[0159]

실시예 9. 2,3,4,6-테트라-O-아세틸- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-O-아세틸- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 2)-3,4,6-트라이-O-아세틸- α -D-만노피라노실 트라이클로로아세트이미데이트(36)

[0160]

트라이사카라이드(34)[30]를 피아세틸화(Ac_2O , 피리딘, DMAP, 실온, 4일)시키고, 플래쉬 크로마토그래피(실리카 겔, 헥산-EtOAc 농도구배)로 정제하여 피아세테이트(35)를 오일로서 수득하였다. 0 °C에서, 빙초산(0.65 mmol, 0.038 mL)을 무수 THF(15 mL) 중의 에틸렌다이아민(1.2 mmol, 0.08 mL)의 용액에 적가하여 침전물을 즉시 형성시키고, 이는 수성 후처리까지 남아있다. 0 °C에서 피아세테이트(35)(500 mg, 0.52 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 2.5시간동안 교반하고, -20 °C에서 하룻밤동안 저장하였다. 그런 다음, TLC(톨루엔/EtOAc, 1:2)는 출발 물질이 없고, 더 느리게 움직이는 생성물(이는 아마도 아노머 혼합물로 보인다)이 존재함을 나타낸다. 아세트산(0.12 mL)을 첨가하여 pH가 6이 되도록 용액을 중화시켰다. 용매를 공기의 스트림 하에서 증발시키고, 잔사를 EtOAc(100 mL)에 용해시키고, 포화 $NaHCO_3$ -용액(3X50 mL), 물(3X10 mL), 염수(30 mL)로 세척하고, 건조(Na_2SO_4)시키고, 진공에서 농축하여, 헤미아세탈을 황색 포움(500 mg)으로서 수득하고, 이를 추가의 정제없이 이용하였다. 헤미아세탈(500 mg, 약 0.54 mmol)을 무수 DCM(4 mL)에 용해시키고, K_2CO_3 (0.95 g, 6.81 mmol) 및 트라이클로로아세트니트릴(0.67 mL, 6.63 mmol)를 0 °C에서 첨가하고, 실온에서 120분동안 계속 교반하였다. 혼합물을 실리카 겔(30X2.5 cm, 톨루엔-EtOAc, 1:1 \rightarrow 1:2 \rightarrow EtOAc) 컬럼 상에서 직접 정제하여, 트라이클로로아세트이미데이트(36)를 백색의 솜털같은 분말(300 mg, 65 %)로서 수득하였다. 화합물을 P_2O_5 상에서 하룻밤동안 건조시키고, -20 °C에서 저장하였다.

[0161]

3 β -콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-O-아세틸- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-O-아세틸- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 2)-3,4,6-트라이-O-아세틸- α -D-만노피라노사이드(37)

[0162]

이미데이트(36)(295 mg, 0.28 mmol), 콜레스타놀(210 mg, 2 eq, 0.56 mmol) 및 3Å 분자 체(100 mg)를 무수 DCM 중에서 0.5시간동안 교반하였다. 무수 DCM(0.4 M, 0.21 mL, 0.084 mmol, 0.3 eq) 중의 TMS-트라이플레이트의 용액을 0 °C에서 적가하고, 실온에서 30분동안 계속 교반하였다. 0 °C에서(pH 5) Et_3N (0.02 mL)를 첨가함으로써 반응을 급냉시키고, DCM(25 mL)로 희석시키고, 음파처리(3 min)하고, 따라내었다. 유기 용액을 포화 $NaHCO_3$ -용액(3X20 mL)으로 세척하고, 수성 상을 EtOAc(50 mL)로 재추출하고, 염수(20 mL)로 세척하고, 건조(Na_2SO_4)시키고, 진공 하에서 농축하여 조질 글리코사이드를 백색 고형물(564 mg)로서 수득하였다. 생성물을 실리카 겔(20X2 cm, 톨루엔:EtOAc 3:2 \rightarrow 1:1 \rightarrow 1:2)의 컬럼 상에서 정제하였다. 정제하여 A 분획(56 mg, ~80 % 글리코사이드) 및 백색 고형물로서의 순수한 글리코사이드(37)를 함유하는 B 분획(170 mg, 58 % 수율)을 수득하였다.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 5.26-5.34

(m, 3H, 2 × H₄, H₃), 5.17-5.24 (m, 3H, H₂^I, H₃^{II}, H₄), 5.28 (dd, 1H, J_{H1-H2} = 2.0, H₂^{II}), 5.05 (d, 1H, J_{H1-H2} = 2.0, H₁), 5.02 (d, 1H, H₁^{II}), 4.93 (d, 1H, J_{H1-H2} = 2.0, H₁^I), 4.30 (dd, 1H, J_{H6a-H6b} = -12.7, J_{H6-H5} = 3.9, H_{6a}), 3.97-4.22 (m, 9H, 2 × H_{6a}, 3 × H_{6b}, H₃^I, 3 × H₅, 3.95 (dd, 1H, H₂), 3.53 (m, 1H, 콜레스타닐 -H₃), 2.19, 2.15, 2.14, 2.11, 2.10, 2.08, 2.07, 2.03, 2.03, 2.02, 1.99 (s, 30H, 10 × Ac), 0.55-1.85 (m, 33H, 12 CH₂, 9 CH), 0.89 (d, 3H, J = 6.8, 콜레스타닐 -CH₃), 0.860 (d, 3H, J = 6.8, 콜레스타닐 -CH₃), 0.854 (d, 3H, J = 6.6, 콜레스타닐 -CH₃), 0.80 (s, 3H, 콜레스타닐 -CH₃), 0.64 (s, 3H, 콜레스타닐 -CH₃).

[0163]

[0164]

3β-콜레스타닐 α-D-만노피라노실-(1→3)-α-D-만노피라노실-(1→2)-α-D-만노피라노사이드(38)

[0165]

일반적인 절차에 따라 피아세테이트(37)(165 mg, 0.127 mmol)를 탈아세틸화시켜 백색 결정성 폴리올(38)(107 mg, 96 % 수율)을 수득하고, 이를 다음 단계에서 추가의 정제 또는 특성화없이 이용하였다.

[0166]

3β-콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-O-나트륨 설푸나토-α-D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-O-나트륨 설푸나토-α-D-만노피라노실-(1→2)-3,4,6-트라이-O-나트륨 설푸나토-α-D-만노피라노사이드(39)

[0167]

무수 폴리올(38)(50 mg, 0.058 mmol)을 무수 DMF(2.9 mL, 0.02 M)에 용해시키고, 신전하게 세척되고 건조된 SO₃.피리딘(1:1, 277 mg, OH-기 당 3 당량, 1.74 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 60℃에서 16시간동안 교반한 후, 0℃로 15분간 냉각시키고, 0℃에서 빙냉한 수성 NaOH-용액(5 M, 2.1 eq /SO₃, 0.731 mL, 3.65 mmol)을 한 부분으로 첨가함으로써 중화시켰다(pH 12로). 0℃에서 현탁액을 15분간 교반하고, 물(10 mL)로 희석시키고, 500 mL들이 환저 플라스크로 이동시키고, 40℃에서 진공에서 농축시켰다. 담황색 분말을 제공하고, 이를 물(10 mL)에 용해시켜 pH 10의 용액을 수득하였다. NaOH(5 M, 5 방울) 수용액을 첨가함으로써 용액을 pH 12로 설정하고, 슬라이드-A-라이저(등록상표, Slide-A-Lyzer) 카세트(2000 MWCO, 4-12 mL)를 이용하여 물(4 L)에 대해 실온에서 16시간동안 투석하였다. 0℃에서 물(4 L)에 대해 3일동안 계속 투석하였고, 이에 의해 각각 24시간 후에, NH₄HCO₃(3 M, 0.6 mL)의 수용액을 물에 첨가하여 pH를 약 6.5로 설정하였다. 그런 다음, 탈염된 용액을 동결건조시켜, 퍼실레이트(39)를 백색의 솜털같은 분말(91 mg, 83 %)로 수득하였다.

¹H NMR (400

MHz, D₂O) δ 5.50 (m, 2 H, H₁ or H₂), 5.23, 5(m, 2 H, H₁ or H₂), 4.12-4.92 (m, 17 H, H₁, 1 × H₂, 3 × H-3, 3 × H-4, 3 × H-5, 3 H-6^a, 3 H-6^b) 3.80 (m, 1 H, H-3 Chol.), 0.66-2.04 (m, 33 H, 12 CH₂, 9 CH), 0.95 (d, 3H, J = 6.8, 콜레스타닐 -CH₃), 0.887 (d, 3H, J = 6.8, 콜레스타닐 -CH₃), 0.882 (d, 3H, J = 6.8, 콜레스타닐 -CH₃), 0.85 (s, 3H, 콜레스타닐 -CH₃), 0.70 (s, 3H, 콜레스타닐 -CH₃).

[0168]

[0169]

실시예 10. 3-아지도프로필 2,3,4,6-테트라-O-아세틸-α-D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-O-아세틸-α-D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-O-아세틸-α-D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-O-아세틸-α-D-만노피라노사이드(41)

[0170]

BF₃·Et₂O(115 mg, 810 μmol)를 무수 DCE(8 mL) 중의 펜타사카라이드 피아세테이트(40)[28](500 mg, 324 μmol) 및 3-아지도프로판-1-올(98 mg, 972 μmol)의 용액에 첨가하였다. 용액을 60℃에서 밀봉된 용기에 2시간동안 교반한 후, 추가 부분의 BF₃·Et₂O(115 mg, 810 μmol)를 첨가하고, 용액을 추가로 3시간동안 가열하였다. 용액을 실온으로 냉각시키고, 분쇄된 얼음, NaHCO₃(포화 수용액) 및 염수의 혼합물에 부었다. 혼합물을 EtOAc로 재추출하고, 유기 층을 1:1 염수:NaHCO₃(포화 수용액)으로 추가로 세척한 후 건조(Na₂SO₄)시키고, 증발시키고, 무수 톨루엔과 함께 증발시켰다. 무수 DCM(5 mL), 아세트산 무수물(66 mg, 648 μmol), Et₃N(89 mg, 875 μmol) 및 DMAP(결정)을 첨가하고, 용액을 -20℃에서 하룻밤동안 저장하였다. 용액을 준비된 플래쉬 크로마토그래피 컬럼(17x2 cm 실리카 겔, 60:40 내지 75:25 EtOAc:Hx 농도구배 용출)에 직접 가하여 글리코사이드(41)(387 mg, 75%)를 오일로서 수득하였다.

ESMS: 1601.81, $[M+NH_4]^+$. 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.30-5.13 (m, 8H), 5.02-4.88 (m, 8H), 4.28-3.75 (m, 20H), 3.49 (dt, 1H, $J=9.8$, 6.1, OCH_2CH_2B), 3.42-3.35 (m, 2H, CH_2N_3), 2.16, 2.14(9), 2.14(7), 2.11, 2.10, 2.09(2), 2.08(8), 2.08(7), 2.08, 2.07, 2.06, 2.05, 2.04, 2.00, 1.99, 1.95 (16s, $16\times 3H$, $AcO\times 16$), 1.89-1.84 (m, 2H, CCH_2C). ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 170.4, 170.3, 170.2, 170.1, 169.9, 169.8(2), 169.7(7), 169.6, 169.5, 169.4, 169.3, 169.2, 99.1(2), 99.1(0), 98.8(4), 98.7(7), 98.1, 76.7, 75.0, 74.9, 74.7, 71.0, 70.8, 70.7, 70.0, 69.5, 69.3, 69.2, 68.5, 68.2, 67.2, 66.7, 66.6, 66.0, 65.4, 64.6, 62.4, 62.3, 61.9, 61.5, 47.9, 28.5, 20.7(4), 20.7(2), 20.6(9), 20.6, 20.4(9), 20.4(6), 20.4.

[0171]

[0172]

3-스테아르아미도프로필 2,3,4,6-테트라-O-아세틸- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-O-아세틸- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-O-아세틸- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-O-아세틸- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 2)-3,4,6-트라이-O-아세틸- α -D-만노피라노사이드(42)

[0173]

아지드(41)(460.5 mg, 291 μ mol)를 THF(10 mL)에 용해시켰다. 중합체 결합된 트라이페닐포스핀(725 mg)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 1시간동안 교반하였다. 물(200 μ l)을 첨가하고, 혼합물을 50 $^{\circ}C$ 에서 4시간동안 교반하였다. 혼합물을 냉각시키고, 여과하고, 용매를 증발시켜 백색 고형물(APCIMS: 1558.25 $[M+H]^+$)을 수득하였다. 생성물을 DCM(10 mL)에 용해시켰다. 스테아로일 클로라이드(2 당량, 580 μ mol, 176 mg, 196 μ l)를 첨가한 후, 트라이에틸아민(2 당량, 580 μ mol, 80 μ l)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 6시간동안 교반하였다. 용매를 증발시키고, 잔사를 DCM에 취한 후, $NaHCO_3$ (포화)로 세척하고, 건조(Na_2SO_4)시키고, 용매를 증발시켰다. 조질 생성물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 : DCM \rightarrow 2% MeOH/DCM)로 정제하여 아미드(42)를 투명한 오일(232 mg, 44 %, 2단계)로서 수득하였다.

[0174]

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6.10 (넓은 m, 1H, NH), 5.24-5.09 (m, 8H), 4.96-4.83 (m, 8H), 4.22-3.71 (m, 19H), 3.68 (m, 1H, CH_2O), 3.40 (m, 1H, CH_2O), 3.26 (m, 2H, CH_2NH), 2.12-2.09 (m, 2H, CH_2CO), 2.11 (s, 3H, OAc), 2.10 (s, 6H, OAc), 2.06 (s, 3H, OAc), 2.04 (s, 3H, OAc), 2.03 (s, 12H, OAc), 2.02 (s, 3H, OAc), 2.01 (s, 3H, OAc), 1.99 (s, 6H, OAc), 1.95 (s, 3H, OAc), 1.94 (s, 3H, OAc), 1.90 (s, 3H, OAc), 1.74 (m, 2H, CH_2CH_2N), 1.53 (m, 2H, CH_2CH_2CO), 1.23-1.16 (m, 28H, CH_2), 0.79 (t, 3H, CH_3).

[0175]

3-스테아르아미도프로필 α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 2)- α -D-만노피라노사이드(43)

[0176]

아미드(42)(231.5 mg)를 일반적인 절차에 따라 탈아세틸화시켜 폴리올(43)(140 mg, 96%)을 백색 고형물로서 수득하고, 이를 추가의 정제 또는 결정화없이 반응시켰다.

[0177]

3-스테아르아미도프로필 2,3,4,6-테트라-O-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-O-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-O-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-O-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노사이드(44)

[0178]

폴리올(43)(140 mg, 122 μ mol)을 DMF(0.02 M, 6.1 mL)에 용해시켰다. SO_3 .피리딘(3 당량/OH, 5.83 mmol, 928 mg)을 첨가하고, 용액을 60 $^{\circ}C$ 에서 하룻밤동안 교반하였다. 혼합물을 빙수에서 냉각시키고, 5M NaOH(2.1 당량/ SO_3 .피리딘, 2.45 mL)을 한번에 모두 첨가한 후 용매를 증발시켰다. 화합물을 물 중의 1% MeOH에 취하고, C18 SPE 카트리지를 상에서 정제하였다. 그런 다음, 화합물을 2000 MWCO 투석 카트리지를 이용하여 이틀밤동안 투석한 후, 동결건조시켜 생성물(44)(220 mg, 65 %)을 백색 고형물로서 수득하였다.

[0179]

1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 5.55 (d, 1H, H-1), 5.53 (d, 1H, H-1), 5.50 (d, 1H, $J_{1,2}=1.8$, H-1), 5.49 (d, 1H, H-1), 5.28 (m, 1H), 5.12 (m, 1H), 5.08 (m, 1H), 4.90-4.12 (m, 28H), 3.85 (ddd, 1H, $J=6.2$, $J=7.0$, $J=10.5$, CH_2O), 3.68 (ddd, 1H, $J=6.2$, $J=6.2$, $J=9.7$, CH_2O), 3.31 (m, 2H, CH_2N), 2.29 (t, 2H, $J=7.0$, CH_2CO), 1.88 (t, 2H, $J=6.2$, CH_2CH_2N), 1.62 (m, 2H, CH_2CH_2CO), 1.31 (m, 28H, CH_2), 0.90 (t, 3H, $J=7.0$, CH_3).

[0180] 실시예 11. 3β-(프로프-2-이닐옥시)콜레스탄올

[0181] 3β-콜레스탄올(1.23 g, 3.16 mmol)을 실온에서 무수 톨루엔(7 mL, 0.45 M)에 완전히 용해시켰다. 분말 칼륨 *t*-부톡사이드(1.06 g, 9.49 mmol, 3 eq)를 한부분으로 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 3시간동안 교반하였다. 프로파길 브로마이드(톨루엔 중 80 wt%, 0.94 g, 6.32 mmol, 2 eq)의 용액을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 3 일동안 교반하였다. 혼합물을 헥산(30 mL) 및 EtOAc(10 mL)로 희석시키고, 물(2X60 mL) 및 염수(60 mL)로 세척하였다. 수성 상을 EtOAc(20 mL)로 1회 추출하였다. 조합된 유기 상을 건조(Na₂SO₄)시키고, 여과하고, 여과액을 실리카 겔 상으로 증발시키고, 컬럼 크로마토그래피(실리카 겔 2.5X24 cm, 헥산 250 mL, 헥산-EtOAc 125:5를 이용한 농도구배 용출)로 정제하여 생성물을 황색 고형물로서 수득하였다. EtOAc(3 mL)로부터 재결정화시켜 회백색 결정(736 mg, 55%)을 수득하였다.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 4.18 (d, 2H, *J* = 2.2), 3.45 (m, 1H), 2.38 (t, 1H, *J* = 2.2), 1.99-0.57 (m, 31H), 0.89 (d, 3H, *J* = 6.6), 0.86 (d, 3H, *J* = 6.6), 0.86 (d, 3H, *J* = 6.6), 0.79 (s, 3H), 0.64 (s, 3H).

[0182]**[0183] 3-아지도프로필 2,3,4,6-테트라-*O*-아세틸-α-D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-*O*-아세틸-α-D-만노피라노실-(1→2)-3,4,6-트라이-*O*-아세틸-α-D-만노피라노사이드(45)**

[0184] 피아세테이트(35)(1000 mg, 1.03 mmol) 및 3-아지도프로판올(1.2 eq., 124 mg, 1.24 mmol)을 무수 DCM(5 mL)에 용해시킨 후, 0 °C에서 BF₃-에테레이트(5 eq., 0.546 mL, 5.17 mmol)를 적가하고, 혼합물을 60 °C에서 3시간동안 교반하였다. 0 °C에서 Et₃N(2.2 mL, 15.5 mmol)를 첨가하여 반응을 중단시켰다. 그런 다음, 0 °C에서 피리딘(1 mL), DMAP(촉매량) 및 Ac₂O(0.585 mL)을 첨가함으로써 조절 반응 혼합물을 아세틸화시키고, 실온에서 계속 교반하였다. 0 °C에서 무수 MeOH(5 mL)를 첨가함으로써 암적색 용액을 급냉시키고, 실온에서 2시간동안 교반하였다. 톨루엔(50 mL)과 함께 증발시킨 후, 잔사를 EtOAc(100 mL)에 용해시키고, 포화 NaHCO₃-용액(3X20 mL), 물(50 mL)로 세척하고, 수성 상을 EtOAc(3x20 mL)로 재추출하고, 다른 유기 추출물과 조합하고, 염수(20 mL)로 세척하고, 건조(Na₂SO₄) 시키고, 진공 하에서 농축하여 조절 글리코사이드를 검(약 1 g)으로 수득하였다. 조절 생성물을 실리카 겔(20X2cm, 톨루엔 - EtOAc, 2:1→1:1→1:2)의 컬럼 상에서 정제하고, 바람직한 글리코사이드(45)를 회백색 포움(374 mg, 36 %)으로서 수득하였다.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 5.19-5.38 (m, 6H, 3 × H₄, H₂^I, H₃^I, H₃^{III}), 5.08 (dd 1H, *J*_{H₂-H₃} = 3.3, H₂^{III}), 5.04 (d, 1H, *J*_{H₁-H₂} = 1.7, H₁^{III}), 4.94 (m, 2H, H₁^I, H-1^{II}), 4.31 (dd, 1H, *J*_{H_{6a}-H_{6b}} = 12.5, *J*_{H₆-H₅} = 4.2, H_{6a}), 3.93-4.26 (m, 9H, 2 × H_{6a}, 3 × H_{6b}, H₂^I, H₃^{II}, H₅^I, H₅^{II} or H₅^{III}), 3.93 (ddd, 1H, H₅^{II} or H₅^{III}), 3.82 (dt, 1H, *J*_{gem} = 10.0, *J* = 6.6, OCH₂), 3.53 (dt, 1H, *J* = 6.6, OCH₂), 3.43 (t, 2H, *J* = 6.6, CH₂N₃), 2.20, 2.161, 2.157, 2.12, 2.11, 2.10, 2.19, 2.05, 2.04, 2.00 (s, 30H, 10 × Ac), 1.90 (오중선, 2H, *J* = 6.6, CH₂).

[0185]**[0186] 3-{4-(콜레스탄-3β-일-옥시메틸)-[1,2,3]트리아아졸-1-일}프로필 2,3,4,6-테트라-*O*-아세틸-α-D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-*O*-아세틸-α-D-만노피라노실-(1→2)-3,4,6-트라이-*O*-아세틸-α-D-만노피라노사이드(46)**

[0187] 3β-(프로프-2-이닐옥시)콜레스탄올(156 mg, 2eq., 0.367 mmol) 및 아지드(45)(185 mg, 0.183 mmol)를 DCM/*t*-BuOH(3:2, w/w, 0.4 M, 0.562 mL)의 혼합물에 용해시켰다. 혼합물에 CuSO₄(0.3 M, 0.1 eq., 0.061 mL)의 수용액 및 나트륨 아스코베이트(1 M, 0.3 eq., 0.055 mL)의 수용액을 첨가하고, 혼합물을 빛없이 48시간동안 격렬하게 교반하였다. TLC 분석(톨루엔:EtOAc, 1:1)은 출발 아지드보다 보다 극성인 생성물의 출현을 갖는 반응의 끝을 보여주었다. 혼합물을 DCM(50 mL)로 희석하고, 포화 NaHCO₃-용액(3X30 mL)으로 세척하였다. 수성 상을 EtOAc(3X20 mL)로 재추출하고, 유기 추출물을 조합하고, 염수(20 mL)로 세척하고, 건조(Na₂SO₄)시키고, 진공 하에서 농축하여 조절 생성물을 황색 포움(475 mg)으로서 수득하였다. 조절 생성물을 실리카 겔(25X2.5 cm, 톨루엔 - EtOAc, 1:2→1:3→1:4) 컬럼 상에서 정제하여 트리아아졸(46)을 백색 포움으로서 수득하였다(214 mg, 81 %).

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 7.76 (s, 1H, =CH), 5.18-5.36 (m, 6H, 3xH₄, H^{II}, H^I, H^{III}), 5.06 (dd 1H, J_{H^{II}-H^I} = 3.2, H^{II}), 5.02 (d, 1H, J_{H^I-H^{II}} = 1.7, H^I), 4.94 (d, 2H, J_{H^I-H^{II}} = 1.6, H-1^{II}), 4.92 (d, 1H, J_{H^I-H^{II}} = 1.6, H^I), 4.71 (s, 2H, OCH₂), 4.49 (t, 2H, J = 6.6, CH₂N), 4.30 (dd, 1H, J_{H^{6a}-H^{6b}} = -11.9, J_{H⁶-H⁵} = 4.0, H^{6a}), 3.96-4.26 (m, 9H, 2 × H^{6a}, 3 × H^{6b}, H², H³, H⁵, H⁵ or H^{III}), 3.92 (ddd, 1H, H⁵ or H^{III}), 3.43 (m, 2H, OCH₂, H-3 Chol), 2.31 (m, 2H, CH₂), 2.19, 2.145, 2.142, 2.11, 2.09, 2.08, 2.06, 2.04, 1.99 (s, 30H, 10 × Ac), 1.90 (오중선, 2H, J = 6.6, CH₂), 0.56-2.04 (m, 33 H, 12 CH₂, 9 CH), 0.89 (d, 3H, J = 6.8, 콜레스타닐 -CH₃), 0.858 (d, 3H, J = 6.8, 콜레스타닐 -CH₃), 0.855 (d, 3H, J = 6.8, 콜레스타닐 -CH₃), 0.79 (s, 3H, 콜레스타닐 -CH₃), 0.64 (s, 3H, 콜레스타닐 -CH₃).

[0188]

3-{4-(콜레스탄-3β-일-옥시메틸)-[1,2,3]트리아졸-1-일}프로필 α-D-만노피라노실-(1→3)-α-D-만노피라노실-(1→2)-α-D-만노피라노사이드(47)

[0189]

무수 피아세테이트(46)(202 mg, 0.141 mmol)를 일반적인 절차에 따라 탈아세틸화시켜 폴리올(47)을 백색 결정성 고형물(138 mg, 97 %)로서 수득하고, 이를 다음 단계에서 추가의 정제 또는 특성화없이 이용하였다.

[0190]

3-{4-(콜레스탄-3β-일-옥시메틸)-[1,2,3]트리아졸-1-일}프로필 2,3,4,6-테트라-O-나트륨 설포나토-α-D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-O-나트륨 설포나토-α-D-만노피라노실-(1→2)-3,4,6-트라이-O-나트륨 설포나토-α-D-만노피라노사이드(48)

[0191]

무수 폴리올(47)(50 mg, 0.049 mmol)을 무수 DMF(2.45 mL, 0.02 M)에 용해시키고, 새로 세척하고, 무수 SO₃.피리딘 착체(234 mg, OH 기 당 3당량, 1.47 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 60℃에서 16시간동안 교반하였다. 반응 혼합물을 15분동안 0℃로 냉각시킨 후, 빙냉 수성 NaOH 용액(5 M, 2.1 eq/SO₃, 0.617 mL, 3.09 mmol)을 0℃에서 한부분으로 첨가하여 중화시켰다(pH 12로). 현탁액을 0℃에서 15분간 교반하고, 물(10 mL)로 희석시키고, 진공에서 40℃에서 물(3X20 mL)과 함께 증발시켰다. 황색 고형물을 물(9 mL, → pH10.5)에 용해시킨 후, NaOH(5 M, 5 방울) 용액을 첨가함으로써 용액을 pH 12로 설정하고, 슬라이드-A-라이저 카세트(2000 MWCO, 4-12 mL)를 이용하여 물(4 L)에 대해 16시간동안 실온에서 투석하였다. 0℃에서 물(4 L)에 대해 2일동안 계속 투석하였고, 이에 의해 각각 24시간 후에 NH₄HCO₃(3 M, 0.6 mL) 수용액을 교환된 물(4 L)에 첨가하여 pH를 6 내지 6.5로 설정하였다. 그런 다음, 탈염된 용액을 동결건조시켜 생성물(48)을 백색의 솜털같은 분말(94 mg, 94 %)로서 수득하였다.

[0192]

¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 8.08 (s, 1H, =CH), 5.50 (m, 2 H, H^{II}, H^{III}), 5.22, 5(m, 1 H, H^I or H^{III}), 5.07 (m, 1H, H^I), 4.33-4.93 (m, 19 H, H^I or H^{III}, 3 × H₃, 3 × H₄, 3 × H₄, CH₂N, 4 H₆, H₂, OCH₂), 4.15 (m, 4 H, 2 × H₆, 2 × H-5), 4.02 (m, 1H, H-5), 3.83 (m, 1H, OCH₂), 3.71 (m, 1H, OCH₂), 3.51 (m, 1H, H-3 Chol), 2.28 (m, 2H, CH₂), 0.62-2.06 (m, 33 H, 12 CH₂, 9 CH), 0.94 (d, 3H, J = 5.8, 콜레스타닐 -CH₃), 0.86 (d, 9H, J = 6.7, 콜레스타닐 -CH₃), 0.70 (s, 3H, 콜레스타닐 -CH₃).

[0193]

실시예 12. 벤질 3-O-알릴-2,4,6-트라이-O-벤조일-α-D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-O-벤조일-α-D-만노피라노사이드(49)

[0194]

3-O-알릴-2,4,6-트라이-O-벤조일-α-D-만노피라노실 트라이클로로아세트이미데이트[34](0.504 g, 0.744 mmol, 1.05 eq) 및 벤질 2,4,6-트라이-O-벤조일-α-D-만노피라노사이드(0.413 g, 0.709 mmol)를 무수 DCM(6.4 mL, 0.11 M)에 첨가하였다. 분말 MS 3Å(70 mg 새로 활성화됨)를 첨가하였다. 혼합물을 0℃에서 30분동안 교반하였다. DCM(0.6 mL) 중의 TMSOTf(26 μL, 0.142 mmol, 0.2eq)의 용액을 적가하였다(최종 농도: 1 M). 혼합물을 0℃에서 교반하고, 이동한 반응을 TLC(헥산-EtOAc = 65:35)로 모니터링하였다. 60분 후에, 전환이 종료되고, Et₃N(0.15 mL)을 첨가하였다. 조질 혼합물을 피리딘(0.115 mL, 1.418 mmol, 2 eq) 및 벤조일 클로라이드(0.124 mL, 1.064 mmol, 1.5 eq)로 처리하였다. 혼합물을 실온에서 교반하고, 여과하였다. 고형물을 DCM(6X1 mL)으로 세척하였다. 조합된 여과액 및 세척액을 실리카 겔 상에서 증발시키고 컬럼 크로마토그래피(실리카 겔 2.5X24 cm, 헥산-EtOAc 200:20, 210:40, 200:50, 180:60, 170:85를 이용한 농도구배 용출)로 정제하여 순수한

[0195]

생성물(49)을 담황색 검(0.738 g, 95%)으로 수득하였다.

¹H NMR

(CDCl₃, 400 MHz) δ 8.20-8.06 (m, 8H, Ph), 7.90-7.80 (m, 4H, Ph), 7.67-7.23 (m, 23H, Ph), 5.98 (dd 또는 t, 1H, $J_{H3(I)-H4(I)} = 9.8$, $J_{H4(I)-H5(I)} = 9.8$, H^{4I}), 5.75 (dd or t, 1H, $J_{H3(II)-H4(II)} = 9.8$, $J_{H4(II)-H5(II)} = 9.8$, H^{4II}), 5.41 (m, 1H, 알릴 -2'), 5.23 (d, 1H, $J = 2.0$), 5.18-5.15 (m, 2H), 4.87-4.71 (m, 3H), 4.64-4.56 (m, 4H), 4.48 (dd or t, 1H, $J = 12.7$, $J = 4.9$), 4.34-4.27 (M, 2H), 4.22 (dd, 1H, $J = 12.7$, $J = 3.9$), 3.87 (dd, 1H, $J = 9.8$, $J = 2.9$), 3.74 (dd, 1H, $J = 12.7$, $J = 5.9$), 3.59 (dd, 1H, $J = 12.7$, $J = 5.9$).

[0196]

벤질 2,4,6-트라이-*O*-벤조일-α-D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-*O*-벤조일-α-D-만노피라노사이드(50)

[0197]

[0198]

MeOH(6 mL) 및 1,2-다이클로로에탄(6 mL)(0.05 M) 중의 알릴 에터(49)(688 mg, 0.627 mmol)의 용액을 고휘 팔라듐 클로라이드(25 mg)로 처리하였다. 혼합물을 70 °C(외부 오일 욕)에서 2시간동안 교반하였다. TLC는 완전한 전환을 나타내었다. 혼합물을 실리카 상으로 증발시키고, 컬럼 크로마토그래피(실리카 2.7X17 cm, 헥산-EtOAc 200:20, 200:40, 200:50, 210:70, 200:100를 이용한 농도구배 용출)로 정제하여 알콜(50)을 무색 검으로서 수득하였다(0.539 mg, 81%).

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 8.18-8.03 (m, 8H, Ph), 7.85-7.81 (m, 4H, Ph), 7.68-7.25

(m, 23H, Ph), 5.97 (dd 또는 t, 1H, $J_{H3(I)-H4(I)} = 9.8$, $J_{H4(I)-H5(I)} = 9.8$, H^{4I}), 5.68 (dd, 1H, $J_{H1(I)-H2(I)} = 2.0$, $J_{H2(I)-H3(I)} = 2.9$, H^{2I}), 5.60 (dd 또는 t, 1H, $J_{H3(II)-H4(II)} = 9.8$, $J_{H4(II)-H5(II)} = 9.8$, H^{4II}), 5.28 (br s, 1H, H^{1II}), 5.15 (d, 1H, $J_{H1(II)-H2(II)} = 2.0$, H^{1I}), 5.05 (dd, 1H, $J_{H1(II)-H2(II)} = 2.0$, $J_{H2(II)-H3(II)} = 2.9$, H^{2II}), 4.77 (d, 1H, $J_{gem} = 11.7$, CH₂), 4.65-4.56 (m, 4H, CH₂, H^{6I}eq, H^{3I} and H^{6II}), 4.44 (dd, 1H, $J_{gem} = 12.7$, $J_{H5(I)-H6(I)ax} = 4.9$, H^{6I}ax), 4.34 (m, 1H, H^{5II}), 4.32 (dd, 1H, $J_{gem} = 10.7$, $J_{H5(II)-H6(II)} = 2.9$, H^{6II}), 4.28 (ddd, 1H, $J_{H5(I)-H6(I)ax} = 4.9$, $J_{H5(I)-H6(I)eq} = 2.9$, H^{5I}), 4.17 (dd, 1H, H^{3II}).

[0199]

벤질 2,3,4,6-테트라-*O*-벤조일-α-D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-*O*-벤조일-α-D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-*O*-벤조일-α-D-만노피라노사이드(51)

[0200]

[0201]

0 °C에서 무수 DCM(7.5 mL) 중의 알콜(50)(424 mg, 0.401 mmol) 및 2,3,4,6-테트라-*O*-벤조일-α-D-만노피라노실 트라이클로로아세티미데이트(357 mg, 0.481 mmol, 1.2 eq)의 용액을 1시간동안 분말 분자 체 3Å(50 mg)와 함께 교반하였다. DCM(0.5 mL) 중의 TMSOTf(15 μL, 0.0802 mmol, 0.2 eq)의 용액을 주사기를 통해 적가하였다. 혼합물을 0 °C에서 2시간동안 교반하고, TLC는 완전한 전환을 나타내었다. Et₃N(100 μL)를 첨가하였다. 피리딘(65 μL, 0.802 mmol) 및 벤조일 클로라이드(47 μL, 0.401 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 교반하고, 실리카 겔 상으로 증발시켰다. 컬럼 크로마토그래피(실리카 2.5X17 cm, 헥산-EtOAc 210:30, 200:50, 180:60, 160:80 및 150:100를 이용한 농도구배 용출)로 정제하여 트라이사카라이드(51)를 무색 검으로서 수득하였다(392 mg, 60%).

¹H NMR

(CDCl₃, 400 MHz) δ 8.19-7.89 (m, 16H, Ph), 7.68-7.63 (m, 4H, Ph), 7.61-7.15 (m, 35H, Ph), 6.00 (dd 또는 t, 1H, $J_{H3-H4} = 10.7$, $J_{H4-H5} = 9.8$, H⁴), 5.98 (dd 또는 t, 1H, $J_{H3-H4} = 9.8$, $J = 9.8$, H⁴), 5.92 (dd 또는 t, 1H, $J = 10.7$, $J = 9.8$, H⁴), 5.72 (dd, 1H, $J_{H1-H2} = 2.0$, $J_{H2-H3} = 3.9$, H²), 5.56 (dd, 1H, $J_{H2-H3} = 2.9$, H³), 5.33 (d, 1H, $J = 2.0$, H¹), 5.26 (dd, 1H, $J = 2.0$, H²), 5.19 (d, 1H, $J = 2.0$, $J = 3.9$, H²), 5.16 (d, 1H, $J = 2.0$, H¹), 4.90 (d, 1H, H¹), 4.78 and 4.62 (AB 오중선, 2H, $J_{gem} = 11.7$, CH₂), 4.65-4.56 (m, 3H), 4.45 (dd, 1H, $J_{gem} = 12.7$, $J_{H5-H6} = 3.9$, H⁶), 4.35 (dd, 1H, H³), 4.34-4.28 (m, 2H), 4.24 (dd, 1H, $J = 12.7$, $J_{H5-H6} = 2.9$, H⁶), 4.10 (dt or dm, 1H, H⁵), 4.01 (dd, 1H, $J = 12.7$, H⁶), 3.95 (dd, 1H, $J_{H5-H6} = 2.0$, H⁶).

[0202]

2,3,4,6-테트라-*O*-벤조일-α-D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-*O*-벤조일-α-D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-*O*-벤조일-D-만노피라노스(52)

[0203]

[0204]

벤질 글리코사이드(51)(385 mg, 0.235 mmol)를 MeOH(5 mL) 및 클로로포름(5 mL)에 용해시켰다. 차콜 상의 팔라듐(5%, 538 mg)을 첨가하였다. 혼합물을 100 psi에서 3일동안 수소 하에서 교반하였다. TLC는 완전한 전환

을 나타내었다. 혼합물을 셀라이트 플러그를 통해 여과하고, EtOAc(5X1 mL)로 세정하였다. 조합된 여과액 및 세척액을 건조되도록 증발시키고, DCM(3 mL)과 함께 증발시켜 헤미아세탈(52)을 담황색 포움(338 mg, 93%)으로 수득하고, 이를 다음 단계에서 추가의 정제 또는 특성화없이 이용하였다.

[0205] 2,3,4,6-테트라-*O*-벤조일- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-*O*-벤조일- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-*O*-벤조일-D-만노피라노실 트라이클로로아세트이미데이트(53)

[0206] 헤미아세탈(52)(330 mg, 0.214 mmol)을 무수 DCM(1.1 mL, 0.2 M)에 용해시켰다. 용액에 트라이클로로아세트오니 트릴(43 μ L, 0.427 mmol, 2 eq)을 첨가하였다. 혼합물을 0 $^{\circ}$ C에서 교반하고, 이동한 무수 DCM(0.15 mL) 중의 DBU(1.6 μ L, 0.05 eq, 0.0107 mmol) 용액을 첨가하였다. 혼합물을 0 $^{\circ}$ C에서 4시간동안 교반하고, TLC(헥산-EtOAc = 65:35)는 완전한 전환을 나타내었다. 조질물을 실리카 겔 상으로 증발시키고, 실리카 컬럼 크로마토그래피(2X14 cm, 헥산-EtOAc 200:20, 150:30, 120:30, 150:50 및 헥산-EtOAc-Et₃N 140:70:0.3를 이용한 농도구배 용출)로 정제하여 트라이클로로아세트이미데이트(53)를 백색 포움(261 mg, 72%)으로서 수득하였고, 이를 다 이를 추가의 특성화 없이 다음 단계에서 직접 이용하였다.

[0207] 3 β -콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-*O*-벤조일- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-*O*-벤조일- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-*O*-벤조일- α -D-만노피라노사이드(54)

[0208] 무수 DCM(2 mL) 중의 트라이클로로아세트이미데이트(53)(128 mg, 0.0757 mmol) 및 3 β -콜레스타닐(59 mg, 0.151 mmol, 2 eq)의 용액에 새로 활성화된 분말 분자체 3 \AA (50 mg)를 첨가하였다. 혼합물을 0 $^{\circ}$ C에서 0.5시간 동안 교반하고, 무수 DCM(0.15 mL) 중의 TMSOTf(2.7 μ L, 0.0151mmol, 0.2 eq)의 용액을 0 $^{\circ}$ C에서 적가하였다. 혼합물을 0 $^{\circ}$ C에서 2시간동안 교반하고, TLC는 반응의 종료를 나타내었다. Et₃N(150 μ L)을 첨가하였다. 혼합물을 실리카 겔 상으로 증발시키고, 실리카 컬럼 크로마토그래피(2X14 cm, 헥산-EtOAc 180:20, 150:30, 120:30, 120:40 및 120:60를 이용한 농도구배 용출)로 정제하여 글리코사이드(54)를 무색 검(74 mg, 51%)으로 수득하였다.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 8.21-7.15 (m, 50H, Bz), 6.00 (dd, t, 1H, $J_{H3(II)-H4(II)} = 10.0$, $J_{H4(II)-H5(II)} = 10.0$, H4^{II}), 5.93 (dd, t, 1H, $J_{H3-H4} = 10.0$, $J_{H4-H5} = 10.0$, H4^I and H4^{III}), 5.61 (dd, 1H, $J_{H2(I)-H3(I)} = 3.0$, $J_{H1(II)-H2(II)} = 1.5$, H2^I), 5.57 (dd, 1H, $J_{H3(III)-H4(III)} = 10.0$, $J_{H2(III)-H3(III)} = 3.0$, H3^{III}), 5.36 (d, 1H, $J_{H1(III)-H2(III)} = 1.5$, H1^{II}), 5.26 (dd, 1H, $J_{H2(II)-H3(II)} = 3.0$, H2^{II}), 5.21 (m, 2H, H1^I 및 H2^{III}), 4.91 (s, 1H, H1^{III}), 4.68-3.90 (m, 11H), 3.62 (m, 1H, OCH-*chol*), 1.99-0.50 (m, 31H, 콜레스타닐), 0.90 (d, 3H, $J = 6.9$, 콜레스타닐-CH₃), 0.87 (d, 3H, $J = 6.9$, 콜레스타닐-CH₃), 0.86 (d, 3H, $J = 6.9$, 콜레스타닐-CH₃), 0.80 (s, 3H, 콜레스타닐-CH₃), 0.65 (s, 3H, 콜레스타닐-CH₃).

[0209] 3 β -콜레스타닐 α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)- α -D-만노피라노사이드(55)

[0210] 글리코사이드(54)(70 mg, 0.0365 mmol)를 일반적인 절차에 따라 탈아세틸화시켜 폴리올(55)을 담황색 분말로서 수득하고, 다음 단계에서 직접 이용하였다.

[0211] 3'-콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-*O*-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-*O*-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-3,4,6-트라이-*O*-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노사이드(56)

[0212] 상기 분말(55)을 무수 DMF(1.8 mL, 0.02 M)에 용해시켰다. SO₃.피리딘 착체(174 mg, 1.096 mmol, 하이드록실 당 3 당량, 물, 톨루엔, EtOH, DCM로 새로 세척하고, 1시간동안 진공 건조기에서 P₂O₅ 하에서 건조시킴)를 첨가 하였다. 혼합물을 60 $^{\circ}$ C(18 h)에서 교반하고, 0 $^{\circ}$ C로 냉각시켰다. pH가 10 초과가 될 때까지 5 M NaOH를 첨가 하였다. EtOH(6 mL)를 첨가하고, 혼합물을 0 $^{\circ}$ C에서 20분동안 첨가하였다. 침전물을 원심분리로 분리하고, 회 전식 증발기에서 건조되도록 증발시켰다. 잔사를 물(1.5 mL)에 재용해시켰다. 용액을 슬라이드-A-라이저(등록 상표) 투석 카세트(2000 MWCO, 0.5-3.0 mL 용량)를 이용하여 투석하였다. 플라스크를 물(2X0.5 mL)로 세정하고, 세척액 또한 카세트로 로딩하였다. 실온에서 4시간동안 정제된 물 10L에서 투석을 수행하였다. 물을 교환(10 L)하고, 0 $^{\circ}$ C에서 투석을 계속하였다. 물을 교환(4 L)하고, 추가로 하루동안 투석을 계속하였다. 담황색 용액을 회수하고 동결건조시켜 퍼실레이트(56)를 연한 주황색 분말(46.8 mg)로서 수득하였다.

^1H NMR (D_2O , 300 MHz) δ 5.28 (s, 1H), 5.21 (s, 1H), 5.16 (s, 1H), 5.05 (br s, 1H), 4.76 (br s, 1H), 4.67-3.88 (m, 16H), 3.53 (m, 1H, OCH), 1.82-0.44 (m, 31H, 콜레스타닐), 0.74 (d, 3H, 콜레스타닐- CH_3), 0.67 (d, 6H, 콜레스타닐- CH_3), 0.65 (s, 3H, 콜레스타닐- CH_3), 0.49 (s, 3H, 콜레스타닐- CH_3).

[0214]

[0215] 실시예 13. 3-아지도프로필 2,3,4,6-테트라-*O*-벤조일- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-*O*-벤조일- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-*O*-벤조일- α -D-만노피라노사이드(57)

[0216]

무수 DCM(2 mL) 중의 트라이클로로아세트이미네이트(53)(128 mg, 0.0757 mmol) 및 3-아지도프로판올(15 mg, 0.151 mmol, 2 eq)의 용액에 새로 활성화된 분말 분자체 3Å(50 mg)를 첨가하였다. 혼합물을 0 °C에서 0.5시간 동안 교반하고, 무수 DCM(0.15 mL) 중의 TMSOTf(2.7 μ L, 0.0151 mmol, 0.2 eq)의 용액을 0 °C에서 적가하였다. 혼합물을 0 °C에서 2시간 동안 교반하고, TLC는 반응의 종료점을 나타내었다. Et_3N (150 μ L)을 첨가하였다. 혼합물을 실리카 겔 상으로 증발시키고, 실리카 컬럼 크로마토그래피(2X14 cm, 헥산-EtOAc 150:20, 150:30, 120:30, 120:40, 120:60 및 120:80를 이용한 농도구배 용출)로 정제하여 글리코사이드(57)를 무색 검(86 mg, 70%)으로서 수득하였다.

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 8.22-7.16 (m, 50H, Bz), 6.02 (dd 또는 t, 1H, $J_{\text{H3(II)}-\text{H4(II)}} = 10.0$, $J_{\text{H4(II)}-\text{H5(II)}} = 9.5$, H4^{II}), 6.00 (dd 또는 t, 1H, $J_{\text{H3(II)}-\text{H4(II)}} = 10.0$, $J_{\text{H4(II)}-\text{H5(II)}} = 9.5$, H4^{I}), 5.96 (dd 또는 t, 1H, $J_{\text{H3(III)}-\text{H4(III)}} = 10.0$, $J_{\text{H4(III)}-\text{H5(III)}} = 9.5$, H4^{III}), 5.69 (dd, 1H, $J_{\text{H2(I)}-\text{H3(I)}} = 3.2$, $J_{\text{H1(II)}-\text{H2(II)}} = 1.6$, H2^{I}), 5.59 (dd, 1H, $J_{\text{H3(III)}-\text{H4(III)}} = 10.3$, $J_{\text{H2(III)}-\text{H3(III)}} = 3.2$, H3^{III}), 5.37 (d, 1H, $J_{\text{H1(II)}-\text{H2(II)}} = 2.4$, H1^{II}), 5.29 (dd, 1H, $J_{\text{H1(II)}-\text{H2(II)}} = 1.6$, $J_{\text{H2(II)}-\text{H3(II)}} = 2.4$, H2^{II}), 5.23 (dd, 1H, $J_{\text{H1(III)}-\text{H2(III)}} = 1.6$, H2^{III}), 5.09 (d, 1H, $J_{\text{H1(I)}-\text{H2(I)}} = 1.6$, H1^{I}), 4.94 (d, 1H, $J_{\text{H1(III)}-\text{H2(III)}} = 1.6$, H1^{III}), 4.71 (dd, 1H, $J_{\text{gem}} = 11.9$, $J = 2.4$, H6), 4.60 (dd, 1H, $J = 11.9$, $J = 2.4$, H6), 4.58 (dd, 1H, H3^{I}), 4.50 (dd, 1H, $J = 4.8$, H6), 4.38 (dd, 1H, $J_{\text{H2(III)}-\text{H3(II)}} = 3.2$, H3^{II}), 4.34-4.22 (m, 3H), 4.14-3.94 (m, 3H), 3.91 (dt, 1H, $J_{\text{gem}} = 9.5$, $J = 6.4$, $J = 6.4$, OCH₂), 3.44 (t, 2H, $J = 6.4$, NCH₂), 1.91 (오중선, 2H, $J = 6.4$, CH₂).

[0217]

[0218] 3-{4-(콜레스탄-3 β -일-옥시메틸)-[1,2,3]트리아졸-1-일}프로필 2,3,4,6-테트라-*O*-벤조일- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-*O*-벤조일- α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-트라이-*O*-벤조일- α -D-만노피라노사이드(58)

[0219]

DCM(64 μ L) 및 *t*-부탄올(60 μ L)(0.4 M) 중의 (57)(81 mg, 0.0497 mol), 3 β -(프로프-2-이닐옥시)콜레스탄올(43 mg, 0.0994 mmol, 2 eq)의 혼합물에 CuSO_4 (물 중의 0.3 M, 33 μ L, 0.00994 mmol, 0.2 eq)의 용액 및 나트륨 아스코베이트(물 중의 1M, 20 μ L, 0.0199 mmol, 0.4 eq)의 용액을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 3일 동안 격렬하게 교반하였다. 혼합물을 실리카 겔 상으로 증발시키고, 실리카 컬럼 크로마토그래피(2X14 cm, 헥산-EtOAc 170:20, 150:30, 120:30, 120:40, 120:60, 120:80 및 100:100를 이용한 농도구배 용출)로 정제하여 트리아졸(58)을 무색 검으로서 수득하였다(74 mg, 72%).

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 8.19-7.88 (m, 16H, Bz), 7.69-7.15 (m, 35H, Bz 및 트리아졸-CH), 5.99 (dd or t, 1H, $J_{\text{H3-H4}} = 9.9$, $J_{\text{H4-H5}} = 9.9$, H4), 5.98 (dd 또는 t, 1H, $J = 9.9$, $J = 9.9$, H4), 5.94 (dd 또는 t, 1H, H4), 5.66 (dd, 1H, $J_{\text{H2(I)}-\text{H3(I)}} = 3.1$, $J_{\text{H1(II)}-\text{H2(II)}} = 1.6$, H2^{I}), 5.57 (dd, 1H, $J_{\text{H3(III)}-\text{H4(III)}} = 10.0$, $J_{\text{H2(III)}-\text{H3(III)}} = 3.1$, H3^{III}), 5.36 (d, 1H, $J_{\text{H1(II)}-\text{H2(II)}} = 1.6$, H1^{II}), 5.28 (dd, 1H, $J_{\text{H2(II)}-\text{H3(II)}} = 3.1$, H2^{II}), 5.21 (dd, 1H, $J_{\text{H1(III)}-\text{H2(III)}} = 1.6$, H2^{III}), 5.04 (d, 1H, H1^{I}), 4.94 (d, 1H, H1^{III}), 4.70 (s, 2H, OCH₂), 4.70-3.92 (m, 11H), 3.84 (dt 또는 ddd, 1H, $J_{\text{gem}} = 9.9$, $J = 6.3$, $J = 6.3$, OCH₂), 3.50 (dt 또는 ddd, 1H, $J = 5.5$, $J = 5.5$, OCH₂), 3.37 (m, 1H, OCH-chol), 2.26 (m, 2H, CH₂), 1.99-0.53 (m, 31H, 콜레스타닐), 0.90 (d, 3H, $J = 6.8$, 콜레스타닐- CH_3), 0.87 (d, 3H, $J = 6.8$, 콜레스타닐- CH_3), 0.86 (d, 3H, $J = 6.8$, 콜레스타닐- CH_3), 0.76 (s, 3H, 콜레스타닐- CH_3), 0.64 (s, 3H, 콜레스타닐- CH_3).

[0220]

[0221] 3-{4-(콜레스탄-3 β -일-옥시메틸)-[1,2,3]트리아졸-1-일}프로필 α -D-만노피라노실-(1 \rightarrow 3)- α -D-만노피라노실

-(1→3)- α -D-만노피라노사이드(59)

[0222] 퍼벤조에이트(58)(70 mg, 0.0341 mmol)를 무수 THF(2 mL) 및 MeOH(2 mL)에 용해시켰다. 혼합물을 MeOH(0.2 mL, 2.2 mmol) 중의 11M NaOMe 용액으로 처리하였다. 실온에서 이틀동안 교반한 후, AG50WX8 수지(H⁺ 형태)를 첨가하여 백색 현탁액을 중화시켰다. 여과에 의해 투명한 용액을 수지로부터 분리시켰다. 수지를 MeOH(3X2 mL)로 세척하였다. 조합된 여과액 및 세척액을 건조되도록 증발시키고, P₂O₅ 하에서 진공 건조기에서 건조시켜 폴리올(59)을 수득하고, 이를 직접 다음 단계에서 이용하였다.

[0223] **3-{4-(콜레스탄-3 β -일-옥시메틸)-[1,2,3]트리아졸-1-일}프로필 2,3,4,6-테트라-O-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노실-(1→3)-2,4,6-트라이-O-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노실-(1→3)-3,4,6-트라이-O-나트륨 설포나토- α -D-만노피라노사이드(60)**

[0224] 폴리올(59)을 무수 DMF(1.7 mL, 0.02 M)에 용해시켰다. SO₃.피리딘 복합체(163 mg, 1.023 mmol, 하이드록실 당 3당량, 물, 톨루엔, EtOH, DCM로 새로 세척되고, P₂O₅ 하에서 진공 건조기에서 1시간동안 건조됨)를 첨가하였다. 혼합물을 60 °C에서 (19 h) 교반하고, 0 °C로 냉각시켰다. pH가 10을 초과할 때까지 5 M NaOH를 첨가하였다. EtOH(6 mL)를 첨가하고, 혼합물을 0 °C에서 20분동안 교반하였다. 원심분리에 의해 침전물을 단리하고, EtOH(1 mL)로 세척하고, 물(1.5 mL)에 다시 용해시켰다. 주황색 용액을 워터스(Waters: 등록상표) C18 SPE(200 mg, MeOH, MeOH-H₂O 50:50, 10:90, 5:95 및 1:99를 이용한 중력 용출에 의해 예비조건화됨, 각각 3 mL를 이용)에 로딩하고, MeOH-H₂O(1:99)로 용출시켰다. 생성물 분획을 슬라이드-A-라이저 투석 카세트(2000 MWCO, 0.5-3.0 mL 용량)에 부하하였다. 실온에서 하루동안 10 L의 정제된 물에서 수행하였다. 물을 교환(10 L)하고, 투석을 0 °C에서 하루 더 계속하였다. 담황색 용액을 회수하여 동결건조시켜 퍼설페이트(60)를 담황색 분말(43 mg, 62 %)로서 수득하였다.

¹H NMR (D₂O, 300 MHz) δ 7.92 (s, 1H,

트리아졸), 5.27 (d, 1H, J = 1.8), 5.20 (d, 1H, J = 1.4), 5.04 (m, 1H), 4.89 (br s, 1H), 4.72 (m, 1H), 4.65-3.28 (m, 23H), 2.07 (m, 2H, CH₂), 1.83-0.45 (m, 31H, 콜레스타닐), 0.73 (d, 3H, J = 6.4, CH₃), 0.66 (d, 6H, J = 6.4, 2xCH₃), 0.63 (s, 3H, CH₃), 0.49 (s, 3H, CH₃).

[0225]

[0226] **실시예 14. 2,3,4,6-테트라-O-아세틸- α -D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-아세틸- α -D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-아세틸- α -D-글루코피라노실-(1→4)-1,2,3,6-테트라-O-아세틸-D-글루코피라노스(61)**

[0227] 무수 말토테트라오스(502 mg, 0.753 mmol) 및 DMAP(촉매량)를 무수 피리딘(10 mL)에 용해시킨 후, 0 °C에서 피리딘(5 mL) 중의 Ac₂O(2.8 g)의 용액을 0 °C에서 적가하고, 0 °C에서 4시간동안 교반한 후, -20 °C에서 48시간 동안 두었다. 반응은 종결되지 않았고, 따라서, 추가의 Ac₂O(1 g, mmol)를 0 °C에서 첨가하고, 실온에서 16시간 후, 0 °C에서 무수 MeOH(10 mL)를 첨가함으로써 반응을 급냉시키고, 2시간동안 실온에서 계속 교반하였다. 톨루엔(3X30 mL)과 함께 용액을 증발시켜서 피아세테이트(61)[35]를 백색 고형물(920 mg, 97 %)로서 수득하였다.

[0228] **2,3,4,6-테트라-O-아세틸- α -D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-아세틸- α -D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-아세틸- α -D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-아세틸- α -D-글루코피라노실 트라이클로로아세트이미데이트(62)**

[0229] 0 °C에서 무수 THF(15 mL) 중의 에틸렌다이아민(1.66 mmol, 0.11 mL)의 용액에 빙초산(0.90 mmol, 0.053 mL)을 첨가하여 침전물을 즉시 형성시키고, 이는 수성 후처리까지 존재한 채 남아있다. 0 °C에서 피아세테이트(61)(900mg, 0.717 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 2시간동안 교반하고, TLC(톨루엔 / EtOAc, 1:2)는 출발 물질이 존재하지 않고, 더 느리게 이동하는 생성물의 존재를 나타내며, 이는 대부분 아노머 혼합물로 보인다. pH 6에 도달하도록 아세트산(0.15 mL)을 적가하여 용액을 중화시켰다. 공기 스트림으로 용매를 날리고, 잔사를 EtOAc(100 mL)에 용해시키고, 포화 NaHCO₃-용액(3X50 mL), 물(3X10 mL), 염수(30 mL)로 세척하고, 건조(Na₂SO₄)시키고, 진공에서 농축하여 헤미아세탈을 황색 포움(830 mg)으로서 수득하였다. 무수 헤미아세탈(830 mg, 0.684 mmol)을 무수 DCM(5 mL)에 용해시키고, 0 °C에서 K₂CO₃(1.20 g, 8.60 mmol) 및 트라이클로로아세토니트릴(0.849 mL, 8.40 mmol)을 첨가하고, 실온에서 2시간동안 계속 교반하였다. 혼합물을 실리카 겔

(20X1.5 cm, 톨루엔-EtOAc, 1:2 → 0.2 % (v/v) Et₃N 함유 EtOAc) 컬럼에서 정제하여 바람직한 트라이클로로아세트이미데이트(62)[35]를 백색의 솜털같은 분말(795 mg, 86 %)로서 수득하였다. 화합물을 P₂O₅ 상에서 하룻밤동안 건조시키고, -20℃에서 저장하였다.

[0230]

콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-O-아세틸-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-아세틸-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-아세틸-β-D-글루코피라노사이드(63)

[0231]

트라이클로로아세트이미데이트(62)(300 mg, 0.221 mmol), 콜레스탄올(2 eq, 172 mg, 0.442 mmol) 및 3Å 분자체(100 mg)를 무수 DCM(1.5 mL) 중에서 0.5시간동안 교반하였다. 0℃에서 무수 DCM(0.5 eq., 0.4 M, 0.275 mL, 0.11 mmol,) 중의 TMS-트라이플레이트 용액을 적가하였다. 실온에서 30분 후에, 무수 DCM(0.36 eq., 0.4 M, 0.2 mL, 0.08 mmol) 중의 또다른 부분의 TMS-트라이플레이트를 첨가하고, 실온에서 30분동안 계속 교반하였다. 0℃에서 10분동안 Et₃N(0.025 mL)을 첨가함으로써 반응물을 급냉시키고, 셀라이트 플러그(0.5 cm)를 통해 여과하고, DCM(5X25 mL) 및 EtOAc(3X25 mL)로 세척하였다. 유기상을 모두 포화 NaHCO₃-용액(3X25 mL) 및 염수(25 mL)로 개별적으로 세척하였다. 수성 추출액을 조합하고, EtOAc(3X30 mL)로 재추출하고, 염수(30 mL)로 세척하고, 다른 유기 추출액과 조합하고, 건조(Na₂SO₄)시키고, 진공 하에서 농축하여 조질의 황색 포움(480 mg)을 수득하였다. 생성물을 실리카 겔(30X5 cm, 톨루엔 : EtOAc 3:2 → 1:1 → 1:2 → 0.2 % Et₃N(v/v) 함유 EtOAc) 컬럼 상에서 정제하였다. 정제하여 백색 포움으로서 분획 A 중의 바람직한 β-연결된 글리코사이드(63)(81 mg, 23 %), 및 77%의 부분적으로 탈아세틸화된 α-결합된 글리코사이드 및 23 %의 부분적으로 탈아세틸화된 β-결합된 글리코사이드(118 mg)를 함유하는 분획 B를 수득하였다.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 5.24-5.45

(m, 7H, 3 × H₁, 4 × H₃), 5.08 (t, 3H, J_{H3-H4} = J_{H4-H5} 9.80, H^{4'''}), 4.86 (dd, 1H, J_{H1-H2} = 4.1, J_{H2-H3} = 10.4, H^{2'''}), 4.70-4.80 (m, 3H, 3 × H₂), 4.63 (d, 1H, J_{H1-H2} = 7.7, H^{1'}), 4.33-4.54 (m, 4H, 4 × H₆), 3.86-4.31 (m, 10 H, 3 × H₄, 3 × H₅, 4 × H₆), 3.70 (ddd, 1H, H^{5'}), 3.56 (m, 1H, 콜레스타닐-H₃), 2.20, 2.19, 2.16, 2.11, 2.07, 2.04, 2.03, 2.02, 2.015, 2.010, 2.00, 1.99 (s, 39H, 13 × Ac), 0.55-2.00 (m, 33H, 12 CH₂, 9 CH), 0.90 (d, 3H, J = 6.6, 콜레스타닐-CH₃), 0.871 (d, 3H, J = 6.6, 콜레스타닐-CH₃), 0.867 (d, 3H, J = 6.6, 콜레스타닐-CH₃), 0.78 (s, 3H, 콜레스타닐-CH₃), 0.65 (s, 3H, 콜레스타닐-CH₃).

[0232]

[0233]

3β-콜레스타닐 α-D-글루코피라노실-(1→4)-α-D-글루코피라노실-(1→4)-α-D-글루코피라노실-(1→4)-β-D-글루코피라노사이드(64)

[0234]

퍼아세데이트(63)(75 mg, 0.047 mmol)를 일반적인 절차에 따라 탈아세틸화시켜 폴리올(64)을 백색 고형물(48 mg, 98 %)로서 수득하고, 이를 다음 단계에서 추가의 정제 또는 특성화없이 이용하였다.

[0235]

3β-콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-O-나트륨 설펜나토-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-나트륨 설펜나토-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-나트륨 설펜나토-β-D-글루코피라노사이드(65)

[0236]

폴리올(64)(48 mg, 0.046mmol)을 무수 DMF(2.3 mL, 0.02 M)에 용해시키고, 새로 세척되고 건조된 SO₃.피리딘 복합체(285 mg, OH 기 당 3당량, 1.79 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 60℃에서 16시간동안 교반하였다. 반응 혼합물을 10분동안 0℃로 냉각시킨 후, 0℃에서 빙냉한 수성 NaOH 용액(5 M, 2.1 eq/SO₃, 0.752 mL, 3.76 mmol)을 한부분으로 첨가하여 중화시킨다(pH 12까지). 0℃에서 현탁액을 15분동안 교반하고, 물(10 mL)로 희석시키고, 40℃에서 진공에서 농축시켰다. 담황색 분말을 수득하고, 이를 물(10 mL)에 용해시켜 pH 11.5의 용액을 수득하였다. NaOH(5 M, 5 방울) 수용액을 첨가함으로써 용액을 pH 12.5로 설정하고, 슬라이드-A-라이저(등록상표) 카세트(2000 MWC0, 4-12 mL)를 이용하여 실온에서 16시간동안 물(4 L)에 대해 투석하였다. 0℃에서 물(4 L)에 대한 투석을 3일동안 계속하고, 이때 물을 24시간마다 갈아주고, NH₄HCO₃(3 M, 0.6 mL) 수용액을 물에 첨가하여 pH를 6.0 내지 6.5로 설정하였다. 그런 다음, 탈염된 용액을 동결건조시켜 퍼설펜나이트(65)를 백색의 솜털같은 분말(97 mg, 89 %)로서 수득하였다.

¹H NMR (400

MHz, D₂O) δ 5.72 (d, 1 H, $J_{\text{H1-H2}} = 3.3$, 1H^I), 5.69 (d, 1 H, $J_{\text{H1-H2}} = 3.6$, H^I), 5.59 (d, 1H, $J_{\text{H1-H2}} = 3.6$, H^I), 5.10 (d, 1H, $J_{\text{H1-H2}} = 4.8$, H^I), 4.19-5.02 (m, 23H, 4 × H², 4 × H³, 4 × H-4, 3 × H⁵, 8 × H⁶), 4.14 (m, 1H, H⁵^I), 3.85 (m, 1 H, H-3 Chol.), 0.63-2.06 (m, 33 H, 12 CH₂, 9 CH), 0.95 (d, 3H, $J = 6.5$, 콜레스타닐-CH₃), 0.885 (d, 3H, $J = 6.6$, 콜레스타닐-CH₃), 0.882 (d, 3H, $J = 6.6$, 콜레스타닐-CH₃), 0.85 (s, 3H, 콜레스타닐-CH₃), 0.70 (s, 3H, 콜레스타닐-CH₃).

[0237]

[0238]

실시예 15. 2,3,4,6-테트라-*O*-벤조일-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-*O*-벤조일-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-*O*-벤조일-α-D-글루코피라노실-(1→4)-1,2,3,6-테트라-*O*-벤조일-D-글루코피라노스(66)

[0239]

G4 시럽(1.8 g, 약 72 % 말토테트라오스(w/w), 약 1.94 mmol을 함유하는 동결건조물) 및 DMAP(75 mg)를 무수 피리딘(36 mL)에 용해시키고, 0 °C에서 피리딘(8 mL) 중의 벤조일 클로라이드(94.7 mmol, 11 mL)의 용액을 적 가하고, 실온에서 16시간동안 계속 교반하였다. 0 °C에서 MeOH(50 mL)를 첨가하여 혼합물을 급냉시키고, 2시간 동안 계속 교반하였다. 혼합물을 톨루엔(3X50 mL)과 함께 증발시켜 황색 시럽을 수득하였다. 시럽을 EtOAc(150 mL)에 현탁시키고, 포화 중탄산 나트륨 용액(5X50 mL), 수성 HCl(5%, 5X50 mL), 및 물(5X50 mL)로 세척하였다. 수성 상을 EtOAc(2X50 mL)로 재추출하고, 주된 유기 추출액과 조합하고, 염수(50 mL)로 세척하고, 건조(Na₂SO₄)시키고, 여과하고, 진공에서 농축시켰다. 방향족 불순물의 대부분을 제거하기 위해서, 시럽을 비등 *n*-헥산(5X50 mL)으로 세척하고, 음파처리하고, 고-진공에서 건조시켜 퍼벤조일화된 말토올리고사카라이드의 혼합물을 연한 베이지색 포움(6.0 g)으로서 수득하였다. 50 °C에서 잔사를 최소 체적의 톨루엔/에틸아세테이트(15:1, 25 mL)의 혼합물에 용해시키고, 톨루엔/에틸아세테이트 15:1의 (약 1 컬럼 체적) 내지 10:1(1.5 컬럼 체적) 내지 5:1(1.5 컬럼 체적)의 농도구배로 용출되는 실리카 겔(21X5.5 cm, 톨루엔으로 미리 컨디셔닝됨) 컬럼에 부하하였다. TLC 상에서 UV 및 화학적 염색으로 분획을 확인하고, 말토테트라오스 퍼벤조에이트의 순수한 분획을 조합하고, 진공 하에서 농축시키고, 고-진공에서 건조시켜 순수한 생성물(66)을 백색 포움(3.04 g, 76 %, 무수 시럽 중의 72 % 말토테트라오스 기준)으로서 수득하였다. ¹H-NMR은 아노머 혼합물(α;β = 1 : 1) 및 모든 OH-기의 완전 벤조일화(순도 > 95 %)를 나타낸다.

¹H NMR (400MHz, CDCl₃): β-아노머 : 8.26-7.09 (m, 65H, 13 ×

Bz), 6.33 (d, 1H, $J_{1(\text{I})-2(\text{I})} = 7.5$, H^I), 6.19 (dd or t, 1H, $J_{2(\text{IV})-3(\text{IV})} = 10.2$, $J_{3(\text{IV})-4(\text{IV})} = 10.2$, H³^{IV}), 6.07 (dd, 1H, $J_{2(\text{II})-3(\text{II})} = 10.2$, $J_{3(\text{II})-4(\text{II})} = 8.9$, H³^{II}), 5.96 (dd, 1H, $J_{2(\text{III})-3(\text{III})} = 10.2$, $J_{3(\text{III})-4(\text{III})} = 8.2$, H³^{III}), 5.83 (d, 1H, $J_{1(\text{IV})-2(\text{IV})} = 4.1$, H^I^{IV}), 5.82 (dd or t, 1H, $J_{2(\text{I})-3(\text{I})} = 6.8$, $J_{3(\text{I})-4(\text{I})} = 8.2$, H³^I), 5.76 (dd or t, 1H, $J_{4(\text{IV})-5(\text{IV})} = 9.6$, H⁴^{IV}), 5.71 (d, 1H, $J_{1(\text{II})-2(\text{II})} = 4.1$, H^I^{II}), 5.69 (d, 1H, $J_{1(\text{III})-2(\text{III})} = 4.1$, H^I^{III}), 5.65 (dd, 1H, H²^I), 5.34 (dd, 1H, H²^{IV}), 5.20 (dd, 1H, H²^{II}), 5.14 (dd, 1H, H²^{III}), 5.03-4.22 (m, 15H, 3 × H⁴, 각각 4.70, 4.52 및 4.40 ppm 에서, 및 4 × H⁵ 및 8 × H⁶).

[0240]

[0241]

주: 당 고리 II 및 III에 대한 할당이 모호하다.

α-아노머 : 6.84 (d, 1H, $J_{1(\text{I})-2(\text{I})} = 3.6$, H^I),

5.46 (dd, 1H, $J_{1(\text{I})-2(\text{I})} = 10.2$, $J_{2(\text{I})-3(\text{I})} = 3.6$, H²^I).

[0242]

[0243]

2,3,4,6-테트라-*O*-벤조일-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-*O*-벤조일-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-*O*-벤조일-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-*O*-벤조일-β-D-글루코피라노실 아지드(67)

[0244]

퍼벤조에이트(66)(500 mg, 0.235 mmol)를 무수 DCM(2 mL)에 용해시킨 후, 0 °C에서 아세트산 중의 30 % HBr 용액(0.5 mL)을 첨가하고, Ar 하에서 2시간동안 교반하였다. 용액을 얼음-물-DCM(100 mL)에 부어서 반응을 급냉시키고, 유기 상을 얼음-물(3X50 mL), 포화 NaHCO₃-용액(3X30 mL), 염수(25 mL)로 세척하고, 건조(Na₂SO₄)시키고, 실온에서 진공 하에서 농축하여 조질 브로마이드를 생성한다. 조질 브로마이드를 클로로포름(2 mL)에 용해시킨 후, NaN₃(130 mg, 2 mmol), 테트라부틸암모늄 브로마이드(129 mg, 0.4 mmol), 및 최종적으로 포화 NaHCO₃-용액(3.5 mL)를 첨가하고, 실온에서 24시간동안 격렬하게 교반하였다. 공기 스트림으로 용매를 날렸다. 그런 다음, 잔사를 EtOAc(10 mL)에 용해시키고, 물(3X50 mL), 포화NaHCO₃-용액(4X25 mL)으로 세척하였다. EtOAc(2X50 mL)로 수성 상을 재추출하고, 유기 추출물을 조합하고, 염수(2X25 mL)로 세척하고, 건조(Na₂SO₄)시

키고, 진공에서 농축하였다. 글리코실 아지드(67)를 황색 포움(466 mg, 97 %)으로 수득하고, 이를 추가의 정제 없이 다음 단계에서 이용하였다.

¹H NMR

(CDCl₃, 400 MHz) δ 7.03-8.24 (m, 65 H, 13 × Bz), 6.10 (dd, 1H, $J_{H2-H3} = 10.4$, $J_{H3-H4} = 9.9$, H3^{III}), 5.99 (dd, 1H, $J_{H2-H3} = 10.1$, $J_{H3-H4} = 8.7$, H3^{III}), 5.84 (dd, 1H, $J_{H2-H3} = 9.9$, $J_{H2-H3} = 8.2$, H3^{II}), 5.75 (d, 1H, $J_{H1-H2} = 3.9$, H1^{III}), 5.67 (m, 2H, H3, H4^{III}), 5.63 (d, 1H, $J_{H1-H2} = 4.1$, H1^{III}), 5.58 (d, 1H, $J_{H1-H2} = 3.9$, H1^{II}), 5.26 (dd, 1H, $J_{H1-H2} = 4.1$, $J_{H2-H3} = 10.4$, H2^{III}), 5.20 (dd, 1H, $J_{H1-H2} = 8.4$, $J_{H2-H3} = 9.2$, H2), 5.10 (dd, 1H, $J_{H2-H3} = 10.1$, H2^{III}), 5.04 (dd, 1H, H2^{II}), 4.98 (dd, 1H, $J_{H6b-H5} = 2.1$, $J_{H6bH6a} = -12.0$, H6b), 4.88 (d, 1H, $J_{H1-H2} = 8.4$, H1), 4.82 (dd, 1H, $J_{H6b-H5} = 1.7$, $J_{H6bH6a} = -12.0$, H6b), 4.67-4.76 (m, 2H, H-6a, H-6b), 4.53-4.63 (m, 2H, H-6a, H-6b), 4.30-4.47 (m, 7H, 3 × H4, 2 × H6, 2 × H5), 4.10-4.21 (m, 2H, 2 × H5).

[0245]

[0246]

4-(콜레스탄-3β-일-옥시메틸)[1,2,3]트리아졸-1-일 2,3,4,6-테트라-O-벤조일-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-벤조일-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-벤조일-β-D-글루코피라노사이드(68)

[0247]

3β-(프로프-2-에닐옥시)콜레스탄올(84 mg, 2eq., 0.196 mmol) 및 아지드(67)(200 mg, 0.098 mmol)를 DCM/t-BuOH(3:2, w/w, 0.21 M, 0.200 mL)의 혼합물에 용해시켰다. CuSO₄(0.3 M, 0.1 eq., 0.033 mL)의 수용액 및 나트륨 아스코베이트(1 M, 0.3 eq., 0.029 mL)의 수용액을 첨가하고, 혼합물을 빛 없이 48시간동안 격렬하게 교반하였다. TLC 분석(톨루엔 : EtOAc, 1:1)은 출발 아지드보다 더 극성인 생성물의 출현이 있는 반응의 끝을 보여주었다. 혼합물을 DCM(100 mL)으로 희석시키고, 포화 NaHCO₃-용액(3X50 mL)으로 세척하였다. 수성 상을 DCM(3X20 mL)으로 재추출하고, 유기 추출물을 조합하고, 염수(50 mL)로 세척하고, 건조(Na₂SO₄)시키고, 진공 하에서 농축하여 조질 생성물을 황색 포움(279 mg)으로 수득하였다. 조질 생성물을 실리카 겔(30X5 cm, 톨루엔-EtOAc, 7:1→5:1→3:1)의 컬럼 상에서 정제하여 트리아졸(68)을 담황색 포움(153 mg, 63 %)으로서 수득하였다.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 7.05-8.24 (m, 65 H, 13 × Bz),

6.14 (d, 1H, $J_{H1-H2} = 8.9$, H1^I), 6.11 (dd, 1H, $J_{H2-H3} = 10.6$, $J_{H3-H4} = 9.8$, H3^{III}), 6.00 (dd, 1H, $J_{H2-H3} = 10.1$, $J_{H3-H4} = 8.6$, H3^{III}), 5.86 (m, 2H, H3^I, H1^{III}), 5.76 (d, 1H, $J_{H1-H2} = 3.8$, H1^{III}), 5.64-5.71 (m, 3H, H1^{III}, H2^I, H4^{III}), 5.63 (d, 1H, $J_{H1-H2} = 3.8$, H1^{II}), 5.26 (dd, 1H, H2^{III}), 5.12 (dd, 1H, $J_{H1-H2} = 3.8$, H2^{II}), 5.08 (dd, 1H, $J_{H2-H3} = 9.8$, H2^{II}), 4.98 (dd, 1H, $J_{H6b-H5} = 1.7$, $J_{H6bH6a} = -12.5$, H6b), 4.87 (dd, 1H, H6b), 4.69-4.77 (m, 2H, H6a, H6b), 4.53-4.66 (m, 4H, 2 × H6, OCH₂, H4^I), 4.29-4.50 (m, 7H, 2 × H4, 2H6, 3 × H-5), 4.18 (m, 1H, H5), 4.10-4.21 (m, 2H, 2 × H5), 3.26 (m, 1H, H-3 Chol), 0.52-2.00 (m, 33 H, 12 CH₂, 9 CH), 0.90 (d, 3H, $J = 6.5$, 콜레스타닐 -CH₃), 0.869 (d, 3H, $J = 6.7$, 콜레스타닐 -CH₃), 0.864 (d, 3H, $J = 6.6$, 콜레스타닐 -CH₃), 0.77 (s, 3H, 콜레스타닐 -CH₃), 0.65 (s, 3H, 콜레스타닐 -CH₃).

[0248]

[0249]

4-(콜레스탄-3β-일-옥시메틸)[1,2,3]트리아졸-1-일 α-D-글루코피라노실-(1→4)-α-D-글루코피라노실-(1→4)-1-데옥시-β-D-글루코피라노사이드(69)

[0250]

퍼벤조에이트(68)(95 mg, 0.038 mmol)를 MeOH/THF(4:1(w/w), 7.5 mL)의 혼합물에 용해시킨 후, 0 °C에서 MeOH(11 M, 0.040 mL) 중의 NaOMe의 용액을 첨가하고, 실온에서 계속 교반하였다. 16시간 후에도 여전히 부분적으로 벤조일화된 화합물이 존재하고(TLC: MeOH : EtOAc, 3:1), 더 많은 MeOH 중의 NaOMe(11 M, 0.040 mL)를 첨가하고, 추가 3시간동안 계속 교반하였다. 강한 산성 양이온 교환 수지(BioRad AG-X8, H⁺)를 첨가하여 pH 7로 조절함으로써 용액을 중화시킨 후, 용액을 여과하고, MeOH(5X20 mL)로 세척하고, 진공에서 농축시켰다. 잔사를 실리카 겔(15X1 cm, EtOAc, → MeOH-EtOAc, 3:1 → 0.2 % Et₃N 함유 MeOH) 컬럼으로 정제하여 폴리올(69)을 백색 고형물(47 mg, 100%)로서 수득하였다.

[0251]

4-(콜레스탄-3β-일-옥시메틸)[1,2,3]트리아졸-1-일 2,3,4,6-테트라-O-나트륨 설포나토-α-D-글루코피라노실-(1

→4)-2,3,6-트라이-*O*-나트륨 설포나토- α -D-글루코피라노실-(1→4)-1-데옥시-2,3,6-트라이-*O*-나트륨 설포나토- β -D-글루코피라노사이드(70)

[0252] 폴리올(69)(45 mg, 0.040mmol)을 무수 DMF(2 mL, 0.02 M)에 용해시키고, 새로 세척되고 건조된 SO₃.피리딘 복합체(248 mg, OH 기 당 3당량, 1.56 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 60 °C에서 16시간동안 교반하였다. 반응 혼합물을 10분동안 0 °C로 냉각시킨 후, 0 °C에서 빙냉한 수성 NaOH 용액(5 M, 2.1 eq/SO₃, 0.656 mL, 3.28 mmol)을 한 부분으로(pH 12까지) 첨가함으로써 중화시켰다. 0 °C에서 현탁액을 15분동안 교반하고, 물(20 mL)로 희석하고, 진공에서 40 °C에서 농축하였다. 고형물을 물(11 mL)에 용해시켜 pH 10.5의 용액을 수득하였다. NaOH(5 M, 5 방울) 수용액을 첨가함으로써 용액을 pH 12로 설정하고, 슬라이드-A-라이저(등록상표) 카세트(2000 MWCO, 4-12 mL)를 이용하여 실온에서 16시간동안 물(4 L)에 대해 투석하였다. 0 °C에서 3일동안 물(4 L)에 대해 투석을 계속하였고, 이때 24시간마다 물(4 L)을 갈아주고, 또한 NH₄HCO₃(3 M, 0.6 mL) 수용액을 물에 첨가하여 pH를 약 6.0 내지 6.5로 설정하였다. 그런 다음, 탈염된 용액을 동결건조시켜 퍼실레이트(70)를 백색의 숨털같은 분말(80 mg, 82 %)로서 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 8.31 (s, 1H, =CH), 6.25 (d, 1 H, J_{H1-H2} = 6.9, 1H, H1¹), 5.70 (m, 2 H, 2 × H1), 5.65 (d, 1H, J_{H1-H2} = 3.6, H1), 4.72-5.03 (m, 11H, 4 × H2, 4x H3, H4^{III}, OCH₂), 4.13-4.69 (m, 15 H, 3 × H4, 4 × H5, 8 × H6), 3.58 (m, 1 H, H-3 Chol.), 0.63-2.05 (m, 33 H, 12 CH₂, 9 CH), 0.95 (d, 3H, J = 6.3, 콜레스타닐 -CH₃), 0.87 (d, 6H, 2 × 콜레스타닐 -CH₃), 0.84 (s, 3H, 콜레스타닐 -CH₃), 0.70 (s, 3H, 콜레스타닐 -CH₃).

[0253]

[0254] 실시예 16. 2,3,4,6-테트라-*O*-아세틸- α -D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-*O*-아세틸- α -D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-*O*-아세틸- α -D-글루코피라노실 브로마이드(72)

[0255] 0 °C에서 말토티리오스 피아세테이트(71)[36](200 mg, 207 μ mol)를 DCM(1 mL) 및 33% HBr/HOAc(0.7 mL)에 취하였다. 0 °C에서 혼합물을 4시간동안 교반하였다. 용액을 DCM으로 희석시키고, 얼음-물(x2), NaHCO₃(포화)(x2) 및 염수(x1)로 세척한 후, 건조(Na₂SO₄)시키고, 용매를 증발시켜 브로마이드(72)를 백색 고형물로서 수득하고, 이를 추가의 정제 또는 특징화없이 반응시켰다.

[0256] 2,3,4,6-테트라-*O*-아세틸- α -D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-*O*-아세틸- α -D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-*O*-아세틸- β -D-글루코피라노실 아지드(73)

[0257] 브로마이드(72)(~200mg)를 EtOAc(5 mL) 및 NaHCO₃(포화)(5 mL)의 혼합물에 취하였다. NaN₃(500 mg)를 첨가한 후 Bu₄NBr(촉매량)를 첨가하였다. 실온에서 혼합물을 하룻밤동안 격렬하게 교반하였다. 용액을 EtOAc로 희석시키고, NaHCO₃(포화)(x2) 및 염수(x1)로 세척한 후, 건조(Na₂SO₄)시키고, 용매를 증발시켜 아지드(73)를 백색 고형물(198.9 mg, 100%, 2 단계)로서 수득하고, 이를 추가의 정제 또는 특징화없이 반응시켰다.

[0258] 4-(콜레스탄-3 β -일옥시메틸)[1,2,3]트라이아졸-1-일 2,3,4,6-테트라-*O*-아세틸- α -D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-*O*-아세틸- α -D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-*O*-아세틸-1-데옥시- β -D-글루코피라노사이드(74)

[0259] 아지드(73)(200 mg, 211 μ mol), 3-(프로프-2-이닐옥시)콜레스탄올(3 당량, 267 mg), CHCl₃(2 mL), *t*-BuOH(2 mL), CuSO₄(0.3M 수용액의 50 μ l) 및 나트륨 아스코베이트(1M 용액의 62.5 μ l)를 실온에서 하룻밤동안 격렬하게 교반하였다. 용매를 증발시키고, 잔사를 컬럼 크로마토그래피(SiO₂:헥산 내지 2:3 헥산:EtOAc)로 정제하여 트라이아졸(74)(197 mg, 68 %)을 수득하였다.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.66 (s, 1H, triazol-H), 5.85 (d, 1H, $J_{1,2}$ = 9.3, H-1^I), 5.46-5.27 (m, 6H, H-1^{II}, H-1^{III}, H-2^I, H-4^{III}, H-3^{II}, H-3^{III}), 5.03 (dd, 1H, $J_{3,2}$ = 9.8, $J_{3,4}$ = 9.8, H-3^I), 4.82 (dd, 1H, $J_{2,1}$ = 4.1, $J_{2,3}$ = 10.3, H-2), 4.72 (dd, 1H, H-2), 4.63 (s, 2H, CH_2O), 4.47-4.41 (m, 2H), 4.32-3.88 (m, 9H), 3.31 (m, 1H, CHO), 2.12 (s, 6H, OAc), 2.06 (s, 3H, OAc), 2.03 (s, 3H, OAc), 2.00 (s, 3H, OAc), 1.99 (s, 3H, OAc), 1.98 (s, 3H, OAc), 1.96 (s, 3H, OAc), 1.96-0.83 (m, 31H), 1.82 (s, 3H, OAc), 0.85 (d, 3H, J = 6.7, CH_3), 0.82 (m, 6H, CH_3), 0.76 (s, 3H, CH_3), 0.60 (s, 3H, CH_3).

[0260]

[0261] 4-(콜레스탄-3-일-옥시메틸)[1,2,3]트라이아졸-1-일 α -D-글루코피라노실-(1→4)- α -D-글루코피라노실-(1→4)-1-데옥시- β -D-글루코피라노사이드(75)

[0262] 퍼아세테이트 74(197.2 mg)를 일반적인 절차에 따라 탈아세틸화시켜 폴리올(75)을 백색 고형물(131 mg, 96 %)로서 수득하고, 이를 추가의 정제 또는 특징화없이 반응시켰다.

[0263] 4-(콜레스탄-3 β -일-옥시메틸)[1,2,3]트라이아졸-1-일 2,3,4,6-테트라-O-나트륨 설포나토- α -D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-나트륨 설포나토- α -D-글루코피라노실-(1→4)-1-데옥시-2,3,6-트라이-O-나트륨 설포나토- β -D-글루코피라노사이드(76)

[0264] 폴리올(75)(131.2 mg, 137 μmol)을 DMF(0.02M, 6.9 mL)에 용해시켰다. SO_3 .피리딘(하이드록실 기당 3당량, 4.12 mmol, 655 mg)을 첨가하고, 60 $^\circ\text{C}$ 에서 용액을 하룻밤동안 교반하였다. 용액을 빙수에서 냉각시킨 후, 5 M NaOH(2.1 당량/ SO_3 .피리딘, 1.73 mL)를 이용하여 중화시켰다. 용매를 증발시키고, 조질 생성물을 C18 SPE 카트리지(2X1g 카트리지) 상에서 정제한 후, 투석(48 h, 2000 MWC 카트리지)시켰다. 회백색 용액을 동결건조시켜 퍼설페이트(76)를 회백색 고형물(156 mg, 58 %)로서 수득하였다.

^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 8.32 (s, 1H, 트라이아졸-H), 6.22 (d, 1H, $J_{1,2}$ = 7.5, H-1^I), 5.69 (d, 1H, $J_{1,2}$ = 3.4, H-1), 5.63 (d, 1H, H-1), 5.04-4.17 (m, 18H), 3.58 (m, 1H, CHO), 2.03-0.85 (m, 31H), 0.95 (d, 3H, J = 6.2, CH_3), 0.88 (d, 6H, CH_3), 0.85 (s, 3H, CH_3), 0.71 (s, 3H, CH_3).

[0265]

[0266] 실시예 17. 3 β -콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-O-벤조일- α -D-만노피라노사이드(77)

[0267] 2,3,4,6-테트라-O-벤조일- α -D-만노피라노실 트라이클로로아세트이미데이트(0.372 g, 0.502 mmol) 및 3 β -콜레스타놀(0.390 g, 1.004 mmol, 2 eq)을 무수 DCM(5 mL, 0.1 M)에 용해시켰다. 분말 MS 3Å(120 mg, 새로 활성화됨)를 첨가하였다. 0 $^\circ\text{C}$ 에서 30분동안 혼합물을 교반하였다. DCM(0.3 mL) 중의 TMSOTf(0.018 mL, 0.100 mmol, 0.2eq)의 용액을 주사기를 통해 적가하였다. 0 $^\circ\text{C}$ 에서 혼합물을 교반하고, 이동안 반응을 TLC(헥산-EtOAc = 83:17)로 모니터링하였다. 1.5시간 후에, 전환이 완료되었고, Et_3N (0.2 mL)을 첨가하였다. 조질 혼합물을 여과하고, 고형물을 DCM(5X1.5 mL)으로 세정하였다. 조합된 여과액 및 세척액을 실리카 겔 상에서 증발시키고 컬럼 크로마토그래피(실리카 겔 2.5X22 cm, 헥산-EtOAc 200:20, 210:30, 400:80를 이용한 농도구배 용출)로 정제하여 글리코사이드(77)를 무색 포움(368 mg, 76%)으로서 수득하였다.

[0268] 3 β -콜레스타닐 α -D-만노피라노사이드(78)

[0269] 상기 무색 포움(358 mg, 0.370 mg)을 무수 THF(5 mL) 및 MeOH(3 mL)에 용해시키고, MeOH(0.4 mL) 중의 11M NaOMe의 용액을 첨가하였다. 백색 침전물이 즉각 형성되었다. 혼합물을 실온에서 교반하였다. 더 많은 THF(3 mL)를 첨가하고, 백백한 현탁액을 실온에서 추가 하루동안 교반하였다. AG50WX8 수지(H^+ 형태)를 첨가하여 혼합물을 중화시켜 현탁액이 투명한 용액이 되게 하였다. 여과에 의해 수지를 제거하고, MeOH(4X1.5 mL)로 세척하였다. 조합된 여과액 및 세척액이 5분 이내에 겔로 변하였다(반투명). 혼합물을 작은 부피로 증발시키고, EtOH(10 mL)로부터 결정화시켰다. 전체 혼합물이 실온에서 겔로 변하였고, 이를 여과시키고, 압축하여 액체를 배수하였다. 잔사를 EtOH(1.5mL)로 세척하고, 공기 건조시키고, P_2O_5 하에서 진공에서 건조시켜 테트롤(78)을 백색 분말(131mg)로서 수득하였다. 여과액은 침전물을 생성하고, 환류되게 가열되었다. 생성된 투명한 용액을 실리카 겔 상으로 증발시키고, 실리카 컬럼 크로마토그래피(3X8 cm, CHCl_3 200 mL 및 MeOH- CHCl_3 20:200, 20:160, 30:150)를 이용한 농도구배 용출로 정제하였다. 생성물 분획을 모으고, 증발시키고, P_2O_5 하에서 진공

하에서 3일동안 건조시켜 생성물의 제 2 수확물을 백색 분말(79 mg)로서 수득하였다.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ 4.73 (d, 1H, $J=1.5$, H1), 4.64 (d, D_2O 와 교환가능함, 1H, $J=4.6$, OH), 4.61 (br d, D_2O 와 교환가능함, 1H, $J=4.1$, OH), 4.48 (d, D_2O 와 교환가능함, 1H, $J=5.7$, OH), 4.37 (t, D_2O 와 교환가능함, 1H, $J=6.0$, OH), 3.62 (dd, 1H, $J=10.3$, 5.7), 3.56-3.29 (m, 6H, 당 $5 \times \text{H}$ 및 H3 콜레스타닐), 1.95-0.56 (m, 46H, 콜레스타닐).

[0270]

[0271] **3 β -콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-*O*-설포나토- α -D-만노피라노사이드 테트라나트륨 염(79)**

[0272]

테트롤(78)(102.8 mg, 0.187 mmol)을 무수 DMF(4.67 mL, 0.04 M)에 용해시켰다. SO_3 .피리딘 복합체(357 mg, 2.244 mmol, 하이드록실 당 3당량, 물, 톨루엔, EtOH, DCM로 새로 세척하고, P_2O_5 하에서 진공 건조기에서 1시간동안 건조시킴)를 첨가하였다. 혼합물을 60 $^\circ\text{C}$ 에서 18시간동안 교반하고, 0 $^\circ\text{C}$ 로 냉각시켰다. 5 M NaOH(3X0.45 mL)를 첨가하였다. 혼합물(pH > 10)의 색이 황색-주황색으로 변화하였다. 혼합물을 건조되도록 증발시켰다. 잔사(담황색 분말)를 4 mL의 물(pH > 10)에 용해시키고, SPE-C18 카트리지(800 mg, 각각 4 mL의 MeCN, MeCN-물 1:1, 1:9, 1:99로 용출시켜 미리 컨디셔닝시킴)로 정제하였다. 부하 후, SPE를 물(12 mL), 물 중의 1% MeCN(4.04 mL), 5%(4.2 mL), 10%(4.4 mL), 20%(4.8 mL), 30%(5.2 mL), 40%(5.6 mL), 50%(6 mL), 60%(4.8 mL) 및 70%(5.1 mL)로 용출시켰다. 분획을 MBT, 차르 시험(Char Test), CE로 확인한 후, 수집하고, 동결건조시켰다. 소량의 생성물(79)(25 mg의 갈색 분말)을 1%-5% MeCN-물로부터 수득하였다. 생성물의 대부분은 물 중의 10%, 20% 및 30% MeCN로부터 용출되었다(담황색 분말, 120 mg, 67%). 물 중의 40% MeCN을 이용하여 소량의 생성물(담황색 분말, 4 mg)을 용출시켰다.

^1H NMR (D_2O , 400 MHz) δ 5.16 (br s, 1H, H1), 4.70 (br s, 1H, H2), 4.6 (HOD와 겹쳐짐, 1H, H3), 4.35 (br m, 1H, H4), 4.22 (br m, 1H, H6), 4.14 (br m, 1H, H6), 3.96 (br m, 1H, H5), 3.54 (br m, 1H, 콜레스타닐-H3), 1.90-0.50 (m, 46H, 콜레스타닐).

[0273]

[0274] **실시예 18. 2,3,4,6-테트라-*O*-벤조일- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-벤조일- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-벤조일- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-벤조일- β -D-글루코피라노실아민(80)**

[0275]

아지드(67)(201 mg, 0.098 mmol)를 EtOAc(10 mL)에 용해시키고, H_2 대기 하에서 3시간동안 Pd-C(10%, (w/w), 100 mg)와 함께 교반하였다(TLC: 톨루엔 : EtOAc, 7:1). H_2 를 Ar로 대체한 후, 혼합물을 셀라이트(MeOH 및 EtOAc로 미리 세척됨, 5 mL)를 통해 여과하고, EtOAc(5X20 mL, + 음파처리)로 세척하고, 최종적으로 실온에서 진공하에서 농축시켜 아민(80)을 백색 고형물(200 mg, 100%)로서 수득하고, 이를 다음 단계에서 추가의 정제 또는 특성화없이 이용하였다.

[0276]

N-(2,3,4,6-테트라-*O*-벤조일- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-벤조일- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-벤조일- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-벤조일- β -D-글루코피라노실)-4-((3R, 10S, 12S, 13R)-3,12-다이-*O*-아세틸-10,13-다이메틸헥사데카하이드로-1H-사이클로펜타[a]페난트렌-17-일) 펜탄아미드(81)

[0277]

다이아세틸 테옥시콜산[37](53 mg, 0.111 mmol) 및 DMAP(촉매량)을 무수 DCM(3 mL)에 용해시킨 후, 0 $^\circ\text{C}$ 에서 DCM중의 DCC(1 M, 1 eq, 0.111 mL) 및 HOBt(17 mg, 0.111 mmol)의 용액을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 30분동안 교반하였다. Et_3N (2 방울)을 첨가함으로써 용액의 pH가 8이 되도록 염기화시킨 후, 0 $^\circ\text{C}$ 에서 DCM/DMF(5:1, (w/w), 2.5 mL)의 혼합물 중의 아민(80)(150 mg, 0.074 mmol)의 용액을 첨가하고, 실온에서 16 시간동안 계속 교반하였다(pH 8). TLC(톨루엔:EtOAc, 3:1)는 진행을 나타내지 않았고, 그래서 추가의 다이아세틸 테옥시콜산(53 mg, 0.111 mmol), DCM 중의 DCC(1 M, 1 eq, 0.111 mL), HOBt(17 mg, 0.111 mmol) 및 Et_3N (3 방울)을 첨가하고, 56시간동안 계속 교반하였다. TLC는 반응의 종결을 나타내었고, 용액을 셀라이트(미리 세척됨, 2 mm)로 여과하고, DCM(3X40 mL)으로 세척하였다. 투명한 용액을 포화 NaHCO_3 -용액(4X30 mL)으로 세척하였다. 수성 상을 DCM(2X20 mL)으로 재추출하고, 유기 추출액을 조합하고, 수성 HCl(3%, 5X30 mL), 포화

NaHCO₃-용액(20 mL)로 세척하고, 건조(Na₂SO₄)시키고, 진공에서 농축시켰다. 잔사를 실리카 겔(30X5 cm, 톨루엔 - EtOAc, 7:1 → 5:1 → 1:1)의 컬럼에서 정제하여 아마이드(81)를 담황색 고형물(58 mg, 32%)로서 수득하였다.

¹H NMR (CDCl₃, 400

MHz) δ 7.01-8.28 (m, 65 H, 13 × Bz), 6.31 (d, 1H, *J*_{H1-NH} = 9.3, NH), 6.10 (dd, 1H, *J*_{H2-H3} = *J*_{H3-H4} 10.1, H3^{III}), 6.00 (dd, 1H, *J*_{H2-H3} = 10.2, *J*_{H3-H4} = 8.9, H3^I), 5.82 (m, 2H, H3^{II}, H3^{III}), 5.74 (d, 1H, *J*_{H1-H2} = 3.9, H1^{III}), 5.67 (t, 1H, H4^{III}), 5.61 (d, 1H, *J*_{H1-H2} = 4.0, H1^{III}), 5.57 (d, 1H, *J*_{H1-H2} = 4.0, H1^{II}), 5.48 (t, 1H, *J*_{H1-H2} = 9.4H1^I), 5.25 (dd, 1H, *J*_{H2-H3} = 10.6, H2^{III}), 4.99-5.15 (m, 4H, 3 × H2, H3- 데옥시콜릭), 4.92 (dd, 1H, *J*_{H6b-H5} = 1.7, *J*_{H6bH6a} = -12.4, H6b), 4.63-4.81 (m, 4H, 3 × H6, H12- 데옥시콜릭), 4.56 (dd, 1H, *J*_{H6b-H5} = 1.7, *J*_{H6bH6a} = -12.6, H6b), 4.08-4.52 (m, 10H, 3 × H4, 4 × H5, 3 H6), 2.07 (s, 3H, Ac), 2.03 (s, 3H, Ac), 0.8-2.15 (m, 26H, 10x CH₂, 6 × CH), 0.89 (s, 3H, CH₃), 0.70 (d, 3H, *J* = 6.4, CH-CH₃), 0.63 (s, 3H, CH₃).

[0278]

[0279]

N-(α-D-글루코피라노실-(1→4)-α-D-글루코피라노실-(1→4)-α-D-글루코피라노실-(1→4)-β-D-글루코피라노실)-4-((3R, 10S, 12S, 13R)-12-*O*-아세틸-10,13-다이메틸헥사데카하이드로-1H-사이클로펜타[a]페난트렌-17-일) 펜탄아미드(82)

[0280]

화합물(81)(53 mg, 0.021 mmol)을 MeOH/THF(7:1(w/w), 4 mL)의 혼합물에 용해시킨 후, 0 °C에서 MeOH(11 M, 0.040 mL) 중의 NaOMe의 용액을 첨가하고, 실온에서 계속 교반하였다. 16시간 후에, 여전히 부분적으로 벤조일화된 비극성 화합물의 10%가 존재하고(TLC: MeOH:EtOAc, 2:1), 따라서 더 많은 MeOH 중의 NaOMe(11 M, 0.050 mL)를 첨가하고, 1시간동안 계속 교반하였다(pH 12). 강산성 양이온 교환 수지(바이오라드(BioRad) AG-X8, H⁺)를 첨가하여 pH를 7로 조절함으로써 용액을 중화시킨 후, 용액을 여과하고, MeOH(3X30 mL, + 음파처리)로 세척하고, 진공에서 농축하였다. 강한 방향족 냄새를 갖는 잔사를 실리카 겔(10X1 cm, EtOAc, → MeOH-EtOAc, 2:1 → 0.2 % Et₃N 함유 MeOH)의 컬럼 상에서 정제하여 폴리올(82)을 백색 고형물(23 mg, 100%)로서 수득하였다.

[0281]

N-(2,3,4,6-테트라-*O*-나트륨 설포나토-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-*O*-나트륨 설포나토-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-*O*-나트륨 설포나토-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-*O*-나트륨 설포나토-β-D-글루코피라노실)-4-((3R, 10S, 12S, 13R)-3-*O*-나트륨 설포나토-12-*O*-아세틸-10,13-다이메틸헥사데카하이드로-1H-사이클로펜타[a]페난트렌-17-일) 펜탄아미드(83)

[0282]

폴리올(82)(22 mg, 0.020 mmol)을 무수 DMF(0.02 M, 1.05 mL)에 용해시키고, 새로 세척되고 건조된 SO₃.피리딘 복합체(OH 기 당 3당량, 150 mg, 0.945 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 60 °C에서 16시간동안 교반하였다. 0 °C에서 수성 NaOH 용액(5 M, 2.1 eq SO₃, 0.397 mL, 1.985 mmol)을 한 부분으로 첨가함으로써 용액을 급냉시키고(pH 12), 0 °C에서 15분동안 교반하였다. 40 °C에서 현탁액을 진공 하에서 농축하여 황색 분말을 수득하였다. 분말을 물(11 mL)(pH 11.5)에 용해시키고, 실온에서 2시간동안 슬라이드-A-라이저(등록상표) 카세트(2000 MWCO, 4-12 mL)를 이용하여 물(4 L)에 대해 투석하였다. 물(4 L, 3 M 수성 NH₄HCO₃을 0.6 mL 함유, pH 6)에 대한 투석을 실온에서 16시간동안 계속하였다. 0 °C에서 46시간동안 투석을 계속하고, 이때 24시간마다 물(4 L)을 교환하고, NH₄HCO₃(3 M, 0.6 mL) 수용액을 물에 첨가하여 pH를 약 6.0 내지 6.5로 설정하였다. 그런 다음, 탈염된 용액을 동결건조시켜, 백색의 솜털같은 분말을 수득하였다. CE 분석은 5.228 분(80 %)에 상응하는 1개의 주 피크(80%), 및 5.121(5 %) 및 5.278 분(10 %)에 상응하는 2개의 작은 피크에 상응하는 3개 화합물의 출현을 보여주었다. 혼합물(~ 54 mg)을 C18 HPLC 컬럼: 용매 A: 100 % 물; 용매 B: 100 % 아세트니트릴; 유속: 10 mL/min; 분획 크기: 5 mL; 검출기: ELS; 농도구배: 5 % B 상에서 정제하였다. 생성물은 C18 매트릭스에 단지약하게 결합하였지만, (83)의 순수한 분획을 수집하고, CE에 의해 분석하였다. 동결건조시켜 퍼셀레이트(83)를 백색의 솜털같은 분말(12.1 mg, 24 %, 98 % CE에 의한 순도)로서 수득하였다.

^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 5.96 (d, 1H, NH), 5.79 (d, 2H, $2 \times \text{H1}^{\text{III}}$, H1^{III}), 5.68 (d, 1H, H1^{II}), 5.19 (s, 1H, H3- 데옥시콜릭), 5.00-5.10 (m, 3H1 , $3 \times \text{H3}$), 4.67-4.98 (m, 6H, H1^{I} , $4 \times \text{H2}$, H3), 4.18-4.60 (m, 16 H, $3 \times \text{H4}$, $4 \times \text{H5}$, $8 \times \text{H6}$, H12 - 데옥시콜릭), 2.46 (m, 2H, OCH_2), 2.28 (s, 3H, 12-O Ac- 데옥시콜릭), 1.08-2.13 (m, 24H, $9 \times \text{CH}_2$, $6 \times \text{CH}$), 1.05 (s, 3H, CH_3), 0.93 (d, 3H, $J = 6.2$, CH-CH_3), 0.88 (s, 3H, CH_3).

[0283]

(2,3,4,6-테트라-*O*-벤조일- α -D-글루코피라노실)-(1 \rightarrow 4)-(2,3,6-트라이-*O*-벤조일- α -D-글루코피라노실)-(1 \rightarrow 4)-(2,3,6-트라이-*O*-벤조일- α -D-글루코피라노실) 브로마이드(84)

[0285]

0 $^\circ\text{C}$ 에서 말트트리오스 퍼벤조에이트(200 mg, 207 μmol)를 DCM(1 mL) 및 HBr/HOAc(0.7 mL)에 취하였다. 0 $^\circ\text{C}$ 에서 혼합물을 6시간동안 교반하였다. 용액을 DCM으로 희석하고, 얼음-물(x2), NaHCO_3 (포화)(x2) 및 염수(x1)으로 세척한 후, 건조(Na_2SO_4)시키고, 용매를 증발시켜, 백색 고형물(정량)을 수득하고, 이를 추가의 정제 없이 반응시켰다.

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ 8.19 (m, 2H, Ar), 8.05 (m, 2H, Ar), 7.95 (m, 2H, Ar), 7.88-7.85 (m, 4H, Ar), 7.74-7.70 (m, 4H, Ar), 7.63-7.09 (m, 36H, Ar), 6.73 (d, 1H, $J_{1,2} = 3.4$, H-1^{I}), 6.13-6.08 (m, 2H, H-3^{III} , H-3^{I}), 5.95 (m, 1H, H-3^{II}), 5.76 (d, 1H, $J_{1,2} = 4.1$, H-1^{III}), 5.67 (m, 1H, H-4^{III}), 5.65 (d, 1H, $J_{1,2} = 3.4$, H-1^{II}), 5.27 (dd, 1H, H-2^{III}), 5.11 (dd, 1H, H-2^{II}), 5.03 (dd, 1H, H-2^{I}), 4.99 (dd, 1H, H-6^{I}), 4.76-4.72 (m, 2H, H-6^{II} , H-6^{I}), 4.66-4.58 (m, 2H, H-6^{II} , H-5^{I}), 4.55-4.35 (m, 5H, H-4^{I} , H-4^{II} , H-5^{II} , H-5^{III} , H-6^{III}), 4.23 (dd, 1H, H-6^{III}).

[0286]

실시예 19. 3 β -콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-*O*-벤조일- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-벤조일- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-벤조일- β -D-글루코피라노사이드(85)

[0288]

2,3,4,6-테트라-*O*-벤조일- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-벤조일- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-벤조일- α -D-글루코피라노실 브로마이드(84)(200 mg, 124 μmol)[38], 분자 체(~ 50 mg) 및 콜레스타닐(3 당량, 370 μmol , 145 mg)을 Ar 하에서 무수 DCM에 취하고, 0 $^\circ\text{C}$ 로 냉각시켰다. AgOTf (1.5 당량, 187 μmol , 48 mg)를 첨가하고, 0 $^\circ\text{C}$ 에서 용액을 2시간동안 교반하였다. 트라이에틸아민(600 μL)을 첨가하고, 용액을 실온으로 가온시켰다. 혼합물을 짧은 실리카 플러그(용출 용매로 0.5%(v/v) 트라이에틸아민이 있는 1:1 EtOAc:Hex 이용)를 통과시켰다. 용매를 증발시켰다(수욕 온도를 실온으로 유지시켰다). Ar 하에서 생성된 혼합물을 분자체와 함께 무수 DCM에 취한 후, 0 $^\circ\text{C}$ 로 냉각시킨 후, TMSOTf (1.24 mL, DCM 중의 0.1M 용액)을 20분 동안 서서히 첨가하였다. 용액을 0 $^\circ\text{C}$ 에서 1시간동안 교반 한 후, 실온에서 첨가된 추가의 0.5 당량의 TMSOTf 와 함께 15분동안 교반하였다. 추가 30분 후에, 트라이에틸아민(1 mL)을 첨가하고, 용액을 여과하고, 용매를 증발시켰다. 조질 생성물을 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 :헥산 내지 35 % EtOAc/Hex)로 정제하여 순수한 글리코사이드(85)를 백색 고형물로서 수득하고, (91 mg, 38 %).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.17 (m, 2H, Ar), 8.06 (m, 2H, Ar), 7.96 (m, 2H, Ar), 7.88 (m, 2H, Ar), 7.82 (m, 2H, Ar), 7.72 (m, 4H, Ar), 7.57 (m, 4H, Ar), 7.52-7.09 (m, 32H, Ar), 6.10 (t, 1H, $J = 9.7$, H-3^{III}), 5.92 (t, 1H, H-3^{II}), 5.75 (d, 1H, $J_{1,2} = 3.8$, H-1^{III}), 5.71-5.64 (m, 2H, H-4^{III} , H-3^{I}), 5.58 (d, 1H, $J_{1,2} = 3.8$, H-1^{II}), 5.30-5.19 (m, 2H, H-2^{III} , H-2^{I}), 5.10 (dd, 1H, H-2^{II}), 4.95 (m, 1H, H-6^{II}), 4.84 (d, 1H, $J_{1,2} = 7.7$, H-1^{I}), 4.77-4.61 (m, 3H, H-6^{I} , H-6^{I} , H-6^{II}), 4.49-4.34 (m, 5H, H-6^{III} , H-5^{I} , H-5^{III} , H-4^{I} , H-4^{II}), 4.25 (m, 1H, H-6^{III}), 4.06 (m, 1H, H-5^{II}), 3.53 (m, 1H, CHO), 1.99-0.47 (m, 31H), 0.91 (d, 3H, CH_3), 0.87 (m, 6H, CH_3), 0.64 (s, 3H, CH_3), 0.62 (s, 3H, CH_3).

[0289]

3 β -콜레스타닐 α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코피라노사이드(86)

[0290]

글리코사이드(85)(91 mg, 47.5 μmol)를 1:1 MeOH:THF에 취하고, 일반적인 방법에 따라 탈아세틸화시켜 폴리올(86)(48 mg)을 백색 고형물(혼적 양의 메틸 벤조에이트 함유)로서 수득하고, 이를 추가의 정제 또는 특징화없이 반응시켰다.

[0291]

[0292] 3β-콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-O-나트륨 설푸나토-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-나트륨 설푸나토-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-나트륨 설푸나토-β-D-글루코피라노사이드(87)

[0293] 폴리올(86)(47.8 mg, 54.6 μmol)을 DMF(0.02M, 2.73 mL)에 용해시켰다. SO₃.피리딘(하이드록시 당 3 당량, 1.64 mmol, 261 mg)를 첨가하고, 용액을 60 °C에서 하룻밤동안 교반하였다. 용액을 빙수에서 냉각시키고, 5 M NaOH(700 μl)로 중화시킨 후 용매를 증발시켰다. 잔사를 물에 취하고, 이동 상으로 MeOH/물을 이용하여 C18 SPE 카트리지 상에서 정제하였다. 생성물을 함유한 분획을 수집하고, 48시간동안 2000 MWC0 투석 카트리지를 이용하여 투석한 후, 40 마이크로 주사기를 이용하여 여과하고, 동결건조시켜 퍼실레이트(87)를 회백색 고형물(43 mg, 48 %, 2단계 동안)로서 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 5.68 (d, 1H, H-1), 5.58 (d, 1H, H-1), 5.05-4.03 (m, 19H), 3.82 (m, 1H, 콜레스타닐 H-3), 2.05-0.65 (m, 31H), 0.96 (d, 3H, J = 5.6, CH₃), 0.90 (d, 6H, J = 6.4, CH₃), 0.86 (s, 3H, CH₃), 0.71 (s, 3H, CH₃).

[0294]

[0295] 실시예 20. 2,3,4,6-테트라-O-아세틸-β-D-갈락토피라노실-((1→4)-1,2,3,6-테트라-O-아세틸-D-글루코피라노스(88)

[0296] 락토스(5.0221g, 13.88 mmol)를 무수 피리딘(40mL)에 현탁시키고, DMAP(50mg)를 첨가하였다. 0 °C에서 15분동안 아세트산 무수물(26.24mL, 277.6 mmol)을 현탁액에 적가하고, 혼합물을 실온에서 하룻밤동안 교반하였다. 0 °C에서 무수 메탄올을 적가함으로써 반응을 급냉시키고, 용액을 교반하였다. 용매를 증발시킨 후, 무수 톨루엔(3 x 50mL)과 함께 용출시키고, 남아있는 용매를 하룻밤동안 진공 하에서 감소시켜 백색 고형물(9g, 13.26mmol, 95%)을 수득하고, 이를 추가의 정제 또는 특징화 없이 반응시켰다.

[0297] 2,3,4,6-테트라-O-아세틸-β-D-갈락토피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-아세틸-α-D-글루코피라노실 브로마이드(89)

[0298] 피아세테이트(88)(510.3mg, 0.75mmol)를 무수 DCM(1.5mL)에 용해시키고, 0°C에서 HBr/아세트산(30%, 1mL)을 적가하였다. 혼합물을 3시간동안 실온에서 교반한 후, DCM(30mL)으로 희석하고, 얼음-물(2 x 40mL)로 세척하고, 빙냉한 포화 NaHCO₃ 용액(3 x 30mL) 및 염수(2 x 30mL)로 세척하였다. 용액을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 진공 하에서 농축하여 조질 브로마이드를 생성하였다. 농축 후에 다음 반응을 즉시 진행시켰다.

[0299] 2,3,4,6-테트라-O-아세틸-β-D-갈락토피라노실-((1→4)-2,3,6-트라이-O-아세틸-β-D-글루코피라노실 아지드(90)

[0300] 조질 클리코실 브로마이드(89)(0.75mmol)를 CHCl₃(4mL)에 용해시키고, Bu₄NHBr(193.42mg, 0.6mmol), NaN₃(195.03 mg, 3.0mmol) 및 포화 NaHCO₃ 용액(7mL)을 첨가하였다. 반응물을 실온에서 하룻밤동안 격렬하게 교반하였다. 반응물을 감소시키고, EtOAc에 희석시키고, 포화 NaHCO₃ 용액(3 x 30mL) 및 염수(3 x 30mL)로 세척하였다. 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 진공 하에서 농축시키고, 0.2% Et₃N이 있는 EtOAc/헥산(1:1)을 이용한 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하여 아지드(348mg, 2단계동안 70%)를 수득하였다.

¹H NMR

(300 MHz, CDCl₃) δ 5.33 (dd, 1H, J_{H4',H3'} = 3.4 Hz, J_{H4',H5'} = 1.1 Hz, H-4'), 5.19 (dd, 1H, J_{H3,H4} = 9.4 Hz, J_{H2,H3} = 9.0 Hz, H-3), 5.09 (dd, 1H, J_{H2',H3'} = 10.4 Hz, J_{H2',H1'} = 7.8 Hz, H-2'), 4.94 (dd, 1H, J_{H2',H3'} = 10.4 Hz, J_{H3',H4'} = 3.4 Hz, H-3'), 4.84 (dd, 1H, J_{H2,H3} = 9.5 Hz, J_{H2,H1} = 8.8 Hz, H-2), 4.61 (d, 1H, J_{H2,H1} = 8.8 Hz, H-1), 4.49 (dd, 1H, J_{H6a,H6b} = 11.9 Hz, J_{H6a,H5} = 2.2 Hz, H-6a), 4.46 (d, 1H, J_{H1',H2'} = 7.8 Hz, H-1'), 4.14-4.03 (m, 3H, H-6b, H-6a', H-6b'), 3.87 (dd, 1H, J_{H5',H4'} = 1.1 Hz, H-5'), 3.80 (t, 1H, J_{H4,H5} and H4,H3 = 9.4 Hz, H-4), 3.68 (ddd, 1H, J_{H6a,H5} = 2.0 Hz, J_{H6b,H5} = 5.0 Hz, J_{H4,H5} = 9.9 Hz, H-5), 2.13 (s, 3H, OAc), 2.12 (s, 3H, OAc), 2.05 (s, 3H, OAc), 2.05 (s, 3H, OAc), 2.03 (s, 3H, OAc), 2.03 (s, 3H, OAc), 2.02 (s, 3H, OAc), 1.95 (s, 3H, OAc).

[0301]

[0302] 4-(콜레스탄-3β-일-옥시메틸)[1,2,3]트라이아졸-1-일 2,3,4,6-테트라-O-아세틸-β-D-갈락토피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-아세틸-β-D-글루코피라노사이드(91)

[0303] 무수 아지드(90)(100mg, 0.15mmol) 및 3β-(프로프-2-이닐옥시) 콜레스탄올(129mg, 0.302mmol, 2eq)을 DCM/t-

BuOH(3:2, 0.21M)에 용해시켰다. CuSO₄(0.3M, 0.1eq, 0.015mmol, 50 μ l)의 수용액을 혼합물에 첨가한 후 Na-아스코베이트(1M, 0.3eq, 0.045mmol, 45.3 μ l)의 수용액에 첨가하였다. 반응물을 빛으로부터 가리고, 하룻밤동안 격렬하게 교반하였다. 혼합물을 DCM(100mL)으로 희석시키고, 포화 NaHCO₃ 용액(3 x 30mL)으로 세척하였다. 수상을 DCM(20mL)으로 재추출하고, 조합된 유기 층을 염수(2 x 30mL)로 세척시키고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 용매를 진공 하에서 증발시켜 조질 생성물을 수득하였다. 조질 생성물을 0.2% Et₃N이 있는 헥산/EtOAc(3:2)을 이용한 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 생성물을 백색 고형물(135.3mg, 82%)로서 수득하였다.

¹H

NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.67 (s, 1H, CH-N), 5.79 (d, 1H, J_{H1,H2} = 9.2, H-1), 5.43-5.37 (m, 2H, H-2, H-3), 5.35 (dd, 1H, J_{H3',H4'} = 3.4, J_{H4',H5'} = 0.8, H-4'), 5.11 (dd, 1H, J_{H2',H3'} = 10.4, J_{H2',H1'} = 7.8, H-2'), 4.95 (dd, 1H, J_{H2',H3'} = 10.4, J_{H3',H4'} = 3.4, H-3'), 4.64 (s, 2H, CH₂-N), 4.50 (d, 1H, J_{H1',H2'} = 7.9, H-1'), 4.46 (dd, 1H, J_{H6a',H6b'} = 12.4, J_{H6a',H5'} = 1.6, H-6a'), 4.16-4.04 (m, 3H, H-6b', H-6a, H-6b), 3.96-3.85 (m, 3H, H-4, H-5, H-5'), 3.39-3.28 (m, 1H, H-Chol), 2.14 (s, 3H, OAc), 2.09 (s, 3H, OAc), 2.06 (s, 3H, OAc), 2.05 (s, 3H, OAc), 2.04 (s, 3H, OAc), 1.95 (s, 3H, OAc), 1.88-1.80 (m, 31H), 1.85 (s, 3H, OAc), 0.88-0.80 (m, 3H, CH₃-CH), 0.85 (d, 3H, J = 1.3, CH₃-CH), 0.83 (d, 3H, J = 1.2, CH₃-CH), 0.77 (s, 3H, CH₃), 0.62 (s, 3H, CH₃).

[0304]

[0305]

4-(콜레스탄-3 β -일-옥시메틸)[1,2,3]트라이아졸-1-일 β -D-갈락토피라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코피라노사이드 (92)

[0306]

무수 N-글리코사이드(91)(100mg, 0.092mmol)를 무수 CH₃OH에 용해시키고, 아르곤 하에서 0 $^{\circ}$ C에서 NaOMe/CH₃OH(11M, 30 μ l)의 용액을 혼합물에 적가하였다. 용액을 실온에서 하룻밤동안 교반하였다. TLC로 모니터링한 후, 추가의 무수 CH₃OH(2mL) 및 NaOMe/CH₃OH(11M, 50 μ l)를 첨가하고, 반응 혼합물은 pH 11로 밝혀졌다. 완료 시, 도웁스(Dowex) H⁺ 이온-교환 수지를 첨가함으로써 반응을 중화시키고, 40 $^{\circ}$ C에서 생성된 현탁액을 CHCl₃/CH₃OH(1:1)에 용해시켰다. 용액을 여과하고, 농축시키고, P₂O₅ 상에서 건조시켜 조질 생성물을 수득하였다.

[0307]

4-(콜레스탄-3 β -일-옥시메틸)[1,2,3]트라이아졸-1-일 2,3,4,6-테트라-O-설포- β -D-갈락토피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-O-설포- β -D-글루코피라노사이드, 헵타나트륨 염(93)

[0308]

60 $^{\circ}$ C에서 SO₃-Pyr(124.89mg, 0.785mmol, 3eq/OH, 예비세척되고 건조됨)를 한 부분으로 무수 DMF(0.02M, 1.85mL) 중의 무수 폴리올(92)(29.7mg, 0.037mmol)에 첨가하였다. 반응물을 하룻밤동안 교반되게 두었다. 반응물을 0 $^{\circ}$ C까지 냉각시키고, 5M NaOH(329.7 μ l, 1.65mmol, SO₃-Pyr의 2.1당량)의 냉각된 용액을 교반하면서 한 부분으로 첨가하였다. pH를 즉시 확인하고, 단지 약한 염기성인 것으로 발견하였다. 냉각된 5M NaOH(50 μ l)의 추가의 용액을 반응물에 첨가하고, pH가 약 13인 것으로 발견되었다. 현탁액을 0 $^{\circ}$ C에서 15분동안 교반한 후, HPLC 등급 H₂O(100mL)에 희석시키고, 용매를 서서히 증발시켰다. 생성물을 100% HPLC 등급 H₂O에서 ACN/H₂O(1:1)로의 농도구배 용출에 의해 C18 고형 상 추출 카트리지(워터스선펙(WatersSepPak), 1g) 상에서 탈염시켰다. 0.1M NH₄HCO₃를 첨가함으로써 분획을 염기성으로 유지시키고, 모든 분획에 차르 시험을 수행하였다. 차르 양성 분획을 CE로 분석하고, JR245_33을 함유하는 분획을 조합하고, 35분동안의 H₂O 중의 5-50% ACN의 농도구배 용출에 의해 C18 액체 크로마토그래피 상에서 분리시켰다. 모든 분획을 10 μ l의 시료와 40 μ l의 1,9-다이메틸-메틸렌 블루 수용액을 이용하여 당에 대해 시험하고, 당-양성 분획을 CE로 분석하였다. 순수한 분획을 수집하고 동결건조시켜 생성물을 회백색 분말 (21.1mg, 37% 수율)로서 수득하였다. CE에 의해 측정시 98% 순도.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, D_2O) δ : 8.29 (s, 1H, CH=C-), 6.27 (d, 1H, $J_{\text{H1},\text{H2}} = 8.1$ Hz, H-1), 5.14 (d, 1H, $J_{\text{H3}',\text{H4}'} = 3.0$ Hz, H-4'), 4.98 (t, 1H, $J_{\text{H1},\text{H2}} = 7.8$ Hz, H-2), 4.91-4.82 (m, 1H, H-3), 4.89 (d, 1H, $J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 7.5$ Hz, H-1'), 4.74 (s, 2H, CH_2), 4.57 (dd, 2H, $J_{\text{H2}',\text{H3}'} = 10.2$ Hz, $J_{\text{H3}',\text{H4}'} = 3.0$ Hz, H-3'), 4.46 (dd, 1H, $J_{\text{H2}',\text{H3}'} = 9.9$, $J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 7.5$, H-2'), 4.36 (m, 5H, H-4,H-5,H-6a,H-6a', H-6b'), 4.18-4.14 (m, 1H, H-6b), 3.63-3.49 (m, 1H, Chol-H), 2.04-0.98 (m, 31H, Chol), 0.97-0.83 (m, 12H, CH_3), 0.70 (s, 3H, CH_3).

[0309]

[0310]

실시예 21. 2,3,4,6-테트라-*O*-아세틸- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-아세틸- β -D-글루코피라노사이드(94)

[0311]

0 °C에서 말토스 피아세테이트(200 mg, 295 μmol)를 DCM(1 mL) 및 HBr/HOAc(0.7 mL)에 취하였다. 0 °C에서 혼합물을 4시간동안 교반하였다. 용액을 DCM으로 희석시키고, 얼음-물(x 2), NaHCO_3 (포화)(x 2) 및 염수(x 1)로 세척한 후, 건조(Na_2SO_4)시키고, 용매를 증발시켜 백색 브로마이드 생성물을 수득하고, 이를 EtOAc(5 mL) 및 NaHCO_3 (포화)(5 mL)의 혼합물에 취하였다. NaN_3 (2.0 g)를 첨가한 후, Bu_4NBr (촉매량)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 하룻밤동안 격렬하게 교반하였다. 용액을 EtOAc로 희석하고, NaHCO_3 (포화)(x 2) 및 염수(x 1)로 세척한 후, 건조(Na_2SO_4)시키고, 용매를 증발시켜 조질 생성물을 수득하고, 이를 컬럼 크로마토그래피(SiO_2 :헥산 내지 50% EtOAc/헥산; 톨루엔으로 부하됨)로 정제하여 170.6 mg의 백색 고형 생성물(87 %, 2 단계)을 수득하고, 이를 추가의 특징화없이 반응시켰다.

[0312]

4-(콜레스탄-3 β -일-옥시메틸)[1,2,3]트리아졸-1-일 2,3,4,6-테트라-*O*-아세틸- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-아세틸- β -D-글루코피라노사이드(95)

[0313]

아지드(94)(170 mg, 257 μmol), 3 β -(프로프-2-에닐옥시)콜레스탄올(2 당량, 219 mg), CHCl_3 (2 mL), *t*-BuOH(2 mL), CuSO_4 (0.3 M 수용액 50 μl) 및 나트륨 아스코베이트(1M 수용액 62.5 μl)를 실온에서 하룻밤동안 격렬히 교반시켰다. 용매를 증발시키고, 잔사를 실리카 컬럼(SiO_2 :헥산 내지 50 % EtOAc/헥산) 상에 부하하여 190 mg의 순수한 물질(95)(68 %)을 수득하였다.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.67 (s, 1H, 트리아졸-H), 5.85 (d, 1H, $J_{1,2} = 9.3$, H-1^I), 5.46-5.29 (m, 4H, H-1^{II}, H-2^I, H-4^{II}, H-3^{II}), 5.04 (t, 1H, $J_{2,3} = 10.3$, $J_{3,4} = 10.3$, H-3^I), 4.85 (dd, 1H, $J_{1,2} = 4.1$, $J_{2,3} = 10.8$, H-2^{II}), 4.63 (s, 2H, CH_2), 4.45 (ddd, 1H, H-6^I), 4.25-4.19 (m, 2H, H-5^I, H-6^{II}), 4.14-3.92 (m, 4H, H-5^{II}, H-6^I, H-6^{II}, H-4^I), 3.32 (m, 1H, CHO), 2.31-0.53 (m, 31H), 2.10 (s, 3H, OAc), 2.08 (s, 3H, OAc), 2.03 (s, 3H, OAc), 2.00 (s, 6H, OAc), 1.98 (s, 3H, OAc), 1.82 (s, 3H, OAc), 0.83 (d, 3H, $J = 1.0$, CH_3), 0.81 (d, 3H, $J = 1.5$, CH_3), 0.76 (s, 3H, CH_3), 0.61 (s, 3H, CH_3).

[0314]

[0315]

4-(콜레스탄-3 β -일-옥시메틸)[1,2,3]트리아졸-1-일 α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코피라노사이드(96)

[0316]

피아세테이트(95)(190 mg)를 THF/MeOH(1:1)에 용해시켰다. MeOH(11M, 20 μl) 중의 NaOMe를 첨가하고, 용액을 실온에서 3시간동안 교반하였다. H^+ 수지를 이용하여 용액을 중화시키고, 여과하고, 용매를 증발시켜 125 mg(90 %)의 회백색 고형 생성물을 수득하고, 이를 추가의 정제 또는 특징화없이 반응시켰다.

[0317]

4-(콜레스탄-3 β -일-옥시메틸)[1,2,3]트리아졸-1-일 2,3,4,6-테트라-*O*-설포- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-설포- β -D-글루코피라노사이드, 헵타나트륨 염(97)

[0318]

폴리올(96)(124.5 mg, 157 μmol)을 DMF(0.02 M, 7.84 mL)에 용해시켰다. SO_3 .피리딘(3 당량/OH, 3.3 mmol, 525 mg)을 첨가하고, 용액을 60 °C에서 하룻밤동안 교반하였다. 용액을 0 °C로 냉각시키고, 5M NaOH(2.1 당량/ SO_3 .피리딘, 1.4 mL)로 중화시켰다. 혼합물을 물이 있는 큰 환저 플라스크로 이동시키고, 증발시키고, 24시간 동안 정제된 물(5 L, 12시간마다 물 교환)에 대해 투석(2000 MWCO 카트리지, 피어스(Pierce))시켰다. 용액을 동결건조시키고, 물에 취한 후, 준비용 C18 RP-HPLC 시스템(물 중의 5% 내지 95 % 아세토니트릴, 20분동안) 상에서 정제하였다. HPLC 정제 후, CE를 이용하여 수집된 각각의 분획의 순도를 측정하였다. 90% 초과 순도를

갖는 분획을 조합하고, 생성물을 백색 고형물(55 mg, 23 %)로서 수득하였다.

¹H NMR (300MHz, D₂O) δ:

8.25 (s, 1H, 트리아졸), 6.20 (d, 1H, J_{1,2} = 6.0, H-1^I), 5.65 (d, 1H, H-1^{II}), 5.04-4.94 (m, 3H, H-3^I, H-3^{II}, H-2^I), 4.80 (s, 2H, CH₂), 4.73 (m, 1H, H-2^{II}), 4.58 (dd, 1H, H-4^{II}), 4.49-4.23 (m, 7H, H-4^I, H-5^I, H-5^{II}, 4 x H-6), 3.57 (m, 1H, CHO), 2.09-0.56 (m, 46H).

[0319]

[0320]

실시예 22. 2,3,4,6-테트라-O-벤조일-α-D-글루코피라노실-(1→4)-1,2,3,6-테트라-O-벤조일-D-글루코피라노스 (98)

[0321]

0 °C에서 말토스(2.0 g, 5.84 mmol)를 무수 피리딘(40 mL)에 용해시켰다. DMAP(촉매량)를 첨가하였다. 벤조일 클로라이드(2.5 당량, 14.6 mmol, 16.4 g, 13.6 mL)를 적가하고, 용액을 실온에서 하룻밤동안 교반하였다. 용액을 빙수와 DCM의 혼합물에 부었다. 유기 층을 NaHCO₃(포화)(x 7), 염수, H₂SO₄(5%)(x 2), 및 이어서 염수로 세척하였다. 용액을 건조(Na₂SO₄)시키고, 용매를 증발시켰다. 생성물을 짧은 실리카 플러그를 통과시켜 남아있는 벤조일 클로라이드를 제거하고, 용매를 증발시켜 3.5 g(51 %)의 백색 고형 생성물을 수득하고, 이를 추가의 정제 또는 특징화없이 반응시켰다.

[0322]

2,3,4,6-테트라-O-벤조일-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-벤조일-D-글루코피라노실 트라이클로로아세트이미데이트(99)

[0323]

퍼벤조에이트(98)(0.5 g)를 피리딘(5 mL)에 용해시켰다. 다이메틸아민(3.5 mL; EtOH 중의 5.6 M)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간동안 교반하였다. 톨루엔(10 mL)을 첨가하고, 용액을 염수, H₂SO₄(5%)(x 2), 염수, NaHCO₃(포화) 및 염수로 세척하였다. 용액을 건조(Na₂SO₄)시키고, 용매를 증발시켰다. 조질 헤미아세탈을 분자 체, 탄산 칼륨(200 mg) 및 탄산 세슘(70 mg)과 함께 무수 DCM에 취하였다. 용액을 0 °C로 냉각시킨 후, 트라이클로로아세트니트릴(120 μL)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 3시간동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 용매를 증발시켰다. 조질 생성물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂: 헥산 내지 50% EtOAc/헥산)로 정제하여 생성물을 백색 고형물(336 mg, 2단계 동안 66 %)로서 수득하고, 이를 추가의 특성화없이 반응시켰다.

[0324]

3'-콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-O-아세틸-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-아세틸-β-D-글루코피라노사이드(100)

[0325]

Ar 하에서, 트라이클로로아세트이미데이트(99)(336.2 mg, 280 μmol), 콜레스탄올(3 당량, 326 mg) 및 분자 체를 무수 DCM에 취하였다. 용액을 15분간 교반한 후, TMSOTf(DCM 중의 0.1 M 용액, 0.33 당량, 924 μL)를 서서히 첨가하였다. 30분 후, 추가의 1 당량의 TMSOTf(2.77 mL의 DCM 중의 0.1M 용액)을 서서히 첨가하고, 용액을 추가 40분동안 교반하였다. 트라이에틸아민(200 μL)을 첨가하고, 용매를 증발시켰다. 조질 생성물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂:헥산 내지 15% EtOAc/헥산)로 정제하였지만, 과도한 콜레스탄올 출발 물질에 가깝게 용출되었다. 따라서, 혼합물을 탈벤조일화하고, 아세틸화하고, 다시 정제하여 적절한 분리를 제공한다. 화합물을 MeOH/THF(1:1)에 취하였다. MeOH(50 μL) 중의 11M NaOMe를 첨가하고, 용액을 실온에서 5시간동안 교반하였다. H⁺ 수지를 이용하여 용액을 중화시키고, 여과하고, 용매를 증발시켰다. 조질 폴리올 생성물을 피리딘(5 mL) 및 아세트산 무수물(5 mL)에 취하였다. DMAP(촉매량)를 첨가하고, 용액을 실온에서 하룻밤동안 교반하였다. 혼합물을 얼음-물에 첨가하고, DCM으로 추출한 후, 5% H₂SO₄, 및 이어서 염수로 세척하였다. 용액을 건조(Na₂SO₄)시키고, 용매를 증발시킨 후, 조질 시료를 컬럼 크로마토그래피(SiO₂: 헥산 내지 50% EtOAc/헥산)로 정제하여 118 mg의 백색 고형의 피아세틸화 생성물(42 %)을 수득하였다.

¹H NMR

(300MHz, CDCl₃) δ: 5.40 (d, 1H, $J_{1,2}$ = 4.1, H-1^H), 5.35 (dd, 1H, $J_{3,2}$ = 10.6, $J_{3,4}$ = 9.5, H-3^H), 5.23 (dd, 1H, $J_{3,2}$ = 9.0, $J_{3,4}$ = 9.0, H-3^H), 5.03 (dd, 1H, $J_{4,3}$ = 10.0, $J_{4,5}$ = 10.0, H-4^H), 4.83 (dd, 1H, $J_{2,1}$ = 3.9, $J_{2,3}$ = 10.3, H-2^H), 4.76 (dd, 1H, $J_{2,1}$ = 8.0, $J_{2,3}$ = 9.3, H-2^H), 4.60 (d, 1H, $J_{1,2}$ = 8.0, H-1^H), 4.42 (dd, 1H, H-6^H), 4.26-4.20 (m, 2H, H-6^H, H-6^H), 4.04-3.92 (m, 3H, H-4^H, H-5^H, H-6^H), 3.64 (ddd, 1H, H-5^H), 3.53 (m, 1H, CHO), 2.12 (s, 3H, OAc), 2.09 (s, 3H, OAc), 2.03 (s, 3H, OAc), 2.01 (s, 3H, OAc), 2.00 (s, 3H, OAc), 1.99 (s, 3H, OAc), 1.98 (s, 3H, OAc), 1.96-0.52 (m, 31H), 0.87 (d, 3H, J = 6.4, CH₃), 0.86 (d, 3H, J = 1.5, CH₃), 0.83 (d, 3H, J = 1.3, CH₃), 0.76 (s, 3H, CH₃), 0.63 (s, 3H, CH₃).

[0326]

[0327]

3'-콜레스탈릴 α-D-글루코피라노실-(1→4)-β-D-글루코피라노사이드(101)

[0328]

글리코사이드(100)(118 mg)를 THF/MeOH(1:1)에 용해시켰다. MeOH 중의 NaOMe(11M, 30 μL)를 첨가하고, 용액을 실온에서 3시간동안 교반하였다. 용액을 H⁺ 수지로 중화시키고, 여과하고, 용매를 증발시켜 정량 수율의 회백색 고형물을 수득하고, 이를 추가의 정제 또는 특징화없이 반응시켰다.

[0329]

3'-콜레스탈릴 2,3,4,6-테트라-O-설포-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-설포-β-D-글루코피라노사이드, 헵타나트륨 염(102)

[0330]

폴리올(101)(99.5 mg, 140 μmol)을 DMF(0.02 M, 7 mL)에 용해시켰다. SO₃.피리딘(3 당량/OH, 2.9 mmol, 467 mg)을 첨가하고, 용액을 60 °C에서 하룻밤동안 교반하였다. 용액을 0 °C로 냉각시키고, 5M NaOH(2.1 당량/SO₃.피리딘, 1.23 mL)으로 중화시켰다. 혼합물을 물이 있는 큰 환저 플라스크로 이동시키고, 증발시키고, 정제된 물(5 L, 12시간 마다 물 교환)에 대해 48시간동안 투석(2000 MWCO 카트리지, 피어스)하였다. 용액을 동결건조시키고, 물에 취한 후, 준비용 C18 RP-HPLC 시스템(물 중의 5% 내지 95 % 아세토니트릴, 20 분) 상에서 정제하였다. HPLC 정제 후, CE를 이용하여 수집된 각 분획의 순도를 측정하였다. 90%보다 큰 순도의 분획을 조합하고, 동결건조시켜 생성물을 백색 고형물(27 mg, 14 %)로서 수득하였다.

¹H NMR (400MHz, D₂O) δ:

5.59 (d, 1H, $J_{1,2}$ = 3.4, H-1^H), 5.09 (d, 1H, $J_{1,2}$ = 5.0, H-1^H), 4.89 (m, 1H, H-3^H), 4.73 (m, 1H, H-3^H), 4.61 (dd, 1H, H-2^H), 4.53-4.42 (m, 3H, H-2^H, H-4^H, H-6^H), 4.37-4.14 (m, 6H, H-4^H, H-5^H, H-5^H, 3 x H-6), 3.85 (m, 1H, CHO), 2.08-0.64 (m, 46H).

[0331]

[0332]

실시예 23. 2,3,4,6-테트라-O-벤조일-β-D-글루코피라노실-(1→4)-1,2,3,6-테트라-O-벤조일-D-글루코피라노스(103)

[0333]

0 °C에서 셀로비오스(1.0 g, 2.92 mmol)를 무수 피리딘(20 mL)에 용해시켰다. DMAP(촉매량)를 첨가하였다. 벤조일 클로라이드(2.5 당량, 58 mmol, 6.8 mL)를 적가하고, 용액을 실온에서 하룻밤동안 교반하였다. 용액을 얼음-물과 DMC의 혼합물에 부었다. 유기 층을 NaHCO₃(포화)(x 7), 염수, H₂SO₄(5%)(x 2), 및 이어서 염수로 세척하였다. 용액을 건조(Na₂SO₄)시키고, 용매를 증발시켰다. 생성물을 을 짧은 실리카 플러그를 통과시켜 남아 있는 벤조일 클로라이드를 제거하고, 용매를 증발시켜 740 mg(22 %)의 백색 고형 생성물을 수득하고, 이를 추가의 정제 또는 특징화없이 반응시켰다.

[0334]

2,3,4,6-테트라-O-벤조일-β-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-벤조일-D-글루코피라노실 트라이클로로아세트이미데이트(104)

[0335]

퍼벤조에이트(103)(740 mg, 0.63 mmol)를 피리딘(5 mL)에 용해시켰다. 용액을 0 °C로 냉각시킨 후, 다이메틸아민(3.1 mL; EtOH 중 5.6 M)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간동안 교반하였다. 톨루엔(20 mL)을 첨가하고, 용액을 염수, H₂SO₄(5%)(x 2), 염수, NaHCO₃(포화) 및 염수로 세척하였다. 용액을 건조(Na₂SO₄)시키고, 용매를 증발시켰다. 조질 헤미아세탈을 분자 체 및 탄산 칼륨(1.17 g)이 있는 무수 DCM(5 mL)에 취하였다. 용액을 0 °C로 냉각시킨 후, 트라이클로로아세토니트릴(782 μL)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 2시간동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 용매를 증발시켰다. 조질 생성물을 컬럼 크로마토그래피

(SiO₂; 톨루엔:EtOAc(5:1) 내지 100% EtOAc)로 정제하여 생성물을 백색 포움 (566 mg, 2단계 동안 75 %)으로서 수득하고, 이를 추가의 특성화없이 반응시켰다.

[0336] 3'-콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-*O*-벤조일-β-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-*O*-벤조일-β-D-글루코피라노사이드(105)

[0337] Ar 하에서, 트라이클로로아세트이미데이트(104)(250 mg, 210 μmol), 콜레스탄올(2 당량, 163 mg) 및 분자 체를 무수 DCM에 취하였다. 0 °C에서 용액을 30분간 교반한 후, TMSOTf(DCM 중의 0.4 M 용액, 0.5 당량, 260 μl)를 서서히 첨가하였다. 30분 후에 추가의 1당량의 TMSOTf(130 μl의 DCM 중의 0.4 M 용액)를 서서히 첨가하고, 용액을 추가 20분동안 교반되게 두었다. 트라이에틸아민(15 μl)을 첨가하고, 용액을 여과시킨 후, 용매를 증발시켰다. 조질 생성물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂; 톨루엔: EtOAc, 10:1 내지 5:1)로 정제하여 208 mg의 백색의 고형 생성물(69 %)을 수득하였다.

¹H nmr (300MHz, CDCl₃) δ: 7.99-7.16 (m, 35H, Ar), 5.73 (m, 2H, H-3^I, H-3^{II}), 5.51 (dd, 1H, J_{2,1} = 7.9, J_{2,3} = 9.8, H-2^{II}), 5.37 (m, 2H, H-4^{II}, H-2^I), 4.93 (d, 1H, J_{1,2} = 7.9, H-1^{II}), 4.76 (d, 1H, J_{1,2} = 7.9, H-1^I), 4.59 (dd, 1H, H-6), 4.45 (dd, 1H, H-6), 4.19 (dd, 1H, J_{4,3} = 9.5, J_{4,5} = 9.5, H-4^I), 4.07 (dd, 1H, H-6), 3.84-3.79 (m, 2H, 2 x H-5), 3.72 (dd, 1H, H-6), 3.46 (m, 1H, CHO), 1.95-0.45 (m, 31H), 0.88 (d, 3H, J = 7.3, CH₃), 0.86 (d, 3H, J = 1.4, CH₃), 0.84 (d, 3H, J = 1.4, CH₃), 0.62 (s, 3H, CH₃), 0.60 (s, 3H, CH₃).

[0338]

[0339] 3'-콜레스타닐 β-D-글루코피라노실-(1→4)-β-D-글루코피라노사이드(106)

[0340] 글리코사이드(105)(152 mg)를 THF/MeOH(1:1)에 용해시켰다. MeOH 중의 NaOMe(11M, 30 μL)를 첨가하고, 용액을 실온에서 24시간동안 교반하였다. 용액을 H⁺ 수지로 중화시키고, 여과하고, 용매를 증발시켜 23 mg(30 %)의 회색 고형물을 수득하고 이를 추가의 정제 또는 특징화없이 반응시켰다.

[0341] 3'-콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-*O*-설포-β-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-*O*-설포-β-D-글루코피라노사이드, 헵타나트륨 염(107)

[0342] 폴리올(106)(23 mg, 32 μmol)을 DMF(0.02 M, 1.6 mL)에 용해시켰다. SO₃.피리딘(3 당량/OH, 672 μmol, 107 mg)을 첨가하고, 용액을 하룻밤동안 60 °C에서 교반하였다. 용액을 0 °C로 냉각시키고, 5M NaOH(2.1 당량/SO₃.피리딘, 0.282 mL)로 중화하였다. 혼합물을 물이 있는 큰 환저 플라스크로 이동시키고, 증발시키고, 48시간 동안 정제된 물(5 L, 12시간마다 물 교환)에 대해 투석(2000 MWCO 카트리지, 피어스)하였다. 용액을 동결건조시키고, 물에 취한 후, 준비용 C18 RP-HPLC 시스템(물 중의 5% 내지 95 % 아세토니트릴, 20분동안)으로 정제하였다. HPLC 정제후 수집된 각각의 분획의 순도를 CE를 이용하여 측정하였다. 90%보다 큰 순도의 분획을 조합하고, 동결건조시켜 생성물을 백색 고형물(11.6 mg, 25 %)로서 수득하였다.

¹H NMR (400MHz, D₂O) δ:

5.06 (d, 1H, J_{1,2} = 6.3, H-1^{II}), 4.86 (d, 1H, J_{1,2} = 6.3, H-1^I), 4.72-4.66 (m, 2H, H-3^I, H-3^{II}), 4.57-4.48 (m, 2H, H-4^{II}, H-6), 4.40-4.35 (m, 3H, H-2^I, H-2^{II}, H-6), 4.30 (dd, 1H, H-6), 4.24-4.20 (m, 2H, H-4^I, H-6), 4.08 (m, 2H, H-5^I, H-5^{II}), 3.62 (m, 1H, CHO), 2.00-0.67 (m, 31H), 0.93 (d, 3H, CH₃), 0.87 (d, 3H, CH₃), 0.86 (d, 3H, CH₃), 0.83 (s, 3H, CH₃), 0.68 (s, 3H, CH₃).

[0343]

[0344] 실시예 24. 2,3,4,6-테트라-*O*-벤조일-β-D-갈락토피라노실-(1→4)-1,2,3,6-테트라-*O*-벤조일-D-글루코피라노스(108)

[0345] 0 °C에서 락토스(1.0 g, 2.92 mmol)를 무수 피리딘(20 mL)에 용해시켰다. DMAP(촉매량)을 첨가하였다. 벤조일 클로라이드(2.5 당량, 58 mmol, 6.8 mL)를 적가하고, 용액을 실온에서 하룻밤동안 교반하였다. 용액을 얼음-물과 DCM의 혼합물에 부었다. 유기 층을 NaHCO₃(포화)(x 7), 염수, H₂SO₄(5%)(x 2), 및 이어서 염수로 세척하였다. 용액을 건조(Na₂SO₄)시키고, 용매를 증발시켰다. 생성물을 짧은 실리카 플러그를 통과시켜 남아있는 벤조일 클로라이드를 제거하고, 용매를 증발시켜 3.67 g(정량)의 백색의 고형 생성물을 수득하고, 이를 추가의 정제 또는 특징화없이 반응시켰다.

[0346] 2,3,4,6-테트라-*O*-벤조일-β-D-갈락토피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-*O*-벤조일-D-글루코피라노실 트라이클로로아세트이미데이트(109)

[0347] 퍼벤조에이트(108)(500 mg, 0.43 mmol)를 피리딘(3.5 mL)에 용해시켰다. 용액을 0 °C로 냉각시킨 후, 다이메틸아민(2.1 mL; EtOH 중의 5.6 M)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간동안 교반하였다. 톨루엔(20 mL)을 첨가하고, 용액을 염수, H₂SO₄(5%)(x 2), 염수, NaHCO₃(포화) 및 염수로 세척하였다. 용액을 건조(Na₂SO₄)시키고, 용매를 증발시켰다. 조질 헤미아세탈을 분자 체 및 탄산 칼륨(871 mg)이 있는 무수 DCM(5 mL)에 취하였다. 용액을 0 °C로 냉각시킨 후, 트라이클로로아세트니트릴(582 μl)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 2시간동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 용매를 증발시켰다. 조질 생성물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂; 톨루엔:EtOAc(5:1) 내지 100% EtOAc)로 정제하여 생성물을 백색 포움(152 mg, 2단계 동안 29 %)으로서 수득하고, 이를 추가의 특성화없이 반응시켰다.

[0348] 3'-콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-*O*-벤조일-β-D-갈락토피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-*O*-벤조일-β-D-글루코피라노사이드(110)

[0349] Ar 하에서, 트라이클로로아세트이미데이트(109)(250 mg, 210 μmol), 콜레스탄올(2 당량, 163 mg) 및 분자 체를 무수 DCM에 취하였다. 0 °C에서 용액을 30분간 교반한 후, TMSOTf(DCM 중의 0.4 M 용액, 0.5 당량, 260 μl)을 서서히 첨가하였다. 30분 후, 추가의 1 당량의 TMSOTf(130 μl의 DCM 중의 0.4 M 용액)를 서서히 첨가하고, 용액을 추가 20분동안 교반되게 두었다. 트라이에틸아민(12 μl)을 첨가하고, 용액을 여과시킨 후, 용매를 증발시켰다. 조질 생성물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂; 톨루엔:EtOAc, 15:1 내지 7:1)로 정제하여 237 mg의 백색의 고형 생성물(78 %)을 수득하였다.

¹H nmr (400MHz, CDCl₃) δ: 8.02-7.11 (m, 35H, Ar), 5.77 (dd, 1H, J_{3,2} = 9.6, J_{3,4} = 9.6, H-3^I), 5.74-5.69 (m, 2H, H-2^{II}, H-4^{II}), 5.43-5.35 (m, 2H, H-2^I, H-3^{II}), 4.86 (d, 1H, J_{1,2} = 7.9, H-1^{II}), 4.78 (d, 1H, J_{1,2} = 7.9, H-1^I), 4.57 (dd, 1H, H-6^I), 4.47 (dd, 1H, H-6^{II}), 4.20 (dd, 1H, J_{4,3} = 9.6, J_{4,5} = 9.6, H-4^I), 3.89 (ddd, 1H, H-5^{II}), 3.83 (ddd, 1H, H-5^I), 3.75 (dd, 1H, H-6^{II}), 3.65 (dd, 1H, H-6^{II}), 3.49 (m, 1H, CHO), 1.94-0.47 (m, 31H), 0.88 (d, 3H, J = 6.5, CH₃), 0.86 (d, 3H, J = 1.7, CH₃), 0.84 (d, 3H, J = 1.9, CH₃), 0.63 (s, 3H, CH₃), 0.60 (s, 3H, CH₃).

[0350]

[0351] 3'-콜레스타닐 β-D-갈락토피라노실-(1→4)-β-D-글루코피라노사이드(111)

[0352] 글리코사이드(110)(231 mg)를 THF/MeOH(1:1)에 용해시켰다. MeOH 중의 NaOMe(11M, 150 μL)를 첨가하고, 용액을 실온에서 24시간동안 교반하였다. 용액을 H⁺ 수지로 중화시키고, 여과하고, 용매를 증발시켜 61 mg(54 %)의 백색 고형물을 수득하고, 이를 추가의 정제 또는 특성화없이 반응시켰다.

[0353] 3'-콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-*O*-설포-β-D-갈락토피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-*O*-설포-β-D-글루코피라노사이드, 헵타나트륨 염(112)

[0354] 폴리올(111)(30 mg, 42 μmol)을 DMF(0.02 M, 2.1 mL)에 용해시켰다. SO₃.피리딘(3 당량/OH, 882 μmol, 140 mg)을 첨가하고, 용액을 하룻밤동안 60 °C에서 교반하였다. 용액을 0 °C로 냉각시키고, 5M NaOH(2.5 당량/SO₃.피리딘, 0.442 mL)로 중화시켰다. 혼합물을 물이 있는 큰 환저 플라스크로 이동시키고, 증발시키고, 48시간동안 정제된 물(5 L, 12시간마다 물 교환)에 대해 투석(2000 MWCO 카트리지, 피어스)하였다. 용액을 동결건조시키고, 물에 취한 후, 준비용 C18 RP-HPLC 시스템(물 중의 5% 내지 95 % 아세트니트릴, 20분동안)상에서 정제하였다. HPLC 정제후 수집된 각각의 분획의 순도를 CE를 이용하여 측정하였다. 90%보다 큰 순도의 분획을 조합하고, 동결건조시켜 생성물을 회백색 고형물(13 mg, 22 %)로서 수득하였다.

¹H NMR (300 MHz, D₂O)

δ: 5.15 (d, 1H, H-1), 4.70 (d, 1H, H-1), 4.55-3.88 (m, 12H), 3.50 (m, 1H, CHO), 1.88-0.44 (m, 46H).

[0355]

실시예 25. 1,2,3,4-테트라-*O*-벤조일-α-D-만노피라노스(113)

[0356] 6-*O*-트리틸-1,2,3,4-테트라-*O*-벤조일-α-D-만노피라노스(5 g, 6.0 mmol)를 MeOH에 용해시켰다. H₂SO₄(농축)(150 μl)를 조심스럽게 첨가하고, 용액을 실온에서 하룻밤동안 교반하였다. 용액을 얼음-물(300 mL)에

벗고, EtOAc(80 mL)로 추출하였다. 유기 층을 분리시키고, 염수(80 mL) 및 이어서 NaHCO₃(포화)로 세척하였다. 용액을 건조(Na₂SO₄)시키고, 여과하고, 용매를 증발시켰다. 조질 생성물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂; Hex:EtOAc, 500:50 내지 200:200)로 정제하여 1.79 g의 백색의 고형 생성물(50%)을 수득하였다.

¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ: 8.20-8.12 (m, 4H, Ar), 8.02-7.98 (m, 2H, Ar), 7.87-7.84 (m, 2H, Ar), 7.70-7.26 (m, 27H, Ar), 6.63 (d, 1H, J_{1,2} = 2.1, H-1), 6.12 (dd, 1H, J_{3,2} = 3.3, J_{3,4} = 10.2, H-3), 6.02 (dd, 1H, J_{4,3} = 10.0, J_{4,5} = 10.0, H-4), 5.89 (dd, 1H, J_{2,1} = 1.8, J_{2,3} = 3.1, H-2), 4.25 (ddd, 1H, H-5), 3.90-3.76 (m, 2H, H-6).

[0357]

2,3,4,6-테트라-O-벤조일-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-벤조일-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-벤조일-D-글루코피라노실 트라이클로로아세트이미데이트(114)

[0359]

0 °C에서 말토트리오스 퍼벤조에이트(400 mg)를 THF(3 mL)에 용해시켰다. MeOH 중의 NH₃(6 mL)의 포화 용액을 첨가하고, 용액을 0 °C에서 4시간동안 교반하였다. 용액을 DCM으로 희석하고, 찬 0.5 M HCl로 세척한 후, 염수로 세척하고, 용매를 증발시켰다. 조질 생성물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂: 10-50% EtOAc/헥산)로 정제하여 211 mg의 순수한 헤미아세탈을 수득하고, 이를 분자 체, 탄산 칼륨(129 mg) 및 탄산 세슘(45 mg)이 있는 무수 DCM에 취하였다. 혼합물을 0 °C에서 교반한 후, 트라이클로로아세트니트릴(93 μl)을 첨가하였다. 혼합물을 실온으로 가온되게 하고, 5시간동안 교반하였다. 용액을 여과하고, 용매를 증발시켰다. 조질 생성물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂: 헥산 내지 50% EtOAc/헥산)로 정제하여 149.2 mg의 백색의 고형 생성물(36 %, 2단계)을 수득하고, 이를 추가의 특성화없이 반응시켰다.

[0360]

2,3,4,6-테트라-O-벤조일-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-벤조일-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-벤조일-β-D-글루코피라노실-(1→6)-1,2,3,4-테트라-O-벤조일-D-만노피라노스 (115)

[0361]

트라이클로로아세트이미데이트(114)(279 μmol, 435 mg), 1,2,3,4-테트라-O-벤조일 만노피라노스 113(1.2 당량, 200 mg, 335 μmol) 및 분자 체를 DCM에 취하고, 0 °C에서 30분동안 교반한 후, TMSOTf(1.1 당량, 68.2 mg, 600 μl DCM 중의 56 μl)을 서서히 적가하였다. 혼합물을 0 °C에서 90분동안 교반한 후, 트라이에틸아민(200 μl)으로 중화시키고, 여과하고, 용매를 증발시켜 조질 생성물을 수득하고, 이를 컬럼 크로마토그래피(SiO₂: 헥산 내지 50% EtOAc/헥산)로 정제하여 312.8 mg의 백색의 고형 생성물(53 %)을 수득하고, 이를 추가의 특성화없이 반응시켰다.

[0362]

2,3,4,6-테트라-O-벤조일-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-벤조일-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-벤조일-β-D-글루코피라노실-(1→6)-2,3,4-트라이-O-벤조일-D-만노피라노실 트라이클로로아세트이미데이트(116)

[0363]

퍼벤조에이트(115)(312.8 mg)를 피리딘(4.5 mL)에 용해시켰다. 다이메틸아민(3 mL; EtOH 중의 5.6 M)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간동안 교반하였다. DCM(10 mL)을 첨가하고, 용액을 염수, H₂SO₄(5%)(x 2), 염수 및 NaHCO₃(포화)로 세척하였다. 용액을 건조(Na₂SO₄)시키고, 용매를 증발시켰다. 조질 헤미아세탈을 분자 체, 탄산 칼륨(600 mg) 및 탄산 세슘(100 mg)이 있는 무수 DCM에 취하였다. 용액을 0 °C로 냉각시킨 후, 트라이클로로아세트니트릴(200 μl)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 4시간동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 용매를 증발시켰다. 조질 생성물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂: 헥산 내지 60% EtOAc/헥산)로 정제하여 생성물을 백색 고형물(153.9 mg, 48 % 2단계 동안)로서 수득하고, 이를 추가의 특성화없이 반응시켰다.

[0364]

3'-콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-O-벤조일-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-벤조일-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-벤조일-β-D-글루코피라노실-(1→6)-2,3,4-트라이-O-벤조일-α-D-만노피라노사이드 (117)

[0365]

Ar 하에서, 트라이클로로아세트이미데이트(116)(153.9 mg, 71.1 μmol), 콜레스타닐(3 당량, 83 mg) 및 분자 체를 무수 DCM에 취하였다. 용액을 0 °C에서 15분동안 교반한 후, TMSOTf(1.1 당량, 200 μL DCM 중의 17.4 μl)을 서서히 첨가하였다. 0 °C에서 용액을 90분간 교반되게 두었다. 트라이에틸아민(20 μl)을 첨가하고, 용매를 증발시켰다. 조질 생성물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂: 헥산 내지 40% EtOAc/헥산; 톨루엔으로 부하됨)으로 정제하여 71.4 mg의 백색의 고형 생성물(42 %)을 수득하였다.

- ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ: 8.00-6.94 (m, 65H, Ar), 5.94 (dd, 1H, J_{3,2} = 9.7, J_{3,4} = 9.7, H-3^{IV}), 5.76 (dd, 1H, J_{3,2} = 10.0, J_{3,4} = 7.9, H-3^{III}), 5.68 (dd, 1H, J_{3,2} = 3.3, J_{3,4} = 10.0, H-3^I), 5.59 (d, 1H, J_{1,2} = 3.8, H-1^{IV}), 5.57-5.49 (m, 3H, H-3^{II}, H-4^{IV}, H-4^I), 5.42 (d, 1H, J_{1,2} = 3.8, H-1^{III}), 5.35 (dd, 1H, J_{2,1} = 1.8, J_{2,3} = 3.3, H-2^I), 5.16 (dd, 1H, J_{2,1} = 7.4, J_{2,3} = 9.5, H-2^{II}), 5.12 (dd, 1H, J_{2,1} = 3.8, J_{2,3} = 10.5, H-2^{IV}), 4.93 (dd, 1H, J_{2,1} = 3.8, J_{2,3} = 10.0, H-2^{III}), 4.76 (dd, 1H, H-6^{III}), 4.73 (d, 1H, J_{1,2} = 1.8, H-1^I), 4.71 (d, 1H, J_{1,2} = 7.7, H-1^{II}), 4.53 (dd, 1H, H-6^{II}), 4.48-4.41 (m, 2H, H-6^I, H-6^{III}), 4.32-4.16 (m, 6H, H-5^{IV}, H-5^{II}, H-5^I, H-4^{II}, H-4^{III}, H-6^{IV}), 4.11-4.03 (m, 2H, H-6^I, H-6^{IV}), 3.88 (ddd, 1H, H-5^{III}), 3.60 (dd, 1H, H-6^I), 3.23 (m, 1H, CHO), 1.87-0.38 (m, 31H), 0.77 (d, 3H, J = 6.4, CH₃), 0.74 (d, 3H, J = 1.3, CH₃), 0.72 (d, 3H, J = 1.5, CH₃), 0.61 (s, 3H, CH₃), 0.51 (s, 3H, CH₃).
- [0366]
- [0367] 3'-콜레스타닐 α-D-글루코피라노실-(1→4)-α-D-글루코피라노실-(1→4)-β-D-글루코피라노실-(1→6)-α-D-만노피라노사이드 (118)
- [0368] 글리코사이드(117)(80 mg)를 MeOH/THF 1:1에 용해시켰다. NaOMe(200 μl의 11M 용액)를 첨가하고, 용액을 실온에서 하룻밤동안 교반하였다. 혼합물을 산성 수지로 중화시키고, 용액을 여과시킨 후, 용매를 증발시켜 백색의 고형 생성물을 수득하고, 이를 EtOAc로 저장하고, 용매를 따라내었다(x3). 고형물을 진공 하에서 건조시켜 정량량의 백색의 고형 생성물을 수득하고, 이를 추가의 정제 또는 특징화없이 반응시켰다.
- [0369] 3'-콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-O-설포-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-설포-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-설포-β-D-글루코피라노실-(1→6)-2,3,4-트라이-O-설포-α-D-만노피라노사이드, 트라이데카나트름 염 (119)
- [0370] 폴리올(118)(72.8 mg, 70.2 μmol)을 DMF(0.02 M, 3.5 mL)에 용해시켰다. SO₃.피리딘(3 당량/OH, 2.7 mmol, 436 mg)을 첨가하고, 용액을 하룻밤동안 60 °C에서 교반하였다. 용액을 0 °C로 냉각시키고, 5M NaOH(2.1 당량/SO₃.피리딘, 1.15 mL)로 중화시켰다. 혼합물을 물이 있는 큰 환저 플라스크로 이동시키고, 증발시키고, 정제된 물(5 L, 12시간마다 물 교환)에 대해 24시간동안 투석(2000 MWCO 카트리지, 피어스)하였다. 용액을 동결건조시키고, 물에 취한 후, 준비용 C18 RP-HPLC 시스템(물 중의 5% 내지 95 % 아세트니트릴, 20분동안) 상에서 정제하였다. HPLC 정제후 수집된 각각의 분획의 순도를 CE를 이용하여 측정하였다. 90%보다 큰 순도의 분획을 조합하고, 동결건조시켜 생성물을 백색 고형물(25 mg, 15 %)로서 수득하였다.
- ¹H NMR (300MHz, D₂O) δ:
- 5.70 (d, 1H, J_{1,2} = 3.5, H-1), 5.55 (d, 1H, H-1), 5.36 (m, 2H, H2 x H-1), 5.03-4.05 (m, 24H), 3.88 (m, 1H, CHO), 2.00-0.70 (m, 31H), 0.94 (d, 3H, J = 6.4, CH₃), 0.89 (d, 3H, J = 1.3, CH₃), 0.86 (s, 3H, CH₃), 0.86 (d, 3H, J = 1.3, CH₃), 0.70 (s, 3H, CH₃).
- [0371] 실시예 26. 3-아지도프로필 2,3,4,6-테트라-O-벤조일-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-벤조일-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-벤조일-β-D-글루코피라노사이드 (120)
- [0372] 트라이클로로아세트이미데이트(114)(2 g, 1.3 mmol), 3-아지도프로판올(2 당량, 260 mg) 및 분자 체를 DCM(10 mL)에 취하고, 0 °C로 냉각시켰다. TMSOTf(1.1 당량, 318 mg, 260 μl)를 적가(30분마다 1/3씩, 적가, 2.6 mL DCM 중)하였다. 용액을 0 °C에서 90분동안 교반한 후, 트라이에틸아민(300 μl)으로 중화시키고, 여과하고, 물로 세척하고, 건조(Na₂SO₄)시키고, 용매를 증발시켜 조질 생성물을 생성하였다. 이를 컬럼 크로마토그래피(SiO₂: 톨루엔 내지 5% EtOAc/톨루엔, 톨루엔으로 부하됨)로 정제하여 2.06 g의 투명한 오일 생성물(120)(97%)을 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.18 (m, 2H, Ar), 8.04 (m, 2H, Ar), 7.95 (m, 2H, Ar), 7.87 (m, 2H, Ar), 7.84 (m, 2H, Ar), 7.74-7.70 (m, 4H, Ar), 7.61-7.10 (m, 36H, Ar), 6.09 (t, 1H, J_{3,2} = 10.2, J_{3,4} = 10.2, H-3^{III}), 5.92 (dd, 1H, J_{3,2} = 9.9, J_{3,4} = 8.2, H-3^{II}), 5.75 (d, 1H, J_{1,2} = 3.8, H-1^{III}), 5.70-5.64 (m, 2H, H-3^I, H-4^{III}), 5.60 (d, 1H, J_{1,2} = 4.1, H-1^{II}), 5.30-5.23 (m, 2H, H-2^{III}, H-2^I), 5.08 (dd, 1H, J_{2,1} = 3.8, J_{2,3} = 9.9, H-2^{II}), 4.99 (dd, 1H, H-6^I), 4.75-4.59 (m, 3H, H₂ x H-6^{II}, H-6^I), 4.74 (d, 1H, J_{1,2} = 7.5, H-1^I), 4.48-4.36 (m, 5H, H-5^{III}, H-5^{II}, H-4^I, H-4^{II}, H-6^{III}), 4.23 (dd, 1H, H-6^{III}), 4.05 (ddd, 1H, H-5^I), 3.92 (m, 1H, CH₂O), 3.57 (m, 1H, CH₂O), 3.19 (m, 2H, CH₂N₃), 1.74 (m, 2H, CH₂).

[0373]

3-스테아르아미도프로필 2,3,4,6-테트라-O-벤조일-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-벤조일-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-벤조일-β-D-글루코피라노사이드(121)

[0375]

글리코사이드(120)(2 g, 1.23 mmol)를 THF(10 mL)에 용해시켰다. 트라이페닐포스핀(3 당량, 966 mg)을 첨가하고, Ar 하에서, 혼합물을 실온에서 1시간동안 교반하였다. 물(30 당량, 665 μl)을 첨가하고, 용액을 50 °C에서 4.5시간동안 교반하였다. 용매를 증발시키고, 조질 아민을 DCM에 취하였다. 스테아로일 클로라이드(3 당량, 1.18 g, 1.25 mL) 및 이어서 트라이에틸아민(3.1 당량, 386 mg, 532 μl)을 첨가하고, 용액을 하룻밤동안 실온에서 교반하였다. 용매를 증발시키고, 조질 생성물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂: 톨루엔 내지 8:1 톨루엔: EtOAc, 톨루엔으로 부하됨)로 정제하여 1.65 g의 투명한 오일 생성물(121)(72 %, 2 단계)을 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.16 (m, 2H, Ar), 8.05 (m, 2H, Ar), 7.95 (m, 2H, Ar), 7.86 (m, 2H, Ar), 7.82 (m, 2H, Ar), 7.74-7.70 (m, 4H, Ar), 7.63-7.10 (m, 36H, Ar), 6.10 (t, 1H, J_{3,2} = 10.2, J_{3,4} = 10.2, H-3^{III}), 5.98-5.91 (m, 2H, H-3^{II}, NH), 5.76 (d, 1H, J_{1,2} = 4.1, H-1^{III}), 5.73-5.65 (m, 2H, H-3^I, H-4^{III}), 5.61 (d, 1H, J_{1,2} = 4.1, H-1^{II}), 5.29-5.20 (m, 2H, H-2^{III}, H-2^I), 5.11-5.05 (m, 2H, H-2^{II}, H-6^I), 4.79 (dd, 1H, H-6^{II}), 4.71 (d, 1H, J_{1,2} = 7.5, H-1^I), 4.68-4.61 (m, 2H, H-6^{II}, H-6^I), 4.49-4.38 (m, 5H, H-5^{III}, H-5^{II}, H-4^I, H-4^{II}, H-6^{III}), 4.23 (dd, 1H, H-6^{III}), 4.04 (ddd, 1H, H-5^I), 3.92 (m, 1H, CH₂O), 3.57 (m, 1H, CH₂O), 3.27 (m, 1H, CH₂N), 3.13 (m, 1H, CH₂N), 2.11 (t, 2H, CH₂CO), 1.72 (m, 2H, CH₂), 1.56 (m, 2H, CH₂), 1.30-1.24 (m, 28H, 14 x CH₂), 0.88 (t, 3H, CH₃).

[0376]

3-스테아르아미도프로필 α-D-글루코피라노실-(1→4)-α-D-글루코피라노실-(1→4)-β-D-글루코피라노사이드(122)

[0377]

글리코사이드(121)(1.61 g, 861 μmol)를 MeOH/THF 1:1(40 mL)에 용해시켰다. NaOMe(1 mL의 6M 용액)를 첨가하고, 용액을 실온에서 48시간동안 교반하였다. 혼합물을 산성 수지로 중화시키고, 용액을 여과시킨 후, 용매를 증발시켜 백색의 고형 생성물을 수득하고, 이를 EtOAc로 저장하고, 용매를 따라내었다(x3). 고형물을 진공 하에서 건조시켜 651 mg의 백색의 고형 생성물(91 %)을 수득하고, 이를 추가의 정제 또는 특징화없이 반응시켰다.

[0378]

3-스테아르아미도프로필 2,3,4,6-테트라-O-설포-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-설포-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-설포-β-D-글루코피라노사이드, 데카나트륨 염(123)

[0379]

폴리올(122)(200 mg, 242 μmol)을 DMF(0.02 M, 12.1 mL)에 용해시켰다. SO₃.피리딘(3 당량/OH, 7.26 mmol, 1.16 g)을 첨가하고, 용액을 하룻밤동안 60 °C에서 교반하였다. 용액을 0 °C로 냉각시키고, 5M NaOH(3 당량/SO₃.피리딘, 4.4 mL)로 중화시켰다. 혼합물을 1시간동안 -20 °C로 냉각시켰다. 상층액을 따라내어 버렸다. 침전물을 물이 있는 큰 환저 플라스크로 이동시키고, 증발시키고, 72시간동안정제된 물(5 L, 1 mL의 1.7 M NH₄HCO₃ 함유)에 대해 투석(2000 MWCO 카트리지, 피어스)하였다. 용액을 동결건조시켜 생성물을 황색 고형물(177 mg, 40 %)로서 수득하였다.

¹H NMR (D₂O, 400 MHz) δ 5.69 (d, 1H, J_{1,2} = 3.4, H-1), 5.59 (d, 1H, J_{1,2} = 2.7, H-1), 4.99-4.92 (m, 2H), 4.85-4.08 (m, 17H), 4.01 (ddd, 1H, CH₂O), 3.75 (ddd, 1H, CH₂O), 3.32 (t, 2H, J = 6.7, CH₂N), 2.27 (t, 2H, CH₂CO), 1.87 (m, 2H, CH₂), 1.61 (m, 2H, CH₂), 1.37-1.29 (m, 28H, CH₂), 0.91 (t, 3H, CH₃).

[0380]

[0381]

실시예 27. 2,3,4,6-테트라-O-벤조일-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-O-벤조일-α-D-글루코피라노실-

(1→4)-2,3,6-트라이-*O*-벤조일- α -D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-*O*-벤조일-D-글루코피라노실 트라이클로로아세트이미데이트(124)

[0382] 0 °C에서 말토테트라오스 퍼벤조에이트(66)(12.4 g)를 피리딘(47 mL)에 용해시켰다. 다이메틸아민(EtOH 중 5.6M)(28.3 mL)을 첨가하고, 용액을 실온에서 2시간동안 교반하였다. 용액을 빙냉한 0.5 M HCl에 붓고, 생성된 침전물을 여과하고, 물로 세척한 후, 건조시켰다. 조질 생성물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂: 5-70% EtOAc/헥산)로 정제하여 6.7 g의 순수한 헤미아세탈을 수득하고, 이를 분자 체 및 탄산 칼륨(6.6 g)이 있는 무수 DCM에 취하였다. 혼합물을 0 °C에서 교반한 후, 트라이클로로아세트오니트릴(4.4 mL)을 첨가하였다. 혼합물을 실온으로 가온되게 하고, 2시간동안 교반하였다. 용액을 여과하고, 용매를 증발시켰다. 조질 생성물(7.2 g, 57%)을 추가의 정제 또는 특성화없이 반응시켰다.

[0383] 3-아지도프로필 2,3,4,6-테트라-*O*-벤조일- α -D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-*O*-벤조일- α -D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-*O*-벤조일- α -D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-*O*-벤조일- β -D-글루코피라노사이드(125)

[0384] 트라이클로로아세트이미데이트(124)(1.476 g, 0.682 mmol), 3-아지도프로판올(2 당량, 137 mg) 및 분자 체를 DCM(10 mL)에 취하고, 0 °C로 냉각시켰다. TMSOTf(0.5 당량, 850 μ L DCM 중의 62 μ L)를 적가하였다. 용액을 0 °C에서 90분간 교반한 후, 트라이에틸아민(300 μ L)으로 중화하고, 여과하고, 물로 세척하고, 건조(Na₂SO₄)하고, 용매를 증발시켜 조질 생성물을 생성하였다. 이를 컬럼 크로마토그래피(SiO₂: 톨루엔 내지 24:3 톨루엔: EtOAc, 톨루엔으로 부하됨)로 정제하여 660 mg의 백색의 고형 생성물(46%)을 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.25-7.05 (m, 35H, Ar), 6.12 (dd, 1H, $J_{3,2}$ = 9.9, $J_{3,4}$ = 9.9, H-3^{IV}), 6.00 (dd, 1H, H-3), 5.87 (dd, 1H, H-3), 5.76 (d, 1H, $J_{1,2}$ = 3.7, H-1^{IV}), 5.71-5.64 (m, 3H, H-1, H-3^I, H-4^{IV}), 5.60 (d, 1H, $J_{1,2}$ = 3.7, H-1), 5.29-5.23 (m, 2H, H-2^I, H-2^{IV}), 5.14-5.05 (m, 2H, 2 x H-2), 5.01 (dd, 1H, H-6), 4.85 (dd, 1H, H-6), 4.76-4.69 (m, 2H, 2 x H-6), 4.75 (d, 1H, $J_{1,2}$ = 7.5, H-1^I), 4.59 (m, 2H, 2 x H-6), 4.47-4.33 (m, 7H, 3 x H-4, 3 x H-5, H-6), 4.19 (dd, 1H, H-6), 4.05 (ddd, 1H, H-5^I), 3.91 (m, 1H, CH₂O), 3.57 (m, 1H, CH₂O), 3.19 (m, 2H, CH₂N), 1.74 (m, 2H, CH₂).

[0385]

[0386] 3-스테아르아미도프로필 2,3,4,6-테트라-*O*-벤조일- α -D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-*O*-벤조일- α -D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-*O*-벤조일- α -D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-*O*-벤조일- β -D-글루코피라노사이드(126)

[0387] 글리코사이드(125)(660 mg, 0.314 mmol)를 ACN(21 mL)에 용해시켰다. 트라이페닐포스핀(3 당량, 247 mg)을 첨가하고, Ar 하에서, 혼합물을 실온에서 1시간동안 교반하였다. 물(30 당량, 169 μ L)을 첨가하고, 용액을 50 °C에서 7시간동안 교반하였다. 용매를 증발시키고, 조질 아민을 DCM에 취하였다. 스테아로일 클로라이드(3 당량, 317 μ L) 및 이어서 트라이에틸아민(3 당량, 131 μ L)을 첨가하고, 용액을 3일동안 실온에서 교반하였다. 용매를 증발시키고, 조질 생성물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂: 톨루엔 내지 15:3 톨루엔: EtOAc, 톨루엔으로 부하됨)로 정제하여 403 mg의 투명한 오일 생성물(55 %, 2 단계)을 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.21-7.05 (m, 35H, Ar), 6.09 (dd, 1H, $J_{3,2}$ = 9.8, $J_{3,4}$ = 9.8, H-3^{IV}), 6.02 (t, 1H, NH), 5.97 (dd, 1H, H-3), 5.90 (dd, 1H, H-6), 5.86 (dd, 1H, H-3), 5.75 (d, 1H, $J_{1,2}$ = 3.9, H-1^{IV}), 5.71-5.63 (m, 3H, H-1, H-3^I, H-4^{IV}), 5.59 (d, 1H, $J_{1,2}$ = 3.9, H-1), 5.27-5.18 (m, 2H, H-2^I, H-2^{IV}), 5.12-5.04 (m, 3H, H-6^I, 2 x H-2), 4.72-4.66 (m, 2H, 2 x H-6), 4.70 (d, 1H, $J_{1,2}$ = 7.8, H-1^I), 4.58 (m, 2H, H-2 x H-6), 4.45-4.31 (m, 6H, 3 x H-4, 3 x H-5, H-6), 4.17 (dd, 1H, H-6), 4.02 (ddd, 1H, H-5^I), 3.91 (m, 1H, CH₂O), 3.56 (m, 1H, CH₂O), 3.28 (m, 1H, CH₂N), 3.13 (m, 1H, CH₂N), 2.13 (m, 2H, CH₂CO), 1.76-1.58 (m, 4H, CH₂), 1.26-1.24 (m, 28H, CH₂), 0.88 (t, 3H, CH₃).

[0388]

[0389] 3-스테아르아미도프로필 α -D-글루코피라노실-(1→4)- α -D-글루코피라노실-(1→4)- α -D-글루코피라노실-(1→4)- β -D-글루코피라노사이드(127)

[0390] 글리코사이드(126)(377 mg, 161 μ mol)를 MeOH/THF 1:1(10 mL)에 용해시켰다. NaOMe(60 μ L의 11M 용액)를 첨

가하고, 용액을 실온에서 24시간동안 교반하였다. 혼합물을 산성 수지로 중화시키고, 용액을 여과시킨 후, 용매를 증발시켜 백색의 고형 생성물을 수득하고, 이를 EtOAc로 저장하고, 용매를 따라내었다(x3). 고형물을 진공 하에서 건조시켜 159 mg의 백색의 고형 생성물(정량)을 수득하고, 이를 추가의 정제 또는 특징화없이 반응시켰다.

[0391] 3-스테아르아미도프로필 2,3,4,6-테트라-*O*-설폰- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-설폰- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-설폰- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-설폰- β -D-글루코피라노사이드, 트라이데카나트륨 염(128)

[0392] 폴리올(127)(159 mg, 161 μ mol)을 DMF(0.02 M, 8.1 mL)에 용해시켰다. SO₃.피리딘(3 당량/OH, 6.3 mmol, 1.0 g)을 첨가하고, 용액을 하룻밤동안 60 °C에서 교반하였다. 용액을 0 °C로 냉각시키고, 5M NaOH(3 당량/SO₃.피리딘, 3.8 mL)로 중화시켰다. 혼합물을 1시간동안 -20 °C로 냉각시켰다. 상층액을 따라내어 버렸다. 침전물을 물이 있는 큰 환저 플라스크로 이동시키고, 증발시키고, 정제된 물(5 L, 1 mL 1.7 M NH₄HCO₃ 함유)에 대해 72시간동안 투석(2000 MWCO 카트리지, 피어스)하였다. 용액을 동결건조시켜 생성물을 황색 고형물(227 mg, 61 %)로서 수득하였다.

¹H NMR (D₂O, 400 MHz) δ 5.89 (d, 1H, $J_{1,2}$ = 3.4, H-1), 5.72 (d, 1H, $J_{1,2}$ = 2.7, H-1), 5.67 (d, 1H, H-1), 5.06-4.09 (m, 18H), 4.01 (ddd, 1H, CH₂O), 3.75 (ddd, 1H, CH₂O), 3.33 (t, 2H, J = 6.1, CH₂N), 2.28 (t, 2H, J = 7.4, CH₂CO), 1.87 (m, 2H, CH₂), 1.62 (m, 2H, CH₂), 1.37-1.29 (m, 28H, CH₂), 0.91 (t, 3H, CH₃).

[0393] 실시예 28. *tert*-부틸 2-(콜레스탄-3-일옥시)아세테이트(129)

[0394] 콜레스탄올(0.662 g, 1.703 mmol)을 톨루엔(13 mL)에 용해시켰다. 칼륨 *tert*-부톡사이드(573 mg, 5.11 mmol)를 한 부분으로 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 3시간동안 교반하였다. *tert*-부틸 브로모아세테이트(503 μ l, 3.406 mmol)를 적가하고, 혼합물을 하룻밤동안 실온에서 교반하였다. 톨루엔(20 mL)을 첨가하고, 용액을 염수(50 mL)로 세척하였다. 수성 상을 톨루엔(30 mL)으로 추출한 후, 모든 유기 상을 조합하고, 건조(Na₂SO₄)시키고, 용매를 증발시켰다. 조질 생성물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂; 헥산:EtOAc, 200:1 내지 200:20)를 이용하여 정제하여 백색의 고형 생성물(0.65 g, 76% 수율)을 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 3.98 (s, 2H, CH₂O), 3.30 (m, 1H, CHO), 1.97-0.56 (m, 31H), 1.46 (s, 9H, CH₃), 0.89 (d, 3H, J = 6.1, CH₃), 0.85 (d, 3H, J = 2.0, CH₃), 0.84 (d, 3H, J = 1.4, CH₃), 0.79 (s, 3H, CH₃), 0.64 (s, 3H, CH₃).

[0395]

[0396] 2-(콜레스탄-3-일옥시)아세트산(130)

[0397] *tert*-부틸 2-(콜레스탄-3-일옥시)아세테이트(129)(634 mg, 1.26 mmol)를 DCM(4 mL)에 취한 후, TFA(1 mL)을 첨가하였다. 용액을 실온에서 90분동안 교반하였다. 용매를 증발시키고, 잔사를 짧은 실리카 플러그(SiO₂: DCM 내지 100:5 DCM:MeOH)를 이용하여 정제한 후, 헥산으로부터 재결정화시켜 439 mg의 백색의 고형 생성물(78%)을 수득하였다.

¹H nmr (400 MHz, CDCl₃) δ : 4.25 (s, 2H, CH₂O), 3.37 (m, 1H, CHO), 1.99-0.58 (m, 31H), 0.89 (d, 3H, J = 6.6, CH₃), 0.85 (d, 3H, J = 2.0, CH₃), 0.84 (d, 3H, J = 1.4, CH₃), 0.80 (s, 3H, CH₃), 0.64 (s, 3H, CH₃).

[0398]

2,3,4,6-테트라-*O*-벤조일- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-벤조일- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-*O*-벤조일- β -D-글루코피라노실 아이소티오시아네이트(131)

[0399] 브로마이드(84)(1.8 g, 1.12 mmol), KSCN(3 당량, 326 mg), 분자 체 및 Bu₄NI(촉매량)를 무수 아세트니트릴에 취하고, 75 °C에서 하룻밤동안 교반하였다. 용매를 증발시키고, 잔사를 DCM에 취하고, NaHCO₃(포화)로 세척한 후, 건조(Na₂SO₄)시키고, 용매를 증발시켰다. 조질 생성물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂; 헥산 내지 35% EtOAc/헥산, 톨루엔으로 부하됨)로 정제하여 1.15g의 백색의 고형 생성물(65%)을 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.23-7.12 (m, 50H, Ar), 6.16 (dd, 1H, *J*_{3,2} = 9.6, *J*_{3,4} = 9.6, H-3^{III}), 5.96 (dd, 1H, *J*_{3,2} = 9.6, *J*_{3,4} = 8.2, H-3^{II}), 5.81 (d, 1H, *J*_{1,2} = 4.1, H-1^{III}), 5.75-5.68 (m, 2H, H-3^I, H-4^{III}), 5.65 (d, 1H, *J*_{1,2} = 4.1, H-1^{II}), 5.40 (dd, 1H, *J*_{2,1} = 8.2, *J*_{2,3} = 8.2, H-2^I), 5.32 (dd, 1H, *J*_{2,1} = 4.1, *J*_{2,3} = 10.2, H-2^{III}), 5.28 (d, 1H, *J*_{1,2} = 8.2, H-1^I), 5.13 (dd, 1H, *J*_{2,1} = 4.1, *J*_{2,3} = 10.2, H-2^{II}), 5.00 (dd, 1H, H-6^I), 4.77 (dd, 1H, H-6^{II}), 4.72-4.65 (m, 2H, H-6^I, H-6^{II}), 4.53-4.41 (m, 5H, H-5^{II}, H-5^{III}, H-4^I, H-4^{II}, H-6^{III}), 4.30 (dd, 1H, H-6^{III}), 4.13 (ddd, 1H, H-5^I).

[0400] 2-(콜레스탄-3-일옥시)아세트아미도 2,3,4,6-테트라-*O*-벤조일-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-*O*-벤조일-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-*O*-벤조일-β-D-글루코피라노사이드(132)

[0401] 아이소티오시아네이트(131)(0.5 g, 315 μmol) 및 2-(콜레스탄-3-일옥시)아세트산(130)(141 mg, 315 μmol)을 톨루엔(6.3 mL)에 용해시켰다. 트라이에틸아민(20 μl)을 첨가하고, 용액을 실온에서 4일동안 교반하였다. 용매를 증발시키고, 잔사를 컬럼 크로마토그래피(SiO₂: 톨루엔 내지 10% EtOAc/톨루엔)로 정제하여 358 mg의 백색의 고형 생성물(58%)을 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.23-7.09 (m, 50H, Ar), 7.50 (d, 1H, NH), 6.09 (dd, 1H, *J*_{3,2} = 10.2, *J*_{3,4} = 9.9, H-3^{III}), 5.91 (dd, 1H, *J*_{3,2} = 9.9, *J*_{3,4} = 7.8, H-3^{II}), 5.82 (dd, 1H, *J*_{3,2} = 9.5, *J*_{3,4} = 9.2, H-3^I), 5.74 (d, 1H, *J*_{1,2} = 4.1, H-1^{III}), 5.67 (dd, 1H, *J*_{4,3} = 9.9, *J*_{4,5} = 9.9, H-4^{III}), 5.60 (d, 1H, *J*_{1,2} = 4.1, H-1^{II}), 5.51 (dd, 1H, *J*_{1,2} = 9.5, *J*_{1,NH} = 8.5, H-1^I), 5.27 (dd, 1H, *J*_{2,1} = 4.1, *J*_{2,3} = 10.6, H-2^{III}), 5.24 (dd, 1H, *J*_{2,1} = 9.5, *J*_{2,3} = 9.5, H-2^I), 5.08 (dd, 1H, *J*_{2,1} = 4.1, *J*_{2,3} = 10.2, H-2^{II}), 4.92 (dd, 1H, H-6), 4.70-4.64 (m, 2H, H₂ x H-6), 4.56 (dd, 1H, H-6), 4.46-4.31 (m, 5H, H-5^{III}, H-4^I, H-4^{II}, 2 x H-6), 4.22 (ddd, 1H, H-5^{II}), 4.15 (ddd, 1H, H-5^I), 3.95 (dd, 1H, CH₂O), 3.73 (dd, 1H, CH₂O), 3.11 (m, 1H, CHO), 1.47-0.50 (31H), 0.90 (d, 3H, *J* = 6.8, CH₃), 0.86 (d, 3H, *J* = 6.8, CH₃), 0.86 (d, 3H, *J* = 6.8, CH₃), 0.77 (s, 3H, CH₃), 0.64 (s, 3H, CH₃).

[0402] 2-(콜레스탄-3-일옥시)아세트아미도 α-D-글루코피라노실-(1→4)-α-D-글루코피라노실-(1→4)-β-D-글루코피라노사이드(133)

[0404] 아미드(132)(345 mg, 175 μmol)를 MeOH/THF 1:1(16 mL)에 용해시켰다. NaOMe(500 μl의 6M 용액)를 첨가하고, 용액을 실온에서 24시간동안 교반하였다. 혼합물을 산성 수지로 중화시키고, 용액을 여과시킨 후, 용매를 증발시켜 백색의 고형 생성물을 수득하고, 이를 EtOAc로 저장하고, 용매를 따라내었다(x3). 고형물을 진공 하에서 건조시켜 124 mg의 백색의 고형 생성물(76%)을 수득하고, 이를 추가의 정제 또는 특징화없이 반응시켰다.

[0405] 2-(콜레스탄-3-일옥시)아세트아미도 2,3,4,6-테트라-*O*-설포-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-*O*-설포-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-*O*-설포-β-D-글루코피라노사이드, 데카나트륨 염(134)

[0406] 폴리올(133)(118 mg, 127 μmol)을 DMF(0.04 M, 4.4 mL)에 용해시켰다. SO₃.피리딘(3 당량/OH, 5.3 mmol, 838 mg)을 첨가하고, 용액을 하룻밤동안 60 °C에서 교반하였다. 용액을 0 °C로 냉각시키고, 5M NaOH(3 당량/SO₃.피리딘)로 중화시켰다. 혼합물을 1시간동안 -20 °C로 냉각시켰다. 상층액을 따라내어 버렸다. 침전물을 물이 있는 큰 환저 플라스크로 이동시키고, 증발시키고, 72시간동안 정제된 물(5 L, 1 mL 1.7 M NH₄HCO₃ 함유)에 대해 투석(2000 MWCO 카트리지, 피어스)하였다. 용액을 동결건조시켜 생성물을 황색 고형물(195 mg, 79 %)로서 수득하였다.

¹H NMR (D₂O, 400MHz) δ: 5.67 (d, 1H, *J*_{1,2} = 2.9, H-1), 5.57 (d, 1H, *J*_{1,2} = 1.2, H-1), 5.35 (d, 1H, *J*_{1,2} = 7.3, H-1^I), 5.06-4.06 (m, 20H), 3.48 (m, 1H, CHO), 2.07-0.68 (m, 46H).

[0407] 실시예 29. 3-(콜레스탄-3-일옥시)프로판니트릴(135)

[0409] 콜레스탄올(1.554 g, 3.998 mmol)을 DCM(6 mL)에 용해시켰다. 용액에 KOH(물 중 40% w/w, 1.2 mL) 및 아크릴로니트릴(0.8 mL) 및 이어서 18-크라운-6(104 mg)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 하룻밤동안 교반하였다. 유기 층을 염수로 세척하고, 건조(Na₂SO₄)시킨 후, 용매를 증발시켰다. 잔사를 뜨거운 MeOH로부터 재결정화하여 순수한 생성물을 무색 결정성 고형물(1.42 g, 80% 수율)로서 수득하였다.

¹H NMR (400

MHz, CDCl₃) δ: 3.68 (t, 2H, CH₂O), 3.29 (m, 1H, CHO), 2.57 (t, 2H, CH₂CN), 1.98-0.58 (m, 31H), 0.89 (d, 3H, *J* = 6.6, CH₃), 0.87 (d, 3H, *J* = 1.8, CH₃), 0.85 (d, 3H, *J* = 2.0, CH₃), 0.79 (s, 3H, CH₃), 0.64 (s, 3H, CH₃).

[0410]

[0411] 1-아미노-3-(콜레스탄-3-일옥시)-프로판(136)

[0412] 3-(콜레스탄-3-일옥시)프로판니트릴(135)(442 mg, 1 mmol)을 톨루엔(1 mL), 클로로포름(1.5 mL), EtOH(1 mL) 및 농축 HCl(200 μl)의 혼합물에 취하였다. 산화백금 수화물(46 mg)을 첨가하였다. 혼합물을 수소(80 psi) 하에서 실온에서 48시간동안 교반하였다. 용매를 증발시키고, 잔사를 DCM(40 mL) 및 NaHCO₃(포화)(40 mL)에 취하였다. 유기 상을 분리시키고, NaHCO₃(포화)(30 mL) 및 이어서 염수(20 mL)로 세척한 후, 건조(Na₂SO₄)시키고, 용매를 증발시켜 백색 포움 생성물을 수득하고, 이를 추가의 정제 또는 특성화없이 반응시켰다.

[0413] 1-[(콜레스탄-3-일옥시)프로필]-3-[2,3,4,6-테트라-*O*-벤조일-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-*O*-벤조일-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-*O*-벤조일-β-D-글루코피라노사이드] 티오우레아(137)

[0414] 3-(콜레스탄-3-일옥시)프로판-1-아민(136)(0.5 mmol)을 톨루엔(3 mL)에 취하였다. 아이소티오시아네이트(131)(403 mg, 0.254 mmol)를 첨가하였다. 용액을 실온에서 3일동안 교반하였다. 용매를 증발시키고, 조질 생성물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂; 톨루엔 내지 180:30 톨루엔:EtOAc)를 이용하여 정제하여 순수한 생성물을 백색 고형물(355 mg, 35%)로서 수득하였다.

¹H nmr (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.23-7.09 (m, 50H, Ar), 6.90 (dd, 1H, *J* = 4.9, *J* = 4.9, NH), 6.09 (dd, 1H, *J*_{3,2} = 10.2, *J*_{3,4} = 9.8, H-3^{III}), 5.89 (m, 2H, H-3^{II}, H-3^I), 5.74 (d, 1H, *J*_{1,2} = 3.9, H-1^{III}), 5.67 (dd, 1H, *J*_{4,3} = 9.8, *J*_{4,5} = 9.8, H-4^{III}), 5.58 (d, 1H, *J*_{1,2} = 3.9, H-1^{II}), 5.28 (dd, 1H, *J*_{2,1} = 3.9, *J*_{2,3} = 10.7, H-2^{III}), 5.19 (dd, 1H, *J*_{2,1} = 9.3, *J*_{2,3} = 9.3, H-2^I), 5.09 (dd, 1H, *J*_{2,1} = 3.9, *J*_{2,3} = 10.2, H-2^{II}), 4.92 (dd, 1H, H-6), 4.70 (dd, 1H, H-6), 4.67 (dd, 1H, H-6), 4.58 (dd, 1H, H-6), 4.46-4.34 (m, 5H), 4.27-4.18 (m, 2H), 3.50 (dd, 2H, CH₂), 3.18 (m, 1H, CHO), 1.98-0.56 (35H), 0.90 (d, 3H, *J* = 6.8, CH₃), 0.87 (d, 3H, *J* = 6.8, CH₃), 0.86 (d, 3H, *J* = 6.8, CH₃), 0.80 (s, 3H, CH₃), 0.64 (s, 3H, CH₃).

[0415]

1-[(콜레스탄-3-일옥시)프로필]-3-[α-D-글루코피라노실-(1→4)-α-D-글루코피라노실-(1→4)-β-D-글루코피라노사이드] 티오우레아(138)

[0416] 티오우레아(137)(345 mg, 171 μmol)를 MeOH/THF 1:1(16 mL)에 용해시켰다. NaOMe(500 μl의 6M 용액)를 첨가하고, 용액을 실온에서 24시간동안 교반하였다. 혼합물을 산성 수지로 중화시키고, 용액을 여과시킨 후, 용매를 증발시켜 백색의 고형 생성물을 수득하고, 이를 EtOAc로 저장하고, 용매를 따라내었다(x3). 고형물을 진공하에서 건조시켜 169 mg의 백색의 고형 생성물(정량)을 수득하고, 이를 추가의 정제 또는 특성화없이 반응시켰다.

[0417] 1-[(콜레스탄-3-일옥시)프로필]-3-[2,3,4,6-테트라-*O*-설폰-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-*O*-설폰-α-D-글루코피라노실-(1→4)-2,3,6-트라이-*O*-설폰-β-D-글루코피라노사이드] 티오우레아, 데카나트륨 염(139)

[0418] 폴리올(138)(169 mg, 171 μmol)을 DMF(0.04 M, 4.4 mL)에 용해시켰다. SO₃.피리딘(3 당량/OH, 5.13 mmol, 816 mg)을 첨가하고, 용액을 하룻밤동안 60 °C에서 교반하였다. 용액을 0 °C로 냉각시키고, 5M NaOH(3 당량/SO₃.피리딘)로 중화시켰다. 혼합물을 1시간동안 -20 °C로 냉각시켰다. 상층액을 따라내어 버렸다. 침전물을 물이 있는 큰 환저 플라스크로 이동시키고, 증발시키고, 72시간동안 정제된 물(5 L, 1 mL 1.7 M NH₄HCO₃ 함유)에 대해 투석(2000 MWCO 카트리지, 피어스)하였다. 용액을 동결건조시키고, 물에 취한 후, 준비용 C18 RP-HPLC 시스템(물 중의 5% 내지 95 % 아세토니트릴, 20분동안) 상에서 정제하였다. HPLC 정제후 수집된 각각의 분획의 순도를 CE를 이용하여 측정하였다. 90%보다 큰 순도의 분획을 조합하고, 동결건조시켜 생성물을 백색 고형물(7 mg, 2 %)로서 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ:

6.00-5.56 (m, 3H, 3 x H-1), 4.98-3.14 (m, 21H), 2.04-0.72 (m, 50H).

[0419]

[0420] 실시예 30. 3'-콜레스타닐 2,3,4,6-테트라-O-설포- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-O-설포- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트라이-O-설포- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-((1-피리디늄-1-일)-2,3,5,6-테트라-O-설포-D-글루코사이드, 트라이데카나트륨 염(140)

[0421] 폴리올(64)(3.552)을 무수 DMF(46 mL)에 용해시키고, 새로 세척되고 건조된 SO₃.피리딘 복합체(21.24 g)를 첨가하고, 혼합물을 60 °C에서 16시간동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0 °C로 10분동안 냉각시킨 후 빙냉한 수성 NaOH 용액(5 M, 54 mL)을 0 °C에서 한 부분으로 첨가함으로써 중화(pH 12까지)시켰다. 현탁액을 0 °C에서 15분간 교반하고, 물(10 mL)로 희석시키고, 진공에서 40 °C에서 농축시켰다. 담황색 분말을 수득하고, 이를 물(10 mL)에 용해시켜 pH 11.5의 용액을 수득하였다. NaOH(5 M, 5 방울) 수용액을 첨가함으로써 용액을 pH 12로 설정하고, 4x 슬라이드-A-라이저(등록상표) 카세트(2000 MWC0, 4-12 mL)를 이용하여 실온에서 16시간동안 물(4 L)에 대해 투석하였다. 물(4 L)에 대한 투석을 0 °C에서 3일동안 계속하고, 이동안 물을 24시간마다 교환하고, NH₄HCO₃(3 M, 0.6 mL) 수용액을 물에 첨가하여 pH를 약 6.0 내지 6.5로 설정하였다. 그런 다음, 탈염된 용액을 동결건조시켜 주로 (65)와 (140)의 혼합물을 수득하고, 이를 준비용 C18 RP-HPLC 시스템(물 중의 5% 내지 30 % 아세토니트릴, 20분 동안) 상에서 정제하였다. HPLC 정제후 수집된 각각의 분획의 순도를 CE를 이용하여 측정하였다. 90%보다 큰 순도의 분획을 조합하고, 동결건조시켜 생성물을 백색 고형물(30 mg, 약 1 g의 조질 물질로부터 정제됨)로서 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ : 9.09 (m, 2H, Ar), 8.39 (m, 1H, Ar), 7.93 (m, 2H, Ar), 6.40 (d, 1H, H-1^I), 5.56 (d, 1H, J_{1,2} = 3.4, H-1^{II}), 5.54 (d, 1H, J_{1,2} = 2.3, H-1^{III}), 5.45 (d, 1H, J_{1,2} = 3.3, H-1^{IV}), 5.00 (ddd, 1H, H-5^I), 4.86 (dd, 1H, H-3^{II}), 4.79 (dd, 1H, H-3^{III}), 4.77 (dd, 1H, H-2^I), 4.77 (dd, 1H, H-4^I), 4.64 (dd, 1H, H-2^{III}), 4.58 (dd, 1H, H-3^{IV}), 4.49 (dd, 1H, H-3^I), 4.40 (m, 1H, H-6^I), 4.32 (m, 1H, H-6^I), 4.31 (dd, 1H, H-4^{IV}), 4.29 (dd, 1H, H-2^{II}), 4.29 (dd, 1H, H-2^{IV}), 4.20-4.10 (m, 6H, H6 x H-6), 4.13 (ddd, 1H, H-5^{II}), 4.12 (dd, 1H, H-4^{II}), 4.10 (dd, 1H, H-4^{III}), 4.07 (ddd, 1H, H-5^{III}), 3.81 (ddd, 1H, H-5^{IV}), 2.00-0.67 (m, 31H), 0.93 (d, 3H, CH₃), 0.87 (d, 3H, CH₃), 0.86 (d, 3H, CH₃), 0.83 (s, 3H, CH₃), 0.68 (s, 3H, CH₃).

[0422] 실시예 31. 8-펜타데카닐 2,3,4,6-테트라-O-아세틸 -D-글루코피라노사이드(141)

[0423] DCE(1 mL) 중의 D-글루코스 피아세테이트(250 mg, 640 μ mol)의 용액에 8-펜타데칸올(220 mg, 960 μ mol)을 첨가하였다. BF₃.O(Et)₂(134 μ L, 1.1 mmol)를 첨가하고, 혼합물 실온에서 하룻밤동안 교반한 후, 짧은 실리카 플러그 상으로 붓고, EtOAc로 용출시켰다. 용매를 증발시킨 후, 조질 물질을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, DCM로 부하되고, DCM(100 mL), 그런 다음, 20% EtOAc/헥산 내지 35% EtOAc/헥산으로 용출됨)로 정제하여 글리코사이드 (141)를 백색 고형물(179 mg, 50%)로서 수득하였다.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ : 5.19 (dd, 1H, J_{2,3} = 9.5, J_{3,4} = 0.0, H-3), 5.06 (dd, 1H, J_{4,5} = 9.7, H-4), 4.96 (dd, 1H, J_{1,2} = 8.0, J_{2,3} = 9.6, H-2), 4.52 (d, 1H, H-1), 4.21 (dd, 1H, J_{5,6a} = 5.2, J_{6a,6b} = 12.1, H-6b), 4.12 (dd, 1H, J_{5,6a} = 2.6, H-6a), 3.66 (ddd, 1H, J_{4,5} = 10.0, H-5), 3.53 (m, 1H, CH₂CHOCH₂), 2.07 (s, 3H, OCOCH₃), 2.02 (s, 6H, OCOCH₃), 2.00 (s, 3H, OCOCH₃), 1.60-1.20 (m, ~24H, CH₂), 0.88 (t, 3H, J = 7.0, CH₃), 0.87 (t, 3H, J = 7.0, CH₃).

[0424]

[0425] 8-펜타데카닐 D-글루코피라노사이드(142)

[0426] 글리코사이드(141)(70 mg)를 일반적인 절차에 따라 탈아세틸화시켜 폴리올(142)(50 mg, 정량)을 백색 고형물로서 수득하고, 이를 추가의 정제 또는 결정화없이 반응시켰다.

[0427] 8-펜타데카닐 2,3,4,6-테트라-O-설포-D-글루코피라노사이드, 테트라나트륨 염(143)

[0428] 폴리올(142)(50 mg)을 DMF(5 mL)에 용해시켰다. SO₃.피리딘(250 mg)을 첨가하고, 용액을 실온에서 하룻밤동안 교반하였다. 용액을 0 °C로 냉각시키고, 2M NaOH로 pH 10까지 중화시켰다. 용액을 건조되도록 증발시켰다. 잔사를 4 mL의 물에 용해시키고, 바이오-겔(Bio-Gel) P-2 컬럼 크로마토그래피(196 mL/h에서 0.1 M NH₄HCO₃로 용출시킴, 분획당 6분)로 정제하였다. 생성물 분획을 MBT 및 CE로 확인하였다. 동결건조시켜 생성물(143)을

담황색 분말(33 mg, 32%)로서 수득하였다.

¹H NMR (400 MHz,

D₂O) δ: 4.79 (d, 1H, J_{1,2} = 5.3, H-1), 4.67 (br, 1H), 4.45 (br, 1H, H-2), 4.28 (m, 2H), 4.28 (m, 2H), 3.68 (s, 1H), 1.52-1.38 (m, 4H), 1.32-1.10 (m, ~24H), 0.76-0.71 (m, 6H).

[0429]

화합물의 생물학적 시

험

[0430]

성장 인자 결합 분석

[0431]

표면 플라즈몬 공명 (SPR)에 기초한 용액 친화력 분석법을 이용하여 성장 인자 FGF-1, FGF-2 및 VEGF에 대한 화합물의 결합 친화력을 측정하였다[9]. 이 분석법에 이용되는 헤파린-코팅된 센서칩을 스트랩타비딘-코팅된 센서 칩상에 바이오티닐화된 BSA-헤파린을 부동화시킴으로써 제조하거나, 아디프산 다이하이드라지드 또는 1,4-디아미노부탄을 이용한 알데하이드 커플링을 통해 제조되었다[9]. 각각의 K_d 측정을 위해, 완충액 중에 고정된 농도의 단백질과 다양한 농도의 리간드를 함유하는 용액을 제조하였다. FGF-1 및 VEGF로의 리간드 결합은 HBS-EP 완충액(10mM HEPES, pH 7.4, 150mM NaCl, 3.0mM EDTA 및 0.005% (v/v) 폴리솔베이트 20) 중에서 측정하는 반면, FGF-2로의 결합은 0.3M NaCl을 함유하는 HBS-EP 완충액 중에서 측정하였다. 주입하기 전에, 샘플을 4℃에서 유지시켜 단백질 안정성을 최대화시켰다. 각 분석 혼합물에 대해, 용액 50 내지 200 μL를 5 내지 40 μL/분으로 주입하고 상대적인 결합 반응을 측정하였다. 표면 결합 실험은 모두 25℃에서 수행하였다. 4M NaCl 40 μL를 40 μL/분으로 주입한 후, 완충액 40 μL를 40 μL/분으로 주입함으로써, 표면을 재생시켰다.

[0432]

이전에 개시된 바와 같이 BIA평가 소프트웨어(비아코어:BIACore)를 이용하여 센서그램 데이터를 분석하였다[9]. K_d 값을 이중으로 측정한 경우, 값은 이중 측정의 평균을 나타낸다. 결과를 하기 표 1에 나타낸다.

[0433]

헤파라나제 억제 분석

[0434]

헤파라나제의 효소 활성을 기질인 폰다파리누스의 분해를 측정함으로써 검출할 수 있다[39,40]. 모노-테트라졸륨 염 WST-1(호주 멜버른 소재의 오스펙 피티와이 리미티드(Auspep Pty Ltd))와 반응시켜 584nm에서 마이크로플레이트 판독기를 이용하여 검출될 수 있는 청색을 생성함으로써 새로 형성된 환원 다이사카라이드를 검출할 수 있다. 억제제의 존재하에서, 헤파라나제의 촉매 활성이 감소되고, 생성된 다이사카라이드의 양과 용액의 광학 밀도 둘 모두 감소된다. 억제물 및 억제제의 IC₅₀은 광범위한 억제제 농도에 걸친 광학 밀도(OD)의 측정으로부터 결정된다.

[0435]

분석은 하기와 같이 40mM의 나트륨 아세테이트 완충액 중에서 수행되었다. 100 μL의 최종 체적을 생성하는 폰다파리누스(100 μM) 및 다양한 농도의 억제제 및 완충액을 BSA로 미리 코팅되어 있는 96웰 플레이트(코스타 EIZ/RIA, 코닝(Corning))에서 혼합하였다. 그런 다음, 정제된 재조합 인간 헤파라나제(2.55 nM)를 첨가하여 분석을 시작하였다. 플레이트를 37℃에서 24시간동안 항온처리하고, WST-1 용액(100 μL)를 첨가함으로써 분석을 중단하였다. 플레이트를 60℃에서 60분동안 항온처리함으로써 청색이 전개되었다. 마이크로플레이트 판독기(플루오스타(Fluostar))를 이용하여 584nm에서 OD를 측정하고, 환원당 표준물로서 D-갈락토스를 이용한 표준곡선으로 정량하였다. 각 화합물의 IC₅₀ 값을 평가하고, 하기 식을 이용하여 K_i으로 전환시켰다:

$$K_i = \frac{IC_{50}}{1 + \frac{[기질]}{K_m}}$$

[0436]

[0437]

폰다파리누스에 대한 K_m(최대 속도의 절반을 야기하는 기질의 농도)는 33±6 μM로서 측정되었다. 결과를 하기 표 1에 나타낸다.

[0438]

성장 인자 유도된 내피 세포 증식 분석

[0439]

내피 세포 배양

[0440]

본질적으로 [Lonza]에 개시된 표준 세포 배양 프로토콜에 따라 HUVEC 세포를 유지시키고 2차 배양하였다. 간략하게, 세포를 추천된 보충물 및 성장 인자(VEGF, FGF2, EFG, IGF, 하이드로코티손, 소의 태아 혈청(FBS), 아스코브산, 헤파린 및 젠타마이신)를 갖는 론자 내피 성장 배지(EGM)에서 유지시켰다. 세포가 70 내지 80% 컨플루언스에 도달하였을 때 트립신처리하고, 용기 표면적 1cm²당 2500 내지 5000개의 세포가 되도록 새로운 배양 용

기의 신선한 배양 배지에 다시 시딩함으로써 세포를 2차 배양하였다. 혈구계수기를 이용하여 세포 수를 세었고, 보이는 세포는 트립판 블루에 의해 가시화되었다.

[0441] 증식 연구를 위한 배지를 2% FBS 및 젠타마이신 만을 갖는 EGM을 이용하여 제조하였다. 후반의 연구에서, VEGF-자극된 군의 증식 지수를 개선시키고자 완전 EGM을 VEGF 연구에 이용하였다. 관 형성 분석의 경우, 해파린만 생략된 완전 배지를 이용하였다. 조사되는 화합물을 분말 저장물로부터 칭량하고 10mM 저장 용액이 되도록 PBS로 희석시키고, -80 °C에서 저장하였다. 실험을 위해, 화합물을 후속적으로 필요에 따라 다양한 작업 농도로 EBM-2 배지(2% FBS 및 젠타마이신으로 보충됨)로 희석시켰다.

[0442] 증식 분석

[0443] 다양한 농도의 성장 인자 VEGF, FGF-1 또는 FGF-2를 72시간의 기간동안 이용하여 HUVEC에서 증식을 유도하였다. 첫번째 일련의 실험에서, 성장 인자에 의한 최대 증식을 유도하는데 필요한 세포 밀도 및 성장 인자 농도를 조사함으로써 분석을 추가로 최적화시켰다. 간략하게, 100 μ L의 세포를 웰 당 1 내지 3×10^3 의 농도로 각각의 웰에 첨가하였다. 그런 다음, 성장 인자와 시험 화합물을 200 μ L의 최종 농도를 달성하기 위해 특정한 농도에서 50 μ L의 체적으로 첨가하였다. 70시간동안 배양한 후, 20 μ L의 셀타이터(CellTitre) 96(등록상표) 아퀴스원 솔루션 셀 프로리퍼레이션 어세이(Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay: 프로메가(Promega) 제품)를 OD 값을 획득하기 위해 490nm에서 흡광을 판독하기 2시간 전에 첨가하였다. 자료를 표 2에 나타낸다.

[0444] 매트릭셀(상표명: Matrigel) 미세관 형성 분석

[0445] 약간 변형하여 본질적으로 마린다(Malinda) 등의 문헌[41]에 개시된 바와 같이 관 형성 분석법을 수행하였다. 70 내지 80% 컨플루언스에서 4차 또는 5차 계대배양된 HUVEC를 수확하고, 해파린을 제외하고 제조자에 의해 지시된 모든 보충물을 함유하는 론자 내피 성장 배지(EGM2)에 mL 당 4×10^5 세포의 세포 밀도에서 재현탁시켰다. 각각의 삼중 웰 세트의 경우, 10, 50 또는 100 μ M(따라서, 각각의 조건에 대해 $1 \times 300 \mu$ L를 보충함)의 최종 농도를 수득하도록 200 μ L의 세포(4×10^5 /mL)를 동일한 체적의 화합물로 처리하였다. 그런 다음, 100 μ L 분획의 세포를, 성장 인자 감소된 매트릭셀(Matrigel, 상표명; 50 μ L로 30분 및 이어서 추가 30 μ L로 1시간)로 미리 코팅된 96웰 플레이트 상에 플레이팅하고 18 내지 22시간동안 배양하였다. 상-컨트라스트 현미경을 이용하여 관 형성을 조사하였고, 올림푸스(Olympus) C5050 디지털 카메라를 이용하여 상을 수집하였다. 3개 이상의 관을 연결하는 결절의 총 수를 기록함으로써 관 형성 억제를 수동으로 정량화하였다. 결과를 대조군에 대한 억제율로서 표현하고, 표 2에 나타냈다. 처리되지 않은 HUVEC을 정상 세포 성장 및 매트릭셀에서의 관 형성에 대한 대조군으로 이용하였다.

[0446] 내피 세포 이동 분석법

[0447] BD 바이오코트(Biocoat: 상표명) 안지오제네시스 시스템(Angiogenesis System)을 시험관 외, 정량적 내피 세포 이동 분석 플랫폼으로서 이용하였다. 이는 인간 피브로넥틴으로 고르게 코팅된 형광 블록킹 미세구(3.0 μ m 포어 크기) PET 막(BD 플루오로블록(FluoroBlock: 상표명))을 함유하는 BD 팔콘(Falcon; 상표명) 24-멀티웰 인서트 플레이트(및 비-TC 처리된 24웰 수용기 플레이트 및 뚜껑)으로 구성된다. 막의 공극이 폐색되지 않도록 피브로넥틴의 농도와 코팅 과정이 최적화된다. 이는 내피 세포가 막에 부착되어 플레이트 하부 챔버에서 혈관신생 자극쪽으로 자유롭게 이동하는 것을 허용한다. 형광 플레이트 판독기를 이용하여 추가의 조작없이 이동하는 세포를 정량한다. 본원에서, 세포가 이동한 후 형광 염료를 이용하여 라벨링한다.

[0448] 간략하게, 2.5×10^5 /mL의 농도의 200 μ L의 HUVEC을 키트에 공급된 24웰 플레이트의 각 웰의 상부 챔버에 플레이팅하였다. 그런 다음, 화합물을 다양한 농도(전형적으로 10 및/또는 50 μ g/mL)로 첨가하고, 막 (EBM-2) 만을 비치리된 대조군으로 이용하였다. 우리의 실험실에서는 FGF-2 또는 VEGF로 자극된 HUVEC의 이동 성능이 낮기 때문에, 10% 송아지 태아 혈청(FCS)(FCS는 FCS가 없는 배지에서 배양된 HUVEC에 비해 HUVEC의 이동을 6 배 이상 증가시킨다)을 이용하였다. 따라서, 10% FCS를 함유하는 750 μ L의 배지를 이동 자극으로 작용하도록 하부 챔버에 첨가하고, 플레이트를 37 °C/5% CO₂에서 18시간동안 배양하였다. 배양 시간 후에, 상부 플레이트를 새로운 24웰 바닥 플레이트로 이동시키고, 500 μ L의 칼세인(Calcein) AM을 첨가하여 37 °C에서 90분동안 다공성 막 아래의 이동된 세포를 염색시켰다. 각각 485nm 및 520nm의 여기 및 방출 필터를 갖는 플루오스타 옵티마(FLUOstar Optima)(BMG 레보레이토리즈)를 이용하여 형광을 측정하였다. 자료를 FCS-유도된 HUVEC과 비교된 이동의 억제율로 표현한다(표 3).

[0449] **생체 외 혈관신생 싹(sprout) 분석**

[0450] [42] 내지 [45]에 전술된 바와 같은 프로토콜을 변화시킴으로써 래트 대동맥으로부터의 외식편을 준비하였다. 이 모델에서, ECM-유래된 단백질의 3차원 매트릭스(마트리젤: 상표명)에 노출된 래트 대동맥 내피는 미세혈관 표현형으로 스위칭되어 미세혈관의 지부 네트워크를 생성한다. 절개 과정에 의해 야기된 손상에 의해 혈관신생이 유발되고, 외인성 성장 인자에 의한 자극을 요구하지 않는다.

[0451] 간략하게, 2 내지 4달된 스프라규 도레이 래트로부터 흉부 대동맥을 절개하고, 남아있는 지방과 연결 조직을 다듬었다. 대동맥의 물리적 손상을 감소시키도록 매 단계마다 매우 주의하였다. 조직을 2% FCS 및 헤파린을 제외한 모든 싱글퀴츠(Singlequots: 상표명) 시약을 함유하는 완전 EBM-2 배지(캠브렉스(Cambrex))로 옮겼다. 그 동안 매트리젤(상표명)(BD 바이오사이언스)을 얼음에서 냉각되게 하고, 일단 액체 형태로 180 μ L를 48웰 조직 배양 플레이트(넉크(Nunc))로 피펫팅하였다. 플레이트를 37 $^{\circ}$ C에서 30분동안 항온배양하여 매트리젤이 고형화되게 하였다.

[0452] 1 mm 고리 단면으로 절단한 후 이등분함으로써 대동맥을 준비하였다. 그런 다음, 대동맥 단편을 조심스럽게 각각의 웰의 중심부에서 매트리젤 상부에 위치시키고, 일단 필요에 따라 배향시키고, 60 μ L의 추가의 매트리젤을 상부에 두고, 플레이트를 추가 20분동안 인큐베이터에 다시 두었다. 그런 다음, 각각의 웰을 특정한 화합물/실험에 따라 1 내지 50 μ M의 범위 이내인 2개의 농도인 시험 화합물의 존재 또는 부재 하에서 1.0 mL의 배지로 보충하였다. 배양액을 48시간마다 다시 보충하고, 8 내지 10일까지의 다양한 시점에서 미세혈관의 점수를 매겼다. 미세혈관 싹 정도는 0 내지 5점의 점수 시스템을 이용하여 결정되었는데, 이때 0은 미세혈관이 없음을 의미하고, 5는 전술된 바와 같은 확산된 혈관신생을 의미한다[45]. 4x 대물렌즈를 갖는 올림푸스(Olympus) C-7070 카메라 및 집안렌즈용 어댑터를 이용하여 혈관 싹 사진을 찍었다.

[0453] 일부 경우, 이 분석법에서 화합물의 잠재적 독성을 측정하기 위해, 제6일 또는 제7일에 화합물/배지를 배양액으로부터 꺼내고, 추가의 7일까지 동안 VEGF(전형적으로 10 ng/mL)를 갖는 완전 배지를 첨가함으로써 조직의 생존 능력을 평가하였다. 독성의 부재시, 생존 조직은 외인성 성장 인자에 반응하여 미세혈관을 발생시켜야만 한다.

[0454] 혈관신생에 대한 본 발명의 화합물의 억제 효과를 상기 개시된 혈관신생 싹/미세혈관 형성(래트 대동맥) 분석법을 이용하여 분석하였다. 임의의 억제제가 없는 매트리젤 중의 래트 대동맥 조직(대조군)의 매립은 도 1에 도시된 바와 같이 광범위한 혈관신생 싹(5점은 확산된 혈관신생을 나타낸다)을 생성한다.

[0455] PI-88 및 PG524(텔 친유성인 동족체)를 첨가하면 10 및 50 μ M에서 강한 억제 반응을 야기한다. 그러나, 본 발명의 화합물은 10 μ M에서 100%까지 혈관신생을 억제함으로써 추가의 효능을 입증하였다. 결과를 하기 도 4에 나타낸다.

[0456] 전술된 화합물로 처리한 후에 대동맥 조직의 생존능력을 조사하기 위해, 제6일 또는 제7일(개별적인 실험에 따라)에 이들 화합물을 철회하고, 추가 7일까지 VEGF로 처리하였다. 미세혈관 싹이 출현하는 것은, 조직에 대한 독성 효과의 유도와는 대조적으로, 본 발명의 화합물이 항-혈관신생 기작을 통해 억제 효과를 발휘한다는 것을 입증하였다.

[0457] **항응집 활성**

[0458] 수집된 정상 인간 혈장의 활성화된 부분적 트롬보플라스틴 시간(APTT)의 상승에 대한 다양한 농도의 화합물(PBS 중의 0 내지 100 μ g/mL)의 효과를 측정함으로써, 시험 화합물의 항응집 활성을 측정하였다. 제조자의 지시에 따른 표준 프로토콜을 이용하여 STAGO STA-컴팩트 응집 분석기 상에서 APTT 측정을 수행하였다. 분획화되지 않은 헤파린(UFH)을 대조군으로 이용하였다. 수집된 정상 인간 혈장의 경우 ATTP의 정상 범위는 26 내지 36s이다. 결과를 표 5에 나타내고, 이는 새로운 화합물이 단지 온화한 항응집 활성을 갖고 있고, PI-88에 비해 상당히 덜 강력함을 나타낸다.

[0459] **생체 내 마우스 흑색종 모델**

[0460] B16 흑색종은 동계(syngeneic) C57/BL6 마우스에서 종양을 유도하기 위해 흔히 이용되는 세포주이다. 이는 비-전이성이고, 대부분의 항암제에 대해 반응하지 않는 빨리 성장하는 종양이다.

[0461] B16F1 세포를 10% FCS, 페니실린/스트렙토마이신, L-글루타민, 나트륨 피루베이트, 2-머캅토에탄올을 함유하는 완전 DMEM 배지에서 배양하였다. 종양 접종을 위해 세포를 수확하고, 트립신/EDTA에 의해 B16F1 세포를 파괴하고, HBSS로 세척하고, 1500 rpm에서 5분동안 원심분리하였다. 5×10^5 세포가 50 μ L의 체적에 주입되는 것이 보

증되도록 세포를 PBS에 재현탁시켰다. 종양을 목 바로 뒤에 이식하였다. 종양 접종후 3일동안 각각의 처리군을 매일 다른 부위에 50 또는 100 μ L의 주사 체적 중의 서로 다른 농도로 피하 주사하였다. 제15일까지 계속 주사하여 12일 치료 주기를 제공하였다. 주사 시작때부터 마우스를 매일 모니터링하였고, 촉진할 수 있는 종양을 매일 측정하였다. 종양 크기는 2차원으로 $l \times w$ (이때, l 은 가장 긴 치수이고, w 는 가장 짧은 치수이다)를 측정하여 결정되었다. 종양 체적을 측정하기 위해 식 $0.5 \times l \times (w^2)$ 를 이용하였다. 자료는 종양 성장의 중간값 및 종양 성장 억제율(%TGI) 둘 모두로서 표현된다. 실험간의 차이를 보정하기 위해 %TGI의 계산을 수행하였다.

[0462] 이때 본 발명의 화합물이 혈관신생 싹 형성을 억제하는 것으로 보이고, 종양 성장이 혈관신생-의존성이기 때문에, 1차 종양 성장 및 전반적인 생존에 미치는 이들 화합물의 효과를 상기 개시된 바와 같이 분석하였다. 도 3은 B16 흑색종 모델에서 본 발명의 다양한 시험 화합물 연구로부터 관찰된 전형적인 중간값 종양 체적을 나타낸다.

[0463] 직접적인 비교 자료를 위해, 도 4의 결과는 관련된 대조군과 비교하였을 때 종양을 갖는 마우스의 상대적 종양 크기가 감소되었음을 나타내고, 이를 종양 성장 억제율(%TGI)로서 공지된 변수로 나타내었다. TGI 값을 식 $TGI = [1 - (\Delta T / \Delta C)] \times 100$ (이때, ΔT 및 ΔC 는 각각 시험 화합물 처리군(T)과 비히클 대조군(C)에서 치료 마지막 날과 치료 첫번째 날 사이의 종양의 평균 질량의 변화를 나타낸다.

[0464] **생체 내 마우스 폐 전이 모델**

[0465] B16 고형 종양 마우스 흑색종 모델에 대해 상기 개시된 바와 같이 배양된 B16F1 세포를 꼬리 정맥을 통해 마우스에 주입하면, 폐에 전이성 결절이 형성된다. 종양 세포가 흑색이므로, 전이 결절의 관찰이 쉽게 확인될 수 있다. 도 5는 대조군과 화합물 처리된 마우스 폐를 나타내고, 폐 콜로니의 형성이 명확히 관찰될 수 있게 상이하다(어두운 점).

[0466] 전이 모델에서 B16 세포(2×10^5)를 제0일에 50 mL의 체적으로 C57/BL6 마우스의 꼬리 정맥을 통해 주사하였다. 시험 화합물을 이용한 처리를 제0일에 시작하여 12일동안 매일 계속하였다. 폐 전이의 수를 실험 제12일에 계산하였다. 도 6에 도시된 결과는 선택된 화합물이 PI-88에 의해 나타난 폐 전이의 강력한 억제를 유지함을 나타내었다. 자료는 염수 대조군과 비교하였을 때 관찰된 폐 전이 결절의 %로 표현된다.

[0467] **생체 내 HT29 직장결장암 이종이식 모델**

[0468] HT-29 인간 직장결장 선암 세포(작업 저장용 VP-스톡 325로부터 4차 계대배양)를 10% FBS 및 페니실린-스트렙토마이신 (50 IU/mL 최종 농도)가 보충된 RPMI1640 세포 배양 배지에서 배양하였다. 트립신처리하여 세포를 수확하고, HBSS에서 2회 세척하고, 계수하였다. 그런 다음, 세포를 HBSS에 재현탁시키고, 2×10^7 세포/mL를 함유하는 최종 체적으로 조절하였다. 주입 부위에 접종하기 전에, 등의 오른쪽 옆구리를 알콜로 자유롭게 닦아주고, 동물의 오른쪽 어깨 바로 아래의 피하 공간으로 피부를 통해 주사기를 찔러 이때 100 μ L의 세포(2×10^6 세포)를 방출시켰다. 마우스 처리는 약 155 mm³의 평균 종양 체적을 갖는 상태에서 시작되었다. 종양을 2차원(길이 및 직경)으로 측정하고, 하기 식을 이용하여 종양 체적을 계산하였다:

[0469] $V(\text{mm}^3) = \text{길이} \times \text{직경}^2 \times \pi / 6$

[0470] 비히클 대조군인 멸균 PBS를 21일동안 하루에 한번씩 10 mL/kg의 투여 체적으로 피하 투여하였다. 각각의 동물의 체적을 매일 투여 직전에 측정하였다. 각 마우스에 투여된 실제 체적을 계산하고, 체중에 근거하여 조절하였다. 도 7에 나타난 결과는, 직장결장암의 설치류 종양 모델을 이용하였을 때 선택된 화합물이 항암 활성을 갖고 있음을 입증한다. 모든 화합물은, 이 모델에서 특히 효과적이지 않은 PI-88에 비해, 개선된 활성을 나타내었다.

[0471] **항바이러스 활성**

[0472] 항바이러스 분석의 결과를 표 6 내지 10에 나타낸다.

[0473] **세포 및 바이러스**

[0474] 아프리카 그린 몽키 신장(GMK AH1) 세포[46]를 2% 송아지 혈청, 0.05% 프리마톤(Primaton) RL 물질(미국 노르윅 소재의 크라프트 인코포레이티드(Kraft Inc.)) 및 항생제가 보충된 이글(Eagle) 최소 필수 배지(EMEM)에서

배양하였다. 인간의 표피 암종(HEp-2) 세포를 10% 송아지 태아 혈청 및 항생제가 보충된 둘베코(Dulbecco) 개질된 EMEM(DMEM)에서 배양하였다. 사용된 HSV 군주는 HSV-1 KOS321, 야생형 군주 KOS의 플라크 정제된 단리물[47], HSV-1 KOS gC-null 변종 gC⁻39[48], 및 HSV-2 군주 333[49]이었다. RSV 군주 A-2[50]를 이용하였다. RSV 스톱을 홀락(Hallak) 등의 문헌[51]에 개시된 바와 같이 제조하고, 40% 슈크로스의 존재 하에서 -70 °C에서 저장하였다[52].

[0475] 바이러스 정제 및 세포로의 바이러스 결합 분석

[0476] 전술된 바와 같이 3단계 불연속 슈크로스 농도구배를 통해 원심분리함으로써 세포의 메틸-[³H]티미딘 라벨링된 HSV 비리온을 정제하였다[53][54]. 정제된 메틸-[³H]티미딘 라벨링된 바이러스가 GMK AH1 세포에 결합하는데 대한 시험 화합물의 효과를 4 °C에서 전술된 바와 같이 분석하였다[17]. 간략하게, 세포를 PBS-A(1 mM CaCl₂ 및 0.5 mM MgCl₂로 보충된 PBS)로 세척한 후, 1% BSA를 함유하는 PBS-A로 실온에서 1시간동안 블로킹하였다. PBS-A 중의 시험 화합물의 순차적인 5배 희석액을 정제된 비리온과 혼합하고, 4 °C에서 15분간 배양하였다. 세포를 PBS-A로 한번 세척하고, 바이러스-화합물 혼합물을 첨가하고, 4 °C에서 2시간동안 온화한 진탕하에서 세포와 배양하였다. 그런 다음, 세포를 PBS-A로 3회 세척하고, 5% SDS를 함유하는 0.2 mL의 PBS-A로 용균시키고, 최종적으로 방사활성의 정량을 위해 신틸레이션 바이얼로 이동시켰다.

[0477] 바이러스 불활성화 분석

[0478] 약 10⁵개의 플라크-형성 단위의 HSV-1 KOS321 또는 HSV-2 333 군주 및 200 μL의 혈청이 없는 EMEM 중의 특정 농도의 시험 화합물을 혼합하고, 37 °C에서 15분간 배양하였다. 혼합물을 비-억제 농도의 시험 화합물이 되도록 희석시킨 후, 바이러스 플라크 수-감소 분석법에 개시된 바와 같이 감염성 적정 측정하였다. RSV의 경우, EMEM 대신 2% 열 불활성화된 송아지 태아 혈청으로 보충된 DMEM을 이용하여 유사한 방식으로 수행하였다. 낮은 pH 값의 효과 또는 자궁경부 분비물의 존재를 평가하기 위해, 바이러스(HSV-2 333) 및 화합물을 낮은 pH의 완충액(4.5)으로 희석하거나, 바이러스(HSV-2 333)와 혼합하기 전에 자궁경부 분비물을 화합물 희석액에 첨가하였다. 서로 다른 3명으로부터 얻은 자궁경부 스왑(swab)으로부터 자궁경부 분비물을 준비하였다. 스왑을 증류수로 세정하고, 5000 x g에서 10분동안 원심분리하였다. 상층액을 -20 °C에서 유지시켰다. RSV의 경우, EMEM 대신 2% 열-불활성화된 송아지 태아 혈청으로 보충된 DMEM을 이용하여 유사한 방식으로 분석을 수행하였다.

[0479] 바이러스 플라크 분석법

[0480] 전술된 바와 같이 바이러스 감염(플라크 수-감소) 분석법 및 플라크 크기-감소 분석법을 실시하였다[17]. 간략하게, 플라크 수-감소 분석법의 경우, 바이러스-화합물 혼합물을 15분간 실온에서 배양한 후, 세포에 첨가하고, 1시간의 기간동안 37 °C에서 바이러스를 세포에 감염시켰다. 그런 다음, 세포를 2 mL의 EMEM으로 세척하고, EMEM 중의 1% 메틸셀룰로즈 용액을 씌웠다. 37 °C에서 배양한지 2일(HSV-2) 또는 3일(HSV-1) 후에 크리스탈 바이올렛 용액으로 염색함으로써 플라크를 가시화하였다. 바이러스 플라크의 수를 50% 억제하는 시험 화합물의 농도(IC₅₀)를 투여량-반응 곡선으로부터 내삽하였다. 화합물을 항-HSV 또는 항-RSV 활성에 대해 스크리닝하였을 때, 무혈청 EMEM 중의 200 PFU의 바이러스와 시험 화합물 (100 μg/mL)의 혼합물을 실온에서 10분간 배양한 후 세포를 첨가하고, 전체 기간동안 바이러스를 세포에 감염시키고, 바이러스 플라크가 발생하게 하였다. 플라크 크기-감소 분석법에서, 억제제의 부재하에서 바이러스를 2시간동안 세포에 감염시킨 후, 화합물을 (메틸셀룰로즈로 덮인 배지 중의) 세포에 첨가하였다. 37 °C에서 항온처리한 지 2 내지 3일 후, 1%의 크리스탈 바이올렛 용액으로 세포를 염색함으로써 바이러스 플라크를 가시화시켰다. 시험되는 각각의 화합물의 경우, 라이츠-베츨라 디아버트(Leitz-Vetzlar Diavert) 현미경에 부착된 라이카(Leica) DC300 디지털 카메라를 이용하여 20개의 이웃 플라크의 영상을 포착했다. 각각의 플라크의 면적을 IM500 영상 소프트웨어(라이카)를 이용하여 측정하였다. 분석을 HEp-2 세포에서 수행하고, EMEM 대신 2% 열-불활성화된 송아지 태아 혈청으로 보충된 DMEM 을 이용한다는 점을 제외하고, RSV에서 이용된 것과 유사한 프로토콜을 이용하였다.

[0481] 세포독성 분석

[0482] 96웰 클러스트 플레이트에 시딩되고 배양 2일째에 약 80 내지 90% 컨플루언스에 도달한 GMK AH1 세포에서 분석을 수행하였다. 세포를 EMEM으로 세척하고, 무혈청 EMEM 중의 시험 화합물의 일련의 2배 희석물 100 μL와 함께 37 °C에서 24시간동안 배양하였다. 세포 생존성에 대한 시험 화합물의 효과를 제조자(미국 위스콘신주 매디슨

소재의 프로메가(Promega))의 프로토콜에 따른 테트라졸륨-근거한 셀타이터(CellTiter) 96 분석법을 이용하여 측정하였다.

[0483] 전술된 양태는 단지 본 발명의 원리를 예시하고 있고, 다양한 변형 및 변화가 당 분야의 숙련자들에게는 명확할 것이다. 본 발명은 다양한 방식과 다른 실시양태로 실시되고 수행될 수 있다. 또한 본원에서 이용되는 용어를 설명하기 위한 목적이고 제한하는 것으로 간주되어서는 안된다.

약동학

성체 수컷 스프라규-도레이(SD) 래트(약 300g)를 실험에 이용하였다. 아이소플루란 마취후 대퇴부 동맥 캐놀라를 이식하고 체외로 꺼내었다. 경정맥 동맥 캐놀라를 이식하고 체외로 꺼내었다. 투여 전에 동물이 캐놀라 삽입으로부터 회복되게 하고, 실험 기간동안 물과 먹이에 자유롭게 접근할 수 있도록 대사 시험장치에 수용하였다. 1.25 내지 5.00mg/mL의 총 약물 농도가 되도록 ^3H (아글리콘 라벨링된) 또는 ^{35}S (설페이트 라벨링된) 라벨링된 화합물을 포스페이트 완충된 염수에 용해시켰다. 모든 투여량은 약 2.0 mL/kg의 투여 체적 중의 2.5 내지 10 mg/kg의 환피로서 투여되었다. 각각의 래트에 투여된 방사활성의 총 양은 0.5 내지 10 μCi 의 범위였다. 투약 전, 및 투약후 5분, 20분, 2시간, 5시간, 8시간, 12시간, 24시간 및 48시간에 혈액 시료(약 325 μL)를 대퇴부 동맥 카테터로부터 시트르산 나트륨 항응고제를 함유하는 시험관에 수집하고, 원심분리할 때까지 낮은 온도(약 4 $^{\circ}\text{C}$)에 유지시켰다. 혈액 시료를 원심분리하고, 혈장을 분리하고, 혈장의 50 μL 분획을 계수를 위한 신틸레이션 바이얼로 옮겼다. 실험 기간이 끝나면 치사량의 펜토바비탈 과량으로 동물을 안락사시켰다. 시료를 팩카트 얼티마 골드(Packard Ultima Gold) 액체 섬광 계수 각테일과 함께 혼합한 후 혈장 중의 방사활성 수준을 측정하였다. 벡크만(Beckman) 액체 섬광 계수기(LS6500) 또는 팩카트 트라이카브(Packard TriCarb) 액체섬광 계수기 상에서 시료당 10분동안 계수하였다. 임의의 계산 이전에 결과(DPM, 계수기 내의 내장형 급냉 곡선으로부터 계산됨)를 바탕값에 대해 보정하였다. 약동학 변수를 PK 솔루션(PK Solution) 2.0 소프트웨어(미국 오하이오주 서미트 리서치 서비스즈(Summit Research Services) 제품)를 이용하여 계산하고, 하기 표 11에 요약한다.

[0484] 용어 "포함하는" 및 "포함하다" 또는 "포함하고 있는" 같은 변형 용어는 언급된 정수 또는 언급된 정수들이 포함됨을 나타내고자 본원에서 사용되지만, 문맥 및 용법상 이 용어의 배타적인 해석이 요구되지 않는 한 임의의 다른 정수 또는 임의의 다른 정수들을 배제하지는 않는다.

[0485] 본 명세서에 인용된 문헌을 언급하는 것은 그 개시내용이 호주에서 일반적인 지식을 구성함을 인정하는 것은 아니다.

표 1

전술된 단락에서 개시된 바와 같은 성장 인자 결합 및 헤파라나제 억제 분석법의 결과

화합물	K_d VEGF (nM)	K_d FGF-1 (nM)	K_d FGF-2 (nM)	K_i 헤파라나제 (nM)
4	12 ± 3	6 ± 3	480 ± 70	4.2 ± 0.5
8	5.1 ± 1.8	2.3 ± 1.3	253 ± 25	3.5 ± 0.4
11	0.79 ± 0.24	0.19 ± 0.10	73 ± 23	4.8 ± 1.8
17	24 ± 6	3.2 ± 0.5	ND	ND
20	22 ± 6	0.60 ± 0.50	160 ± 40	5.8 ± 1.5
24	40 ± 17	0.44 ± 0.04	108 ± 11	6.0 ± 2.1
27	1.04 ± 0.19	0.24 ± 0.10	39 ± 6	5.5 ± 2.6
33	1300 ± 300	270 ± 30	1570 ± 150	22.3 ± 1.6
39	319 ± 19	18.5 ± 1.8	631 ± 4	6.4 ± 2.5
44	2.7 ± 0.5	0.17 ± 0.07	80 ± 40	4.4 ± 1.4
48	460 ± 30	22.6 ± 1.0	480 ± 40	8.50 ± 0.14
56	90 ± 30	16 ± 7	490 ± 40	10.5 ± 1.7
60	260 ± 130	14.3 ± 3.0	474.0 ± 1.4	8.4 ± 2.6
65	28.9 ± 2.3	8 ± 4	390 ± 80	6.1 ± 2.5
70	95 ± 8	9.7 ± 0.8	390 ± 90	3.7 ± 0.8
76	790 ± 230	50 ± 8	610 ± 60	16 ± 4
79	3000 ± 400	3600 ± 600	> 3000	111 ± 28
83	7.95 ± 0.07	1.25 ± 0.07	50 ± 4	20 ± 5
87	190 ± 60	24.8 ± 2.3	547 ± 50	9.1 ± 2.5

[0486]

화합물	K_d VEGF (nM)	K_d FGF-1 (nM)	K_d FGF-2 (nM)	K_i 헤파라나제 (nM)
93	1600 ± 300	610 ± 210	1800 ± 300	30 ± 7
97	1930 ± 230	840 ± 130	3400 ± 300	ND
102	1200 ± 400	560 ± 30	2200 ± 400	ND
107	1350 ± 70	870 ± 60	2000 ± 400	ND
112	430 ± 140	900 ± 150	2100 ± 300	ND
119	7.9 ± 0.7	5.9 ± 1.6	286 ± 25	ND
123	380 ± 110	32.2 ± 2.3	530 ± 50	11.3 ± 0.4
128	14 ± 4	4.94 ± 0.08	311 ± 25	9.1 ± 0.3
134	1080 ± 200	13 ± 3	630 ± 30	ND
139	379 ± 13	72 ± 12	880 ± 110	ND
140	12 ± 2	1.3 ± 0.6	380 ± 40	ND

[0487]

표 2

성장 인자 유도된 내피 세포 증식 분석법 및 매트릭젤(상표명) 미세관 형성 분석법
에서 선택된 화합물에 대한 자료. a) FGF-1, FGF-2 및 VEGF에 의해 유도된 HUVEC
증식의 억제에 대한 IC₅₀ 값(μM); b) 대조군과 비교된, 10 μM에서의 미세관 형성의
억제율(%)

화합물	FGF-1 (IC ₅₀ , μM)	FGF-2 (IC ₅₀ , μM)	VEGF (IC ₅₀ , μM)	10μM에서의 미세관 형성 억제율(%)
PI-88	42	10	20	29%
4	25	10	6.54	ND
8	10.1	8.1	5.4	27%
11	33	17.0	19.5	ND
17	4.29	3.44	5.75	71%
20	1.29	0.847	1.18	73%
24	1.54	0.665	0.580	90%
27	0.990	0.390	0.220	74%
33	>10	2.22	1.85	14%
39	4.44	2.27	0.951	74%
44	3.79	0.349	1.18	95%
48	3.81	1.74	2.08	64%
56	2.52	1.80	1.72	67%
60	2.61	1.22	1.44	49%
65	1.2	0.65	0.50	53%
70	2.3	0.64	2.2	52%
76	2.1	1.2	1.8	22%
79	2.20	2.90	2.24	3% 개선
83	>50.0	>50.0	>50.0	ND
87	2.5	2.3	1.6	20%
93	2.69	2.43	2.62	ND
97	4.09	4.17	1.13	ND
102	3.95	>10	5.17	ND
107	5.75	5.59	5.56	ND
119	4.04	2.69	2.01	32%

화합물	FGF-1 (IC ₅₀ , μM)	FGF-2 (IC ₅₀ , μM)	VEGF (IC ₅₀ , μM)	10μM에서의 미세관 형성 억제율(%)
123	1.69	1.7	1.1	33%
128	0.47	0.77	0.24	ND
134	1.47	1.28	2.14	63%
139	2.16	1.5	2.31	36%
140	0.56	0.005	1.1	37%

표 3

대조군의 억제율(%)로서 표현된, 10 μ M 및 50 μ M 농도의 PI-88, 덜 친유성인 동족체 (PG524) 및 선택된 화합물에 의한 HUVEC 이동 억제

화합물	이동 억제율(%)	
	10 μ M	50 μ M
PI-88	10	11
PG524	3	7
20	48	99
24	17	61
27	48	96

[0490]

표 4

래트 대동맥 혈관신생 분석법에서 혈관신생 싹 형성에 대한 PI-88, 덜 친유성인 동족체(PG524) 및 선택된 시험 화합물의 효과

화합물	혈관신생 억제율(10 μ M)(%)
PI-88	61
PG524	65
20	100
24	69
27	100
65	90
70	97
76	80
87	47
123	23
128	65
134	100
139	92
140	88

[0491]

표 5

선택된 화합물의 항응집 활성. 정상적인 모아진 인간 혈장이 APTT에서 응고하는 시간 및 0.1 mg/mL의 시험 화합물을 첨가한 후의 헵테스트(Heptest) 분석

화합물	APTT (s)	헵테스트(s)	화합물	APTT (s)	헵테스트(s)
PI-88	>500.0	>500.0	76	61.2	30.2
4	125.9	64.2	79	36.1	23.9
20	94.0	28.0	83	41.0	26.8
24	68.1	24.5	87	51.6	29.2
27	63.3	29.6	93	39.6	25.3
33	40.6	25.5	97	40.3	26.7
39	50.7	27.3	102	38.6	23.9
44	217.0	58.5	107	38.8	25.3
48	73.3	33.1	112	38.9	25.4
56	58.5	24.2	119	57.1	28.6
60	71.4	26.4	123	51.1	24.9
65	71.9	28.6	128	65.8	32.2
70	104.0	45.5	혈장 대조군	35.0	24.4

[0492]

표 6

스크리닝 분석법에서 발견된 화합물의 항-HSV 및 항-RSV 활성

화합물	잔여 감염성 (%) ^a		
	HSV-1	HSV-2	RSV
PI-88	5	3	19
4	2	0.7	0
8	7	0.2	3
11	0	0	0
20	0	0	0

^a 모의 처리된 대조군에 대한, 약물 처리된 바이러스(100 µg/mL)를 이용하여 발견된 바이러스 플라크 수의 %

[0493]

표 7

시험 화합물의 항바이러스 활성 및 세포독성

화합물	세포독성 CC_{50} ^a		IC_{50} (선택 지수 CC_{50}/IC_{50}) ^b		
	GMK AH1	HEp-2	HSV-1	HSV-2	RSV
PI-88	>1000	> 400	7 (>143)	1.1 (>909)	9.9 (>40)
4	>400	>400	2.1 (>190)	0.9 (>444)	4.6 (>87)
11	>400	NT	1.8 (>222)	0.9 (>444)	5.7
20	110	113	2.1 (52)	1.1 (100)	1.7 (66)

^a GMK AH1 또는 HEp-2 세포 생존능을 50%로 감소시키는 화합물의 농도(μ g/mL)

^b GMK AH1 세포에서 HSV 플라크의 수 또는 HEp-2 세포에서 RSV 플라크의 수를 50%로 감소시키는 시험 화합물의 농도. 괄호 안은 선택 지수 값이다.

[0494]

표 8

시험 화합물의 바이러스-불활성화 활성^a

바이러스	화합물 농도 (μ g/ml)	화합물		
		PI-88	4	20
HSV-1	100	100.3	83.8	0
	10	108.0	79.4	0
	1	99.8	83.9	88.6
HSV-2	100	107.7	68.1	0
	10	102.9	97.5	0.3
	1	95.1	98.6	120.3
RSV	100	94.0	47.3	13.3
	20	95.0	82.2	79.0
	4	105.8	85.2	102.2

^a 약 2×10^5 PFU의 개별적인 바이러스를 PI-88(μ g/mL), 시험 화합물 또는 희석 배지 (대조군)와 함께 37 °C에서 15분간 배양한 후, 혼합물을 1:500 또는 1:1000으로 희석시키고, 바이러스 플라크를 적정하였다. 결과를 모의-처리된 대조군에 대한 화합물 처리된 바이러스를 이용하여 검출된 바이러스 플라크 수의 백분율로서 표현한다.

[0495]

표 9

시험 화합물의 항-HSV 활성

화합물	HSV-2 IC ₅₀ (μg/ml) ^a	RSV IC ₅₀ (μg/ml) ^a
24	1.8	0.45
27	0.52	0.28
33	0.7	1.8
39	1.1	0.61
44	0.41	0.33
48	0.18	0.25
56	0.3	0.45
60	0.24	0.39
65	0.45	0.35
70	0.15 0.25 ^b	0.23
76	0.07 0.20 ^b	0.37
79	0.28	2.9
83	6.0	3.0
87	0.53	0.77
93	0.27	0.4
97	0.26	0.58
102	0.43	1.8
107	0.43	1.9
112	0.45	2.4
119	2.1	0.62
128	1.0	1.4

^a GMK AH1 세포중의 바이러스 플라크의 수를 50% 감소시키는 시험 화합물의 농도

^b GMK AH1 세포중의 HSV-1 KOS321 균주 플라크 수를 50% 감소시키는 시험 화합물의 농도

[0496]

표 10

낮은 pH 및 인간 자궁경부 분비물의 존재하에서 PI-88 및 화합물 20의 바이러스-불활성화 활성의 조정 ^a

바이러스	화합물 농도 ($\mu\text{g/ml}$)	화합물			
		PI-88		20	
		낮은 pH ^b	CS ^c	낮은 pH ^b	CS ^c
HSV-2	100	111.5	90,3	0.0	0,3
	10	110.8	98,3	6.8	78,5
	1	101.1	88,4	93.7	82,6

^a 약 2×10^5 PFU의 개별적인 바이러스를 PI-88($\mu\text{g/mL}$), 시험 화합물 또는 희석 배지(대조군)와 함께 37 °C(수욕)에서 15분간 배양한 후, 혼합물을 1:500 또는 1:1000으로 희석시키고, 바이러스 플라크를 적정하였다. 결과를 모의-처리된 대조군에 대한 화합물 처리된 바이러스를 이용하여 검출된 바이러스 플라크 수의 백분율로서 표현한다.

^b 바이러스-화합물 배양 동안의 pH 값은 4.5였다.

^c 1:2.2로 희석된 자궁경부 분비물이 바이러스-화합물의 15분동안 존재하였다.

[0497]

표 11

스프라규-도레이 래트에서의 정맥내(iv) 또는 피하(sc) 투여 후의 시험 화합물의 약동학 변수

화합물	반감기(iv)	반감기(sc)
PI-88	1.1시간	1.2시간
65	17.3시간	21.3시간
70	10.3시간	ND

[0498]

참고문헌

[0499]

1. Parish, C. R.; Freeman, C.; Brown, K. J.; Francis, D. J.; Cowden, W. B. *Cancer Res.* **1999**, *59*, 3433.

[0500]

2. Parish, C. R.; Cowden, W. B. *US Patent* 6,143, 730, **2000**.

[0501]

3. Iversen, P. O.; Sorenson, D. R.; Benestad, H. B. *Leukemia* **2002**, *16*, 376.

[0502]

4. Joyce, J. A.; Freeman, C.; Meyer-Morse, N.; Parish, C. R.; Hanahan, D. *Oncogene* **2005**, *24*, 4037.

[0503]

5. Basche, M.; Gustafson, D. L.; Holden, S. N.; O'Bryant, C. L.; Gore, L.; Witta, S.; Schultz, M. K.; Morrow, M.; Levin, A.; Creese, B. R.; Kangas, M.; Roberts, K.; Nguyen, T.; Davis, K.; Addison, R. S.; Moore, J. C.; Eckhardt, S. G. *Clin. Cancer Res.* **2006**, *12*, 5471.

[0504]

6. Ferro, V.; Dredge, K.; Liu, L.; Hammond, E.; Bytheway, I.; Li, C.; Johnstone, K.; Karoli, T.; Davis, K.; Copeman, E.; Gautam, A. *Semin. Thromb. Hemost.* **2007**, *33*, 557.

[0505]

7. Ferro, V.; Li, C.; Fewings, K.; Palermo, M. C.; Linhardt, R. J.; Toida, T. *Carbohydr. Res.* **2002**, *337*, 139.

[0506]

8. Yu, G.; Gunay, N. S.; Linhardt, R. J.; Toida, T.; Fareed, J.; Hoppensteadt, D. A.; Shadid, H.; Ferro, V.; Li, C.; Fewings, K.; Palermo, M. C.; Podger, D. *Eur. J. Med. Chem.* **2002**, *37*, 783.

[0507]

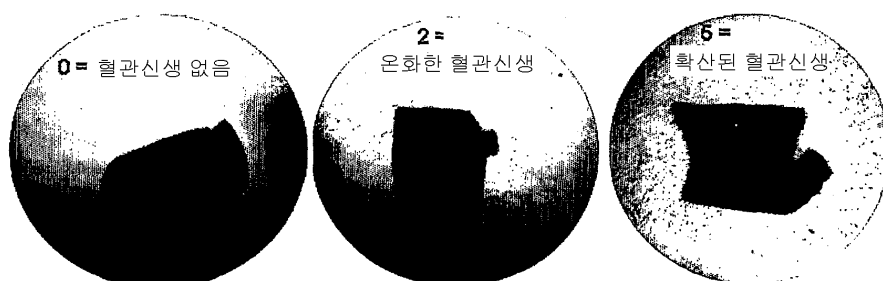
9. Cochran, S.; Li, C.; Fairweather, J. K.; Kett, W. C.; Coombe, D. R.; Ferro, V. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 4601.

- [0508] 10. Vlodavsky, I.; Friedmann, Y. *J. Clin. Invest.* **2001**, *108*, 341.
- [0509] 11. Parish, C. R.; Freeman, C.; Hulett, M. D. *Biochim. Biophys. Acta* **2001**, *1471*, M99.
- [0510] 12. Demir, M.; Iqbal, O.; Hoppensteadt, D. A.; Piccolo, P.; Ahmad, S.; Schultz, C. L.; Linhardt, R. J.; Fareed, J. *Clin. Appl. Thromb. Hemost.* **2001**, *7*, 131.
- [0511] 13. Wall, D.; Douglas, S.; Ferro, V.; Cowden, W.; Parish, C. *Thromb. Res.* **2001**, *103*, 325.
- [0512] 14. Hembrough, T. A.; Ruiz, J. F.; Papathanassiou, A. E.; Green, S. J.; Strickland, D. K. *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 12241.
- [0513] 15. Amirkhosravi, A.; Meyer, T.; Chang, J. Y.; Amaya, M.; Siddiqui, F.; Desai, H.; Francis, J. L. *Thromb. Haemost.* **2002**, *87*, 930.
- [0514] 16. Francis, D. J.; Parish, C. R.; McGarry, M.; Santiago, F. S.; Lowe, H. C.; Brown, K. J.; Bingley, J. A.; Hayward, I. P.; Cowden, W. B.; Campbell, J. H.; Campbell, G. R.; Chesterman, C. N.; Khachigian, L. M. *Circ. Res.* **2003**, *92*, e70.
- [0515] 17. Nyberg, K.; Ekblad, M.; Bergström, T.; Freeman, C.; Parish, C. R.; Ferro, V.; Trybala, E. *Antiviral Res.* **2004**, *63*, 15.
- [0516] 18. Lee, E.; Pavy, M.; Young, N.; Freeman, C.; Lobigs, M. *Antiviral Res.* **2006**, *69*, 31.
- [0517] 19. Levidiotis, V.; Freeman, C.; Punler, M.; Martinello, P.; Creese, B.; Ferro, V.; van der Vlag, J.; Berden, J. H. M.; Parish, C. R.; Power, D. A. *J. Am. Soc. Nephrol.* **2004**, *15*, 2882.
- [0518] 20. Adams, Y.; Freeman, C.; Schwartz-Albiez, R.; Ferro, V.; Parish, C. R.; Andrews, K. T. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2006**, *50*, 2850.
- [0519] 21. Ferro, V.; Hammond, E.; Fairweather, J. K. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2004**, *4*, 159.
- [0520] 22. Foxall, C.; Wei, Z.; Schaefer, M. E.; Casabonne, M.; Fugedi, P.; Peto, C.; Castellot, J. J., Jr; Brandley, B. K. *J. Cell. Physiol.* **1996**, *168*, 657.
- [0521] 23. Fugedi, P.; Tyrrell, D. J.; Tressler, R. J.; Stack, R. J.; Ishihara, M. *US Patent* 5,739,115, **1998**.
- [0522] 24. Gunay, N. S.; Linhardt, R. J. *Planta Med.* **1999**, *65*, 301.
- [0523] 25. Katsuraya, K.; Nakashima, H.; Yamamoto, N.; Uryu, T. *Carbohydr. Res.* **1999**, *315*, 234.
- [0524] 26. Wessel, H. P. *Topics Curr. Chem.* **1997**, *187*, 215.
- [0525] 27. Ferro, V.; Fairweather, J. K.; Karoli, T.; Liu, L. *PCT Int. Appl.* WO 2005/085264 A1, **2005**.
- [0526] 28. Karoli, T.; Liu, L.; Fairweather, J. K.; Hammond, E.; Li, C. P.; Cochran, S.; Bergefall, K.; Trybala, E.; Addison, R. S.; Ferro, V. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 8229.
- [0527] 29. Farndale, R. W.; Buttle, D. J.; Barrett, A. J. *Biochim. Biophys. Acta* **1986**, *883*, 173.
- [0528] 30. Ferro, V.; Fewings, K.; Palermo, M. C.; Li, C. *Carbohydr. Res.* **2001**, *332*, 183.
- [0529] 31. Aucagne, V.; Hanni, K. D.; Leigh, D. A.; Lusby, P. J.; Walker, D. B. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 2186.
- [0530] 32. Dubber, M.; Lindhorst, T. K. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 5275.
- [0531] 33. Fairweather, J. K.; Karoli, T.; Ferro, V. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 6063.
- [0532] 34. Chen, L.; Kong, F. *J. Carbohydr. Chem.* **2002**, *21*, 341.
- [0533] 35. Narumi, A.; Miura, Y.; Otsuka, I.; Yamane, S.; Kitajyo, Y.; Satoh, T.; Hirao, A.; Kaneko, N.; Kaga, H.; Kakuchi, T. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2006**, *44*, 4864.
- [0534] 36. Pazur, J. H. *Methods Carbohydr. Chem.* **1962**, *1*, 337.

- [0535] 37. Ahmed, S.; Alauddin, M.; Caddy, B.; Martin-Smith, M.; Sidwell, W. T. L.; Watson, T. R. *Aust. J. Chem.* **1971**, *24*, 521.
- [0536] 38. Ferro, V.; Meldal, M.; Bock, K. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1994**, 2169.
- [0537] 39. Driguez, P. A.; Petitou, M. *PCT Int. Appl. WO* 2006/021653 A2, **2006**.
- [0538] 40. Bisio, A.; Mantegazza, A.; Urso, E.; Naggi, A.; Torri, G.; Viskov, C.; Casu, B. *Semin. Thromb. Hemost.* **2007**, *33*, 488.
- [0539] 41. Malinda, K. M.; Nomizu, M.; Chung, M.; Delgado, M.; Kuratomi, Y.; Yamada, Y.; Kleinman, H. K.; Ponce, M. L. *Faseb J.* **1999**, *13*, 53.
- [0540] 42. Nicosia, R. F.; Ottinetti, A. *Lab. Invest.* **1990**, *63*, 115.
- [0541] 43. Dredge, K.; Marriott, J. B.; Macdonald, C. D.; Man, H. W.; Chen, R.; Muller, G. W.; Stirling, D.; Dalglish, A. G. *Br. J. Cancer* **2002**, *87*, 1166.
- [0542] 44. Ng, S. S. W.; MacPherson, G. R.; Gutschow, M.; Eger, K.; Figg, W. D. *Clin. Cancer Res.* **2004**, *10*, 4192.
- [0543] 45. Min, J.-K.; Han, K.-Y.; Kim, E.-C.; Kim, Y.-M.; Lee, S.-W.; Kim, O.-H.; Kim, K.-W.; Ghoo, Y. S.; Kwon, Y.-G. *Cancer Res.* **2004**, *64*, 644.
- [0544] 46. Gunalp, A. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **1965**, *118*, 185.
- [0545] 47. Holland, T. C.; Homa, F. L.; Marlin, S. D.; Levine, M.; Glorioso, J. *J. Virol.* **1984**, *52*, 566.
- [0546] 48. Holland, T. C.; Marlin, S. D.; Levine, M.; Glorioso, J. *J. Virol.* **1983**, *45*, 672.
- [0547] 49. Duff, R.; Rapp, F. *Nat. New Biol.* **1971**, *233*, 48.
- [0548] 50. Lewis, F. A.; Rae, M. L.; Lehmann, N. I.; Ferris, A. A. *Med. J. Aust.* **1961**, *2*, 932.
- [0549] 51. Hallak, L. K.; Collins, P. L.; Knudson, W.; Peeples, M. E. *Virology* **2000**, *271*, 264.
- [0550] 52. Gupta, C. K.; Leszczynski, J.; Gupta, R. K.; Siber, G. R. *Vaccine* **1996**, *14*, 1417.
- [0551] 53. Karger, A.; Mettenleiter, T. C. *Virology* **1993**, *194*, 654.
- [0552] 54. Trybala, E.; Liljeqvist, J. A.; Svennerholm, B.; Bergstrom, T. *J. Virol.* **2000**, *74*, 9106.

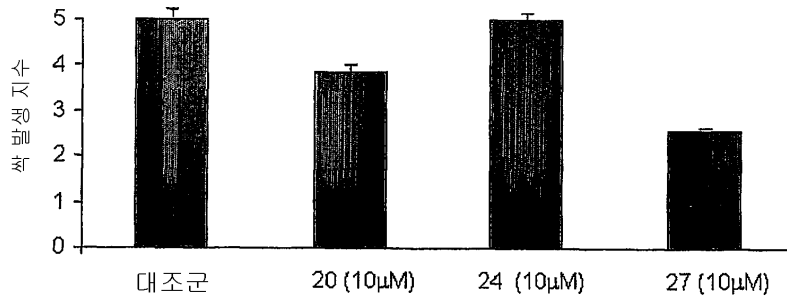
도면

도면1



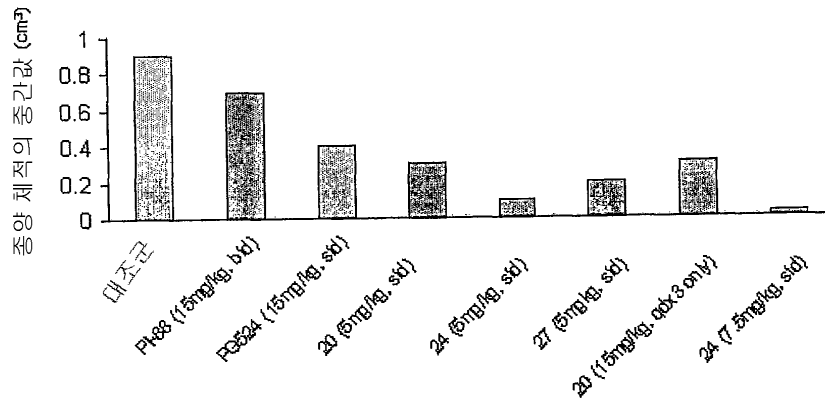
랫 대동맥 혈관신생 분석법에서 혈관신생 싹 형성 정도의 예

도면2



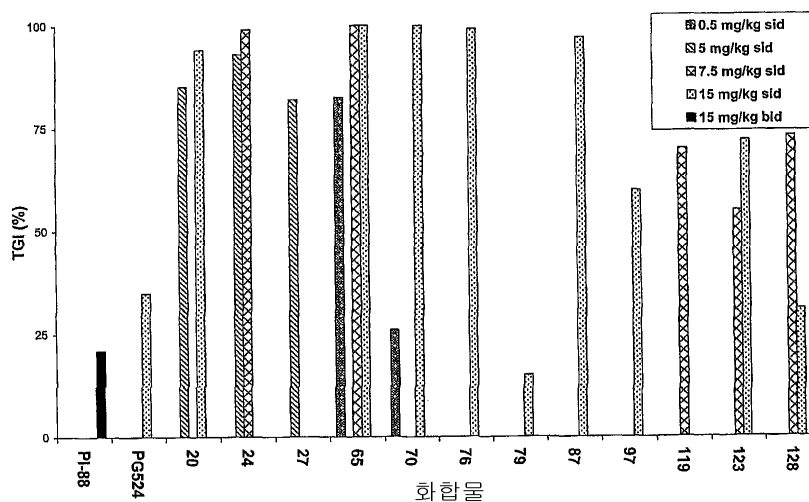
대동맥 배양물에서의 혈관신생 정도

도면3



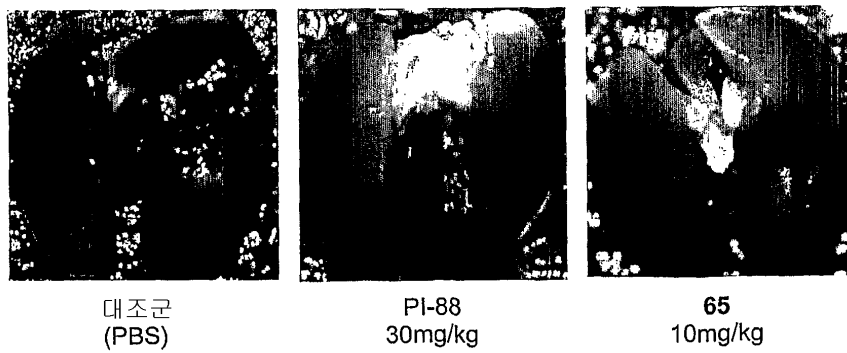
비처리된 대조군, PI-88, 동족체 PG524 및 선택된 시험 화합물의 종양 체적의 중간값

도면4



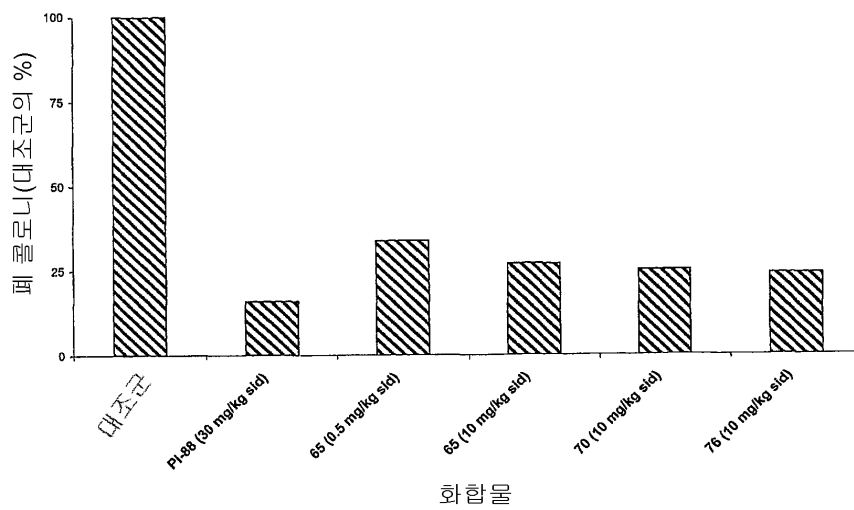
PI-88, 동족체 PG524 및 선택된 시험 화합물로 처리된 종양을 갖는 마우스에서 나온 종양 성장 억제율(%TGI)

도면5



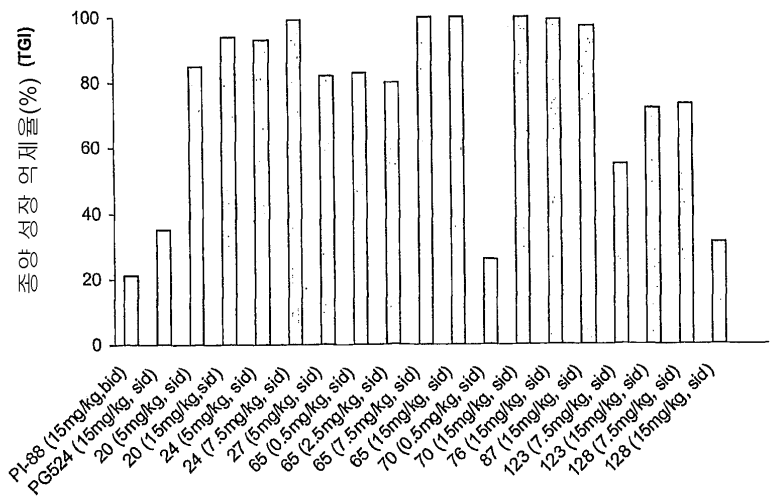
마우스에서 B16F1 흑색종의 폐 콜로니(어두운 점)의 형성을 차단하는 시험 화합물의 예

도면6



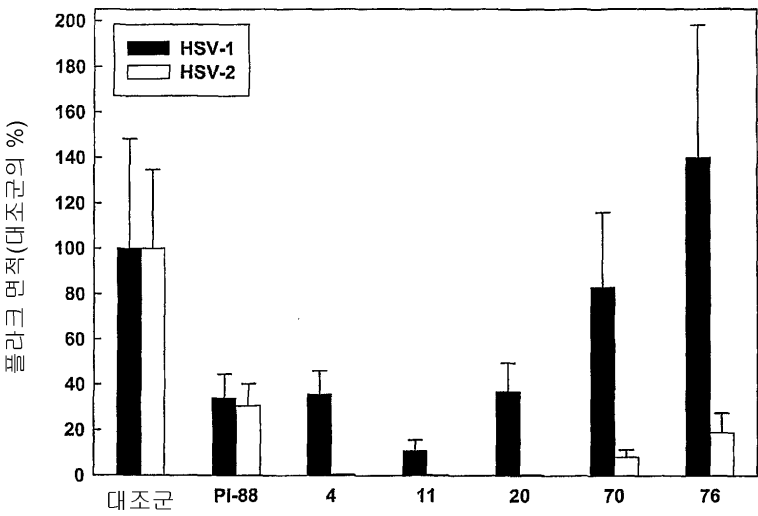
PI-88 및 선택된 화합물로 처리된 마우스에서의 전이 결절

도면7



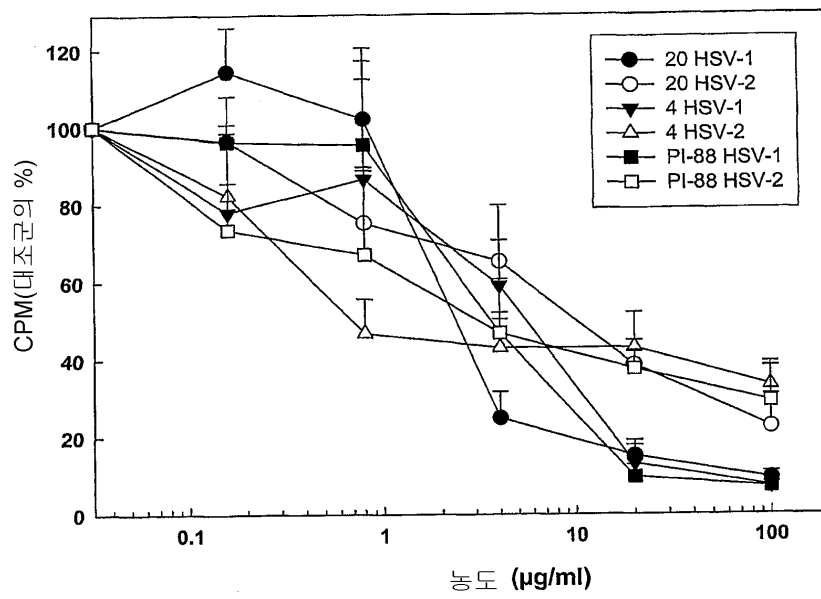
직장결장 암 HT29 이종이식 모델에서 얻은 중양 성장 억제율(TGI%) 자료

도면8



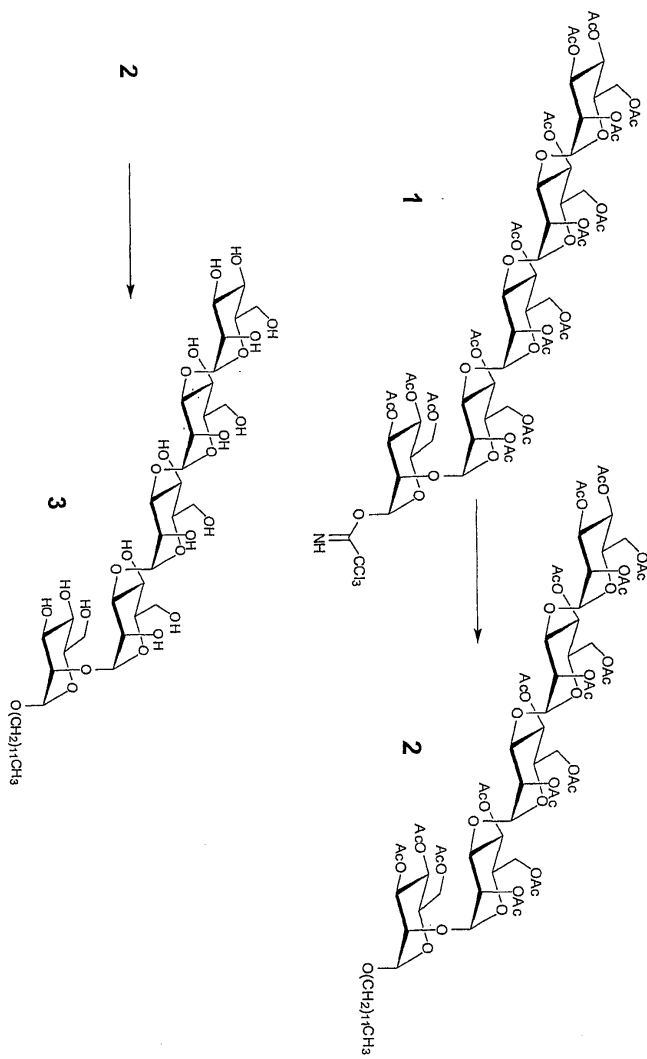
HSV의 세포에서 세포로의 전이에 미치는 시험 화합물의 효과

도면9

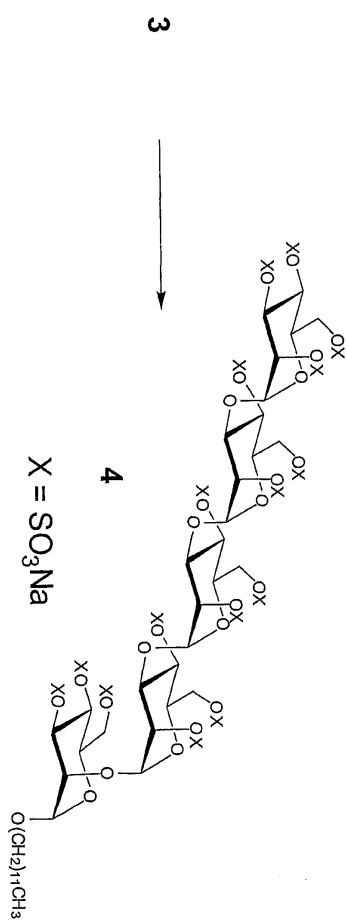


HSV 비리온이 세포에 결합하는데 미치는 시험 화합물의 효과

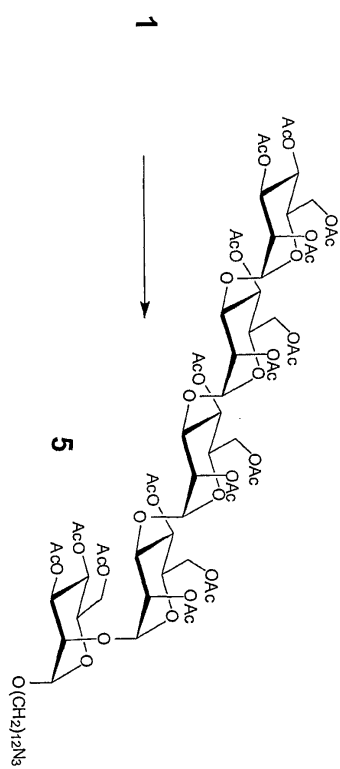
도면10



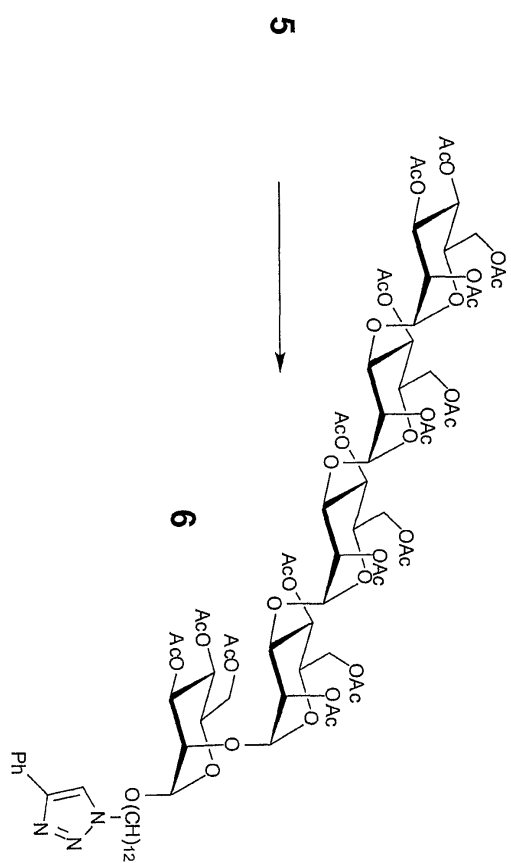
도면11a



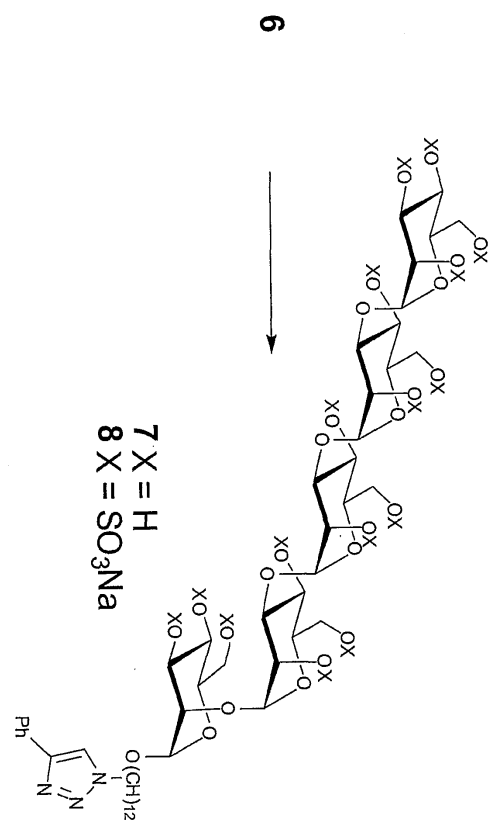
도면11b



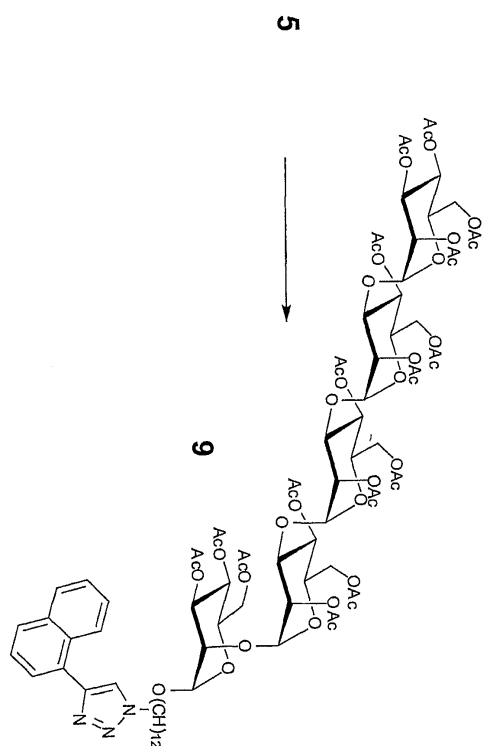
도면11c



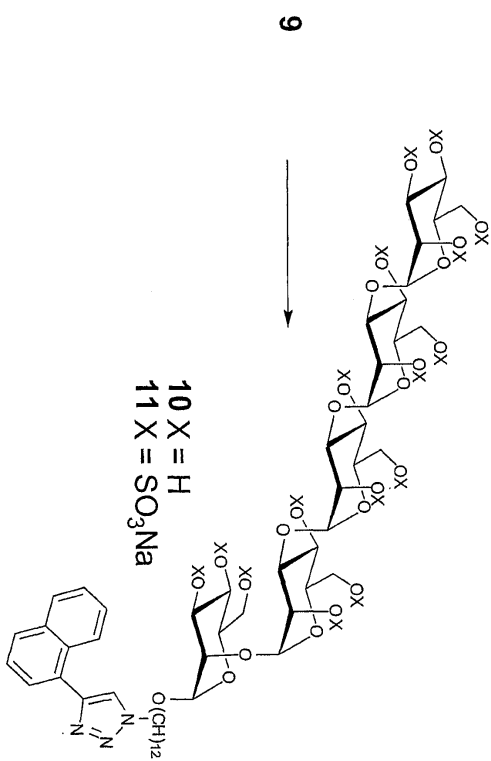
도면11d



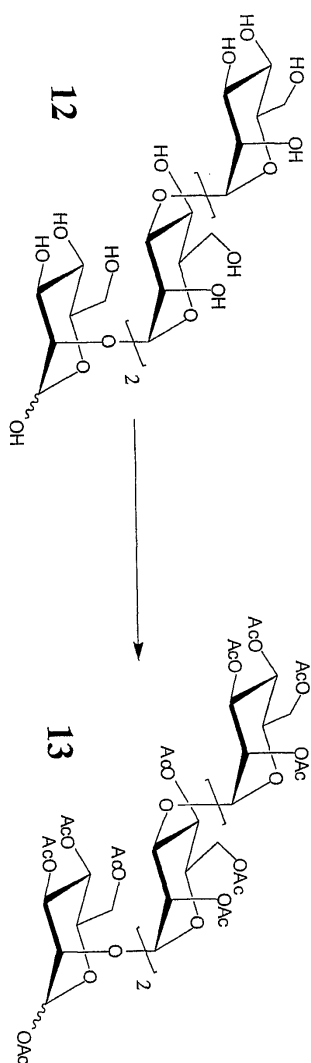
도면12a



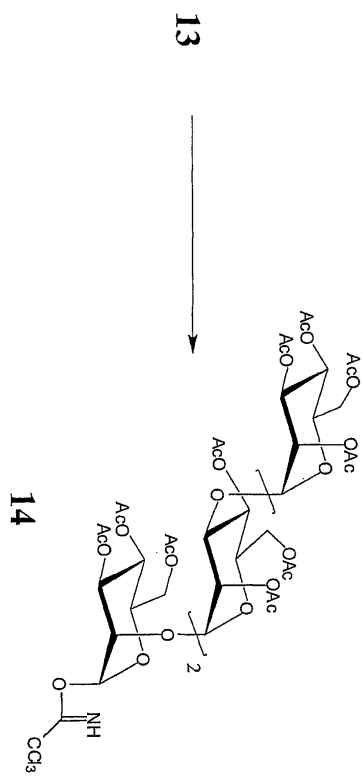
도면12b



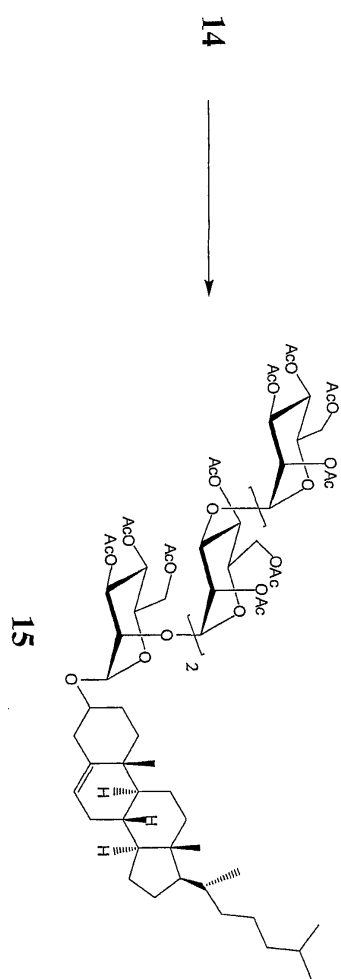
도면12c



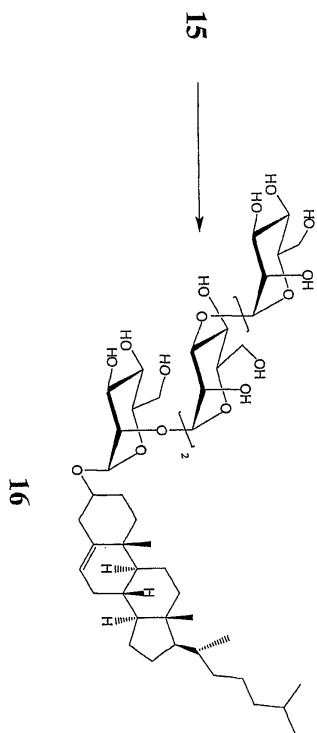
도면12d



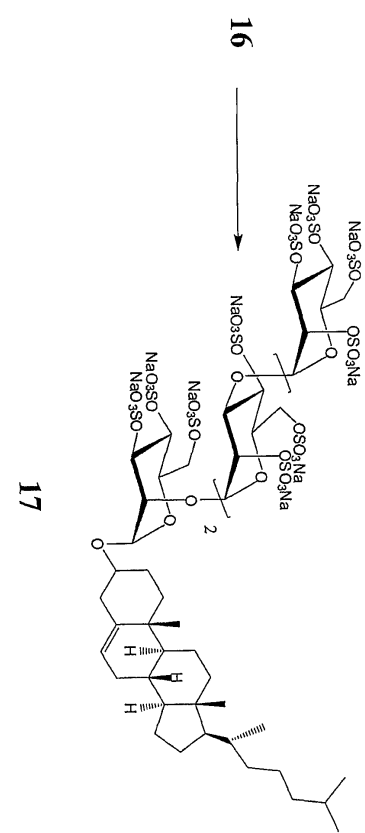
도면13a



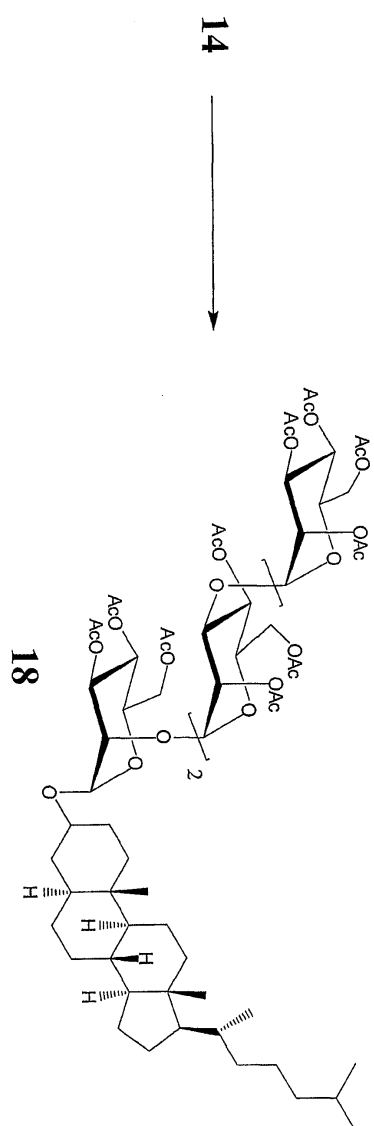
도면13b



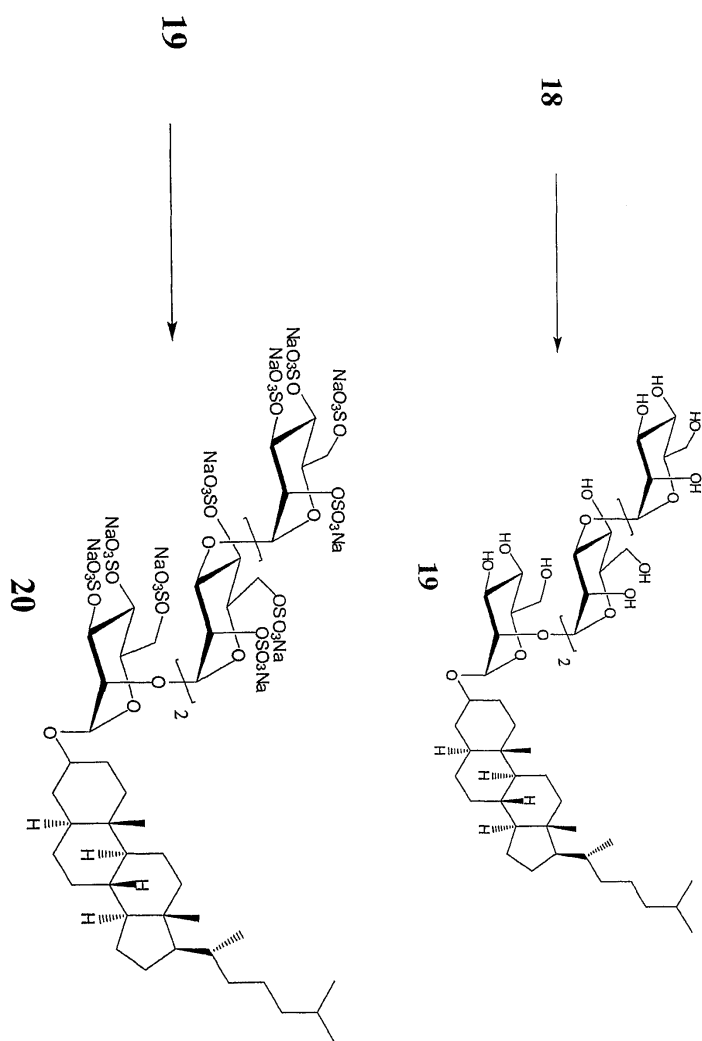
도면13c



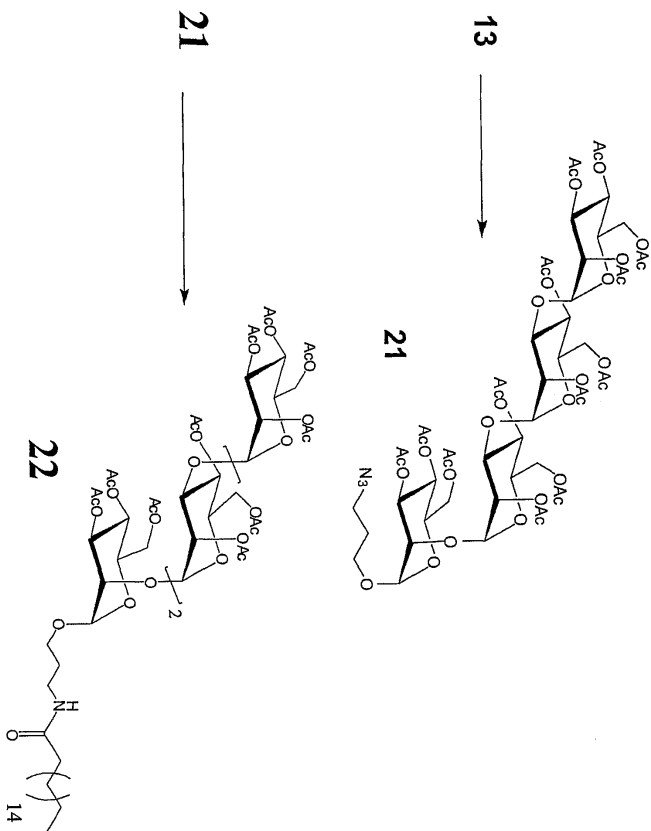
도면14a



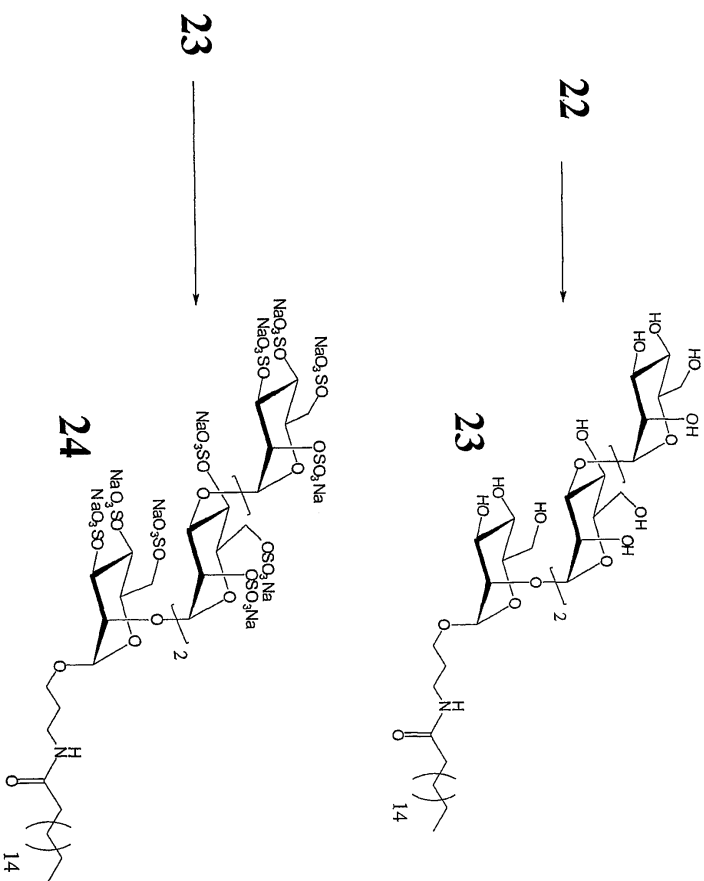
도면14b



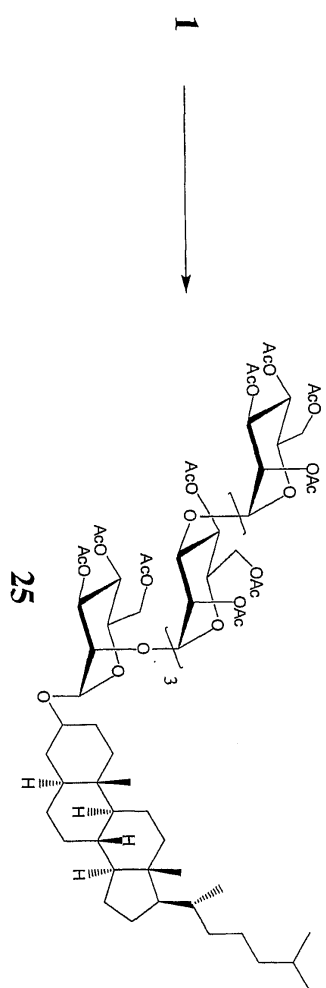
도면15a



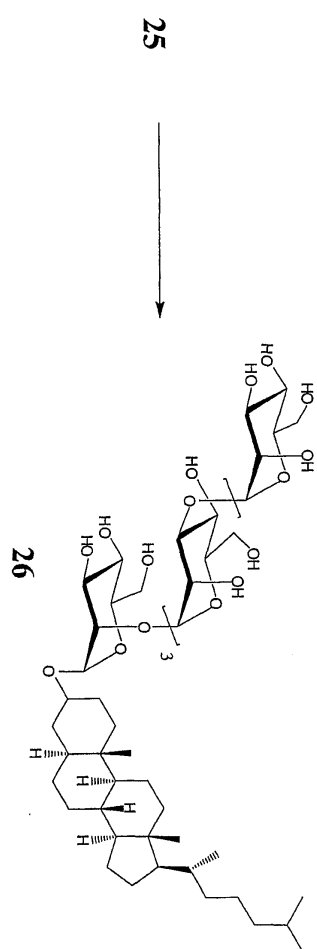
도면15b



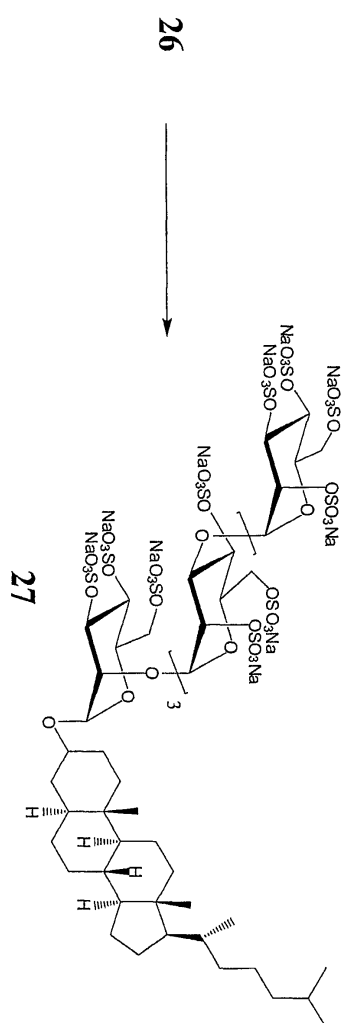
도면16a

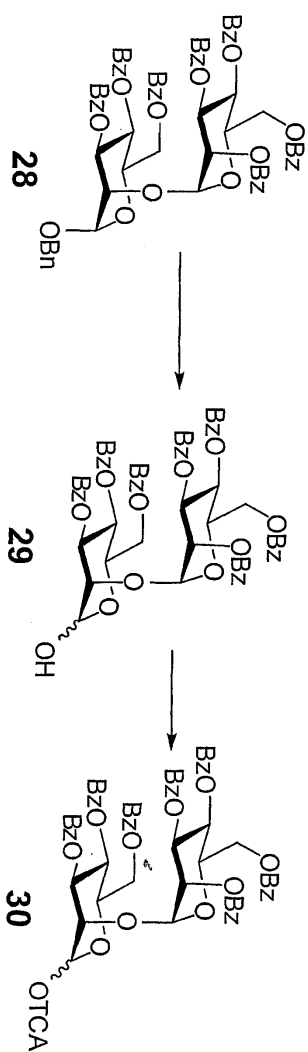


도면16b

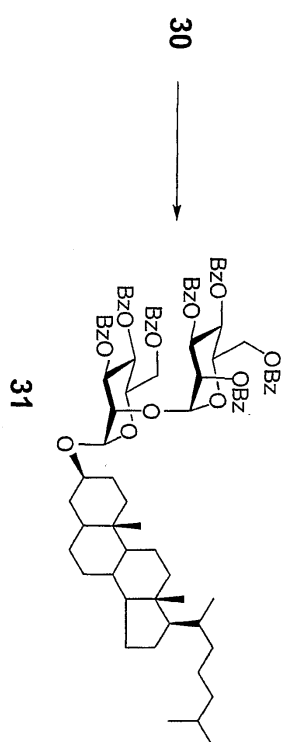


도면16c

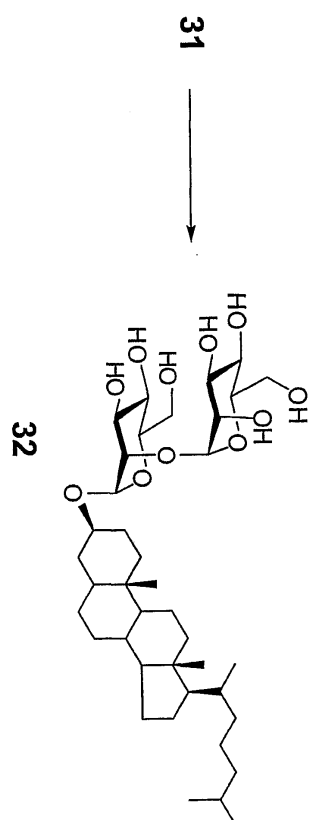




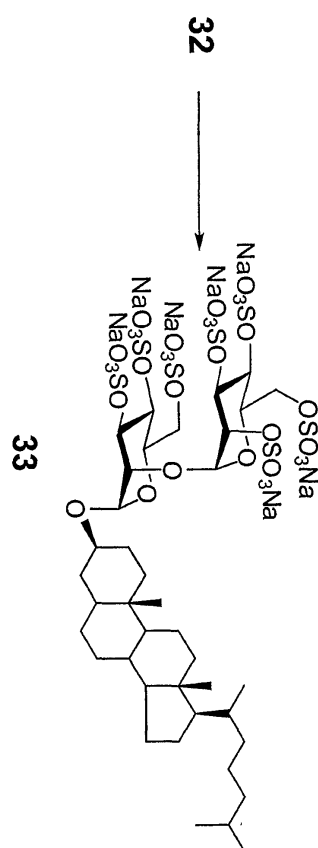
도면17a



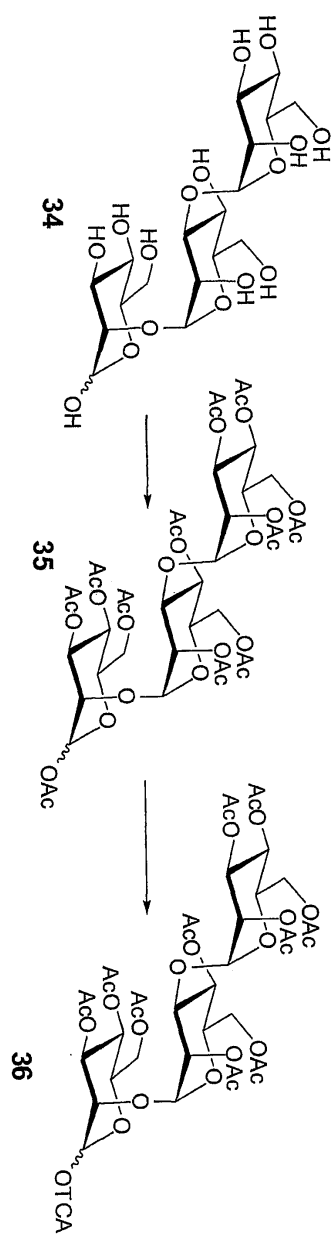
도면17b



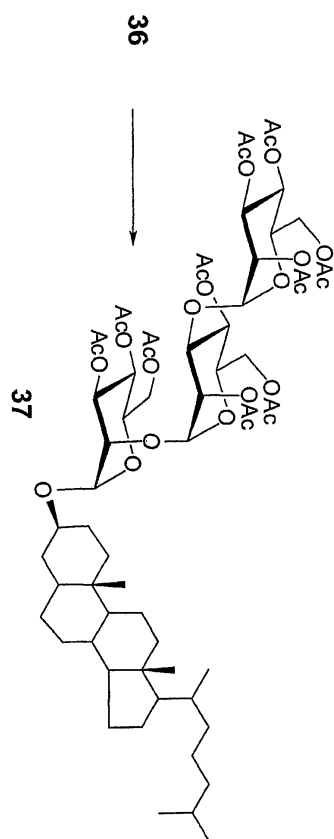
도면17c



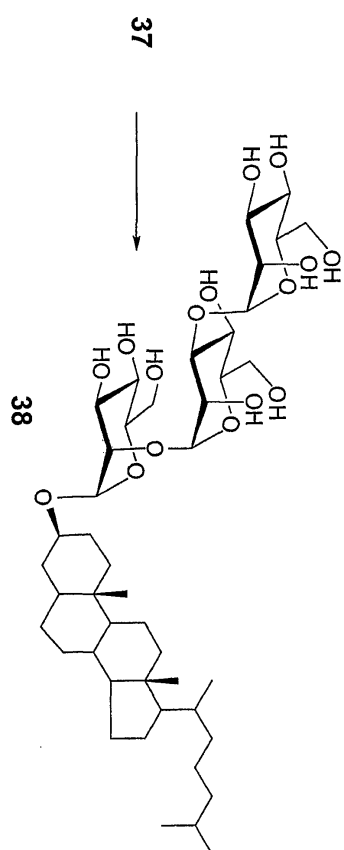
도면18a



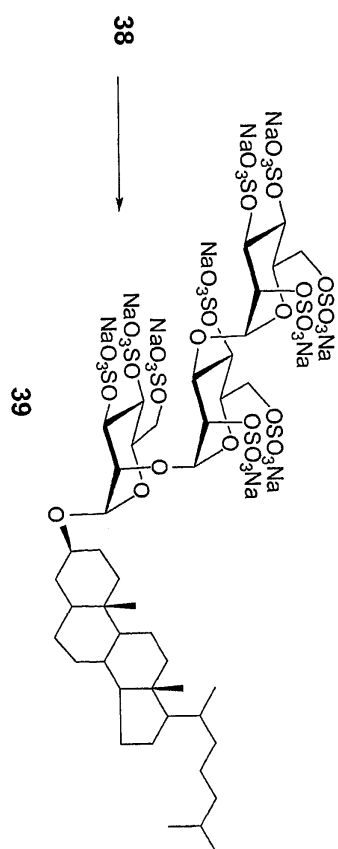
도면18b



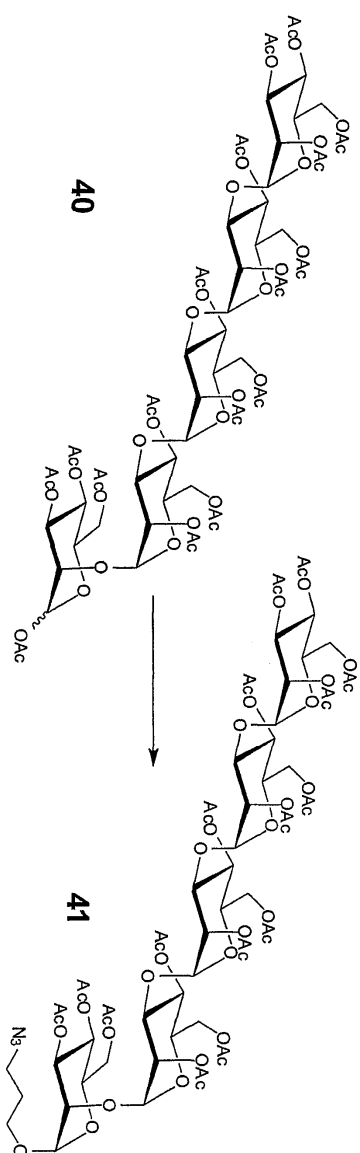
도면18c



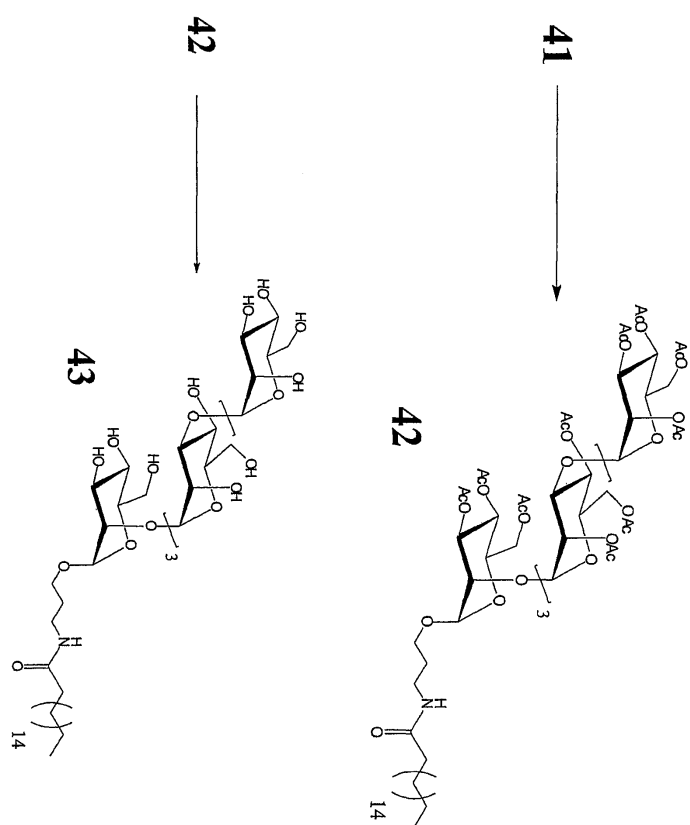
도면18d



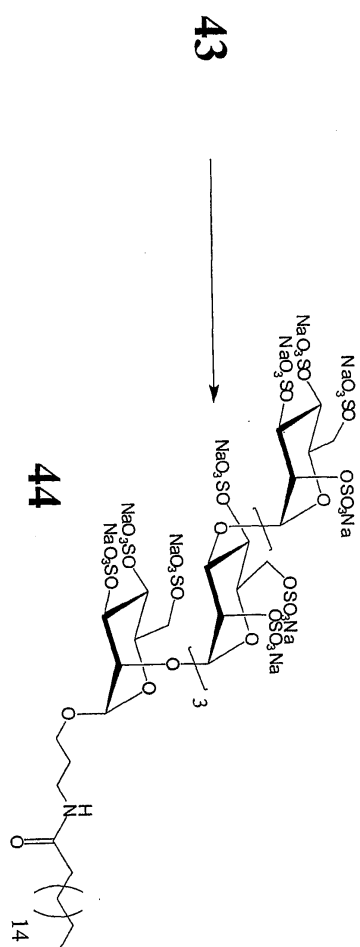
도면19a



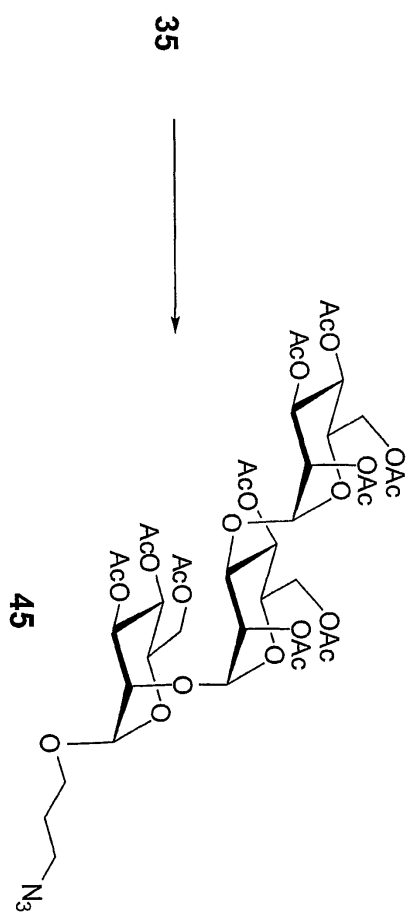
도면19b



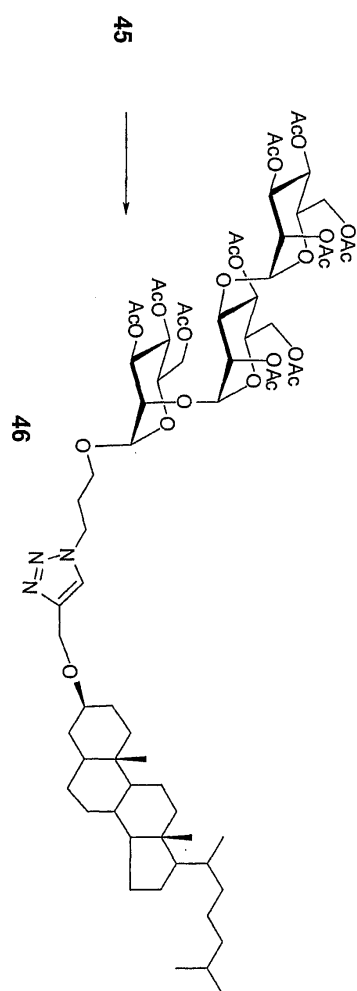
도면19c



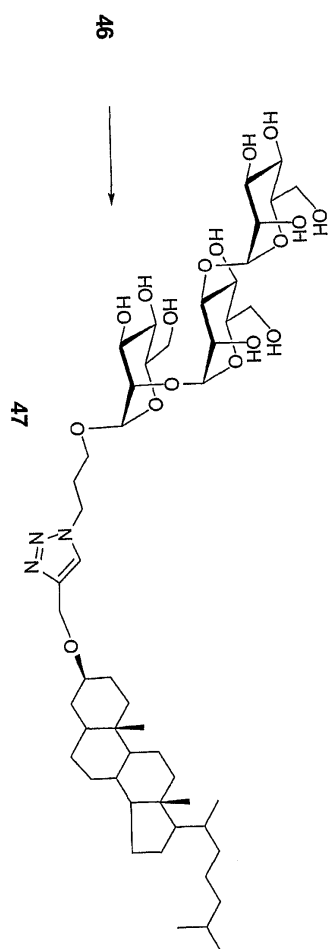
도면20a



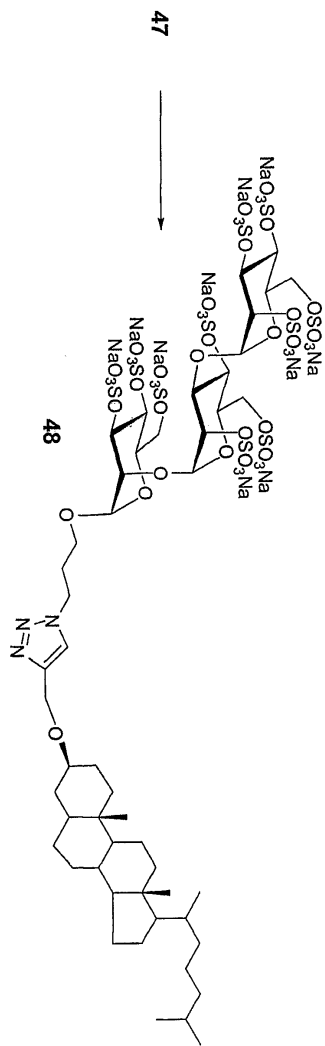
도면20b



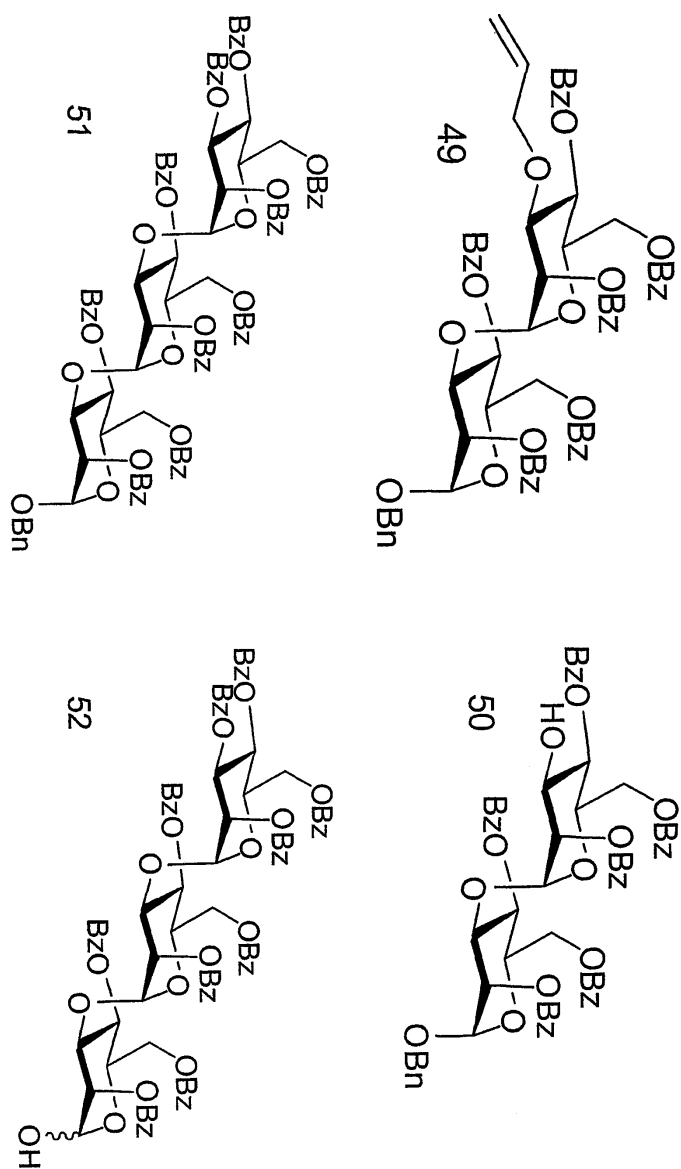
도면20c



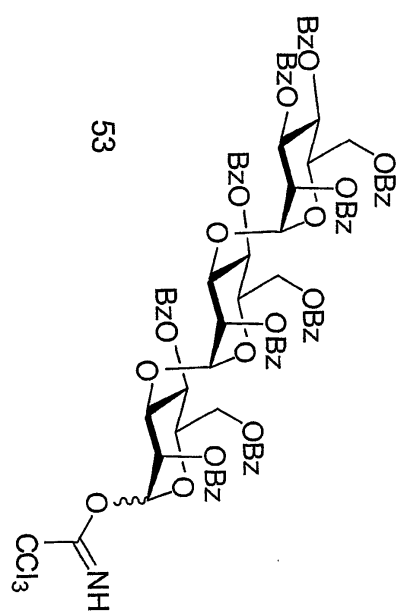
도면20d



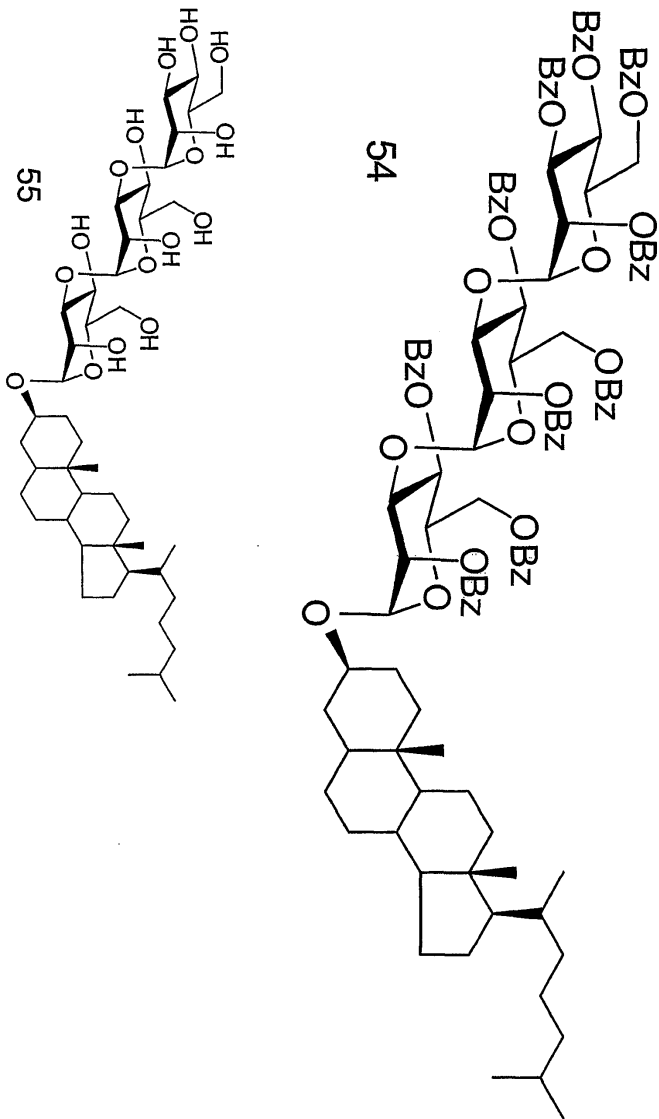
도면21a



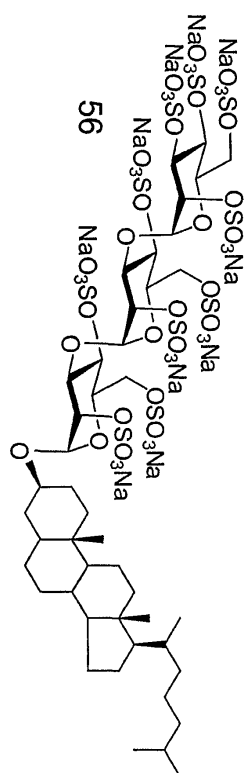
도면21b



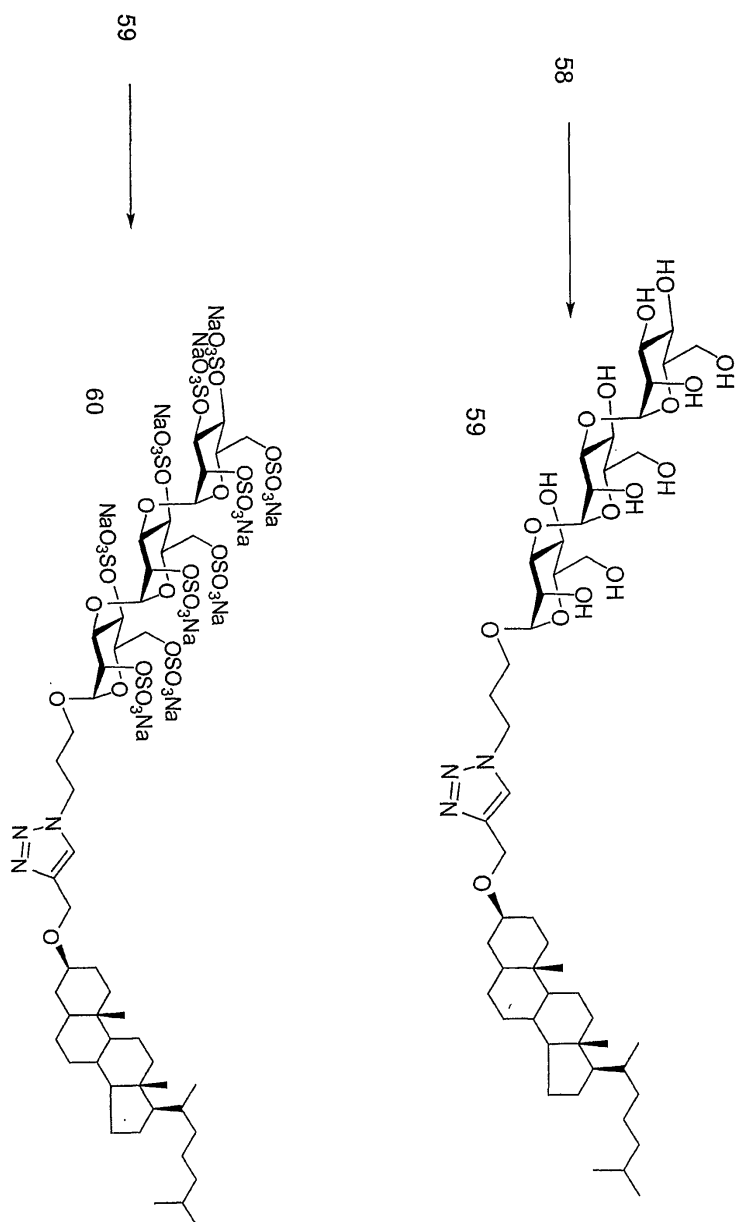
도면21c



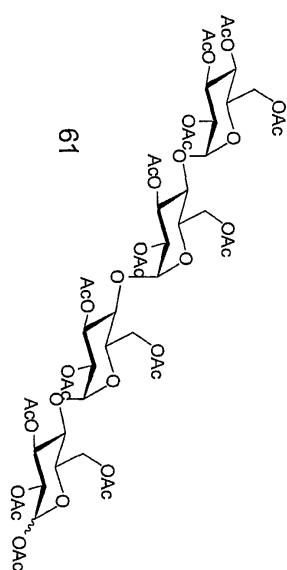
도면21d



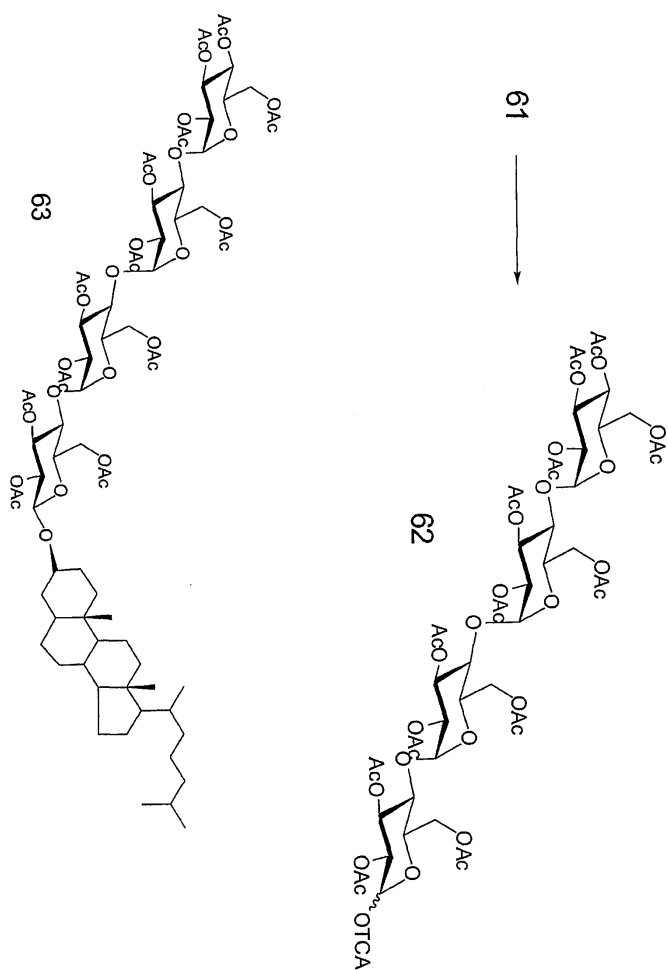
도면22b



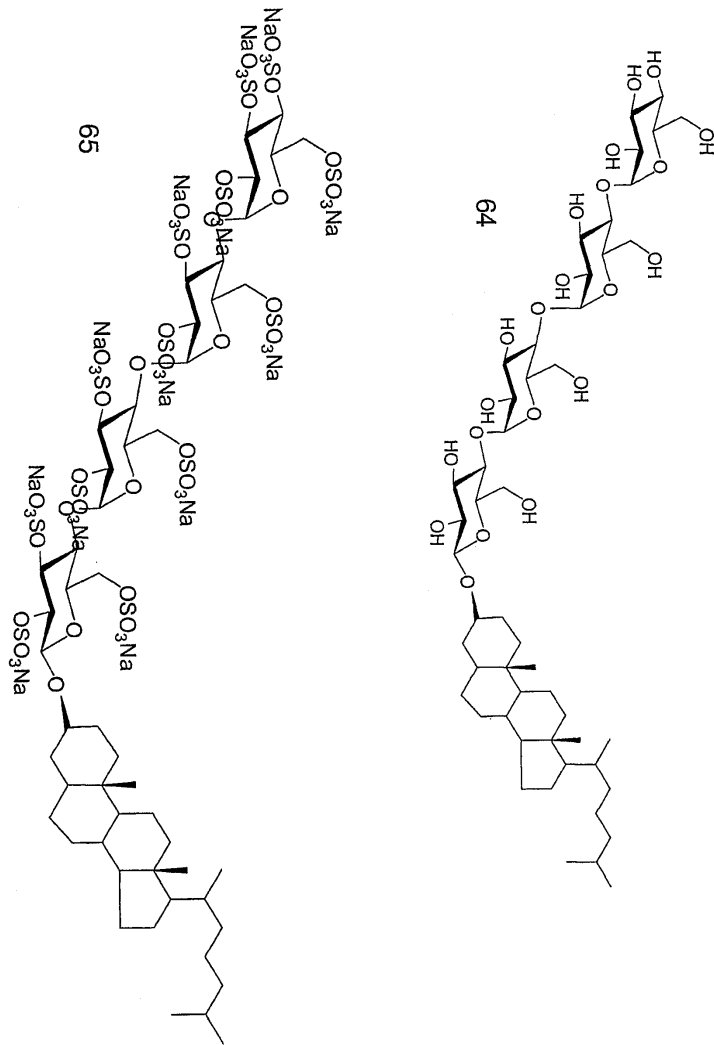
도면23a



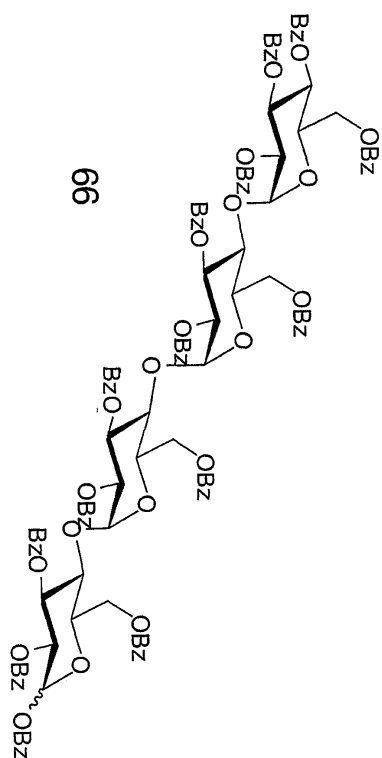
도면23b



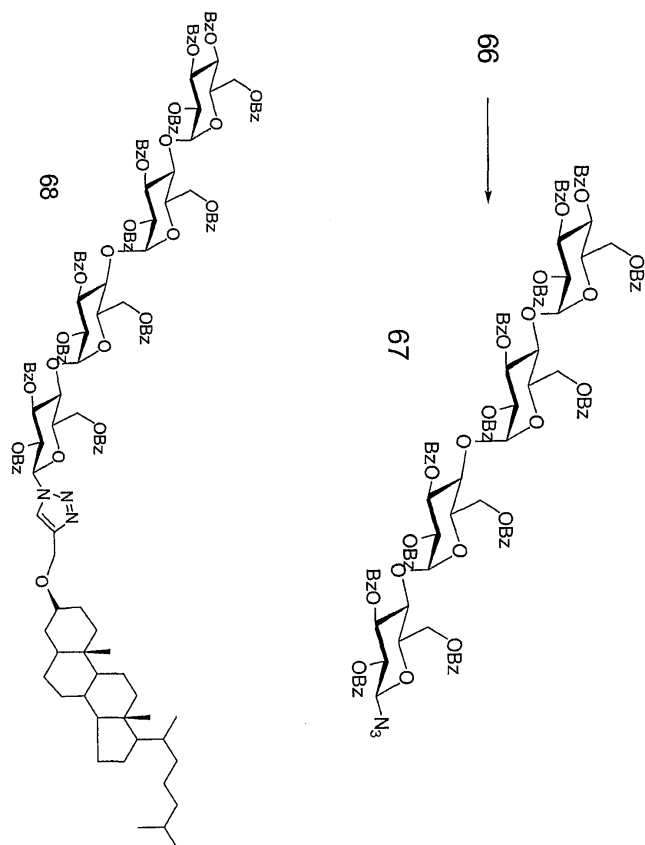
도면23c



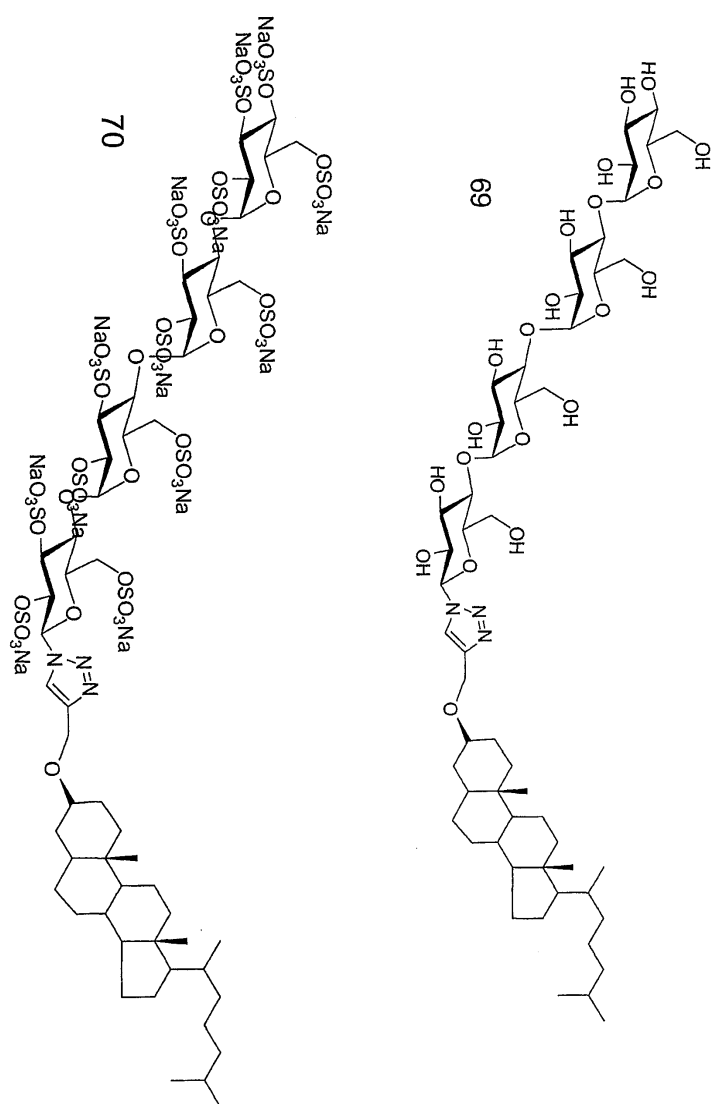
도면24a

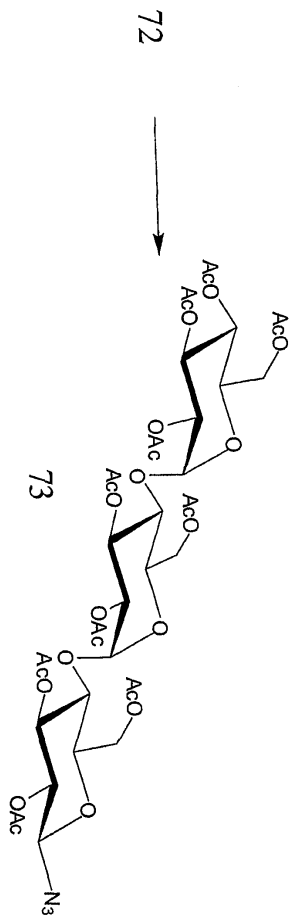
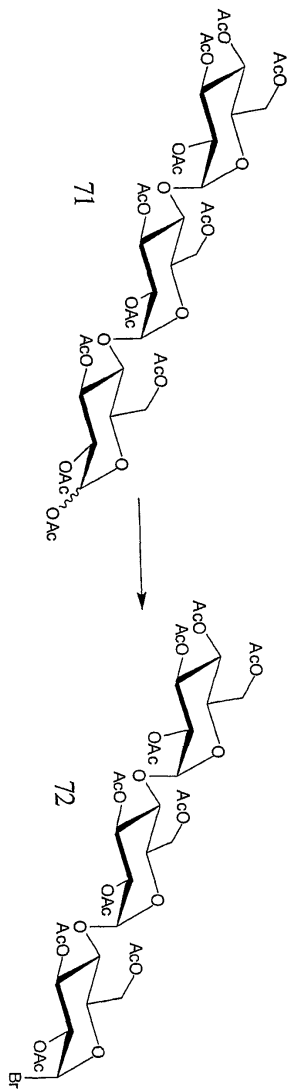


도면24b



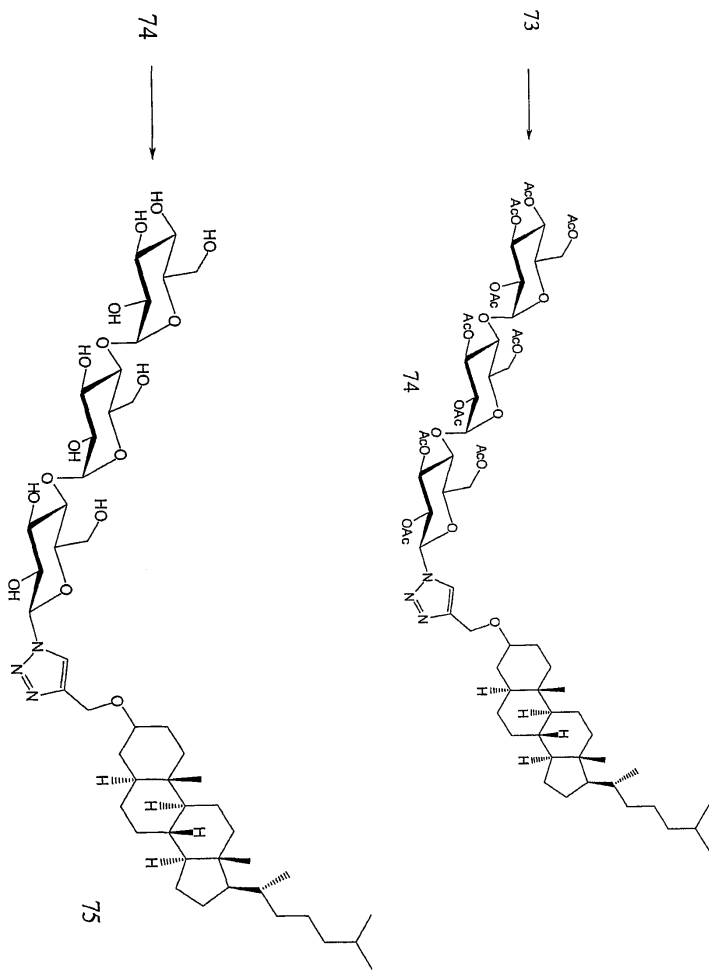
도면24c



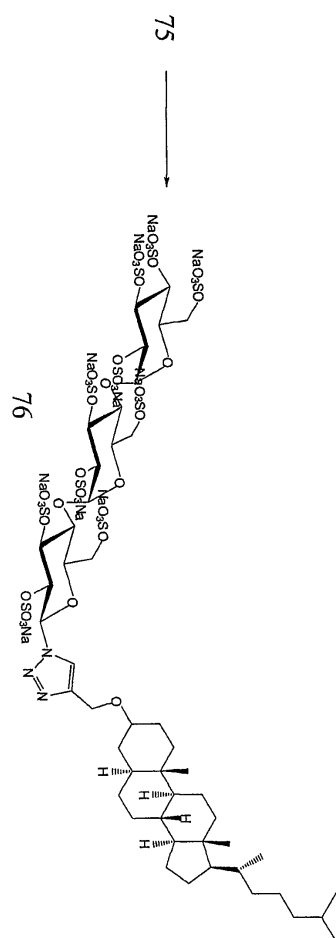


도면25a

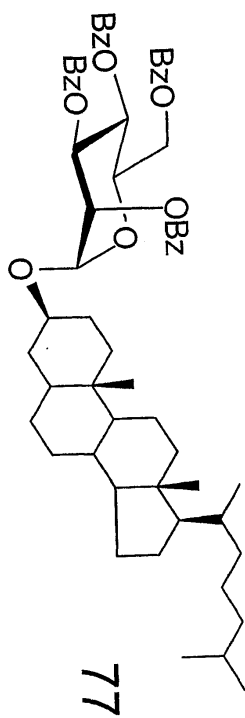
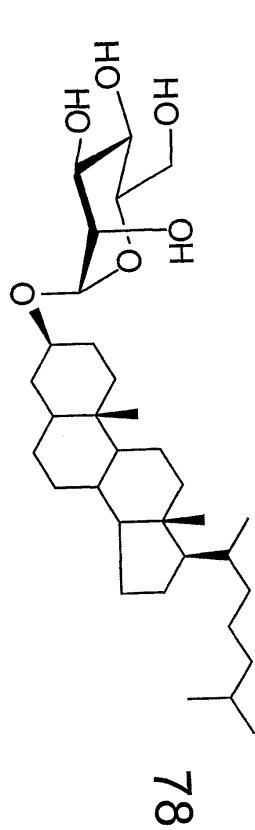
도면25b



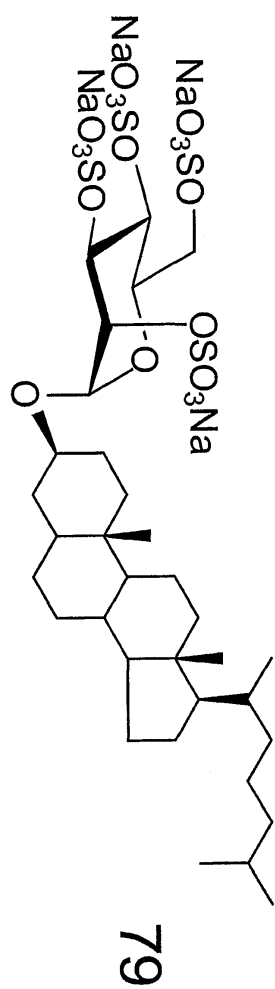
도면25c



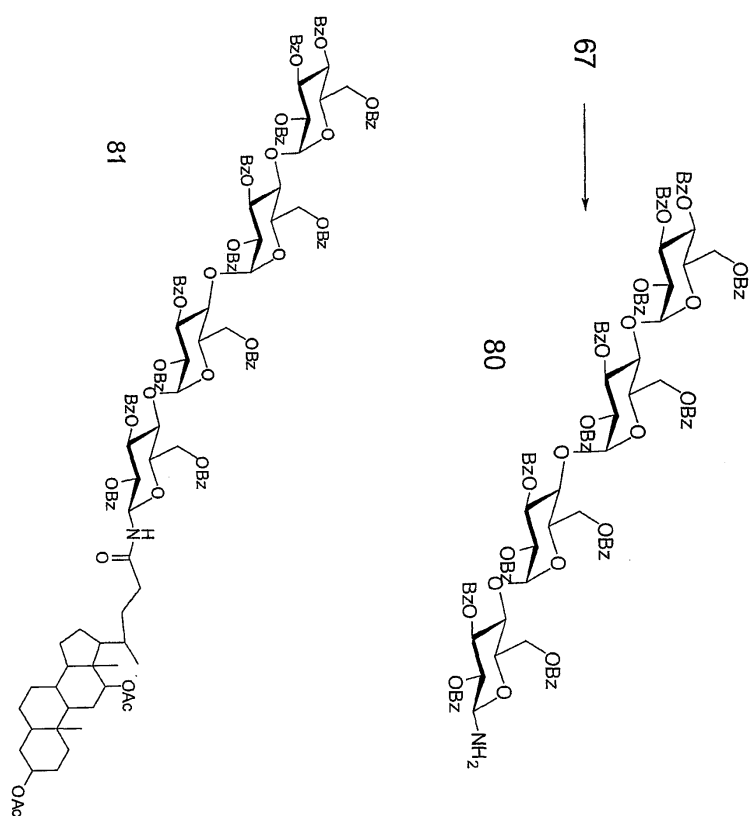
도면26a



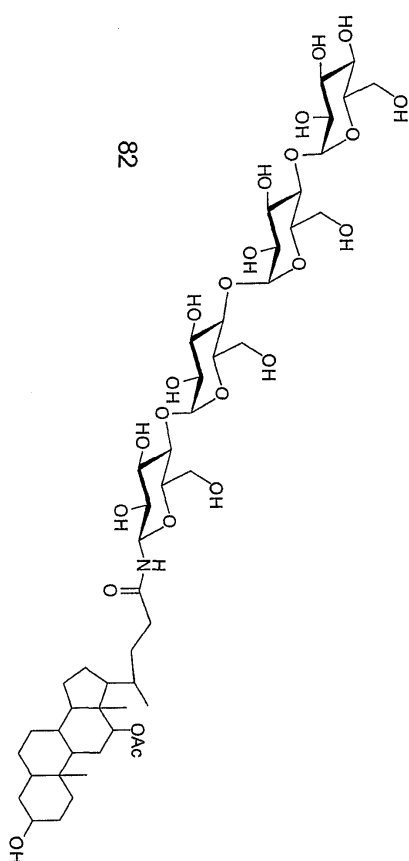
도면26b



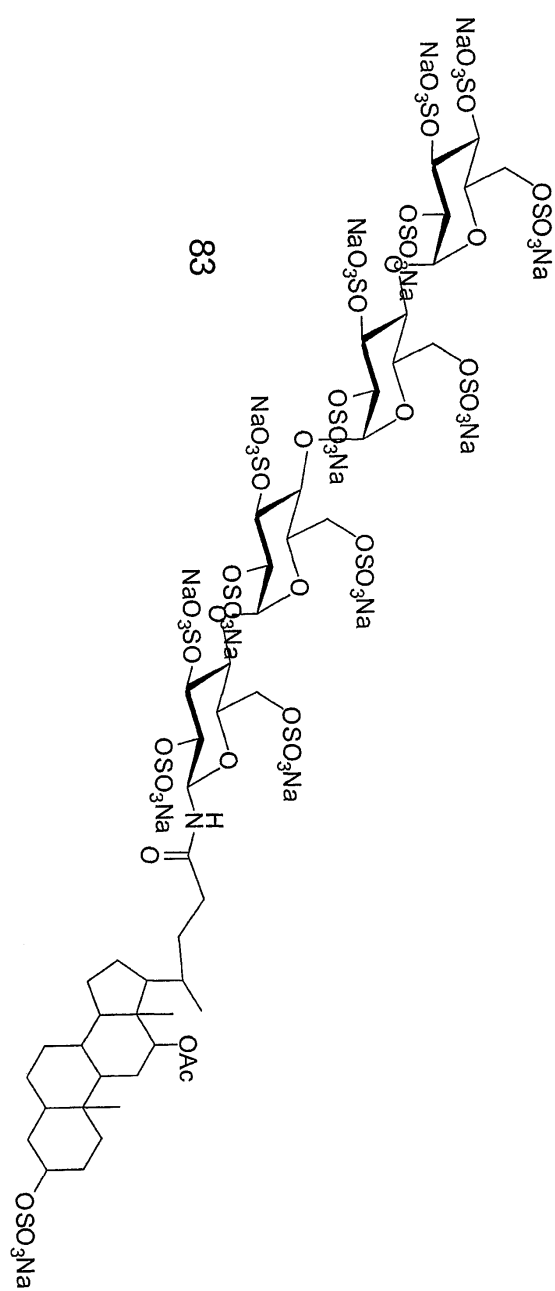
도면27a



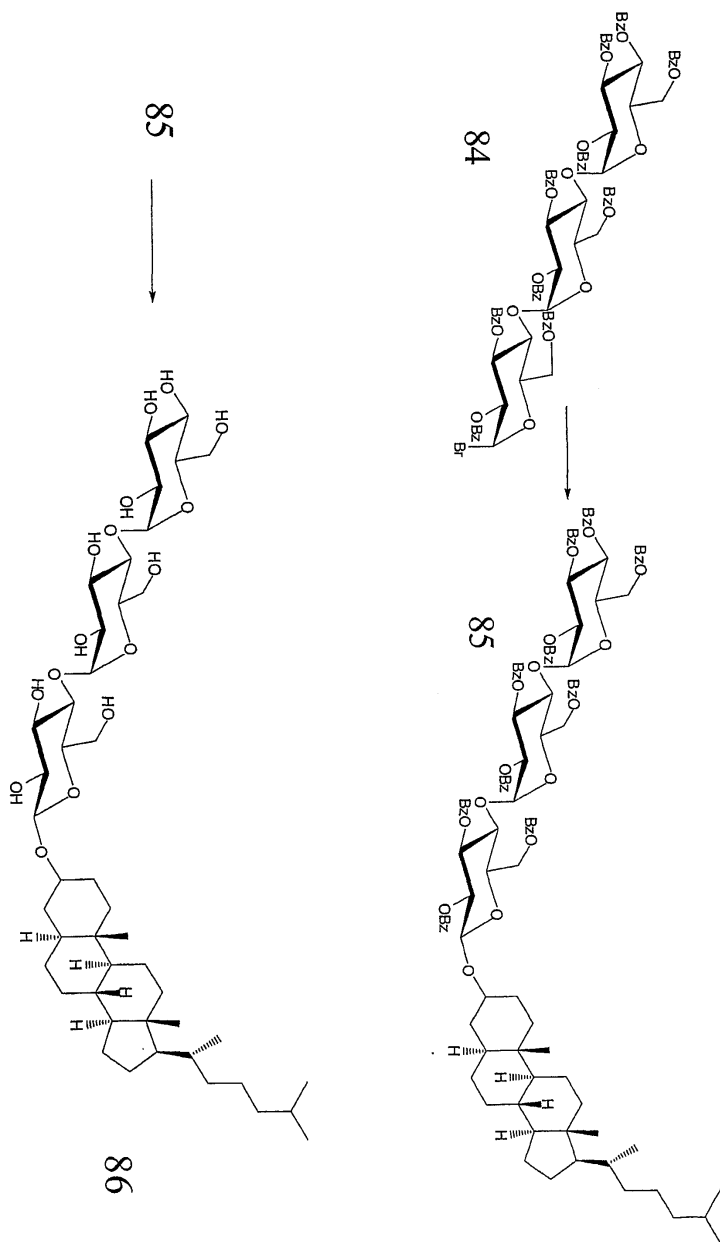
도면27b



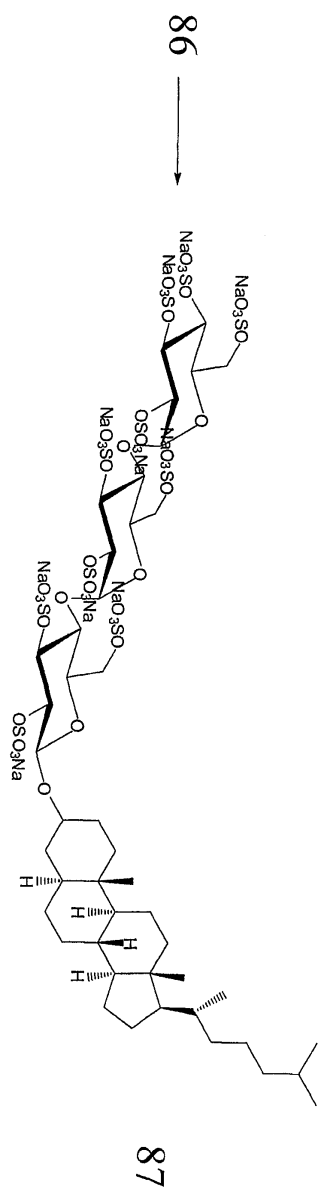
도면27c

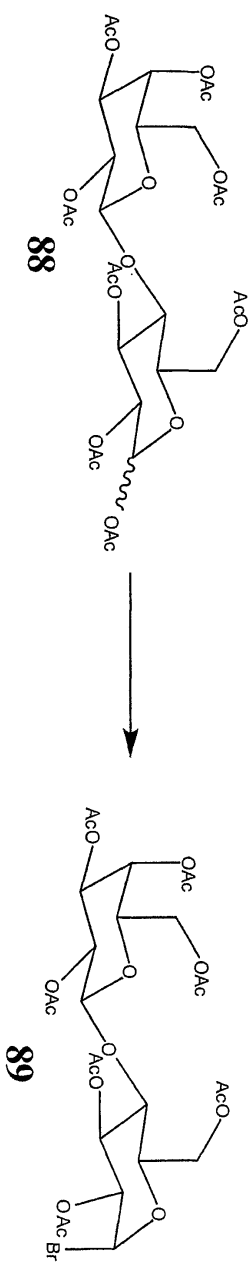


도면28a

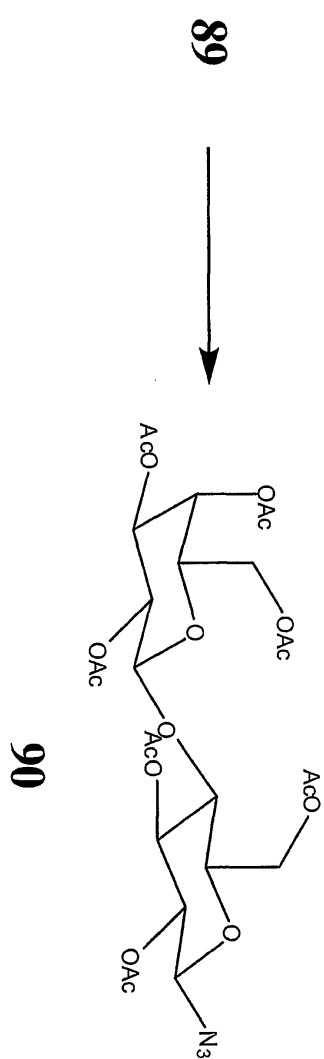


도면28b

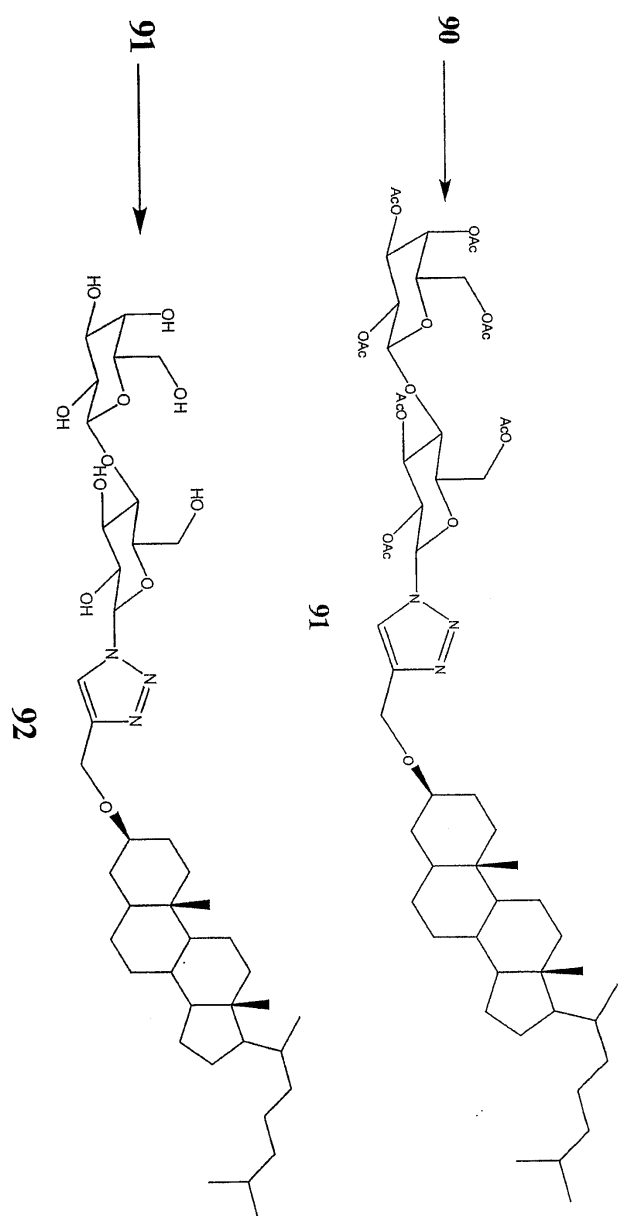




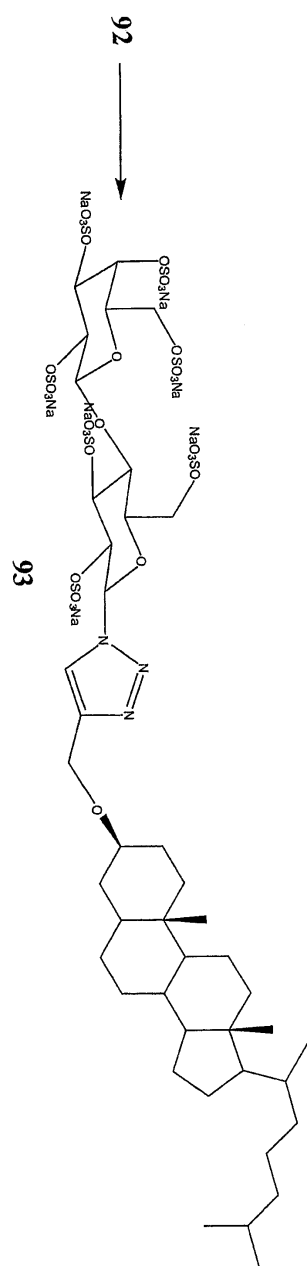
도면29a



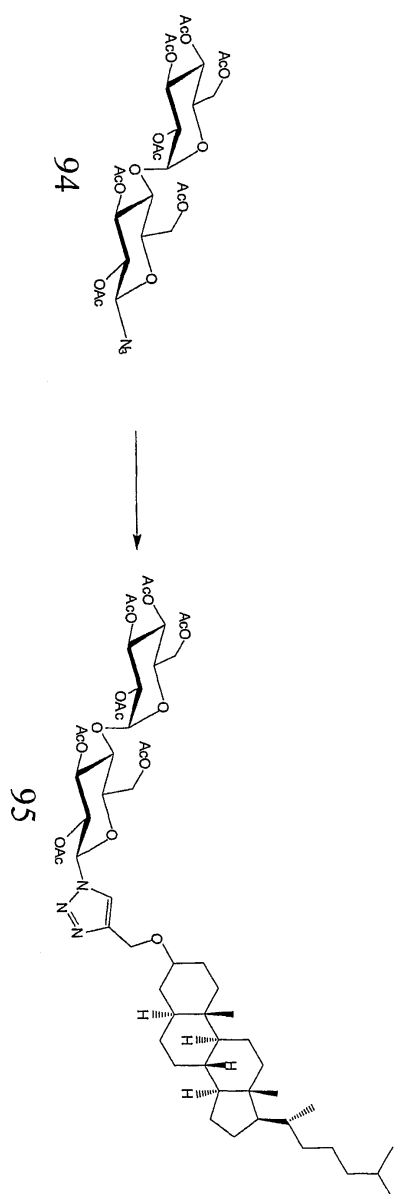
도면29b



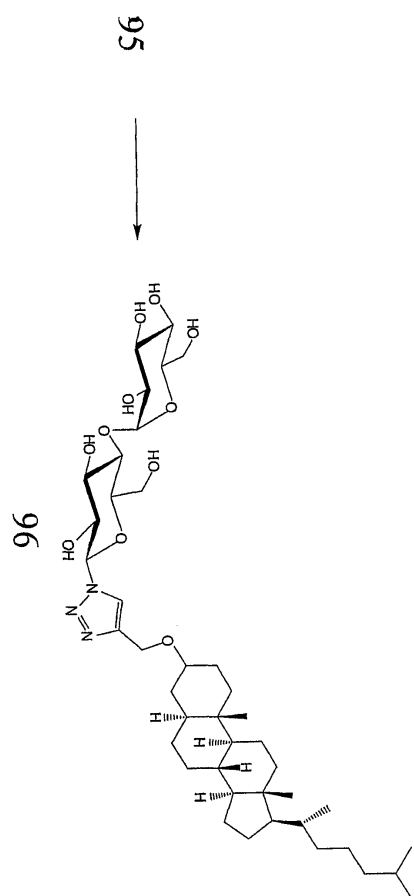
도면29c



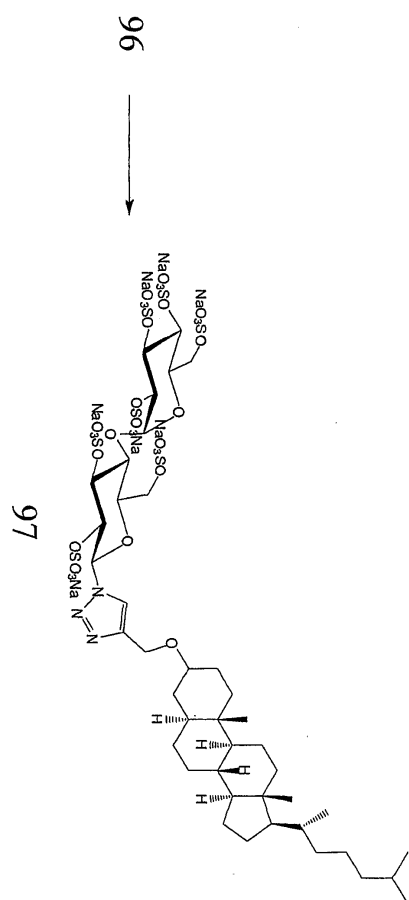
도면30a



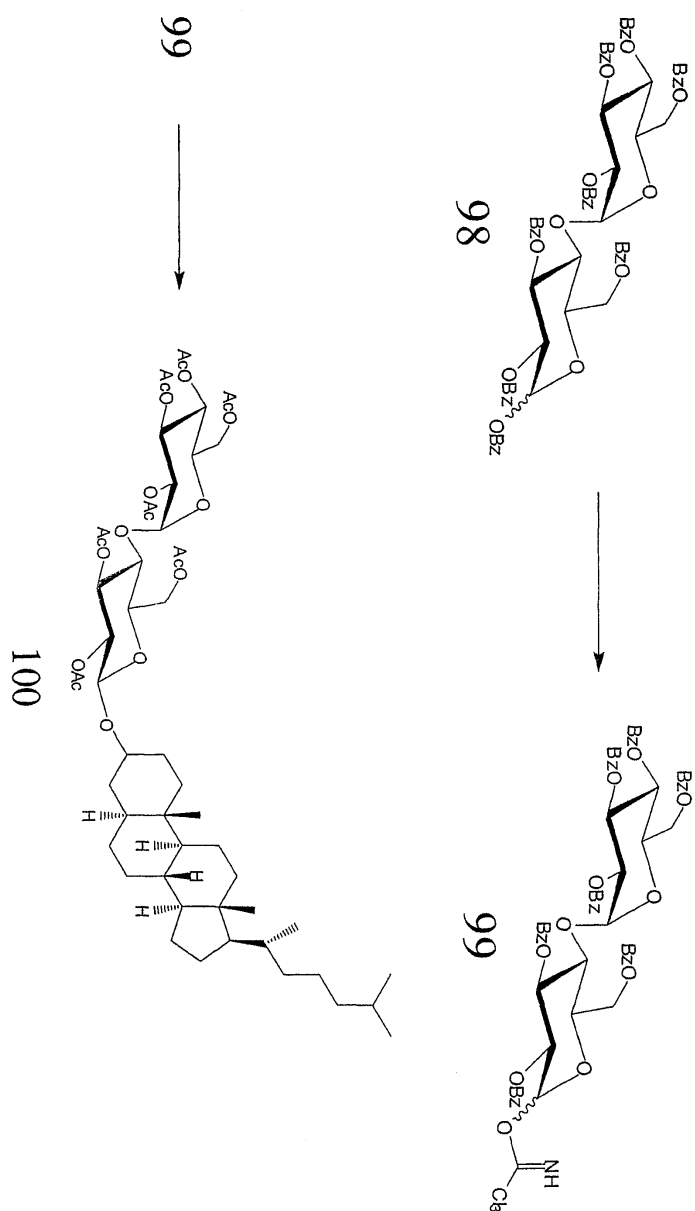
도면30b



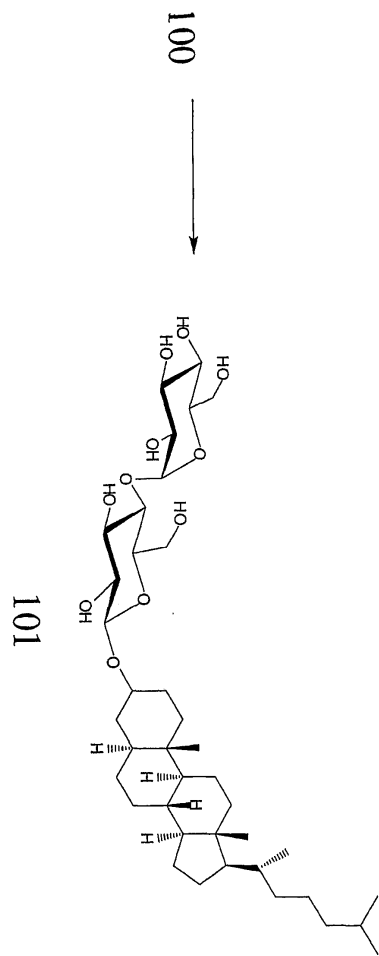
도면30c



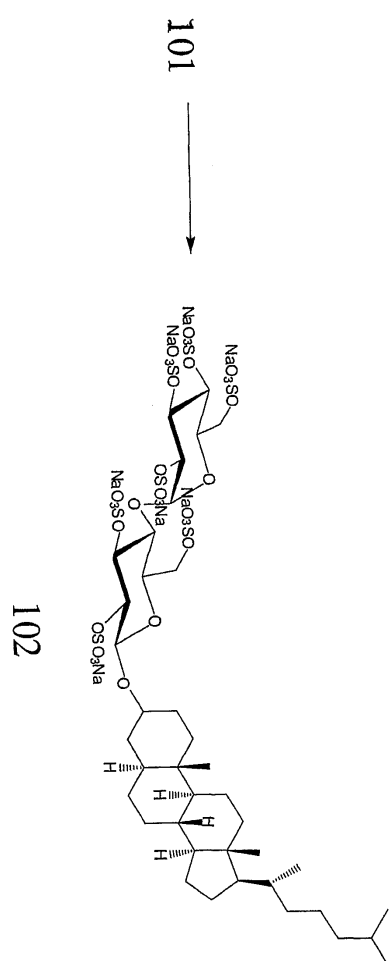
도면31a



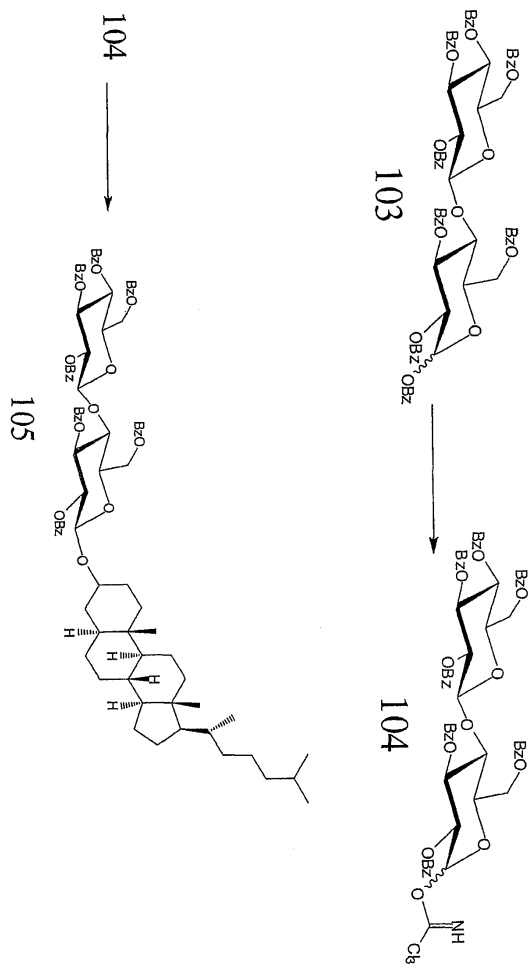
도면31b



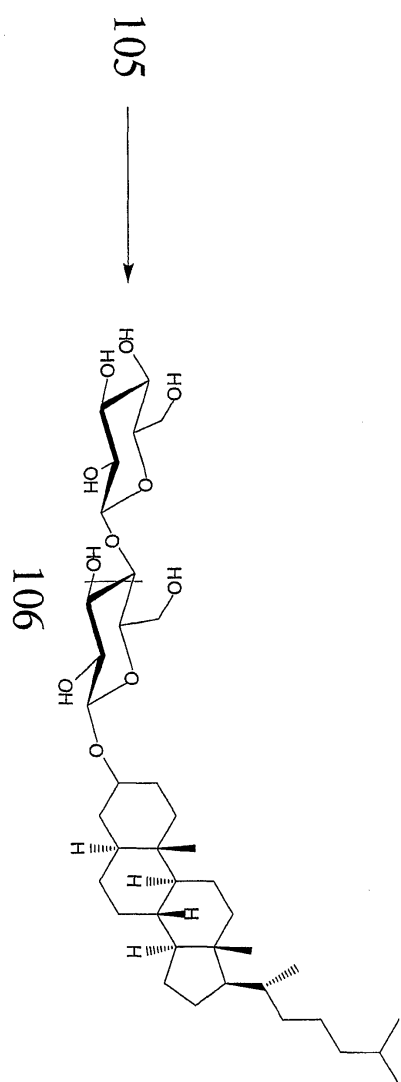
도면31c



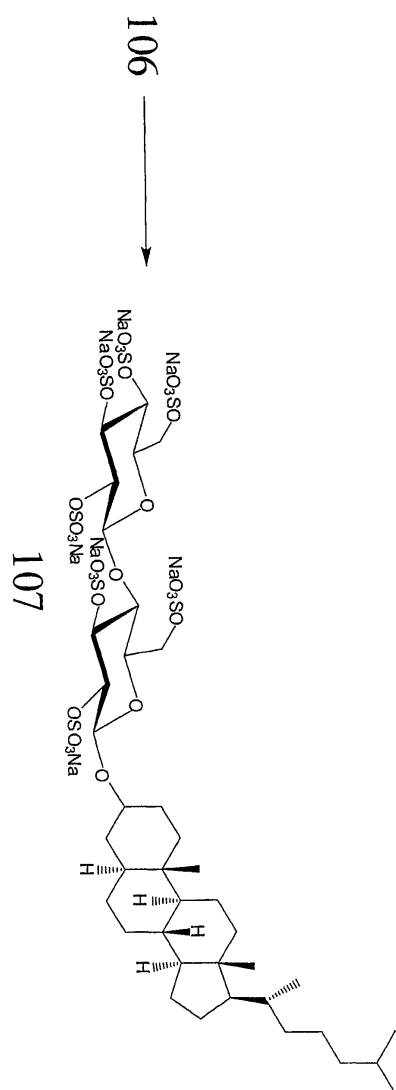
도면32a



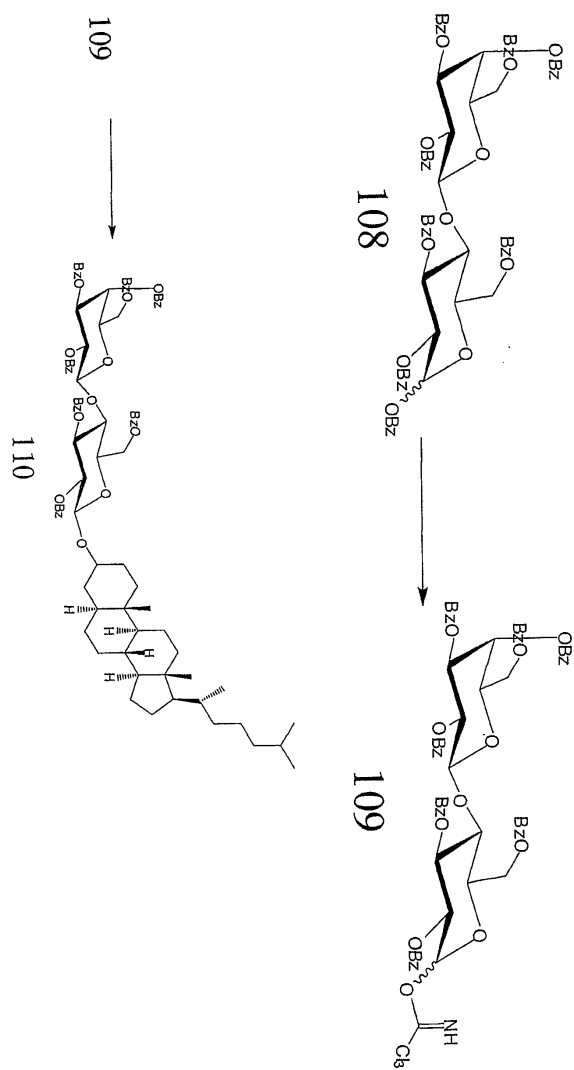
도면32b



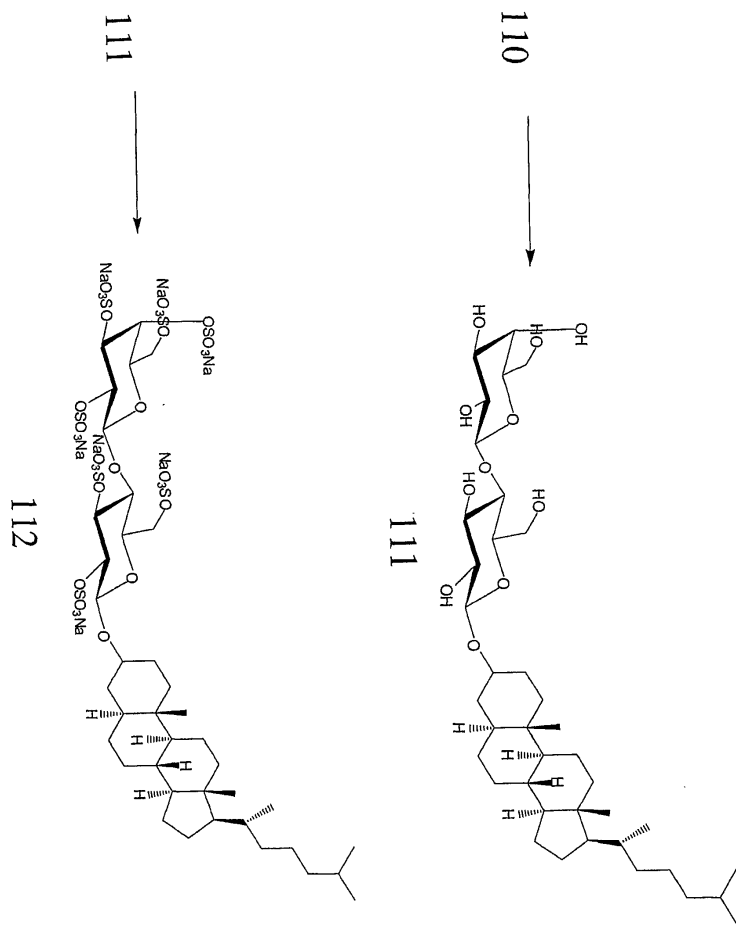
도면32c



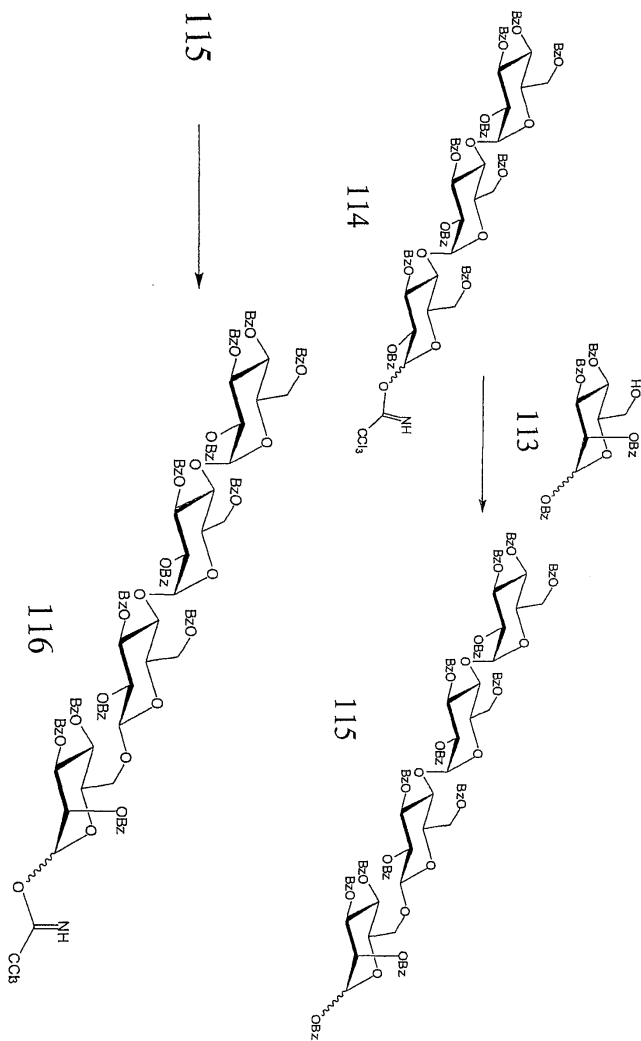
도면33a



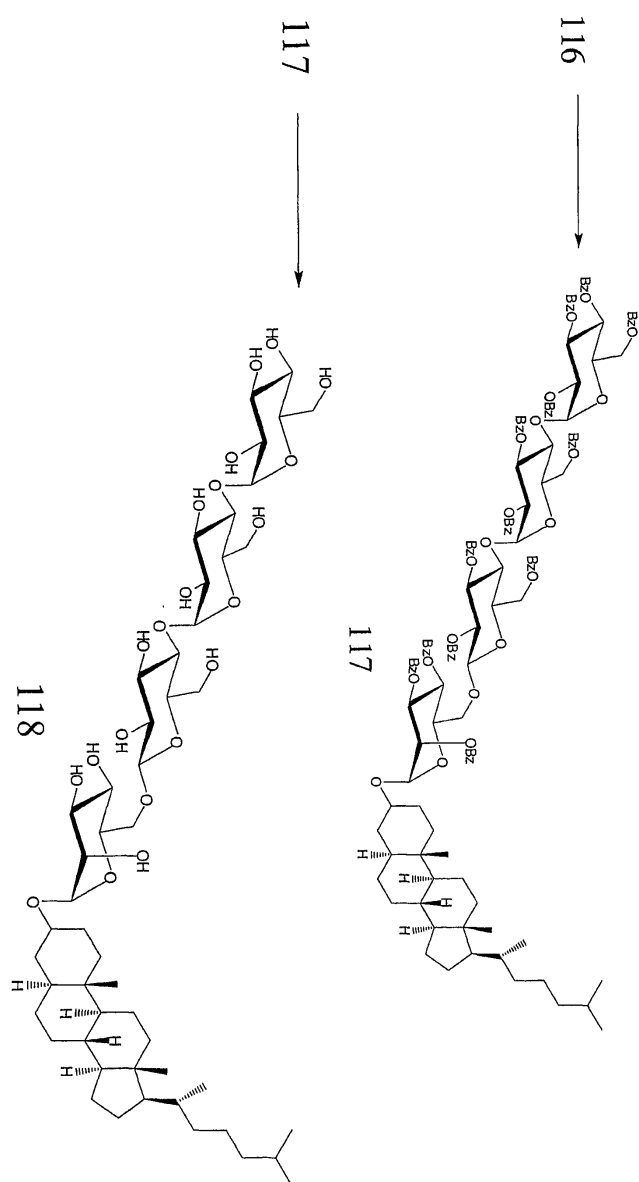
도면33b



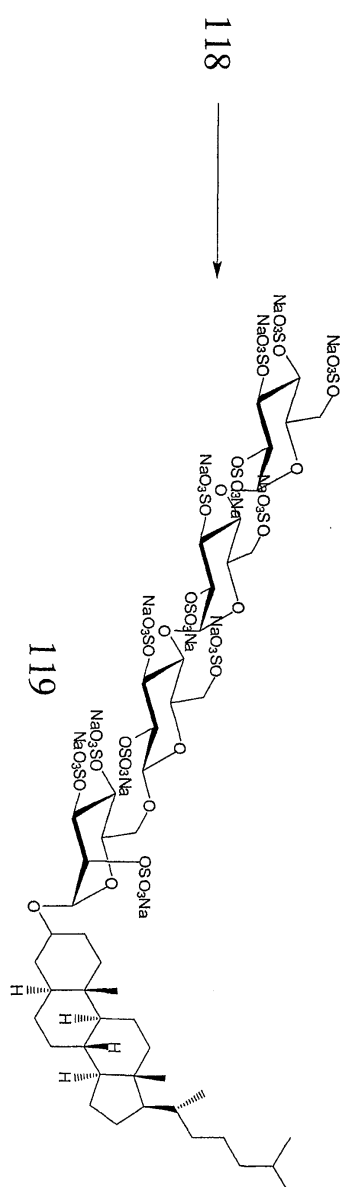
도면34a



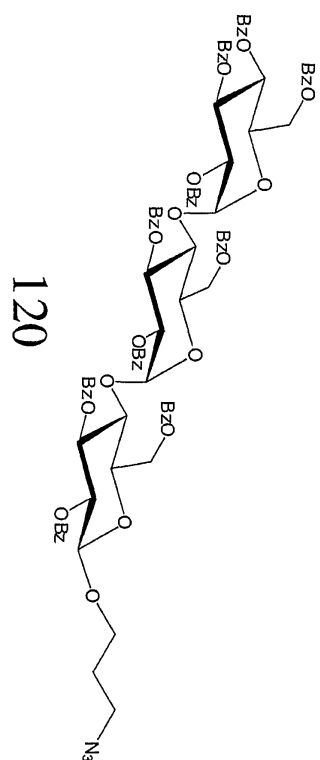
도면34b



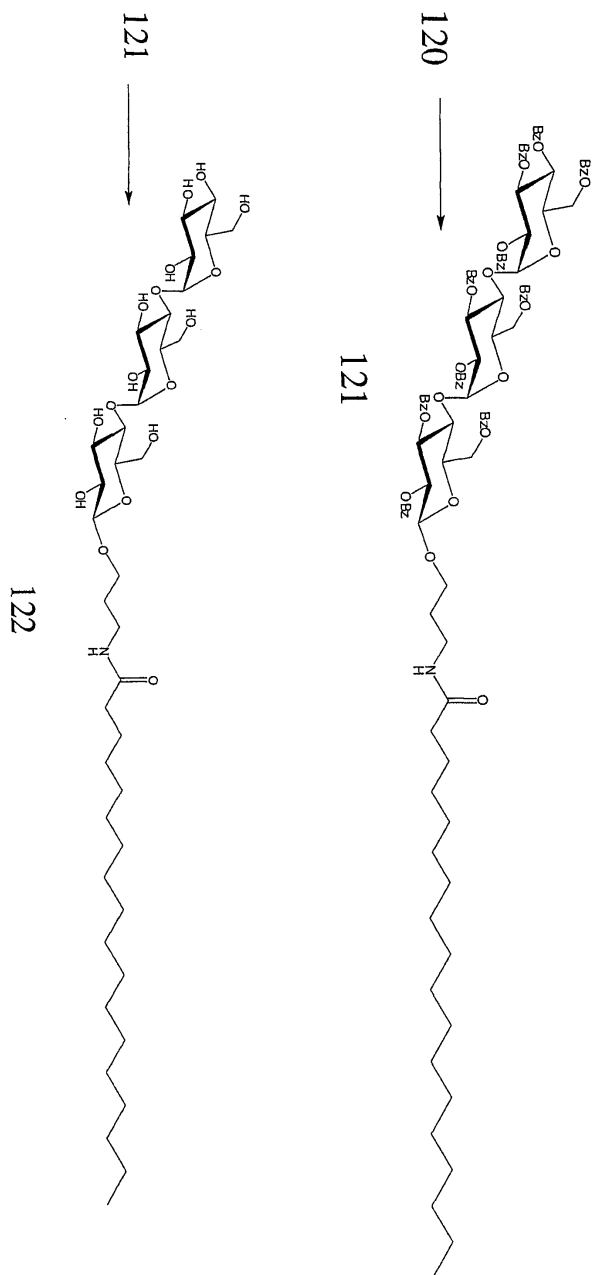
도면34c



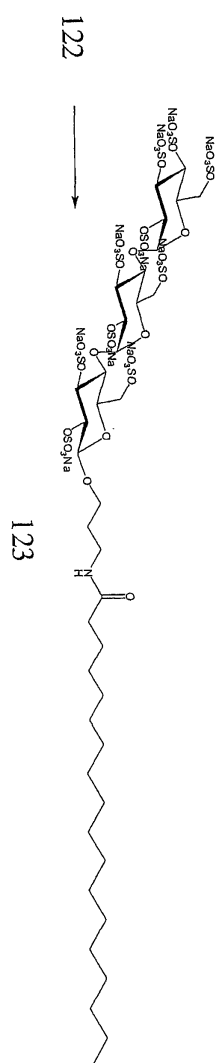
도면35a



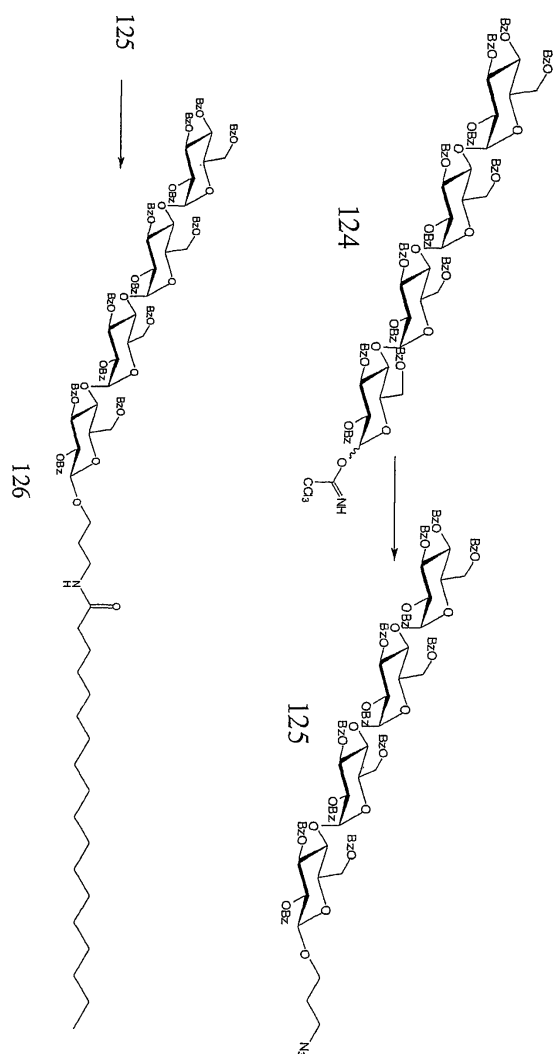
도면35b



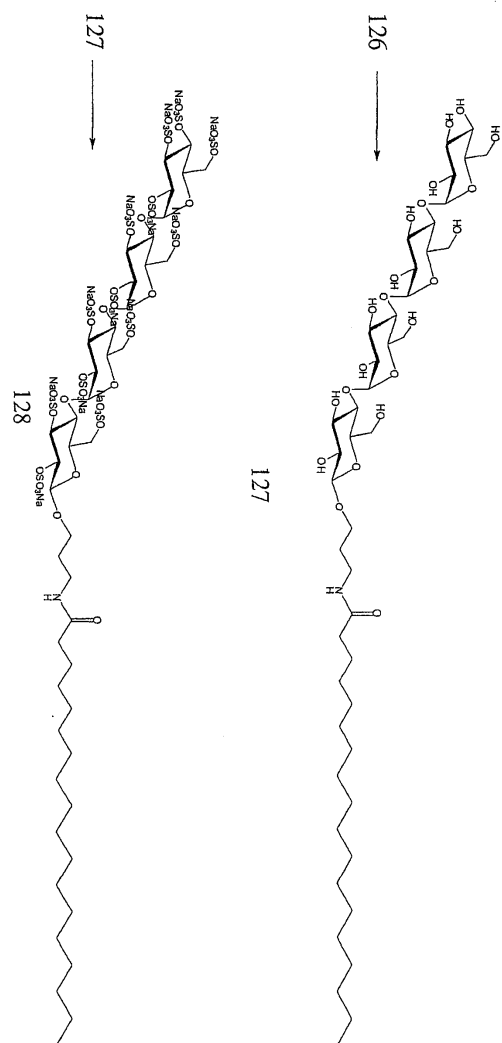
도면35c



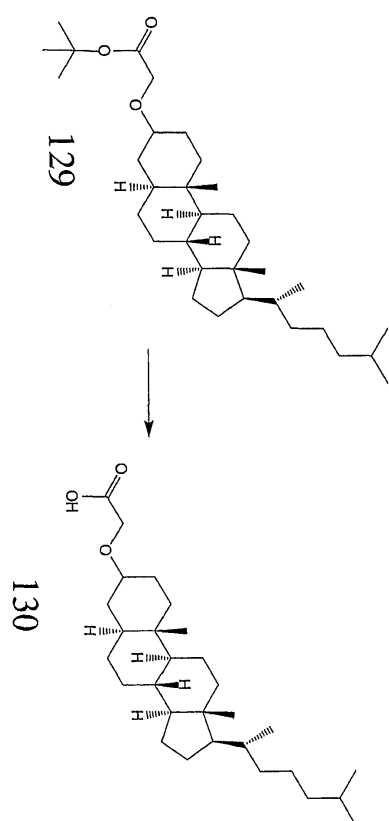
도면36a



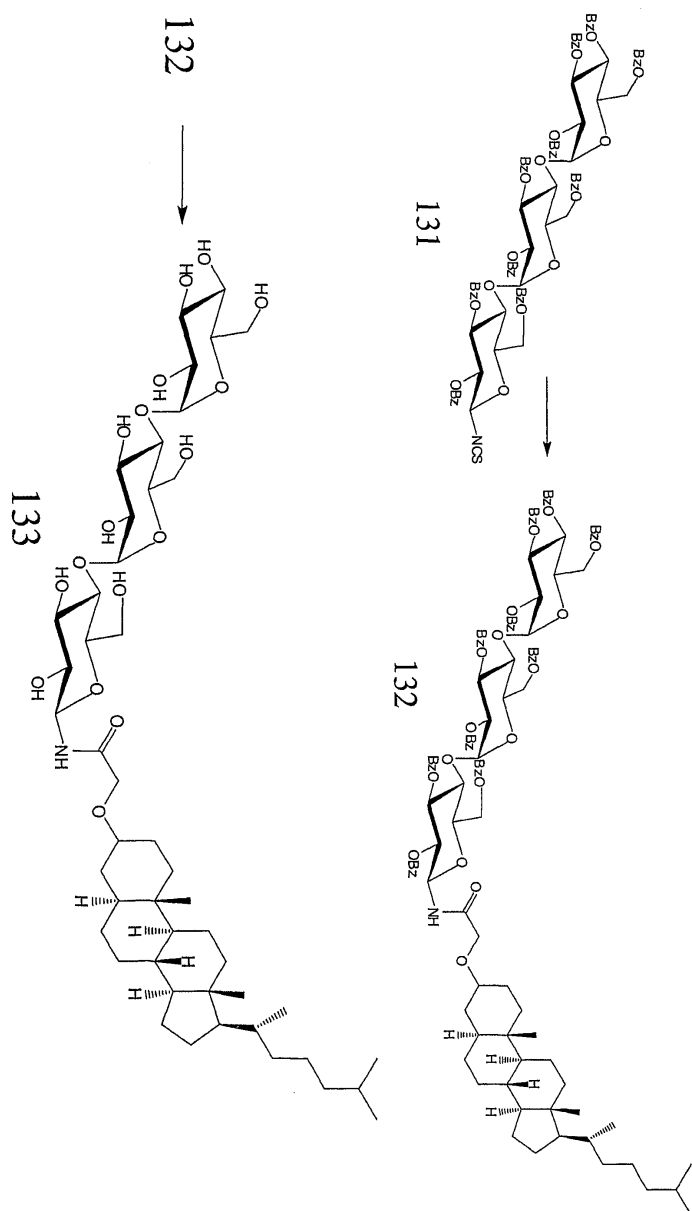
도면36b



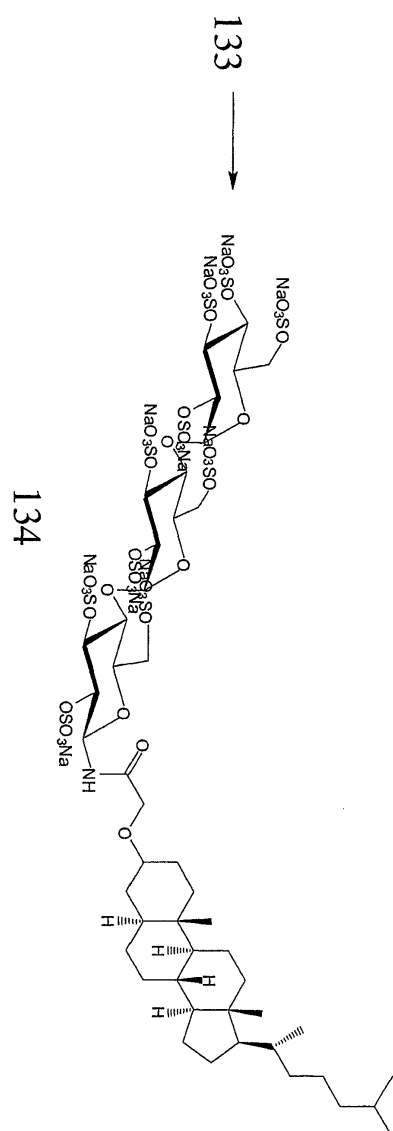
도면37a



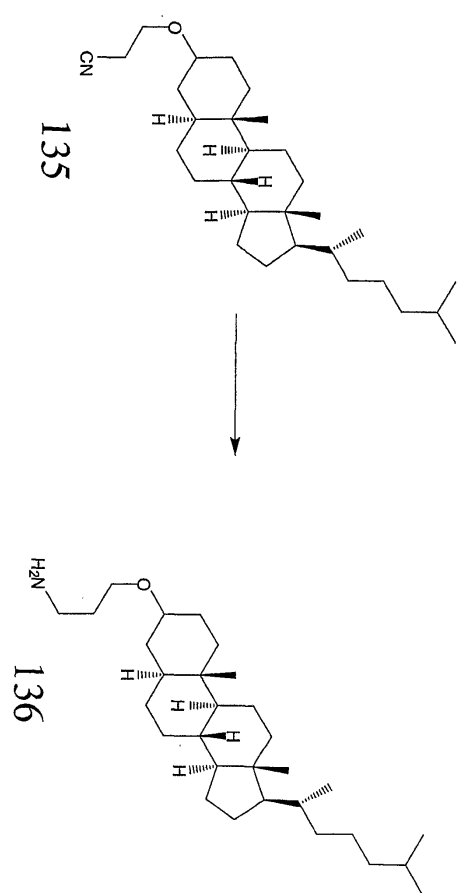
도면37b



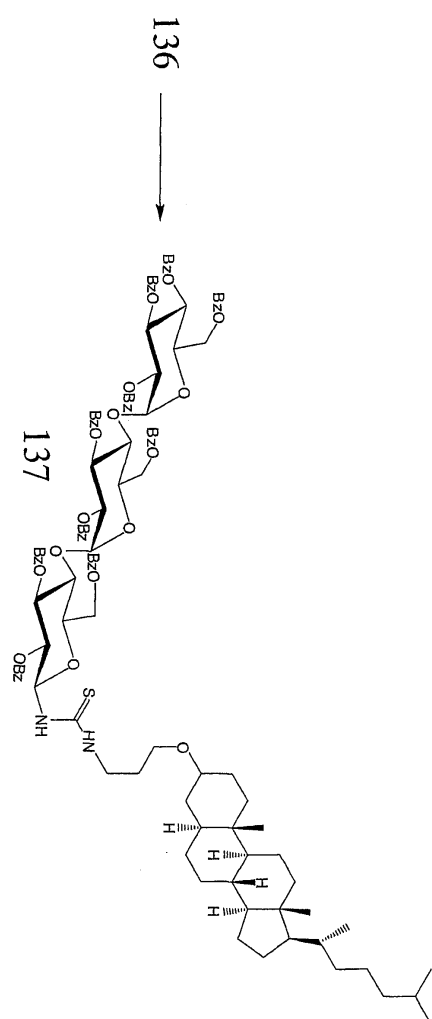
도면37c



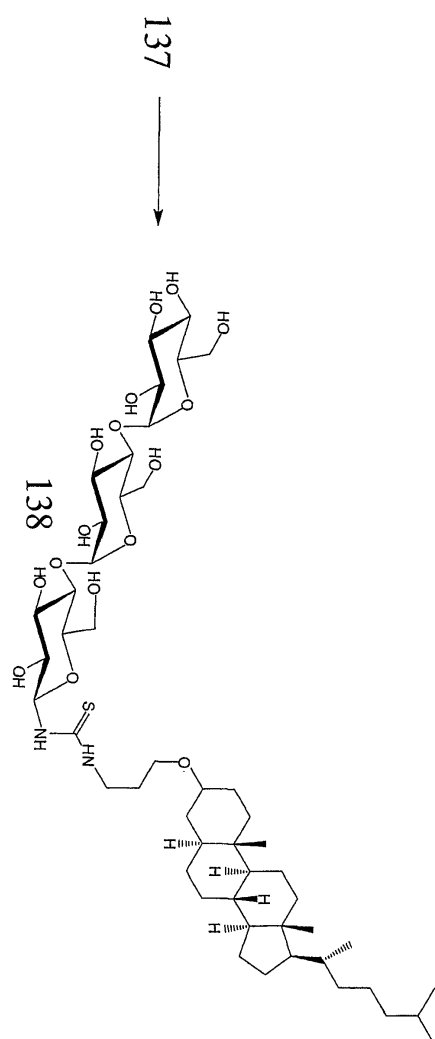
도면38a



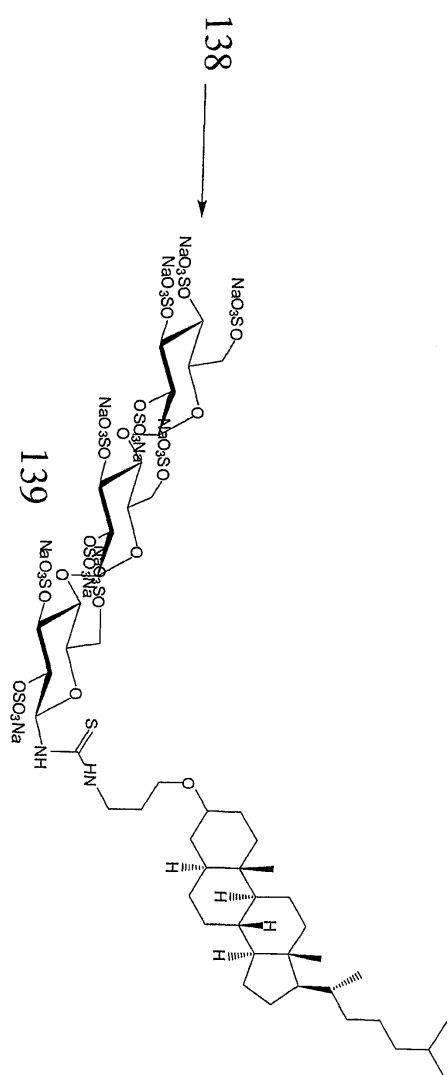
도면38b



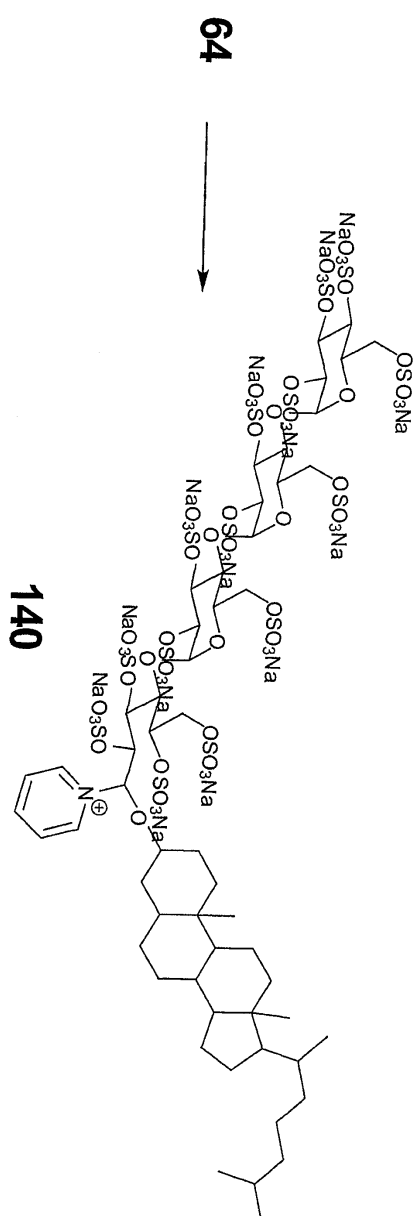
도면38c



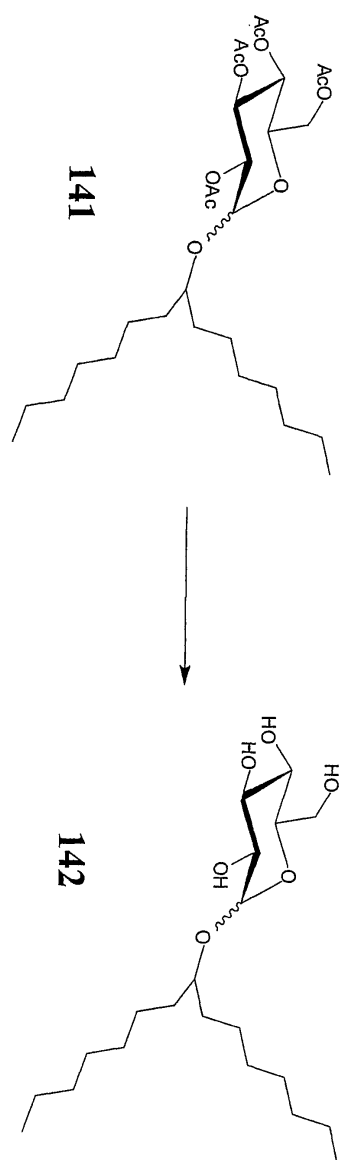
도면38d



도면39



도면40a



도면40b

