

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 특허공보(B1)

(51) Int. Cl.⁴
C07K 5/02

(45) 공고일자 1987년03월06일
(11) 공고번호 87-000371

(21) 출원번호	특1985-0001617	(65) 공개번호	특1985-0006940
(22) 출원일자	1985년03월12일	(43) 공개일자	1985년10월25일
(30) 우선권 주장	588279 1984년03월12일 미국(US)		
(71) 출원인	화이자 인코퍼레이티드 윌리엄 지. 맥리어리		
	미합중국, 뉴욕 10017, 뉴욕, 이스트 42번지 스트리트 235		

(72) 발명자 야지트 싱 빈드라
미합중국, 코네티컷주, 뉴 런던 카운티, 그로톤, 이스트우드 로드 81
에드워드 폭스 클라인만
미합중국, 코네티컷주, 뉴 런던 카운티, 그로톤, 웨네키제트 로드 544에
이
로버트 로이스 로제티
미합중국, 코네티컷주, 뉴 런던 카운티, 스톤INGTON, 박스 66에이, 알에프
디 제 1 호
(74) 대리인 이병호

심사관 : 김영우 (특허공보 제1263호)

(54) 폴리펩타이드 유도체의 제조방법

요약

내용 없음.

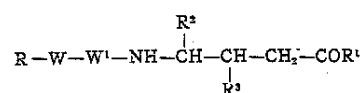
명세서

[발명의 명칭]

폴리펩타이드 유도체의 제조방법

[발명의 상세한 설명]

본 발명은 레닌-억제제로 유용한 일반식 (I)의 폴리펩타이드 및 폴리펩타이드 유도체로 이루어지는 신규화합물 및 이의 약제학적으로 무독한 염의 제조방법에 관한 것이다.



상기식에서, W는 페닐알라닌, 히스티딘, 로이신, 타이로신, 1-나프틸알라닌 또는 2-페닐메틸-프로피오닐렌이며 : W¹은 페닐알라닌, 히스티딘, 로이신, 타이로신 또는 노르로이신이고, W가 페닐알라닌이고 W¹이 히스티딘일 경우에는 W와 W¹사이의 펩타이드결합은 -CH(탄소수 1 내지 4의 알킬)-NH-에 의해 임의로 대체되며 :

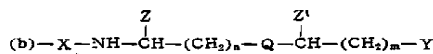
R은 수소, 분자량이 500미만인 아미노-보호 아실잔기, 프롤린, 아미노-보호된 프롤린, 파이로글루탐산 또는 아미노-보호된 파이로글루탐산이고 : 및

R²는 수소, 탄소수 1 내지 6의 알킬, 페닐, 탄소수 4 내지 7의 사이클로알킬, 탄소수 7 내지 9의 페닐알킬 또는 탄소수 5 내지 10의 사이클로알킬(알킬렌)이며 :

R³는 하이드록실, 아미노, -NHR⁹, -NHCOR⁹, -OR⁹ 또는 -OCOR⁹이며, 이때 R⁹는 탄소수 1 내지 4의 알킬이고 : 및

R¹은 (a)-A-E-B [이때, A는 리신 또는 프롤린이거나, 추가로, R³가 아미노인 경우에는 이소로이신이며 : E는 페닐알라닌, 글리신, 알라닌, 발린, 로이신, 이소로이신, 리신, 오르니틴, 아르기닌, 아스파르트산, 감마-에스테르화 아스파르트산, 글루탐산 또는 델타-에스테르화 글루탐산이고 : B는 -OR⁴, -NR^{4,5}, 글루탐산(-OR⁴)₂, -글루탐산(-OR⁴)(-NR^{4,5}) 또는 -글루탐산-(NR^{4,5})₂이며 R⁴ 및 R⁵는 각각 수소, 탄소수 1 내지 4의 알킬, 탄소수 7 내지 9의 페닐알킬 또는 탄소수 5 내지 10의 사이클로알킬

(알킬)이다].



[이때, X는 부재하거나, 알라닌, 이소로이신, 리신, 프롤린, 오르니틴, 아르기닌, N-(C₁-C₄ 알킬)-리신, N, N-디(C₁-C₄ 알킬)-리신, N, N-디(C₁-C₄ 알킬)-오르니틴 또는 N, N-디(C₁-C₄ 알킬)-오르니틴이고, Z 및 Z'은 각각 수소, 탄소수 1 내지 6의 알킬, 탄소수 4 내지 7의 사이클로알킬, 탄소수 5 내지 10의 사이클로알킬(알킬렌) 또는 탄소수 7 내지 9의 페닐 알킬이며 : n 및 m은 각각 0 내지 6의 정수

이고 : Q는 $-\overset{\overset{OH}{|}}{CH}-$ 또는 $-\overset{\overset{O}{||}}{C}-$ 이며 : Y는 메틸, 페닐, $-COOR^6$, $-CONR^6R^7$, $-NH_2$, (벤질옥시) 카보닐아미노, $-CO-글루탐산(-OR^6)_2$, $-CO-글루탐산(-OR^6)(-NR^6R^7)$ 또는 $-CO-글루탐산(-NR^6R^7)_2$ 이고, R⁶ 및 R⁷은 각각 수소, 탄소수 1 내지 4의 알킬, 탄소수 7 내지 9의 페닐알킬 또는 탄소수 5 내지 10의 사이클로알킬(알킬렌)이다].

(c) $-NH_2$

(d) 탄소수 1 내지 4의 알콕시,

(e) 4-벤질피페라지노-1-일,

(f) 1,2,3,4-일테트라하이드로퀴놀린-1-일,

(g) 1,2,3,4-테트라하이드로이소퀴놀린-2-일,

(h) 1,2,3,4-테트라하이드로-3-아미노카보닐-이소퀴놀린-2-일,

(i) 1,2,3,4-테트라하이드로-3-메톡시카보닐-이소퀴놀린-2-일,

(j) 1,2,3,4,5,6,7,8-데카하이드로-3-메톡시카보닐-이소퀴놀린-2-일,

(k) 2-메톡시카보닐-피롤리딘-1-일,

(l) 2-아미노카보닐-피롤리딘-1-일,

(m) 4-페닐메틸-피페리딘-1-일,

(n) -프롤린-B(이때, B는 상기와 같이 정의된다)

또는

(o) -리신-B(이때, B는 상기와 같이 정의된다)

이다.

분자량이 약 40,000인 단백질 분해효소 레닌은 신장에서 생성되어 혈액중으로 배출된다. 이는 인체와 안지오텐시노겐의 N-말단에서 로이신(10번째)과 발린(11번째) 아미노산 잔기 사이의 결합에서 본질적으로 생성되는 혈장 글리코 단백질 안지오텐시노겐을 분해하는 생체내 활성이 있다고 알려져 있다 :

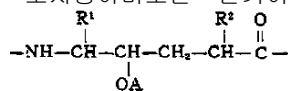
Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu-Val-Ile-His-Ser-Glu-

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15

레닌의 상기한 분해작용으로 형성된 순환 N-말단 데카펩티드(안지오텐신 I)는 그후에 전환 효소에 의해 안지오텐신 II로 알려진 옥타펩티드로 분해된다. 안지오텐신 II는 강력한 승압물질, 즉 혈압상승을 유발할 수 있는 물질로 공지되어 있으며, 이는 안지오텐신 II가 혈관의 수축 및 부신으로부터 나트륨-저류 호르몬 알도스테론의 방출을 야기시키기 때문이다. 따라서, 레닌-안지오텐시노겐계는 특정 형태의 고혈압에 대한 원인 인자로서 간주되어 왔다.

레닌-안지오텐시노겐계의 작용으로 인한 역효과를 완화시키는 한가지 방법은 레닌의 안지오텐시노겐-분해 작용을 억제할 수 있는 물질을 투여하는 것이다. 그러한 물질에는 안티레닌항체, 펩스타틴 및 천연의 포스포리피드 화합물을 포함하여 다수가 공지되어 있다. 유럽 특허원 제45,655호(1982년 2월 2일 공개)에는 하기 일반식의 레닌-억제 폴리펩타이드 유도체가 기술되어 있다.

X-Y-Pro-Phe-His-A-B-Z-W 상기식에서, X는 수소 또는 아미노-보호그룹이며, Y는 부재일 수 있으며, B는 호지성아미노산 잔기이고, Z는 방향족 아미노산잔기이며, W는 하이드록실일 수 있으며 A는



특히,

(여기에서, R¹ 및 R²는 각각 호지성 또는 방향족 측쇄이다)일 수 있다. 상기공개특허원에 기술된 정의에 따르면, A 또는 Z의 어느 하나가 스타틴일 수 있고, B가 리신일 수 있음을 예측치 못하였다.

유럽 특허원 제77028호(1983년 4월 20일 공개)에는 비 말단스타틴 또는 스타틴 유도체 잔기를 갖는 레닌-억제 폴리펩티드 화합물 계열이 기술되어 있다. 이 계열에 포함된 화합물은 페닐알라닌-히스티딘-스타틴 서열을 갖는 화합물이다. 그러나, 상기 공개특허원에는 -Phe-His-Sta- 서열 다음에 바로 리신이 결합되는 것은 기술되어 있지 않다.

본 발명에 이르러서야, 특성의 신규한 화합물이 레닌-억제제로서 유용함을 발견하게 되었다.

R이 아미노-보호 아실잔기 또는 아미노-보호된 프롤린이고, W가 페닐알라닌이며, W¹이 펩타이드 결합에서 W에 결합된 히스티딘이고, R²가 이소부틸 또는 사이클로헥실(메틸렌)이며, R³가 하이드록시이고, R¹이 전술된(a), (b) 또는 (n)이고, 단 R¹이 (a)이면 A는 리신이고, R¹이 (b)이면 X는 리신 또는 프롤린인 일반식(1)의 화합물이 특히 관심이 있는 화합물이다.

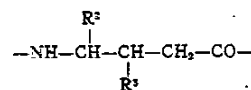
본 발명에 따르는 화합물은 인체를 포함한 포유류의 생체내에서 혈압강하 활성을 나타낸다. 이러한 활성의 적어도 실질적인 부분은 레닌에 의한 안지오텐시노겐의 분해를 억제하는 본 발명화합물의 활성에서 나타난다. 본 발명자들은 다음 작용기전의 이론으로 제한하고자 하는 것은 아니지만, 본 발명 화합물의 레닌-억제활성의 작용기전은 이들이 레닌에 대해 선택적으로 결합(안지오텐시노겐과 비교하여)하는 것이다. 본 발명의 화합물은 분자량이 낮기 때문에, 수성매질중에서 유리한 용해도특성을 나타내며, 따라서 경구투여할 수 있고 상업상의 실질 가격으로 합성할 수 있다. 본 발명에 따르는 일반식(1)화합물은 또한 이노제로서도 유용하다.

"약학적으로 무독한"염은 투여량에서 무독한 염을 말한다. 본 발명에 따르는 화합물에는 염기성그룹과 산성그룹 둘다가 포함될 수 있기 때문에, 산부가염 및 염기부가염 둘다 가능하다. 약학적으로 무독한 산부가염으로는 예를들면, 염산염, 브롬화수소산염, 요오드화수소산염, 황산염, 중황산염, 인산염, 산포스페이트, 아세테이트, 락테이트, 말리에이트, 메실레이트, 푸마레이트, 시트레이트, 산시트레이트, 타르트레이트, 비타르트레이트, 석시네이트, 글루코네이트 및 삭카레이트 염등이 있다. 약학적으로 무독한 염기부가염으로는 예를들면, 나트륨염, 칼륨염, 칼슘염 및 마그네슘염이 있다. 통상의 산부가염 및 염기부가염 생성방법을 사용할 수 있다.

잔기 W의 α-질소원자에 결합되어 있고, 일반식(1)의 N-말단에 존재하는 그룹 R은 수소, 분자량이 500미만인 아미노-보호 아실잔기, 프롤린, 아미노-보호된 프롤린, 피로-글루탐산 및 아미노-보호된 피로글루탐산의 그룹중에서 선택된다. 아미노-보호된 프롤린 또는 아미노-보호된 피로글루탐산의 아미노-보호그룹은 또한 분자량이 500미만인 아미노-보호 아실잔기이다. 용어 "아미노-보호 아실잔기"는 경구투여한 후 생체내에서 W(또는 프롤린 또는 피로글루탐산)의 α-질소원자에서 실질적으로 억제반응을 나타낼 수 있는 아실 그룹을 의미한다. R의 분자량이 500미만이어야 용해도 특성에 대한 과도의 유해효과를 방지할 수 있다. 적절한 아미노-보호 아실잔기의 예는 본 분야에서 숙련된 기술자에게 잘 알려져 있으며, 예를들면 t-부틸옥시카보닐, t-부틸아세틸, 벤질옥시카보닐, t-부틸우레이도, (트리스-하이드록시)-(t-부틸우레이도) 및 페녹시아세틸 잔기가 있다. 바람직하게는, R은 일

반식 $O=R^1-M-\overset{\overset{O}{\parallel}}{C}-$ 또는 $R^1-M-\overset{\overset{O}{\parallel}}{C}-$ Pro [이때, M은 -O-, -CH₂-, -NH- 또는 -SO₂NH- 이고 R⁸은 탄소수 1 내지 6의 알킬, 페닐, 탄소수 7 내지 9의 페닐알킬 또는 탄소수 5 내지 10의 사이클로알킬(알킬렌)이다]의 그룹이다.

본 명세서에서 언급된, -글루탐산-(OR⁴)-(NR^{4,5}) 및 -CO-글루탐산-(OR⁶)-(NR^{6,7})은, 글루탐산의 델타-탄소에서 아미드화된 C-말단그룹과 글루탐산의-델타-탄소에서 에스테르화된 C-말단그룹 모두에 관한 것이다.



전술한 바와 같이, 본 발명 화합물중 한가지 바람직한 그룹은, 가-스타틴 또는-사이클로스타틴을 나타내도록 R³가 하이드록실이고 R²는 이소부틸 또는 사이클로헥실(메틸렌), 더욱 바람직하게는 사이클로헥실이며, R은 분자량 500미만의 아미노-보호아실잔기 또는 아미노-보호된 프롤린이고, W가 페닐알라닌이며, W¹이 펩타이드 결합에서 W에 결합된 히스티딘이고 R¹이 -Lys-E-B,

-Pro-B, 또는-(Lys 또는 Pro)- $\begin{array}{c} Z \\ | \\ -NH-CH-(CH_2)_n-Q-CH-(CH_2)_m-Y \end{array}$ 인 화합물 그룹이다. -페닐알라닌-히스티딘-(스타틴 또는 사이클로스타틴)-바로 다음에, 리신잔기(예를들어 로이신, 이소로이신, 발린 또는 알라닌 잔기 대신에)를 붙이면, 놀라움게도, 생체내 레닌-억제활성의 지속기간이 매우 증가하는 것으로 나타났다.

본 발명 화합물중 다른 바람직한 그룹은, R이 분자량 500미만의 아미노-보호아실잔기 또는 아미노-보호된 프롤린이고, W가 페닐알라닌이며, W¹이 펩타이드 결합에서 W에 결합된 히스티딘이고, R³가 하이드록실이며 R²가 이소부틸 또는 사이클로헥실(메틸렌)(더욱 바람직한 것은 후자이다)이고 R¹이 $\begin{array}{c} Z \\ | \\ -X-NH-CH-(CH_2)_n-Q-CH-(CH_2)_m-Y \end{array}$ 인 화합물 그룹이다. C-말단에 인접한 분자구조의 펩타이드 특성을 환원시키면, 경구투여후 혈류로의 흡수가 증가하는 경향이 있다. n 및 m이 각각 0이고 Z가 이소부틸이며, Q가 $\begin{array}{c} OH \\ | \\ -CH- \end{array}$ 이고, Z¹이 수소이며 Y가 카복실일 경우, R¹은 -X-스타틴을 나타낸다.

본 발명 화합물중 특히 가치있는 화합물은 하기의 화합물 및 이들의 약제학적으로 허용되는 염이다 ;

[N-(3급-부틸옥시카보닐)-프롤린]-페닐알라닌-히스티딘-사이클로스타틴-리신-페닐알라닌 ;

[N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌]-히스티딘-사이클로스타틴-리신-페닐알라닌 ;

[N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌]-히스티딘-스타틴-리신-페닐알라닌 ;

[N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌]-히스티딘-스타틴-알라닌-스타틴-글루탐산 ;

[N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌]-히스티딘-스타틴-이소로이신-[아미노(n-부티르산)] ;

[N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌]-히스티딘-사이클로스타틴-[아미노(2-2급 부틸-에틸렌)]-페닐알라닌 ;

[N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌]-히스티딘-스타틴-[아미노(2-2급부틸-에틸렌)-페닐알라닌 ;

[N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌]-히스티딘-사이클로스타틴-1,2,3,4--테트라하이드로-2-이소퀴놀린 ;

[N-(3급-부틸옥시카보닐)-프롤린]-페닐알라닌-히스티딘-사이클로스타틴-1,2, 3,4-테트라하이드로-2-이소퀴놀린 ;

[N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌]-히스티딘-사이클로스타틴-프롤린-[아미노(n-펜틸렌)아민] ;

[N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌]-히스티딘-사이클로스타틴-프롤린메틸에스테르 ;

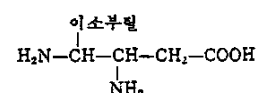
[N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌]-히스티딘-사이클로스타틴-에틸에스테르 ;

[N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌]-히스티딘-사이클로스타틴-프롤린-NH₂ ;

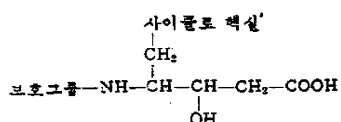
[N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌]-히스티딘-사이클로스타틴-NH₂ ; 및

[N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌]-히스티딘-사이클로스타틴-리신-스타틴 .

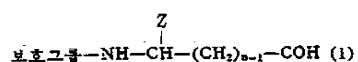
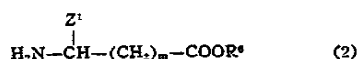
본 발명 화합물은 본 발명의 분야에서 통상의 지식을 가진자에게 잘 알려져 있는 방법들을 사용하여 제조할 수 있다. 바람직한 화학적 합성법중 기본적인 방법은, 아미노산 잔기의 비보호된 알파-아미노그룹을, 활성화된 (아실화를 위해) 카복실작용기 및 알파-질소에 결합된 적절한 보호그룹을 함유한 아미노산과 아실화반응시켜 두 아미노산 잔기사이에서 펩타이드를 형성시킨 후, 상기 보호그룹을 제거하는 것이다. 이런 커플링-탈보호 합성단계를, 분자구조중 C-말단에서부터 시작하여 N-말단으로 진행하는 방식으로, 반복 수행하여 폴리펩타이드를 형성시킨다. 본 발명 화합물을 합성하는데 사용되는 알파-아미노산은 알파-아미노 보호 및 알파-아미노 비보호된 형태로 시판용(유리산, 염 또는 에스테르 등의 형태)으로 구입 용이하다. 스타틴은 N-(t-부틸옥시카보닐)-스타틴으로서 시판된다. 더우기 스타틴은 공지의 방법에 따라 감마-아미노 보호된 형태 또는 감마-아미노 비보호된 형태 모두로 제조될 수 있다(유리산 또는 에스테르로서) [참조 ; 미합중국 특허 제4397786호 및 Rich. D.H. 등. Jour. Org. Chem., 43, pp.3624 et seq. (1978)]. 필요에 따라서는 첫번째 커플링 단계에서 4-아미노부티르산, 4-아미노발레르산 또는 4-아미노-4-2급-부틸-부티르산과 같은 적절한 N-비보호된 아미노산 동족체(유리산, 염 또는 에스테르)를 반응물로 사용할 수 있다. 스타틴의 적절한 유도체는 통상적인 합성방법으로 제조할 수 있다. 따라서, 예를들어, 하기의 아미노스타틴 화합물은 아미노-보호된 스타틴 에스테르를 설포닐 클로라이드와 반응시켜 설포네이트 에스테르를 생성하고, 설포네이트 에스테르를 나트륨 아지드와 반응시켜 아미노-보호된 4-이소부틸-2-부테노산 에스테르 및 아미노-보호된 4-이소부틸-3-아지도부티르산 에스테르를 생성하고, 알케노 화합물을 일급 아민과 반응시키고/시킴거나 아지도 화합물을 수소첨가시킨 다음 생성된 중간체 화합물을 알데하이드의 존재하에 알칼리 금속 하이드라이드로 환원시켜(두 경우 모두에서), 부티르산의 4-이소부틸-3-2급-아미노유도체를 생성하고, 이와같이 제조된 부티르산의 4-이소부틸-3-2급-아미노 유도체를 수소첨가시킨 다음, 생성된 화합물을 염기성 조건하에 아실할라이드와 반응시켜 두 개의 아미노 그룹이 모두 보호된 형태로서 제조할 수 있다.



N-보호된 화합물인 하기의 N-보호된 사이클로스타틴 화합물은, 상응하는 N-보호된-4-아미노-4-페닐메틸-3-히드록시부티르산[참조 : Rich.D.H.등 Jour.Med. Chem. 23(1). pp27~33(1980)]을 수소화시켜서 제조할 수 있다.



$R^1 \text{O} - X - \text{NH} - \text{CH}(\text{Z}) - (\text{CH}_2)_n - Q - \text{CH}(\text{Z}') - (\text{CH}_2)_m - Y'$ 이고, m이 적어도 1이고, Q가 -NH-인 본 발명 화합물중의 환원된 펩타이드 결합(-CO-가-CH₂-로 치환됨)은 하기 일반식(1)의 알데하이드를 일반식(2)의 아미노산 에스테르의 존재하에 환원시켜 생성할 수 있다.



상기식에서 R⁶는 수소이외의 것이다.

레닌의 안지오텐시노겐-분해활성의 억제제로서 본 발명에 따른 화합물의 활성은 (1)시험관내에서 레

닌의 안지오텐시노겐-분해활성을 억제하는 능력 및 (2)생체내에서 외인성 레닌-유도 승압 반응을 길항하는 능력으로써 측정할 수 있다.

본 발명의 화합물은 고혈압 치료제로서 경구적 또는 비경구적으로 투여할 수 있으며, 환자의 편의 및 안정을 고려하면 경구투여가 바람직하다. 일반적으로 이러한 고혈압 치료화합물을 일일 체중 kg 당 0.1 내지 10mg의 용량으로 경구투여하며, 치료 받을 환자의 상태 및 투여하려는 화합물에 따라 변화시킬 수 있다. 일반적으로 낮은 일일 용량으로 사용되며, 필요한 경우 의사의 지시에 따라 증가시킬 수 있다. 이러한 화합물은 상기 투여경로에 있어서 약제학적으로 허용가능한 담체와 함께 투여할 수 있으며, 이러한 투여는 단일 또는 수회 용량으로 수행할 수 있다.

본 발명의 신규 화합물은 광범위한 용량 형태로서 경구투여할 수 있다. 즉 이러한 화합물은 여러가지 약제학적으로 허용가능한 불활성 담체와 함께 정제, 캡슐제, 로젠즈(lozenges), 트로치, 핸드 캔디(hand candies), 산제, 분무제, 수성 현탁제, 엘릭서, 시럽제 등으로 제형화할 수 있다. 그와같은 담체에는 고형 희석제 또는 충전제, 멸균 수성 매질 및 여러가지 무독성 유기용매가 있다. 또한, 그와같은 경구용 약제학적 제제는 그와같은 목적을 위하여 통상적으로 사용되는 여러가지 제제를 사용하여 적절히 감미를 주고/주거나 향미를 부여할 수 있다. 일반적으로, 본 발명에 따른 화합물은 그와 같은 경구 용량 형태중에 총 조성물의 약 0.5 내지 약 90중량%로 존재하며, 이 양은 목적하는 단위용량을 제공하기에 충분하다.

경구투여할 목적으로, 여러가지 부형제(예 : 시트르산 나트륨, 탄산 칼슘 및 인산 칼슘)을 함유한 정제를 여러가지 붕해제(예 : 전분(특히, 감자 또는 타피오카 전분), 알긴산 및 특정의 복합 실리케이트) 및 결합제(예 : 폴리비닐피롤리돈, 슈크로즈, 젤라틴 및 아카시아)와 함께 사용할 수 있다. 또한 활탁제(예 : 스테아르산 마그네슘, 나트륨 라우릴 설페이트 및 활석)도 종종 타정에 매우 유용하다. 유사한 형태의 고형조성물은 연질 및 경질의 젤라틴 캡슐중의 충전물로서도 또한 사용되는데, 여기서 바람직한 물질로는 고분자량의 폴리에틸렌 글리콜 뿐만아니라 락토오스 또는 유당도 또한 포함된다. 수성 현탁액 및/또는 엘릭서제를 경구투여용으로 사용하고자 할 경우에는, 그 안의 필수 활성성분을 여러가지의 감미제 또는 향미제, 착색제 또는 색소 및 경우에 따라서는, 유효 및/또는 현탁화제, 뿐만아니라 희석제(예 : 물, 에탄올, 프로필글렌글리콜, 글리세린 및 그들의 유사한 혼합물)와 혼합할 수 있다.

하기 실시예는 본 발명을 설명하기 위한 것이며, 본 발명이 이들 실시예로 제한되는 것은 아니다.

[실시예 1]

N-(3급-부틸옥시카보닐)-Phe-His-Sta-Lys-Phe

A. [N-알파-(3급-부틸옥시카보닐)-N-엡실론-벤질옥시카보닐-리신]-페닐알라닌 벤질 에스테르

N-하이드록시벤조트리아졸(162mg, 1.2밀리몰), N-메틸-모르폴린(101.2mg, 1밀리몰), L-페닐알라닌 벤질 에스테르 P-톨루엔설포네이트(428mg, 1밀리몰), N-알파-(3급-부틸옥시카보닐)-N-엡실론-벤질옥시카보닐-L-리신(456mg, 1.2밀리몰) 및 1-사이클로헥실-3-(2-모르폴리노에틸)-카보디이미드 메토-P-톨루엔설포네이트 (635 mg, 80% 순도, 1.2밀리몰)를 0℃에서 염화메틸렌(50ml)에 순서대로 용해시키고, 생성된 용액을 20℃에서 19시간 동안 교반한다. 반응 혼합물을 75ml의 5.5% 수성 HCl, 75ml의 NaHCO₃ 포화수용액 및 75ml의 염수로 연이어 세척한 다음 무수 MgSO₄ 상에서 건조시킨다. 여과 및 증발시키면 669mg의 조생성물이 포말(foam)로서 수득된다(¹H NMR, CDCl₃, 1.5델타, 9Hs[BOC]). 이 조생성물은 더욱 정제하지 않고 다음 단계에 사용한다.

B. (N-엡실론-벤질옥시카보닐-리신)-페닐알라닌 벤질 에스테르 하이드로클로라이드

단계 A로부터의 [N-알파-(3급-부틸옥시카보닐)-N-엡실론-벤질옥시카보닐-리신]-페닐알라닌 벤질 에스테르(650mg, 1밀리몰)를 7ml의 3.7N HCl/디옥산중에 용해시킨 다음 20℃에서 1시간 동안 정치시킨다. 이 용액을 증발건조시키면 583mg의 조생성물이 오일로서 수득되는데, 이는 더욱 정제하지 않고 다음 단계에 사용한다(¹H NMR, CD₃OD, 5.2델타, 2H, s, [벤질 CH₂]).

C. [N-(3급-부틸옥시카보닐)-스타틴]-N-엡실론-벤질옥시카보닐-리신)-페닐알라닌 벤질 에스테르

단계 B로부터의 (N-엡실론-벤질옥시카보닐-리신)-페닐알라닌 벤질 에스테르 하이드로클로라이드(583mg, 1밀리몰), N-메틸-모르폴린(101.2mg, 1밀리몰), N-(3급-부틸옥시카보닐)-스타틴(330mg, 1.2밀리몰), N-하이드록시벤조트리아졸(162mg, 1.2밀리몰) 및 1-사이클로헥실-3-(2-모르폴리노에틸)-카보디이미드 메토-P-톨루엔설포네이트(635mg, 80%순도, 1.2밀리몰)를 0℃에서 50ml의 염화메틸렌에 순서대로 용해시키고, 생성된 용액을 20℃에서 19시간동안 교반한다. 반응 혼합물을 단계 A에서와 같이 끝처리하면, 760mg의 조생성물이 수득되는데, 이는 더욱 정제하지 않고 다음 단계에 사용한다(¹H NMR, CDCl₃, 1.5델타, 9H s[BOC]).

D. 스타틴-(N-엡실론-벤질옥시카보닐-리신)-페닐알라닌 벤질 에스테르 하이드로클로라이드

단계 C로부터의 [N-(3급-부틸옥시카보닐)-스타틴]-N-엡실론-벤질옥시카보닐-리신)-페닐알라닌 벤질 에스테르(760mg, 1밀리몰)를 10ml의 3.7N HCl/디옥산 중에 용해시킨 다음 20℃에서 1시간 동안 정치시킨다. 반응혼합물을 단계 B에서와 같이 끝처리하면 620mg의 조생성물이 포말로서 수득되는데(¹H NMR, CD₃OD, 5.2델타, 2H s [벤질 CH₂]), 이는 더욱 정제하지 않고 다음 단계에 사용한다.

E. [N-알파-(3급-부틸옥시카보닐)-N-임-(3급-부틸옥시카보닐)-히스티딘]-스타틴-(N-엡실론-벤질옥시카보닐-리신)-페닐알라닌 벤질 에스테르

단계 D로부터의 스타틴-(N-엡실론-벤질옥시카보닐-리신)-페닐알라닌 벤질 에스테르 하이드로 클로라

이드(600mg, 0.857밀리몰), N-메틸-모르폴린(86.7mg, 0.857밀리몰), N-알파-(3급-부틸옥시카보닐)-N-임-(3급-부틸옥시카보닐)-L-히스티딘(365mg, 1.03밀리몰), N-하이드록시벤조트리아졸(135mg, 1.03밀리몰) 및 1-사이클로헥실-3-(2-모르폴리노에틸)-카보디이미드 메토-P-톨루엔설포네이트(545mg, 1.03밀리몰)를 0℃에서 50ml의 메틸렌클로라이드에 순서대로 용해시킨 다음 20℃에서 19시간 동안 교반한다. 이 반응 혼합물을 단계 A에서와 같이 끝처리하면 770mg 조생성물이 포말로서 수득되는데 ($^1\text{H NMR}$, CDCl_3 , 1.5델타, 2H s[BOC] 및 1.6델타, 9H s[BOC] 이는 더 정제하지 않고 다음 단계에 사용한다.

F. 히스티딘-스타틴-(N-엡실론-벤질옥시카보닐-리신)-페닐알라닌 벤질 에스테르 디하이드로클로라이드

단계 E로부터 수득된 [N-알파-(3급-부틸옥시카보닐)-N-임-(3급-부틸옥시카보닐)-히스티딘]-스타틴-(N-엡실론-벤질옥시카보닐-리신)-페닐알라닌 벤질 에스테르 (770mg, 0.85mM)를 10ml의 3.7N HCl/디옥산에 용해시키고 20℃에서 1.5시간 방치시킨다. 반응 혼합물을 단계 B에서처럼 끝처리하여 포말로서 602mg의 조생성물을 수득한다($^1\text{H NMR}$, CD_3OD , 5.2델타, 2H s[벤질 CH_2]), 이를 정제하지 않고 다음 단계에 사용한다.

G. [N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌]-히스티딘-스타틴-(N-엡실론-벤질옥시카보닐-리신)-페닐알라닌 벤질 에스테르

단계 F로부터 수득된 히스티딘-스타틴-(N-엡실론-벤질옥시카보닐-리신)-페닐알라닌 벤질 에스테르 디하이드로클로라이드(602mg, 0.689mM), N-메틸-모르폴린(139mg, 1.38mM), N-(3급-부틸옥시카보닐)-L-페닐알라닌(219mg, 0.827mM), N-하이드록시벤조트리아졸(112mg, 0.827mM) 및 1-사이클로헥실-3-(2-모르폴리노에틸)-카보디이미드 메토-P-톨루엔설포네이트(438mg, 0.827mM)를 50ml의 염화메틸렌에 0℃에서 순서대로 용해시키고, 수득된 용액을 20℃에서 19시간 교반시킨다. 반응 혼합물을 단계 A에서처럼 끝처리하여 555mg의 포말을 얻고, 이를 크로마토그래피(실리카겔, 95:5 CH_2Cl_2 /MeOH)로 정제하여 136mg의 정제 생성물을 포말로서 수득한다($^1\text{H NMR}$, CDCl_3 , 1.5델타, 9H s[BOC]).

H. 표제화합물

[N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌]-히스티딘-스타틴-(N-엡실론-벤질옥시카보닐-리신)-페닐알라닌-벤질 에스테르(136mg, 0.17mM) 및 70mg의 20% $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ 촉매를 15ml의 메탄올에 순서대로 가하고, 수득된 혼합물을 50psi의 H_2 및 20℃에서 4시간 수소화시킨다. 이어서 반응 혼합물을 수퍼-셀(Super-Cell)을 통해서 여과시키고 증발건고시켜 76mg의 유리를 수득하고, 이를 에테르로 연마시켜 63mg의 정제된 [N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌]-히스티딘-스타틴-리신-페닐알라닌을 분말로서 수득한다(^1NMR , CD_3OD , 1.5델타, 9H s[BOC]).

[실시예 2]

[N-(3급-부틸옥시카보닐-Phe)-His-Sta-Ile-Sta-(나트륨염)]

A. [N-(3급-부틸옥시카보닐)-이소로이신]-스타틴 에틸 에스테르

스타틴 에틸 에스테르 하이드로클로라이드(717mg, 3밀리몰), N-메틸-모르폴린(304mg, 3밀리몰), N-(3급-부틸옥시카보닐)-L-이소로이신 1/2 H_2O (865mg, 3.6밀리몰), N-하이드록시벤조트리아졸(486mg, 3.6밀리몰) 및 1-사이클로헥실-3-(2-모르폴리노에틸)-카보디이미드 메토-P-톨루엔 설포네이트(1.91g, 80%순도, 3.6밀리몰)를 100ml의 염화메틸렌에 0℃에서 순서대로 가하고, 수득된 용액을 20℃에서 19시간 교반시킨다. 이어서 반응 혼합물을 75ml의 5.5% 수성 HCl, 75ml의 포화수성 NaHCO_3 및 75ml의 염수로 연속 세척하고 무수 MgSO_4 상에서 건조시킨다. 여과 및 증발시킨 후에 1.39g의 조생성물을 포말로서 수득하고 (^1NMR , CDCl_3 , 1.5델타, 9H s[BOC]), 이를 더 정제하지 않고 다음 단계에 사용한다.

B 내지 G[N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌]-히스티딘-스타틴-이소로이신-스타틴 에틸 에스테르.

상기 실시예 1의 단계 B 내지 G에서 기술한 바와 유사한 방법에 따라서, 단계로 A부터 수득된 [N-(3급-부틸옥시카보닐)-이소로이신]-스타틴 에틸 에스테르(1.37g)를 정제된 표제 생성물로 전환시킨다(121mg, 포말, $^1\text{H NMR}$, CDCl_3 , 1.5델타, 9H s[BOC]). 95:5의 CHCl_3 /MeOH를 단계 G의 크로마토 그래피 정제에서 구배용출제로 사용한다.

H. 표제화합물

2ml의 디메톡시에탄중의, 단계 G로부터 수득된 [N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌]-히스티딘-스타틴-이소로이신-스타틴 에틸 에스테르(120mg, 0.14mM)용액을 0.17ml의 1N 수성 NaOH로 처리한다. 20℃에서 2.5시간 교반시킨 후에 또다른 0.17ml의 1N 수성 NaOH를 가한다. 2시간 더 교반시킨 후에 반응 혼합물을 회전식 증발기에 도입시켜 디메톡시에탄을 제거하고, 5ml의 H_2O 로 희석시키고, pH 7.8로 조정후 냉동 건조시킨다. 냉동 건조시킨 잔사를 에테르에서 슬러리화 시킨다. 상등액을 증발건고시켜 88mg의 포말을 수득하고, 이를 소용량의 에테르로 연마시켜 정제된 [N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌]-히스티딘-스타틴-이소로이신-스타틴(나트륨염)을 황색 분말로서 수득한다(65mg, $^1\text{H NMR}$, CDCl_3 , 1.5델타, 9H s[BOC]).

[실시예 3]

[N-(3급-부틸옥시카보닐)-Phe]-His-Sta-Ile-[아미노(n-부티르산)]

A. [N-(3급-부틸옥시카보닐)이소로이신]-[아미노(n-부티르산)]벤질 에스테르

N-(3급-부틸옥시카보닐)-L-이소로이신(2.4g, 10밀리몰), N-메틸-모르폴린(1.0g, 10밀리몰) 벤질 4-아미노부티레이트 하이드로클로라이드(1.93g, 10밀리몰), N-하이드록시벤조트리아졸(1.35g, 10밀리몰) 및 1-시클로헥실-3-(2-모르폴리노에틸) 카보디이미드 메토-P-톨루엔 설포네이트(4.23g, 80%순도, 10밀리몰)를 0℃에서 연속적으로 염화메틸렌 60ml에 용해시키고, 생성된 용액을 20℃에서 19시간 동안 교반시킨다. 그후 반응혼합물을 증발건고시키고, 잔사를 에틸 아세테이트에 용해시킨다. 이 용액을 5% 수성 HCl 50ml로 2회, 1N 수성 NaOH 50ml로 2회, H₂O로 1회 및 염수로 1회 세척하고, 무수 MgSO₄ 상에서 건조시키고, 여과하여, 회전증발기 내에서 농축시켜, 2.87g의 조생성물을 포말로서 수득하며(¹H NMR, CDCl₃, 1.4델타, 9H s[BOC]) 이는 더 정제하지 않고 다음 단계에 사용한다.

B. 이소로이신-[아미노(n-부티르산)] 벤질에스테르 하이드로클로라이드

단계 A에서 수득된 [N-(3급-부틸옥시카보닐)-이소로이신]-[아미노(n-부티르산)]벤질에스테르(2.87g, 7.1밀리몰)를 3.7N HCl/디옥산에 용해시키고, 생성된 용액을 20℃에서 1시간동안 정치시킨다. 그후 반응용액을 증발 건고시키고, 에테르로 연마한 후, 2.4g의 조생성물 흰색 고체형태로(¹H NMR, CD₃OD, 5.2 델타, 2H s [벤질 CH₂]) 수득하며 이는 더 정제시키지 않고 다음 단계에 사용한다.

C. [N-(3급-부틸옥시카보닐)-스타틴]-이소로이신-[아미노(n-부티르산)]벤질에스테르

N-(3급-부틸옥시카보닐)-스타틴(275.35mg, 1밀리몰), N-메틸-모르폴린(101mg, 1.0밀리몰), 단계 B에서 수득된 이소로이신-[아미노(n-부티르산)]벤질에스테르 하이드로클로라이드(342mg, 1밀리몰), N-하이드록시-벤조트리아졸(135mg, 1.0밀리몰) 및 디사이클로헥실 카보 디이미드(206mg, 1.0밀리몰)를 0℃에서 연속적으로 염화메틸렌 20ml에 용해시키고, 생성된 용액을 20℃에서 19시간 동안 교반시켰다. 그후 반응용액을 여과하고, 증발시켜 에틸 아세테이트에 슬러리된 잔사를 수득한다. 이 슬러리를 여과하고, 여과액을 증발 건고시킨다. 생성된 잔사를 크로마토그래피(실리카겔, CHCl₃/EtOAc곡선)시킨후, 정제된 생성물 464mg(¹H NMR, CDCl₃, 1.5델타, 9H s[BOC])을 수득한다.

D. 스타틴-이소로이신-[아미노(n-부티르산)]벤질에스테르 하이드로클로라이드

단계 B에 기술된 것과 같은 방법으로, 단계 C에서 수득된 [N-(3급-부틸옥시카보닐)-스타틴]-이소로이신-[아미노(n-부티르산)]벤질에스테르(464mg, 0.08밀리몰)를 탈차단시켜 흰색 고체 형태의 조생성물 416mg(¹H NMR, CD₃OD, 5.2델타, 2H s[벤질 CH₂])을 수득하고, 이는 더 정제시키지 않고 다음 단계에서 사용한다.

E. [N-알파-(3급-부틸옥시카보닐)-N-임-(3급-부틸옥시카보닐)-히스티딘]-스타틴-이소로이신-[아미노(n-부티르산)]벤질 에스테르

단계 C에 기술된 것과 같은 방법으로, 단계 D에서 수득된 스타틴-이소로이신-[아미노(n-부티르산)]벤질에스테르 하이드로클로라이드(416mg, 0.83밀리몰)를 N-알파(3급-부틸옥시카보닐)-N-임-(3급-부틸옥시카보닐)-L-히스티딘 (295mg, 0.82밀리몰)과 커플링시켜 391mg의 정제된 생성물(¹H NMR, CDCl₃, 1.5델타, 9H s[BOC] 및 1.6델타, 9H s[BOC])을 수득한다.

F. 히스티딘-스타틴-이소로이신-[아미노(n-부티르산)]벤질에스테르 디하이드로클로라이드

단계 B에 기술된 것과 같은 방법으로, 단계 E에서 수득된 [N-알파-(3급-부틸옥시카보닐)-N-임-(3급-부틸옥시카보닐)-히스티딘]-스타틴-이소로이신-[아미노(n-부티르산)]벤질에스테르를 탈차단시켜 흰색 고체 형태의 조생성물 328mg(¹H NMR, CD₃O, 5.2델타, 2H s[벤질 CH₂])을 수득하고, 이는 더 정제시키지 않고 다음 단계에서 사용한다.

G. [N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌]-히스티딘-스타틴-이소로이신-[아미노(n-부티르산)]벤질에스테르

단계 F에서 수득된 히스티딘-스타틴-이소로이신-[아미노(n-부티르산)]벤질에스테르 디하이드로클로라이드(328mg, 0.487밀리몰), N-메틸 몰폴린(0.128ml, 1.17밀리몰), N-(3급-부틸옥시카보닐)-L-페닐알라닌(155mg, 0.585밀리몰), N-하이드록시 벤조트리아졸(79mg, 0.585밀리몰) 및 디사이클로헥실 카보디이미드(121mg, 0.585밀리몰)를 0℃에서 연속적으로 염화메틸렌 20ml에 용해시키고, 생성된 용액을 20℃에서 19시간동안 교반시킨다. 그후 반응혼합물을 끝처리하고, 단계 C와 같이 크로마토그래피시켜 정제된 생성물 324mg(¹H NMR, CDCl₃, 1.5델타, 9H s[BOC])을 수득한다.

표제화합물

메탄올 5ml중 단계 G로부터의 [N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌]-히스티딘-스타틴-이소로이신-[아미노(n-부티르산)]벤질에스테르 용액(324mg, 0.38밀리몰)을 20% Pd(OH)₂ /C 촉매를 사용하여 1시간동안 H₂ 50psi 및 실온에서 수소화시킨다. 이어서 반응혼합물을 여과하여 촉매를 제거하고 부유물을 증발건조시킨다. 생성된 잔류물을 에테르로 연마한 후, 190mg의 순수한 [N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌]-히스티딘-스타틴-이소로이신-[아미노(n-부티르산)]을 흰색 분말로 수득한다(¹H NMR, CDCl₃, 1.5델타, 9H s[BOC]).

[실시예 4]

[N-(3급-부틸옥시카보닐)-Phe]-His-Sta-[아미노(4-이급부틸-부티르산)]

A. N-(3급-부틸옥시카보닐)-이소로이시날

톨루엔 100ml 중 N-(3급-부틸옥시카보닐)-엘-이소로이신 메틸 에스테르(10.0, 40.7밀리몰) 용액을 -75℃로 냉각시킨 후 반응온도가 -65℃ 미만으로 유지되도록 톨루엔중 1M 디이소부틸 알루미늄 히드라이드 102ml로 적가처리시킨다. 첨가가 완결된 후, 반응물을 -75℃에서 10분 동안 교반시킨후 -65℃ 이하로 유지시키면서 메탄올 10ml로 서서히 냉각시킨다. 반응용액을 로셀(Rochelle)염의 차가운 포화수용액 200ml 중에 붓는다. 생성된 혼합물에 에테르를 붓고 한시간 동안 교반한 후 유기층이 분리된 후 염수로 세척하고 무수 Na₂SO₄ 상에 건조시키고 여과하며 증발 건조시켜 조생성물 7.0g(¹H NMR, CDCl₃, 1.5델타, 9H s[BOC])을 수득하며, 이는 정제않고 다음 단계에서 사용한다.

B. 에틸 엘-(4-아미노-4-2급 부틸-부티레이트) 하이드로클로라이드

단계 A로부터 N-(3급-부틸옥시카보닐)-이소로이시날(1g, 4.6밀리몰) 및 카베톡시 메틸렌 트리페닐포스포란(1.93g, 5.56밀리몰)을 클로로포름 50ml 중에 용해시키고 생성된 용액을 20℃에서 48시간 동안 방치한다. 반응혼합물을 증발 건조시킨후 크로마토그래피(실리카겔, CHCl₃)로 정제하여 1g의 에틸

엘-[4-(3급-부틸옥시카보닐아미노)-4-2급부틸-델타-2-부티레이트]를 오일로서 수득한다(¹H NMR, CDCl₃, 4.2델타, 2H s[에틸 HC₂]), 이어서 에틸 엘-4-(3급-부틸옥시카보닐아미노)-4-2급부틸 델타-2-부티레이트(300mg, 1.05밀리몰)를 약 2시간 동안 20℃ 및 H₂ 50psi에서 20% Pd(OH₂)/C촉매-함유 메탄올 중에서 수소화시킨다. 이어서 반응혼합물을 여과하여 촉매를 제거하고 여과물을 회전증발기 중에서 농축시켜 300mg의 조 에틸 엘-[4-(3급-부틸옥시카보닐아미노)-4-2급부틸-부티레이트]을 오일로서 수득한다(¹H NMR, CDCl₃, 4.2델타, 2H s[에틸 CH₂]), 이어서 에틸 엘-[4-(3급-부틸옥시카보닐아미노)-4-2급부틸-부티레이트](300mg)를 3.7N HCl/디옥산 4ml중에 용해시키고 생성된 용액을 한시간 동안 20℃에서 교반한다. 이어서 반응혼합물을 증발 건조하여 231mg 조 생성물(다음 단계에서 정제않고 사용함)을 포말로서 수득한다(¹H NMR, CDCl₃, 4.2델타, 2H s[에틸 CH₂]).

C. [N-(3급-부틸옥시카보닐)-스타틴]-[아미노(4-2급부틸-부티르산)]에틸 에스테르

N-(3급-부틸옥시카보닐)-스타틴(286mg, 1.04밀리몰), B단계로부터의 에틸 엘-(4-아미노-4-2급부틸-부티레이트)히드로클로라이드(232mg, 1.04밀리몰), N-하이드록시-벤조트리아졸(141mg, 1.04밀리몰), N-메틸-모르폴린(105mg, 1.04밀리몰) 및 디시클로헥실카보디이미드(215mg, 1.04밀리몰)를 순서대로 0℃에서 염화메틸렌 15ml에 첨가하고 생성된 용액을 여과한 후 부유물을 증발 건조시킨다. ¹ 잔류물을 크로마토그래피(실리카겔, CHCl₃ /EtOAc구배)하여 정제된 생성물 400mg을 수득한다(¹H NMR, CDCl₃, 1.5델타, 9H s[BOC]).

D내지 G[N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌]-히스티딘-스타틴-[아미노(4-2급부틸-부티르산)]에틸 에스테르

실시예 3의 D 내지 G단계에서 기술한 방법과 같이, C단계로부터의 [N-(3급-부틸옥시카보닐)-스타틴]-[아미노(4-2급부틸-부티르산)]에틸 에스테르(400mg, 0.94밀리몰)를 정제된 [N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌]-히스티딘-스타틴-[아미노(4-2급부틸-부티르산)]에틸 에스테르로 전환시킨다(211mg, ¹H NMR, CDCl₃, 1.5델타, 9H s[BOC]).

H. 표제화합물

디메톡시에탄 5ml 중 G단계로부터의 [N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌]-히스티딘-스타틴-[아미노(4-2급부틸-부티르산)]에틸 에스테르(200mg, 0.274밀리몰)를 0.3ml의 1N 수성 NaOH로 처리하고, 생성된 혼합물을 20℃에서 3시간동안 교반시킨다. 0.3ml의 1N 수성 NaOH를 이어서 더 첨가하고 반응혼합물을 20℃에서 한시간 더 교반시킨다. 이어서 반응혼합물을 회전 증발기중에서 농축시켜 디메톡시에탄을 제거하고 에틸 아세테이트로 처리한 후 5% 수성 HCl로 pH 2로 조정한다. 유기층을 분리하고 염수로 세척하여 여과하고 무수 MgSO₄ 상에 건조하여 하얀 고체로 농축하며 에테르로 연마하여 3mg의 정제된 [N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌]-히스티딘-스타틴-[아미노(4-2급부틸-부티르산)]을 수득한다(¹H NMR, CDCl₃, 1.5델타, 9H s[BOC]). 에테르로 연마시켜 35mg의 정제된 [N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌]-히스티딘-스타틴-[아미노(4-2급부틸-부티르산)](¹H NMR, CDCl₃, 1.5델타, 9H s[BOC])을 수득한다.

실시예 5

[N-3급-부틸옥시카보닐)-Phe]-His-아미노스타틴-Ile-Phe 디아세테이트

A. 에틸 4(s)-(3급-부틸옥시카보닐아미노)-3(s)-아지도-6-메틸헵타노에이트 및 에틸 4(s)-(3급-부틸옥시-카보닐아미노)-6-메틸-트랜스-2-헵테노에이트

염화메틸렌(200ml)중 3-에피-N-(3급-부틸옥시카보닐)-스타틴(7.6g, 25.05밀리몰) 및 트리에틸-아민(2.7g, 27.55밀리몰)의 혼합물을 0℃에서 3.15g(27.55밀리몰)의 메탄설포닐 클로라이드로 적가 처리한다. 생성된 혼합물을 0℃에서 1시간동안 교반시키고 1시간이상에 걸쳐 실온으로 가온한 다음 1N HCl 수용액(2×200ml)으로 세척하고 이어서 NaHCO₃ 포화수용액(1×200ml)으로 세척한다. 유기층을

MgSO₄ 상에서 건조시키고 증발시켜 9.75g의 황색 오일을 수득한다. N, N-디메틸포름아미드(150ml)중의 이 오일 용액을 나트륨아지드(2.45g, 37.7밀리몰)로 처리한 다음 생성된 혼합물을 60℃에서 4시간 동안 가열한다. 다음에 고도의 진공하에서 용매를 제거하고 잔사를 500ml의 H₂O로 희석한 후 에테르(2×150ml)로 추출한다. 에테르 추출물을 합쳐서 염수(1×100ml)로 세척하고 건조(MgSO₄) 증발시켜 6.6g의 연황색 오일을 수득한다. hexan중 25 내지 30% 에테르를 용출제로 사용하여 섬광 크로마토그래피시켜 오일을 분리함으로써 334mg(수율 4%)의 에틸 4(s)-(3급-부틸옥시카보닐아미노)-3(s)-아지도-6-메틸헵타노에이트 오일

[Rf=0.62(에테르-hexan 1 : 1중)]

¹H-NMR(CDCl₃) : 델타 0.95(d, J=6.6H), 1.30(t, J=7.3H), 1.47(s, 9H), 2.58(d, J=7.2H), 4.17(g, J=7.2H), 4.53(broad d, 1H) ; ¹³C-NMR(CDCl₃) : 델타 14.2, 22.2, 23.0, 24.9, 28.4, 37.2, 42.4, 51.6, 61.1, 62.8, 79.6, 155.8, 171.0 ; IR(CHCl₃) : 3473, 2102cm⁻¹] 및 보다 극성인 크로마토그래피 분획에서는 정치함에 따라 결정화되는 4.9g의 맑은 오일(Rf=0.55 에테르-hexan 1 : 1 중)을 수득한다. 빙냉 hexan중에서 연마시켜 3.78g(수율 53%)의 에틸 4(s)-(3급-부틸옥시카보닐 아미노)-6-메틸-트랜스-2-헵타노에이트를 보풀보풀한 백색고체로 수득한다.

[융점 56-58 ° ; ¹H-NMR(CDCl₃) : 델타 0.93(d, J=6.6H), 1.30(t, J=7.3H), 1.47(s, 9H), 4.18(q, J=7.2H), 5.9(dd, J=15.1, 1H), 6.83(dd, J=15.5, 1H) ; IR(KBr) : 3350, 3307, 1720, 1701, 1684, 1659cm⁻¹].

B(1) 에틸 4(s)-(3급-부틸옥시카보닐아미노)-6-메틸-트랜스-2-헵타노에이트로부터 에틸 3-벤질아미노-4-(3급-부틸옥시카보닐아미노)-3,4(s,s)-6-메틸헵타노-에이트의 제조.

에틸 4(s)-(3급-부틸옥시카보닐아미노)-6-메틸-트랜스-2-헵타노에이트(3.52g, 12.35밀리몰), 벤질아민(3.97g, 37.0밀리몰) 및 무수 EtOH(90ml)의 혼합물을 58℃에서 7일간 가열한다. 다음에 반응혼합물을 증발시키고 hexan중 10내지 15% 에틸 아세테이트를 용출제로 사용하여 섬광 크로마토그래피시켜 분리한다. 극성이 적은 분획을 오일상태의 생성물로 963mg(수율 20%) 수득한다.

[Rf=0.32(hexan중 25% EtOAc) :

¹H-NMR(CDCl₃) : 델타 0.97(d, J=5.6H), 1.25(t, 3H, J=7), 1.45(s, 9H), 2.43(m, 2H), 3.32d(m, 1H), 3.77(s, 2H), 4.10(q, 2H, J=7), 4.65(d, 1H, J=9), 7.22(s, 5H) ; IR(CHCl₃) : 3433,

1720(shoulder), 1709cm⁻¹ ; 질량 스펙트럼 m/e 393(M⁺+1), 319, 206(기저), 91].

B(2) 에틸 4(s)-(3급-부틸옥시카보닐아미노)-3(s)-아지도-6-메틸헵타노에이트로부터 에틸 3-벤질아미노-4-(3급-부틸옥시카보닐아미노)-3,4(s,s)-6-메틸헵타노-에이트의 제조.

5ml의 아세트산 : 에탄올 1 : 1중 에틸 4(s)-(3급-부틸옥시카보닐아미노)-3(s)-아지도-6-메틸헵타노-에이트(120mg, 0.36밀리몰)용액에 20mg의 10%Pd/c촉매를 가한 다음 생성된 혼합물을 실온 및 1기압의 H₂ 하에서 3시간 동안 수소화시킨다. 여과에 의해 촉매를 제거한 후 반응 혼합물을 에탄올 공비중류 사용하여 감압하에 잔사성 오일로 증발시킨다. 다음에 이 오일(136mg)을 3ml의 메탄올에 용해시킨 후 실온에서 37 μl(38.2mg, 0.36밀리몰)의 벤즈알데히드로 처리하고 이어서 0℃에서 34mg(54밀리몰)의 NaCNH₃로 처리한다. 반응혼합물로 0℃에서 0.5시간 동안 교반시킨 후 실온으로 가온하고 H₂O 및 NaHCO₃ 포화수용액으로 희석한다. 오일상 침전이 생성되면 메틸렌클로라이드로 추출한다. 생성된 유기층을 건조(MgSO₄) 증발시켜 오일성 잔사를 수득한다. 오일성 잔사를 TLC하면 에틸 3-벤질아미노-4-(3급-부틸옥시카보닐아미노)-3,4(s,s)-6-메틸헵타노-에이트에 상응하는 한가지의 에피머만이 확인된다.

이 오일성 잔사를 10 내지 15%의 에틸 아세테이트 : hexan용출제로 사용하여 섬광 크로마토그래피시켜 정제하면 68mg의 생성물이 수득되며 이를 NMR 및 TLC 분석하면 단계 B(1)에서 제조된 물질과 동일함이 확인된다.

C. 3-벤질옥시카보닐아미노-4-(3급-부틸옥시카보닐아미노)-3,4(s,s)-6-메틸헵타노 산

12ml의 아세트산 : 에탄올, 1 : 1에 단계 B(1)에서 수득된 에틸 3-벤질아미노-4-(3급-부틸-옥시카보닐아미노)-3,4-(s,s)-6-메틸헵타노에이트(530mg, 1.35밀리몰)를 용해시킨 용액에 60mg의 10% Pd/c 촉매를 가한 다음 생성된 혼합물을 실온 및 50psi의 H₂ 하에서 3시간 동안 수소화시킨다. 여과시켜 촉매를 제거한 다음 여액을 오일로 농축시키고 10ml의 디옥산 및 10ml의 H₂O 혼합물에 이 오일을 가한다. 중탄산나트륨(고체)을 반응혼합물에 가한 다음, 벤질옥시카보닐 클로라이드(chemalog) 289 μl(345mg, 2.025mmol)을 가한다. 중탄산나트륨(고체)으로 pH를 8에서 유지하면서 생성된 혼합물을 실온에서 1.5시간 동안 교반한다. 침전을 용해시킬 필요가 있을 때 1N 수산화나트륨 수용액 4ml와 물-디옥산을 가하여 혼합물을 pH 12.5에서 4시간 동안 더 교반한다. 그후, 0℃에서 1N 수성 염산에서 혼합물을 중화시키고, 감압하에서 디옥산을 제거한다. 물 50ml로 잔사를 희석시킨 다음, 에틸 아세테이트로 추출(2×50ml)한다. 혼합된 에틸 아세테이트 추출물을 황산마그네슘으로 건조시킨 다음, 오일 588mg을 수득하고, 용출제로서 트리클로로메탄 중의 3% 메탄올을 사용하여 섬광크로마토그래피로 정제함으로써 오일형태의 생성물을 288mg 수득한다(수율41%) [¹H-NMR(DMSO d⁶, 250MHz) : 델타 0.81(d, J=7.3H), 0.86(d, J=7.3H), 1.38(s, 9H), 2.2 내지 2.4(m, 2H), 5.02(AB패턴의 도심, J=13, 2H), 6.8(d, J=9.1H), 7.05(d, J=9.1H), 7.30(s, 9H) ; 질량스펙트럼 : m/e 186, 130, 91, 86(베이스

스]].

D. 이소로이신-페닐알라닌 벤질 에스테르 하이드로클로라이드

염화메틸렌 500ml에 N-(3급-부틸옥시카보닐)-L-이소로이신 헤미하이드레이트(Chemalog) 14.05g(58.5밀리몰)이 용해되어 있는 용액을 황산마그네슘으로 건조시킨 다음, 여과하고, N-메틸-모르폴린 6.43ml(5.92g, 58.5밀리몰)로 처리한다. 생성된 혼합물을 -16℃까지 냉각시킨 다음, 발열반응의 온도가 -10℃를 초과하지 않는 속도로 이소부틸클로로포름에이트 7.59ml(7.99g, 58.5밀리몰)로 처리한다. 적가를 완결하고, 10분 동안 추가로 교반한 다음, 염화메틸렌 50ml에-L-페닐알라닌 벤질 에스테르 P-톨루엔설포네이트 24.8g(58.0밀리몰)과 N-메틸-모르폴린 6.43ml(5.92g, 58.5밀리몰)이 용해되어 있는 용액을 발열반응의 온도가 -10℃를 초과하지 않는 속도로 반응혼합물에 적가한다. 적가를 완결하였을 때, 반응혼합물을 1시간에 걸쳐 실온으로 가온한 다음 5% 염산수용액(2×300ml)과 10% 탄산칼륨 수용액(2×300ml)으로 세척한다. 생성된 유기층을 황산마그네슘으로 건조시킨 다음, 증발시켜 백색 고체를 27.40g 수득한다. 핵산에서 연마시켜 24.97g의 정제된 [N-(3급-부틸옥시카보닐)-L-이소로이신]-L-페닐알라닌 벤질 에스테르를 수득한다 [수율 42%; 융점 131 내지 132℃, 에테르 : 에틸 아세테이트(1:1)에서의 Rf=0.43, ¹N-NMR(CDCI₃) 델타 : 0.78 내지 0.9(broad d, 6H), 1.43(s, 9H), 3.08(d, J=6), 3.87(dd, J=5, 9, 1H), 4.75 내지 5.1(m, 1H), 5.06(s, 2H), 6.3(d, J=9, 1H), 7.0 내지 7.3(m, 1H)]. 디옥산중 4N 염산 125ml에 [N-(3급-부틸옥시카보닐)-L-이소로이신]-L-페닐알라닌 벤질 에스테르 12.50g(25.7밀리몰)이 용해되어 있는 용액을 염화칼슘 튜브를 사용하여 대기습기로부터 보호하면서 실온에서 2시간동안 교반한다. 그후, 감압하에 용매를 제거하고, 잔사를 에테르로 연마하여 11.16g의 생성물을 백색고체로서 수득한다[융점 178 내지 179.5℃, (분해) ; BuOH-H₂O-AcOH(4:1:1)에서의 Rf=0.73 ; ¹H-NMR(CD₃OD) 델타 : 0.9 내지 1.1(m, 6H), 3.1 내지 3.0(m, 2H), 3.73(d, J=5, 1H), 5.08(s, 1H), 7.18(s, 5H), 7.24(s, 5H)].

E. [N-감마-(3급-부틸옥시카보닐)-벤질옥시카보닐-아미노스타틴]-이소로이신 -페닐알라닌 벤질 에스테르

10ml의 염화메틸렌 중의 이소로이신-페닐알라닌벤질 에스테르 하이드로클로라이드(412mg, 1.02밀리몰)용액을 142 μl의 트리에틸아민(103mg, 1.02밀리몰)로 0℃에서 중화시킨다. 3-벤질옥시카보닐아미노-4-(3급-부틸옥시카보닐아미노)-3,4(s,s)-b-메틸헵타노산(416mg, 1.02밀리몰)과 N-하이드록시벤조트리아졸(205mg, 1.52밀리몰)을 0℃에서의 상기의 용액에 가한다. 최종적으로, 5ml의 염화메틸렌 중 디사이클로헥실-카보디이미드(210mg, 1.02밀리몰)용액을 0℃에서 가한다. 이어서, 반응혼합물 0℃에서 3시간 동안 교반하고, 실온으로 가온하면서 16시간 동안 더 교반한다. 그후, 감압하에 용매를 제거하고, 에틸 아세테이트 75ml 속에서 잔사를 교반한다. 생성된 혼합물을 여과하여 고체를 제거하고, 10% 시트르산 수용액(1×75ml)과 중탄산나트륨 포화수용액(1×75ml)으로 여과물을 세정한 다음, 황산마그네슘으로, 건조시키고, 증발시켜 고체(217mg)를 수득한다. 이 고체를 에틸 아세테이트 혼합물에서 여과한 고체(선행문장 참조)와 혼합한다. 생성물과 디사이클로헥실우레아의 혼합물인 혼합된 고체(1.043g)를 정제하지 않고 다음 단계에서 사용한다.

F. 벤질옥시카보닐아미노스타틴-이소로이신-페닐알라닌 벤질 에스테르 하이드로클로라이드

E단계에서 수득한 [N-감마-(3급-부틸옥시카보닐)-벤질옥시카보닐아미노스타틴]-이소로이신-페닐알라닌 벤질 에스테르 조생성물(1.043g)을 염화칼슘 튜브로 대기수분으로부터 보호하면서 4N 염산과 디옥산 25ml 속에서 1시간 동안 실온에서 교반한다. 감압하에 용매를 제거하고(메틸렌 클로라이드 및 에테르의 공비혼합물을 사용하여), 에테르 중에서 연마하여 생성물과 디사이클로헥실우레아의 혼합물인 963mg의 조 고체를 수득한다. 이 조 고체는 정제하지 않고 다음 단계에 사용한다.

G. [N-알파-(3급-부틸옥시카보닐)-N-임-(3급-부틸옥시카보닐)-히스티딘]-벤질옥시카보닐아미노스타틴-이소로이신-페닐알라닌 벤질 에스테르

20ml의 염화메틸렌중의 단계 F에서 수득한 조 벤질옥시카보닐 아미노-스타틴-이소로이신-페닐알라닌 벤질 에스테르 염산염(963mg)의 현탁액을 0℃에서 177 μl의 트리에틸아민(128mg, 1.02밀리몰)을 사용하여 중화시킨다. 이 현탁액에 N-α-(3급-부틸옥시카보닐)-N-임-(3급-부틸옥시카보닐)-L-히스티딘(542mg, 1.53밀리몰) 및 N-히드록시벤조트리아졸(206mg, 1.53밀리몰)을 0℃에서 가한다. 최종으로 1ml의 염화메틸렌중의 디사이클로헥실 카보디이미드(315mg, 1.53밀리몰)용액을 0℃에서 가한다. 반응혼합물을 0℃에서 3시간동안 교반시킨 다음 실온에서 16시간동안 더 교반시킨다. 감압하에 용매의 약 1/2를 제거하고 잔류물을 125ml의 에틸아세테이트 중에서 교반시킨다. 생성되는 혼합물을 여과하여 고체 성분을 제거하고, 여액을 10% 시트르산 수용액(2×100ml) 및 NaHCO₃ 포화수용액(1×100ml)으로 세척한 다음 건조(MgSO₄)시키고 증발시켜 920mg의 고체를 수득한다. 이 고체를 용출제로서 CHCl₃ 중의 0.5 내지 0.75% MeOH를 사용하는 섬광 크로마토그래피로 정제하여, 정제된 고체생성물 221mg을 수득하였다. 이 고체를 생성물과 디사이클로헥실우레아가 함유된 에틸 아세테이트 혼합물로부터 여과한다. 상기 고체중의 디사이클로헥실우레아의 대부분은 고체를 100ml의 염화메틸렌중에서 연마(격렬하게 교반시키며)시킨 후 여과하면 생성물로부터 분리된다. 여액을 농축시키고(1.1g) 상기와 같이 크로마토그래피하여 401mg의 생성물을 더 수득한다. 정제된 고체 생성물을 합하여 에테르 중에서 연마하여 592mg의 박편상 백색 고체를 수득한다[수율 58%, 융점 229 내지 231℃ ; Rf=0.22, CHCl₃ 중의 2.5% MeOH에서 ;

¹H-NMR(CDCI₃, 250MHz) : 델타 0.6~0.85(m, 12H), 1.42(s, 9H), 1.58(s, 9H), 2.42(ABX의 AB형 중심) 2H, J_{AB}=14, J_{AX}=5, J_{AX}=10), 2.94(d, J=5, 2H), 3.13(d, J=6, 2H), 3.55~3.7(m, 1H), 4.1~4.3(m, 3H), 4.98(q, J=7, 1H), 5.2~5.5(m, 4H), 6.10(d, J=7, 1H), 6.37(br, d, 1H), 6.80(d, 1H, J=8), 7.0~7.4(m, 17H), 7.5(br., 1H), 8.00(s, 1H)].

H. 히스티딘-벤질옥시카보닐아미노스타틴-이소로이신-페닐알라닌 벤질 에스테르 하이드로클로라이드

디옥산 중의 4N HCl 7ml 중의 204mg의 [N-알파-(3급-부틸옥시카보닐)-N-임-(3급-부틸옥시카보닐)-히스티딘]-벤질옥시-카보닐아미노스타틴-이소로이신-페닐알라닌 벤질 에스테르 용액을 CaCl_2 튜브로 대기의 수분을 차단시키며 실온에서 5시간동안 교반시킨다. 감압하에(염화메틸렌 및 에테르 공비를 사용하여) 용매를 제거하여 백색분말의 생성물 153mg을 수득한다.

[수율 86% ; 융점 154~157°C ; $R_f=0.55$ 부틸알코올 ; H_2O ; 아세트산(4 : 1 : 1)중에서 ;

$^1\text{H-NMR}(\text{CD}_3\text{OD})$: 델타 1.05~1.1(m, 12H), 2.3~2.5(m, 2H), 3.1(d, $J=8.2\text{H}$), 5.08(s, 4H), 7.18(s, 5H), 7.30(s, 10H), 7.53(s, 1H), 8.83(s, 1H)].

I. [N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌]-히스티딘-벤질옥시카보닐아미노스타틴-이소로이신-페닐알라닌 벤질 에스테르

5ml의 디메틸 포름아미드 중의 히스티딘-벤질옥시카보닐아미노스타틴-이소로이신-페닐알라닌 벤질 에스테르 하이드로클로라이드(306mg, 0.352밀리몰)의 용액을 0°C에서 123 μl 의 트리에틸아민(88mg, 0.879밀리몰)로 중화시킨다. 이 용액에 N-(3급-부틸옥시카보닐)-L-페닐알라닌(103mg, 0.387밀리몰) 및 N-히드록시벤조트리아졸(79mg, 0.580밀리몰)을 0°C에서 가한다. 최종적으로, 1.5ml의 디메틸포름아미드중의 디사이클로헥실카보디이미드(980mg, 0.387밀리몰)용액을 0°C에서 가한다. 반응혼합물을 0°C에서 3시간 동안 교반시킨 후 실온에서 16시간동안 더 교반시킨다. 용매를 진공중에 제거하고, 잔류물을 50ml의 에틸 아세테이트 중에서 교반시켜 생성되는 혼합물을 여과하여 고형분을 제거한다. 여액으로부터 용매를 제거하고 잔류물을 염화메틸렌(50ml) 중에서 교반시켜 생성되는 혼합물을 여과하여 두번째 고형분을 제거한다. 두번째 여과한 여액을 농축시키고 잔류물을 50ml의 에틸 아세테이트에 용해시켜 생성되는 용액을 10% 시트르산 수용액($2 \times 40\text{ml}$) 및 NaHCO_3 포화수용액($2 \times 40\text{ml}$)로 세척한다. 유기층을 건조(MgSO_4)시키고 농축시켜 고체(153mg)를 수득한다. 이 고체와 에틸 아세테이트 및 염화메틸렌 연마로부터의 고체를 합하고 용출제로서 클로로포름 중의 2 내지 3% 메탄올을 사용하는 성광 크로마토그래피로 정제하여 고형분 261mg을 수득한다. 에테르 중에 이 고체를 분쇄하여 유리상 고체로서 생성물 218mg을 수득한다[59%수율 ; 융점 228 내지 229°C ; 클로로포름 중의 5% MeOH $R_f=0.25$; $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3, 250\text{MHz})$: 델타 0.6~0.8(m, 12H), 1.26(s, 9H), 2.38(broad d, 2H), 2.8~3.0(m, 2H), 3.15~3.4(m, 4H), 4.1~4.0(m, 1H), 4.1~4.2(m, 1H), 4.2~4.4(m, 2H), 4.6(broad d, 1H), 4.9~5.2(m, 6H), 5.9~6.1(m, 1H), 6.78(s, 1H), 7.2~7.4(m, 22H), 7.49(s, 1H)].

J. 표제화합물

아세트산 : 에탄올(1:1) 5ml중의 [N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌]-히스티딘 벤질옥시카보닐-아미노스타틴-이소로이신-페닐알라닌 벤질 에스테르(24mg, 0.023밀리몰)의 용액에 10%Pd/c촉매(12mg)를 첨가하고, 생성혼합물을 실온 및 40psi H_2 에서 3시간 동안 수소화시킨다. 반응혼합물을 여과하여 촉매를 제거하고 여액을 잔류물로 농축시킨다. 잔류를 에테르 중에서 분쇄하여, [N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌]-히스티딘-아미노스타틴-이소로이신-페닐알라닌 디아세테이트 17mg을 백색 분말로 수득한다[융점 155내지 159°C ; n-부틸 알코올 ; H_2O ; 아세트산(4 : 1 : 1)중에서 $R_f=0.58$;

$^1\text{H-NMR}(\text{CD}_2\text{CD}_2\text{D } 250\text{MHz})$: 델타 0.7~1.0(m, 2H), 1.33(s, 9H), 2.7~2.9(m, 2H), 3.0~3.6(m, 6H), 3.6~3.9(m, 1H), 4.15~4.30(m, 2H), 4.8~4.95(m, 2H), 7.1~7.4(m, 10H), 7.38(s, 1H), 8.78(s, 1H)].

[실시예 6]

[N-(3급-부틸옥시카보닐-Phe)-His-Sta-Ala-Glu 디벤질 에스테르

A. [N-(3급-부틸옥시카보닐)-알라닌]-스타틴-글루탐산 디벤질 에스테르

N-히드록시벤조트리아졸(324mg, 2.4밀리몰), N-메틸-모르폴린(202mg, 2밀리몰), L-글루탐산 디벤질 에스테르 P-톨루엔설포네이트(995mg, 2밀리몰), N-(3급-부틸옥시카보닐)-스타틴(660mg, 2.4밀리몰) 및 1-사이클로헥실-3-(2-모르폴리노에틸)-카보디이미드 메토 P-톨루엔설포네이트(1271mg, 80%순수, 2.4밀리몰)를 0°C에서 염화메틸렌(100ml) 중에 연속 용해시키고 생성용액을 20°C에서 19시간동안 교반시킨다. 반응혼합물을, 5.5% 수성 HCl, NaHCO_3 수용액 및 염수로 순서대로 세척하고, 무수 MgSO_4 상에서 건조시킨다. 여과 및 증발후, 1,269g의 조[N-(3급-부틸옥시카보닐)-스타틴]글루탐산 디벤질 에스테르를 오일상으로 수득한다($^1\text{H NMR CDCl}_3$, 5.2델타, 2H s[벤질 CH_2])). 이 오일(1,269g)을 3.7N HCl/디옥산 10ml 중에 용해시키고 생성용액을 실온에서 1시간동안 정치시킨다. 그다음, 용액을 고진 공하에서 잔류물로 증발시킨 다음, 에테르 중에서 연마하고 질소로 건조시켜, 900mg의 스타틴-글루탐산 디벤질 에스테르 하이드로클로라이드를 포말로 수득한다($^1\text{H NMR, CDCl}_3$, 5.2델타, 2H s[벤질 CH_2])). N-하이드록시 벤조트리아졸(186mg, 1.38밀리몰), N-메틸모르폴린(116mg, 1.15밀리몰), 상기에서 형성된 스타틴-글루탐산 디벤질 에스테르 하이드로클로라이드 포말의 일정량(600mg, 1.15밀리몰), N-(3급-부틸옥시카보닐)-L-알라닌(261mg, 1.38밀리몰) 및 1-사이클로헥실-3-(2-모르폴리노에틸)-카보디이미드 메토 P-톨루엔설포네이트(732mg, 80%순수, 1.38밀리몰)를 0°C에서 염화메틸렌(60ml) 중에 순서대로 용해시키고 생성용액을 20°C에서 19시간 동안 교반시킨다. 그다음, 반응혼합물을 5.5% 수성 HCl, NaHCO_3 포화수용액 및 염수로 연속적으로 세척하고 무수 MgSO_4 상에서 건조시킨다. 여과 및 증발 후, 743mg의 조 생성물을 포말로 수득한다($^1\text{H NMR, CDCl}_3$, 5.2델타, 2H s[벤질

CH₂)).

B 내지 G. 표제화합물

실시에 1의 B 내지 G단계에 기술된 것과 유사한 방법으로, 단계 A로부터의 [N-(3급-부틸옥시카보닐)-알라닌]-스타틴-글루탐산 디벤질 에스테르(743mg)을 [N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌]-히스티딘-스타틴-알라닌-스타틴-글루탐산 디벤질 에스테르(300mg, 포말, ¹H NMR, CDCl₃, 5.2델타, 2H s [벤질 CH₂])로 전환시킨다. 탈차단(deblocking) 단계에서 각기 증발 건조시킨 후 에테르로 연마시킨다. 단계 E의 최종점에서, 조생성물 포말을 크로마토그래피(실리카겔, 95 : 5 CHCl₃/메탄올)로 정제하여, 정제된 포말을 수득한다. 비크로마토그래피 정제는 단계 G의 최종점에서 수행한다.

[실시에 7]

N-(3급-부틸옥시카보닐)-Phe]-His-Sta-Ala-Sta-Glu

[N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌]-히스티딘-스타틴-알라닌-스타틴-글루탐산 디벤질 에스테르 (90mg, 0.077밀리몰), 20% Pd(OH)₂/c 촉매(45mg) 및 메탄올(10ml)의 혼합물을 실온 및 50psi H₂에서 2시간 동안 수소화시킨다. 그다음 반응 혼합물을 여과시켜, 촉매를 제거하고 여액을 증발시켜 포말 (72mg)을 수득한다. 이 포말을 에테르로 연마하고 건조하여 정제된 [N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌]-히스티딘-스타틴-알라닌-스타틴-글루탐산 포말(51mg, 수율 72%, ¹H NMR, CDCl₃, 1.5델타, 9H s[BOC])을 수득한다.

[실시에 8]

[N-(3급-부틸옥시카보닐)-Phe]-His-Sta-[아미노(2-2급-부틸-에틸렌)]-Phe아세트산염

A. N-(3급-부틸옥시카보닐)-L-이소로이시날

염화메틸렌(210ml) 중의 L-이소로이신 메틸 에스테르(24.3g, 0.134밀리몰) 및 트리 에틸 아민 (13.5g, 0.134밀리몰)의 혼합물을 제조하고, 이 혼합물에 염화메틸렌(25ml)중의 디-3급-부틸디카보네이드(Aldrich 29.1g, 0.134밀리몰)의 용액을 0°C에서 적가한다. 적가가 완료된 후에, 혼합물을 밤새 실온으로 가온시키고, 이어서 여과한다. 여액을 H₂O(3×75ml), 0.1N HCl 수용액, H₂O(1×100ml) 및 NaHCO₃ 포화수용액(1×75ml)으로 연속 세척하고, MgSO₄ 상에서 건조시킨 다음 증발시켜, N-(3급-부틸-옥시카보닐)-L-이소로이신 메틸 에스테르를 오일상으로 수득한다[30.7g ; 수율 93% ; ¹H-NMR(CDCl₃) ; 델타 0.92(d, J=7.6H), 1.43(s, 9H) 3.70(s, 3H), 4.17(dd, J=5.9, 1H), 5.03(d, J=9.1H). 무수 톨루엔(260ml)중의 N-(3급-부틸옥시카보닐) L-이소로이신메틸 에스테르오일(15.0g, 61.1밀리몰)의 용액을 -78°C로 냉각시키고, 여기에 헥산(153ml)중의 디이소부틸 알루미늄 하이드라이드 1M용액을 발열반응의 온도가 -65°C를 초과하지 않도록 하는 속도로 적가시킨다. 적가 완료후에, -75°C에서 추가로 15분간 더 교반시킨 다음, 생성 혼합물을 15ml의 메탄올로 주의깊게 급냉시키고(혼합물의 온도가 -65°C를 초과하지 않도록 한다), 이어서 200ml의 로첼(Rochelle)염 용액으로 급냉시킨다. 실온으로 가온시킨 다음, 유기층을 분리하고, 에테르(3×200ml)로 추출하며, 알루미늄염을 용해시킬 필요가 있을 때에는 추가량의 로첼염용액을 첨가시킨다. 유기추출물을 혼합하여 NaSO₄ 상에서 건조시키고 증발시켜, 조생성물을 오일상으로 수득한다. 수득된 오일은 -78°C에서 보관하여 가능한 라세미화를 방지하고, 다음 단계에 정제시키지 않고 사용한다[132g ; 수율 98% ; 헥산중의 35%에테르에서 Rf=0.32 ; ¹H-NMR(CDCl₃) ; 델타 1.00(d, J=7.6H), 1.46(s, 9H), 9.65(s, 1H)].

B. [아미노(2-2급-부틸-에틸렌)]-페닐알라닌 벤질에스테르 디하이드로클로라이드

메탄올(150ml) 중의 N-(3급-부틸옥시카보닐)-L-이소로이시날(2.00g, 9.29밀리몰) 및 L-페닐알라닌 벤질에스테르 P-토실레이트(ChemaLog, 3.78g, 8.84밀리몰)의 혼합물을 실온에서 3응스트롬 분자체(ventron) 존재하에 35분간 교반시킨다. 이어서, 0.73g(11.6밀리몰)의 NaCNBH₃를 첨가시키고, 생성 혼합물을 실온에서 1시간 더 교반시킨다. 분자체를 여과제거하고, 여액을 농축하여 오일상 잔류물을 수득한 다음, NaHCO₃ 포화수용액으로 희석하고, 에테르로 2회 추출한다. 에테르 추출물을 모으고, Na₂SO₄ 상에서 건조하고 농축하여 오일을 수득한 다음, 용출제로 헥산중의 12% 에틸 아세테이트를 사용하여 섬광 크로마토그래피로 정제시켜, 1.69g의 [(3급-부틸옥시카보닐)아미노(2-2급-부틸-에틸렌)]-페닐알라닌 벤질 에스테르를 오일로 수득한다(수율 40% ; 헥산중의 25% 에틸 아세테이트에서 Rf=0.28). 오일을 정치하여 결정화시킨다[용점 53 ° ~55°C ; ¹H-NMR(CDCl₃) ; 델타 0.6~1.0(m, 6H), 1.48(s, 9H), 2.9(d, J=7.2H) 5.07(s, 2H), 7.17(s, 5H), 7.25(s, 5H)], 4N HCl/디옥산(110ml)중의 [(3급-부틸옥시카보닐)아미노(2-2급-부틸-에틸렌)]-페닐알라닌 벤질에스테르 (2.94g, 6.47밀리몰)의 용액을 제조하고, 실온에서 2시간 교반하고, CaCl₂ 튜브를 사용하여 대기로부터 보호한다. 이어서, 용매를 감압하에 에테르 공비 증류하여 제거하고, 잔사를 에테르로 연마하여, 백색 고체를 수득한다 [2.65g ; 탈차단 수율 95% ; 용점 183 ° ~184°C ; BuOH : H₂O : 아세트산(4 : 1 : 1)에서 Rf=0.73 ; ¹H-NMR(CD₃OD) : 델타 9.00(브로드 d, 6H), 5.13(s, 2H), 7.1~7.5(m, 10H)].

C. [N-(3급-부틸옥시카보닐)-스타틴]-[아미노(2-2급-부틸-에틸렌)]-(N-벤질옥시카보닐-페닐알라닌)벤질에스테르

염화메틸렌(40ml) 중의 [아미노(2-2급-부틸-에틸렌)]-페닐알라닌벤질에스테르 디하이드로클로라이드 (1.55g, 3.63밀리몰)의 현탁액을 0°C로 냉각시키고, 동일온도에서 트리에틸아민(0.808g, 7.99밀리몰)로 중화시킨다. 생성현탁액에 N-(3급-부틸옥시카보닐)-스타틴(1.00g, 3.63밀리몰) 및 N-

하이드록시 벤조트리아졸(0.74g, 5.45밀리몰)을 0℃에서 첨가시킨다. 이어서, 염화메틸렌(2ml)중의 디사이클로헥실-카보디이미드(0.75g, 3.63밀리몰)을 0℃에서 첨가한 다음, 생성혼합물을 0℃에서 3시간동안 교반시킨 다음 실온에서 16시간 더 교반시킨다. 생성된 침전물을 여과 제거하고, 여액을 농축시키고, 125ml의 에틸 아세테이트중에서 교반시킨다. 비용해된 고체를 여과한 후에 에틸 아세테이트층을 NaHCO₃ 포화수용액(135ml)으로 세척하고, NaSO₄ 상에서 건조한 다음, 증발시켜 포말을 수득한다. 생성된 포말을 용출제로서 헥산중의 35%에틸아세테이트를 사용하는 성광 크로마토그래피로 정제시켜 정제된 [N-(3급-부틸옥시카보닐)-스타틴]-[아미노(2-2급부틸-에틸렌)]-페닐알라닌 벤질에스테르 생성물을 포말로 수득한다. 1.96g ; 수율 88% ; 에틸아세테이트 : 헥산(1:1)에서 Rf=0.58 ; ¹H-NMR(CDCl₃) : 델타 0.6~1.1(m, 12H), 1.5(s, 9H), 4.88(d, J=9.1H), 5.06(s, 2H), 7.15(s, 5H), 7.25(s, 5H) ; 이렇게 하여 정제한 포말상의 [N-(3급-부틸옥시카보닐)-스타틴]-[아미노(2-2급부틸-에틸렌)] 페닐알라닌 벤질 에스테르(1.91g, 3.12밀리몰)를 디옥산(16ml)에 용해시켜 만든 용액을, NaHCO₃ 포화수용액을 사용하여 pH 8로 유지시키면서, 벤질옥시 카보닐클로라이드(Chemalog 67 μl, 0.80g, 4.68밀리몰)로 아실화시킨다. 출발물질이 완전히 소모되면(TLC로 확인), 디옥산을 감압하에 제거하고 그 잔류물을 H₂O로 희석한 다음, 에틸아세테이트로 추출한다. 이 에틸 아세테이트 추출물을 건조(MgSO₄) 및 증발시켜 얻은 포말상을 성광 크로마토그래피법으로 정제하여 백색포말상을 수득한다[2.06g ; Rf=에틸아세테이트 : 헥산(1:1)내에서 0.7 ; ¹H-NMR(CDCl₃) : 델타-. 6~1.0(m, 12H), 1.48(s, 9H), 7.0~7.4(m, 15H)].

D 내지 G[N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌] 히스타딘-스타틴-[아미노(2-2급부틸-에틸렌)]-[N-벤질옥시카보닐-페닐알라닌]벤질 에스테르

실시에 5의 단계 F 내지 I에서 기술한 바와 유사한 방법으로, 단계 C에서 수득한 정제한 [N-(3급-부틸옥시카보닐)-스타틴]-[아미노(2-2급부틸-에틸렌)]-(N-벤질옥시카보닐-페닐-알라닌)-벤질에스테르(2.03g, 2.72밀리몰)를 정제한 [N-(3급-부틸옥시 카보닐)-페닐-아닐린]-히스티딘-스타틴-[아미노(2-2급부틸-에틸렌)]-(N-벤질옥시카보닐-페닐알라닌)벤질 에스테르로 전환시킨다 [0.595 ; 포말상 ; Rf=클로로포름내의 5%메탄올에서 0.36 ; ¹H-NMR(CDCl₃) : 델타 0.6~1.0m 12H), 1.38(s, 9H), 6.75(s, 1H), 7.1~7.3(m, 2H), 7.38(s, 1H)].

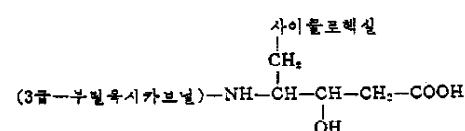
H. 표제화합물

10%Pd/c촉매(18mg)를 4ml의 에탄올 : 아세트산(1:1)내의 [N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌]-히스티딘-스타틴-[아미노(2-2급부틸-에틸렌)]-(N-벤질옥시카보닐-페닐알라닌)벤질에스테르(150mg, 0.150밀리몰)용액에 첨가하여 만든 혼합물을 실온 및 40psi H₂에서 12시간동안 수소화시킨다. 이 혼합물을 여과한 후 여과액을 농축시켜 얻은 고체상(128mg)을 에테르로 연마하여 정제된 [N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌]-히스티딘-스타틴-[아미노(2-2급부틸-에틸렌)]-페닐알라닌 아세트산염 고체생성물을 수득한다 [109mg ; 수득률 84% ; 융점 117~126℃ ; Rf=BuOH-H₂O-AcOH(4:1:1)내에서 0.57 ; ¹H-NMR(CD₃OD, 250Hz) : 델타 0.8~1.0(m, 12H), 1.36(s, 9H), 1.92(s, 6H), 2.2~2.45(m, 2H), 4.28(dd, J=9.4, 1H), 3.54(broad t, 1H), 6.92(s, 1H), 7.2~7.4(m, 10H), 7.63(s, 1H)].

[실시에 9]

[N-(3급-부틸옥시카보닐)-Phe]-His-사이클로스타틴-Lys-Phe

A. N-(3급-부틸옥시카보닐)-사이클로스타틴



빙초산(6.5ml) 및 10% Rh/c 촉매(1.5g)을 메탄올(200ml)내의 N-(3급-부틸옥시카보닐)-4(s)-아미노-3(s)-하이드록시-5-페닐펜타노산(10.02g, 9.70밀리몰)에 첨가하여 만든 혼합물을 실온 및 45psi H₂에서 8시간동안 수소화시킨다. 이 반응혼합물을 여과한 후, 여과액을 농축시켜 수득한 백색 고체상을 헥산내에서 연마하여 정제된 생성물을 수득한다[8.46g ; 수득률 : 83% ; 융점 109 내지 110℃ ; Rf=CHCl₃ : MeOH : 아세트산 18 : 2 : 1내에서 0.72 ; ¹H NMR(CDCl₃) : 1.45(s, 9H), 2.55(d, J=6, 2H).

B. 표제화합물

N-(3급-부틸옥시카보닐)-스타틴 대신에 N-(3급-부틸옥시카보닐)-사이클로스타틴을 사용하고 실시에 1에서 기술한 바와 유사한 방법을 수행하여, 표제화합물을 제조한다(¹ NMR, CD₃ OD 1.50델타, 9H s[B0C]).

실시에 10

[N-(3급-부틸옥시카보닐)-Pro]-Phe-His 사이클로스타틴-Lys-Phe

실시에 1중의 단계 A 내지 F에서 기술한 바와 유사한 방법으로 수행하되, N-(3급-부틸옥시카보닐)-스타틴 대신에 N-(3급-부틸옥시카보닐)-사이클로스타틴을 사용하여 히스티딘-사이클로스타틴-(N-엡실론-벤질옥시카보닐-리신)-페닐알라닌 벤질 에스테르 디하이드로클로라이드 화합물을 제조한다. 실

시에 1층의 단계 G에서 기술한 바와 유사한 방법을 수행하되, N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌 대신에 [N-(3급-부틸옥시카보닐)-프롤린-페닐알라닌(이것은 구입용이다)]과 실리카겔크로마토그래피 용출제로서 95 : 5 CHCl₃ : MeOH를 사용하여 표제화합물을 정제된 고체생성물로서 제조한다(¹H NMR, CD₃OD, 1.49델타, 9H s[BOC]).

[실시에 11]

[N-(3급-부틸옥시카보닐)-Phe]-His-사이클로스타틴-아미노(2-2급부틸-에틸렌)-Phe아세트산염

실시에 8에서 기술한 바와 유사한 방법을 수행하되, N-(3급-부틸옥시카보닐)-스타틴 대신에 N-(3급-부틸옥시카보닐)-사이클로스타틴을 사용하여 표제화합물을 제조한다. 융점 150 내지 163 ° (분해) ; Rf=부탄올 : 아세트산 : 물, 4 : 1 : 1(니하이드린)내에서 0.50 ; ¹H NMR(CD₃OD) : 0.6-2.4(m, 23H), 1.37(s, 9H), 7.1~7.4(11, H), 6.95(s, 1H), 7.70(s, 1H).

[실시에 12]

[N-(3급-부틸옥시카보닐)-Phe]-His-사이클로스타틴-Lys-Sta

N-(3급-부틸옥시카보닐)-스타틴 대신 N-(3급-부틸옥시카보닐)-사이클로스타틴을 사용하고 L-페닐알라닌 벤질 에스테르 P-톨루엔설포네이트 대신 스타틴벤질 에스테르 하이드로클로라이드를 사용하여, 실시에 1과 유사한 방법으로 표제화합물을 수득한다(¹H NMR, CD₃OD, 1.5델타, 9H s[BOC]).

[실시에 13]

[N-(3급-부틸옥시카보닐)-Phe]-His-사이클로스타틴-(3-메톡시카보닐-1,2,3,4-테트라하이드로-2-이소퀴놀린)

A. [N-(3급-부틸옥시카보닐)-사이클로스타틴-(3급-메톡시카보닐-1,2,3,4-테트라하이드로-2-이소퀴놀린)]

(N-엡실론-벤질옥시카보닐-리신)-페닐알라닌 벤질 에스테르 하이드로클로라이드 대신 3-메톡시카보닐-1,2,3,4-테트라하이드로-이소퀴놀린 하이드로클로라이드 (137mg, 0.60밀리몰) 및 N-(3급-부틸옥시카보닐)-스타틴 대신, N-(3급-부틸옥시카보닐)-사이클로스타틴(190mg, 0.60밀리몰)을 사용하여, 실시에 1의 단계와 유사한 방법으로, 포말상태의 화합물 [N-(3급-부틸옥시카보닐)-사이클로스타틴-(3-메톡시카보닐-1,2,3,4-테트라하이드로-2-이소퀴놀린)]을 수득하며(310mg, ¹H NMR, CDCl₃, 1.5델타, 9H s[BOC]) 이는 다음 단계에서 추가의 정제없이 사용한다.

B. 표제화합물

실시에 1에 D 내지 H단계와 유사한 방법으로 포말상태의 화합물 [N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌 히스티딘-사이클로스타틴(3-메톡시카보닐-1,2,3,4-테트라-하이드로-2-이소퀴놀린)] 391mg을 수득한다. 이 포말을 크로마토그래피(실리카겔, 클로로포름/메탄올구배)로서 정제하여 정제된 백색의 고체 138mg을 수득하였다.

[실시에 14 내지 18]

3-메톡시카보닐-1,2,3,4-테트라하이드로-이소퀴놀린 대신, 이소퀴놀린, 퀴놀린 및 피페리딘의 적절한 유도체를 사용하여 실시에 13과 유사한 방법으로 다음 화합물을 수득한다. [N-(3급-부틸옥시카보닐)-Phe]-His-사이클로스타틴-R¹

실시에	R ¹
14	1,2,3,4-테트라하이드로-2-이소퀴놀리닐
15	3-아미노카보닐-1,2,3,4-테트라하이드로-2-이소퀴놀리닐
16	1,2,3,4-테트라하이드로-1-퀴놀리닐
17	4-페닐메틸-1-피페리디닐
18	3-메톡시카보닐-1,2,3,4,5,6,7,8-데카하이드로-2-이소퀴놀리닐

[실시에 19]

[N-(3급-부틸옥시카보닐)-Pro]-Phe-His-사이클로스타틴-(1,2,3,4-테트라하이드로-2-이소퀴놀린)

N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌 대신 [N-(3급-부틸옥시카보닐)-프롤린]-페닐알라닌을 사용하여, 실시에 14와 유사한 방법으로 표제화합물을 수득한다.

[실시에 20]

[N-(3급-부틸옥시카보닐)-Phe]-His-사이클로스타틴 프롤린 메틸에스테르

A. [N-(3급-부틸옥시카보닐)-사이클로스타틴]-프롤린 메틸에스테르

(N-엡실론-벤질옥시카보닐-리신)-페닐알라닌-벤질 에스테르 하이드로클로라이드 대신 프롤린 메틸에스테르 하이드로클로라이드(1.65g, 10밀리몰) 및 N-(3급-부틸옥시카보닐)-스타틴 대신 N-(3급-부틸옥시카보닐)-사이클로스타틴(3.15g, 10밀리몰)을 사용하여, 실시에 1의 단계와 유사한 방법으로 백

색 고체 화합물인 [N-(3급-부틸옥시카보닐)-사이클로스타틴]-프롤린메틸 에스테르를 수득한다.

B. 표제화합물

실시에 1의 단계 D 내지 H와 유사한 방법으로 [N-(3급-부틸옥시카보닐)-페닐알라닌]-히스티딘-사이클로스타틴-프롤린 메틸 에스테르를 제조한다.

[실시에 21]

시험관내에서 레닌의 안지오텐시노겐-분해 활성의 억제

혈장을 건강한 연구소 직원으로부터 채취하여, 필요할 때까지 냉동 저장한다. 사용하기 전, 다량의 혈장을 녹여서 원심분리시키고, 상등액을 프로테아제 억제제와 혼합하고 pH 7.4로 완충화한다. 레닌 억제제를 플라즈마 상등액 분취량에 가하고, 생성혼합물(310람다)을, 레닌 억제제를 함유하지 않은 대조 혼합물과 함께 37℃에서 3시간동안 배양시킨다. 배양 후, 혼합물을 냉수로 급냉시키고, 안지오텐신 I항체를 사용하여 안지오텐신 I에 대해 각각을 시험한다. 레닌 억제제의 존재하 안지오텐신 I의 생성물을 억제제의 부재하에 생성된 것과 비교하여, 억제 %를 계산한다. 여러가지 다른 억제농도 각각에서 이중 배양하여 수득한 자료를 사용하여, 레닌의 안지오텐신-분해활성의 50%억제 즉 억제제의 IC₅₀을 얻기 위하여 요구되는 배양 혼합물중의 억제농도를 여러가지 다른 억제제에 대해 계산한다.

급냉된 배양 혼합물중의 안지오텐신 I은, 벡톤 디킨슨 앤드 캠퍼니(Orangeburg N.Y.)에 의해 공급된 레닌 방사면역 분석 시험키트 부품을 사용하여 방사면역 분석 시험으로 검사한다. 이 방사면역 분석 시험은 하기의 하버등에 의해 개발된 것에 근거를 둔다[참조 : Haber et al., J. Clin. Endocrinol. 29, pp.1349~1355(1969)].

상기의 공정을 사용하여, 레닌 억제 계수를 실시에 1 내지 5 및 7 내지 20 각각에서 제조한 화합물에 대해 측정한다. 각각의 경우 실험 IC₅₀치는 5micromoles/1 보다 작다.

[실시에 22]

생체내에서 외인성 레닌-유도 승압반응의 길항

수컷 스프레이그-둘리 래트(Sprague-Dawley)(230 내지 300g, 체중)를 나트륨 펜토-바르비탈로 마취(체중 kg당 65mg, 복강내)시킨후, 대퇴정맥 및 목동맥 카테테르를 각 동물에 이식한다. 수술이 끝난 후, 시험동물을 복아위에 놓고 직장온도를 계속 관찰한다. 평균 동맥 혈압(MAP)을, 스타담(Statham) p23 ID압력변환기 및 피지오그래프(physiograph)를 사용하여 목동맥 카테테르를 통해 기록한다. 그 후에 안정시킨후, 돼지 레닌에 투여(체중 kg당 30 내지 80mu/kg, 정맥내)하여 20 내지 30mmHg의 대조 레닌 승압 반응(dp)을 얻는다.

MAP가 기선에 돌아온 후, 레닌 억제제를 투여(체중 kg당 10mg, 정맥내)하고, 레닌억제제 투여 5, 15 및 30분 후에 시험동물에 돼지 레닌을 재투여(대조반응에서와 동일한 용량)하고, 상응하는 레닌 승압반응(dp)을 측정한다. 길항 %는 다음과 같이 계산한다.

$$\frac{(\text{대조 dp} - \text{실험 dp}) \times 100\%}{\text{대조 dp}}$$

여기서, 대조 dp 및 실험 dp는 각각 레닌 억제제 투여전 및 투여후 MAP중 압력변화이다. 바람직하게는, 3마리 이상의 동물을 각 실험에 사용하여, 결과를 평균치로 구한다.

전술한 공정을 이용하여, 레닌-유도 승압 반응 길항%를 본 발명의 화합물에 대해 측정할 수 있다.

(57) 청구의 범위

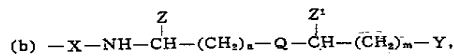
청구항 1

일반식(III)의 화합물을 일반식 R-W-OX(이때, -OX는 아실화 목적으로 활성화된 카복실 잔기를 나타낸다)의 화합물로 아실화시킴을 ; 특징으로 하여, 일반식(I)의 화합물 및 약제학적으로 허용되는 그의 염을 제조하는 방법.



상기식에서, W는 페닐알라닌, 히스티딘, 로이신, 타이로신, 1-나프틸알라닌 또는 2-페닐메틸-프로피오닐렌이고 ; W¹은 페닐알라닌, 히스티딘, 로이신, 타이로신 또는 노르로이신이고, W가 페닐알라닌이고 W¹이 히스티딘인 경우에는 W와 W¹ 사이의 펩타이드결합이 -CH(탄소수 1 내지 4의 알킬)-NH-에 의해서 임의로 대체되며 ; R은 수소, 분자량 500미만의 아미노-보호 아실잔기, 프롤린, 아미노-보호된 프롤린, 파이로글루탐산 또는 아미노-보호된 파이로 글루탐산이고 ; R²는 수소, 탄소수 1 내지 6의 알킬, 페닐, 탄소수 4 내지 7의 사이클로알킬, 탄소수 7 내지 9의 페닐알킬 또는 탄소수 5 내지 10의 사이클로알킬(알킬렌)이며 ; R³는 하이드록실, 아미노, -NHR⁹, -NHCOR⁹, -OR⁹ 또는 -OCOR⁹이며,

이때 R^9 는 1 내지 4의 알킬이고 ; 및 R^1 은 (a) $-A-E-B$, (이때, A는 리신 또는 프롤린이거나, 추가로, R^3 가 아미노인 경우에는, 오직 이소로이신이며, E는 페닐알라닌, 글리신, 알라닌, 발린, 로이신, 이소로이신, 리신, 오르니틴, 아르기닌, 아스파르트산, 감마-에스테르와 아스파르트산, 글루탐산 또는 델타-에스테르화 글루탐산이고, B는 $-OR^4$, $-NR^4R^5$, $-글루탐산(-OR^4)_2$, $-글루탐산(OR^4)(-NR^4R^5)$ 또는 $-글루탐산(-NR^4R^5)_2$ 이며, R^4 및 R^5 는 각각 수소, 탄소수 1 내지 4의 알킬, 탄소수 7 내지 9의 페닐알킬 또는 탄소수 5 내지 10의 사이클로알킬(알킬)이다),



(이때, X는 부재하거나 또는 알라닌, 이소로이신, 리신, 프롤린, 오르니틴, 아르기닌, N-(탄소수 1 내지 4의 알킬)-리신, N,N-디(탄소수 1 내지 4의 알킬)-리신, N-(탄소수 1 내지 4의 알킬)-오르니틴 또는 N,N-디(탄소수 1 내지 4의 알킬)-오르니틴이고, Z 및 Z^1 은 각각 수소, 탄소수 1 내지 6의 알킬, 탄소수 4 내지 7의 사이클로알킬, 탄소수 5 내지 10의 사이클로알킬(알킬렌) 또는 탄소수 7 내지 9의 페닐알킬이며, n 및 m은 각각 0 내지 6의 정수이고, Q는

$-CH_2-$, $-CH=CH-$, $-O-$, $-NH-$, $-\overset{\overset{OH}{|}}{CH}-$ 또는 $-\overset{\overset{O}{||}}{C}-$ 이며, Y는 메틸, 페닐, $-COOR^6$, $-CONR^6R^7$, $-NH_2$, (벤질 옥시)카보닐아미노, $-CO-글루탐산(-OR^6)_2$, $-CO-글루탐산(-OR^6)(-NR^6R^7)$ 또는 $-CO-글루탐산(-NR^6R^7)_2$ 이고, R^6 및 R^7 은 각각 수소, 탄소수 1 내지 4의 알킬, 탄소수 7 내지 9의 페닐알킬 또는 탄소수 5 내지 10의 사이클로알킬(알킬렌)이다).

(c) $-NH_2$,

(d) -탄소수 1 내지 4의 알콕시,

(e) 4-벤질피페라지노-1-일,

(f) 1,2,3,4-테트라하이드로퀴놀린-1-일,

(g) 1,2,3,4-테트라하이드로이소퀴놀린-2-일,

(h) 1,2,3,4-테트라하이드로-3-아미노카보닐-이소퀴놀린-2-일,

(i) 1,2,3,4-테트라하이드로-3-메톡시카보닐-이소퀴놀린-2-일,

(j) 1,2,3,4,5,6,7,8-데카하이드로-3-메톡시카보닐-이소퀴놀린-2-일,

(k) 2-메톡시카보닐-피롤리딘-1-일,

(l) 2-아미노카보닐-피롤리딘-1-일,

(m) 4-페닐메틸-피페리딘-1-일,

(n) -프롤린-B(이때, B는 상기와 같이 정의된다), 또는

(o) -리신-B(이때, B는 상기와 같이 정의된다)이고,

단, 일반식 (II)에서, R^1 및 R^3 중의 반응 그룹은 보호되어 있다.

청구항 2

제1항에 있어서, R이 분자량 500미만의 아미노-보호 아실잔기 또는 아미노-보호된 프롤린이고, W는 페닐알라닌이며, W^1 은 히스티딘이고 W 및 W^1 은 펩타이드 결합으로 결합된 방법.

청구항 3

제2항에 있어서, R^2 가 이소부틸이고 R^3 가 하이드록실인 방법.

청구항 4

제2항에 있어서, R^2 가 사이클로헥실-(메틸렌)이고 R^3 가 하이드록실인 방법.

청구항 5

제3 또는 4항에 있어서, R^1 이 -리신-E-B인 방법.

청구항 6

제5항에 있어서, E가 페닐알라닌이고 B가 하이드록실인 방법.

청구항 7

제6항에 있어서, R이 3급-부틸-옥시카보닐인 방법.

청구항 8

제6항에 있어서, R이 N-(3급-부틸옥시카보닐)-프롤린인 방법.

청구항 9

제3 또는 4항에 있어서, R^1 이 $-X-NH-\overset{\overset{Z}{|}}{CH}-(CH_2)_n-Q-\overset{\overset{Z'}{|}}{CH}-(CH_2)_m-Y$ 인 방법

청구항 10

제9항에 있어서, X가 존재하는 방법.

청구항 11

제10항에 있어서, X가 알라닌, 프롤린, 이소로이신 및 리신으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 방법.

청구항 12

제11항에 있어서, Z가 이소부틸이고, Q가 $Q-\overset{\overset{OH}{|}}{CH}-$ 이며, Z^1 이 수소이고 n 및 m이 각각 0인 방법.

청구항 13

제12항에 있어서, Y가 $-COOR^6$, $-CONR^6R^7$, $-CO-글루탐산(-OR^6)_2$, $-CO-글루탐산(-OR^6)(-NR^6R^7)$ 및 $-CO-글루탐산(-NR^6R^7)_2$ 로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 방법.

청구항 14

제11항에 있어서, Z 및 Z^1 이 각각 수소이고, Q가 $-CH$ 이며, n 및 m의 합이 0 내지 3이고, Y가 $-COOR^6$ 또는 $-CONR^6R^7$ 인 방법.

청구항 15

제12, 13 또는 14항에 있어서, X가 리신인 방법.

청구항 16

제9항에 있어서, X가 부재인 방법.

청구항 17

제16항에 있어서, Z^1 이 수소이고, Q가 $-CH_2-$ 이며, Y가 $-COOR^6$, $CONR^6R^7$, $-CO-글루탐산(-OR^6)_2$, $-CO-글루탐산(-OR^6)(-NR^6R^7)$ 또는 $-CO-글루탐산(-NR^6R^7)_2$ 이고, Z가 탄소수 1 내지 6의 알킬이며, n 및 m의 합이 0 내지 3인 방법.

청구항 18

제16항에 있어서, Q가 $-NH-$ 이고, m이 0이며, n은 0 또는 1이고, Y는 $-COOR^6$, $-CONR^6R^7$, $-CO-글루탐산(-OR^6)_2$, $-CO-글루탐산(-OR^6)(-NR^6R^7)$ 또는 $-CO-글루탐산(-NR^6R^7)_2$ 이며, Z가 탄소수 1 내지 6의 알킬인 방법.

청구항 19

제17 또는 18항에 있어서, Y가 $-COOR^6$ 또는 $CONR^6R^7$ 인 방법.

청구항 20

제18항에 있어서, Z^1 이 벤질인 방법.

청구항 21

제17 또는 18항에 있어서, Z가 2급 부틸인 방법.

청구항 22

제2항에 있어서, R이 일반식 $R^8-M-\overset{\overset{O}{||}}{C}-$ 또는 $R^8-M-\overset{\overset{O}{|}}{C}-$ (이때, M은 $-O-$, $-CH_2-$, $-NH-$ 또는 $-SO_2NH-$ 이고, R^8 은 탄소수 1 내지 6의 알킬, 페닐, 탄소수 7 내지 9의 페닐알킬 또는 탄소수 5 내지 10의 사이클로알킬(알킬)이다)인 방법.

청구항 23

제22항에 있어서, R이 N-(3급-부틸옥시카보닐)-프롤린인 방법.