



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2007-0094802

(43) 공개일자 2007년09월21일

(51) Int. Cl.

A61K 38/04(2006.01) C07K 5/02(2006.01)

C07K 5/078(2006.01) A61P 29/00(2006.01)

(21) 출원번호 10-2007-7016815

(22) 출원일자 2007년07월20일

심사청구일자 없음

번역문제출일자 2007년07월20일

(86) 국제출원번호 PCT/EP2005/056847

국제출원일자 2005년12월16일

(87) 국제공개번호 WO 2006/067091

국제공개일자 2006년06월29일

(30) 우선권주장

04425929.9 2004년12월20일

유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인

시그마타우 인두스트리에 파르마슈티케 리우니테 에스.피.에이.

이탈리아 로마 00144 비알레 샤케스파아레 47

(72) 발명자

까르미나띠, 파올로

이탈리아 포메지아 아이-00040 케이앰. 30,400 비아 폰티나, 시그마-타우 인두스트리에 파르마슈티케 리우니테 에스.피.에이내

갈로, 그라지아

이탈리아 포메지아 아이-00040 케이앰. 30,400 비아 폰티나, 시그마-타우 인두스트리에 파르마슈티케 리우니테 에스.피.에이내

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

백남훈

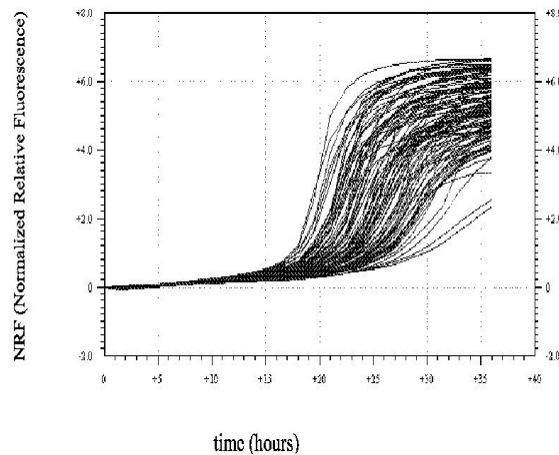
전체 청구항 수 : 총 30 항

(54) MyD88 동종이량체화 억제제

(57) 요약

본 발명은 MyD88의 특정 단백질 부분을 모방하여, 그의 동종이량체화를 억제하고 그의 TIR 도메인과의 상호작용을 억제하는, 본 명세서의 상세한 설명에 정의된 다양한 작용기들을 갖는 화학식 (X-) AA₁-AA₂-AA₃-AA₄-AA₅-AA₆-AA₇의 펩타이드 및 펩타이드 모방체 화합물에 관한 것이다. 본 발명은 또한 상기 화합물의 제조 방법, 이들을 포함하는 약학적 조성물 및 이들의 약제, 특히 염증성 및 자가면역 질환의 치료를 위한 약제로서의 용도를 제공한다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

팬토, 니콜라

이탈리아 포메지아 아이-00040 케이엠. 30,400 비
아 폰티나,시그마-타우 인두스트리에 파르마슈티케
리우니테 에스.피.에이내

루지예로, 비토

이탈리아 포메지아 아이-00040 케이엠. 30,400 비
아 폰티나,시그마-타우 인두스트리에 파르마슈티케
리우니테 에스.피.에이내

사사노, 마리카

이탈리아 피아나 디 몬테 베르나 아이-81013 로칼
리타 라파지아네리아 테크노젠 에스.시.피.에이 내

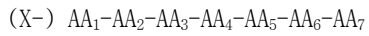
마스트로이아니, 도메니코

이탈리아 피아나 디 몬테 베르나 아이-81013 로칼
리타 라파지아네리아 테크노젠 에스.시.피.에이 내

특허청구의 범위

청구항 1

1. 하기 화학식 (I)의 펩타이드 및/또는 펩타이드 모방체 화합물:

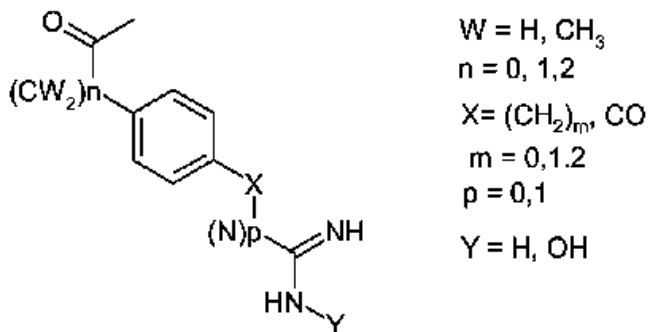


(I)

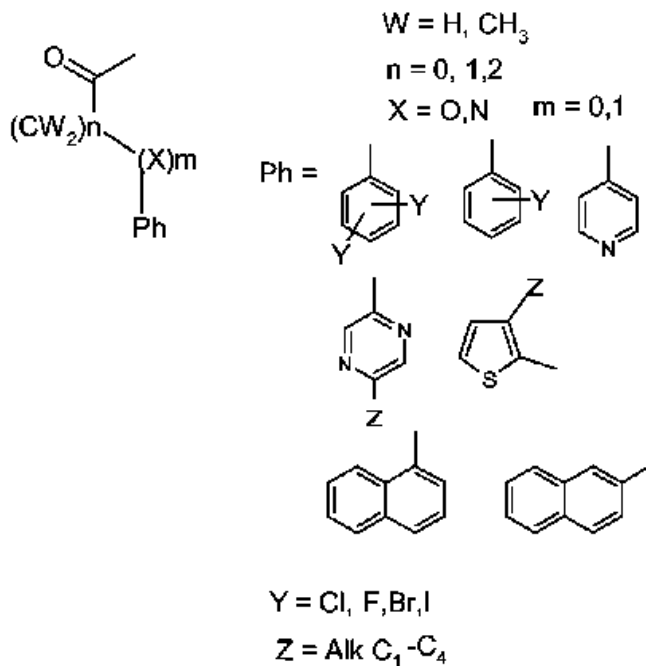
여기서, X는 약학적으로 허용가능한 산의 음이온, 또는 부재이고;

같거나 다를 수 있는, AA_1-AA_7 기들(groups) 각각은 아미노산 또는 하기 의미를 갖는 아미노산 모방체이고:

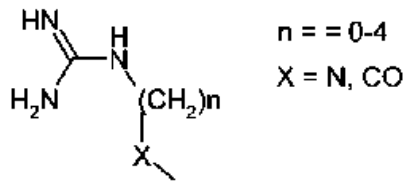
AA_1 은 L-아르기닌 (Arg), D-아르기닌 (arg), L-히스티딘 (His), D-히스티딘 (his), 또는 아르기닌 모방체 기의 잔기이고, 여기서 아르기닌 모방체가 의미하는 바는 아르기닌을 대체하고, 아르기닌의 염기도부터 제로 염기도에 이르기까지, 기능성 기의 염기도를 조절하는 하기 화학식 (II), (III) 및 (IV)를 갖는 화학적 구조이고;



(II)



(III)



(IV)

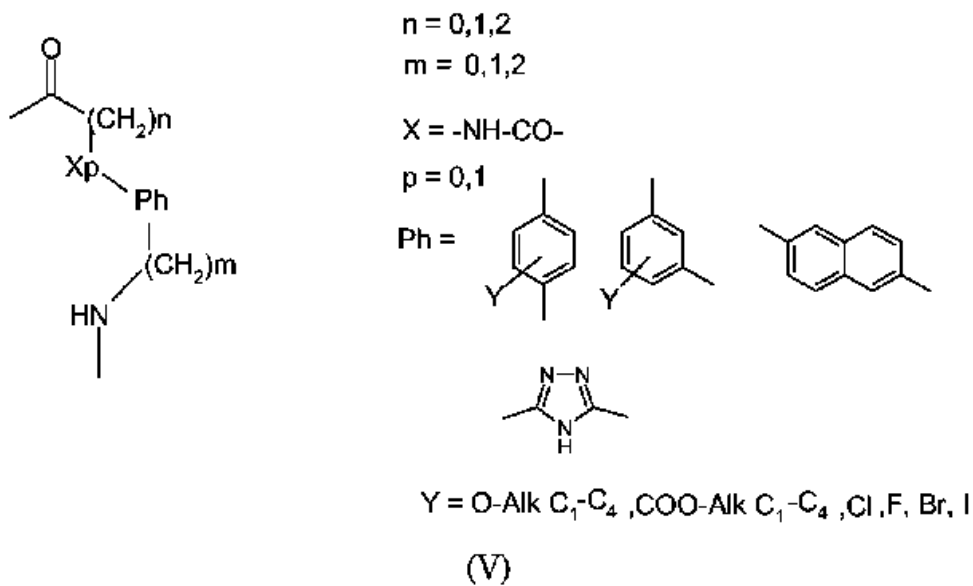
또는 부제이고;

AA₂는 L-아스파르트산 (Asp), D-아스파르트산 (asp), L-아스파라긴 (Asn), D-아스파라긴 (asn), 글라이신 (gly 또는 Gly), 또는 부제이고;

AA₃은 L-발린 (Val), D-발린 (val), 아자발린 (Aza-Val), 아자글라이신 (Azagly), 아자류우신 (AzaLeu)이고;

AA₄는 L-류우신 (Leu), D-류우신 (leu), L-발린 (Val), D-발린 (val), L-시스테인 (Cys), D-시스테인 (cys), 아자류우신 (Aza-Leu), 아자발린 (Aza-Val), 아자글라이신 (Azagly)이고;

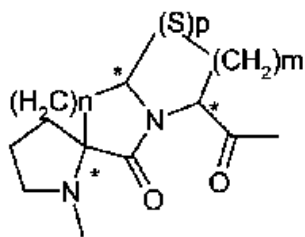
AA₂-AA₃-AA₄는 함께 스페이서로 치환될 수 있는데, 여기서 스페이서가 의미하는 바는, 화학식 (V)를 갖고, 다양하게 치환되고 기능화된 방향족 링커 고리, 단 하나의 카복실산기 및, 아마이드 결합에 사용되는, 단 하나의 일차 아민기를 포함하는 제한된 수의 회전 자유도를 갖는 소수성 화학적 구조이고;



AA₅는 L-프롤린 (Pro), D-프롤린 (pro), 시스-4,5-(메타노)-L-프롤린 (cMe-Pro), 시스-4,5-(메타노)-D-프롤린 (cMe-pro), 트랜스-4,5-(메타노)-L-프롤린 (tMe-Pro), 트랜스-4,5-(메타노)-D-프롤린 (tMe-pro)이고;

AA₆는 글라이신 (gly 또는 Gly), 사르코신 (Sar), 아자글라이신 (Azagly)이고;

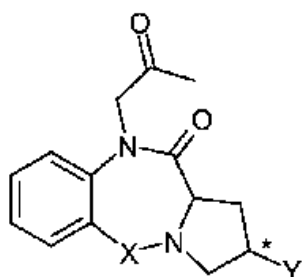
AA₅-AA₆는 함께 β-회전 모방체에 의해 치환될 수 있는데, 여기서 β-회전 모방체가 의미하는 바는, 화학식 (VI) 및 (VII)를 갖고, Pro-Gly β-회전의 중심 부위를 모방하여, 분자가 단백질 MyD88과의 결합 형성에 유용한 형태를 취하도록 해주는 화학적 구조이고,



$n = 0, 1, 2$
 $m = 0, 1, 2$
 $p = 0, 1$

* = either racemate and pure enantiomers

(VI)



$X = CO, SO_2$

$Y = H, OH$

* = either racemate and pure enantiomers

(VII)

AA₇은 글라이신 (gly 또는 Gly), 아자글라이신 (Azagly), L-트레오닌 (Thr), D-트레오닌 (thr), L-시스테인 (Cys), D-시스테인 (cys)의 잔기이거나, 또는 부재이고;

AA₄와 AA₇이 Cys 또는 cys이면, 상기 두 개의 시스테인 사이에는 이황화 가교가 있고;

AA₁, AA₂, AA₃, AA₄, AA₅, AA₆ 및 AA₇의 일부 또는 모두가 아미노산이면, 이들은 L 또는 D일 수 있고 상기 서열은 반대이거나 그렇지 않을 수 있고;

AA₁-AA₇ 잔기들 사이의 결합은 항상 아마이드 형태이고;

말단 아민 기는 유리상태이거나, 예컨대, 아세틸, 포밀, 벤조일, 포로피오닐, 사이클로헥실, 미리스토일와 같이 분자를 수송하는데 유용한 약학적으로 허용가능한 라디칼로 아실화될 수 있고; 말단 카복실은 카복실산 또는 일차 아민의 형태일 수 있고,

개별적인 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 그의 혼합물 및 이들의 약학적으로 허용가능한 염이고;

하기 조건 하에서:

AA₁-AA₇의 적어도 하나가 상기에 기술된 것들 중에서 천연 아미노산이 아니고, 또는

만약 모든 AA₁-AA₇이 상기에 기술된 것들 중에서 천연 아미노산이라면, 상기 AA₁-AA₇ 서열은 반대임.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 아르기닌-모방체가 아르기닌을 치환하여 아르기닌의 염기도부터 제로 염기도까지 상기 작용기(functional group)의 염기도를 조절하는 화학적 구조인 화합물.

청구항 3

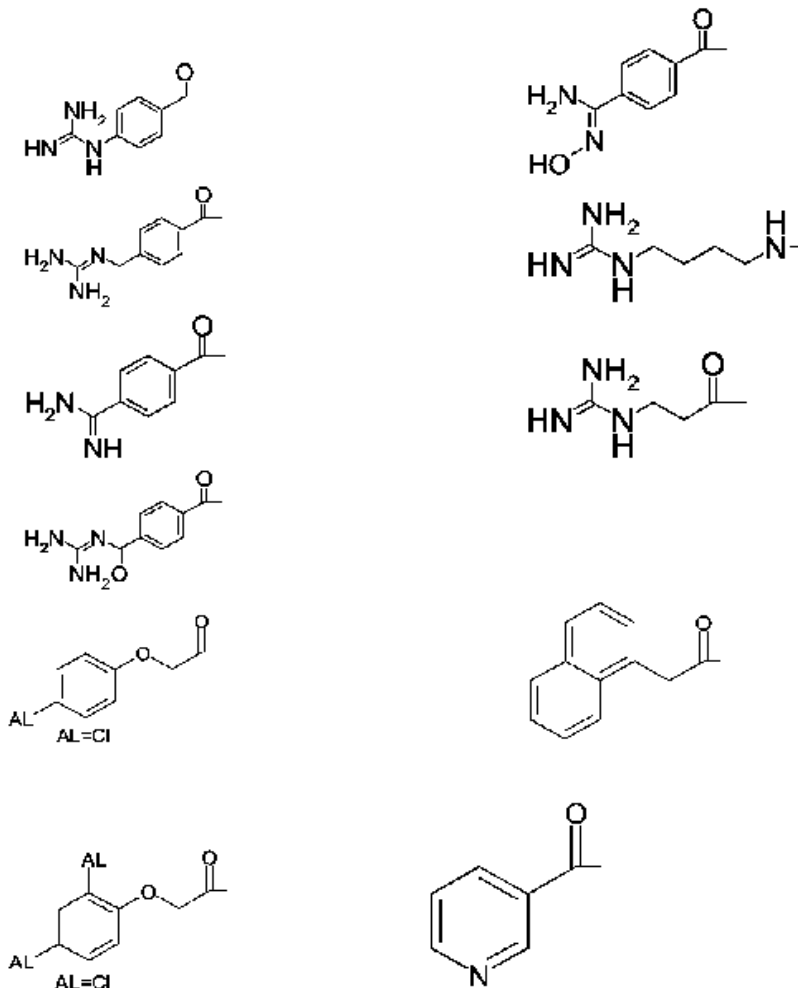
제1항에 있어서, 상기 스페이서가 다양하게 치환되고 기능화된 방향족 링커, 단 하나의 카복실산 기 및 아마이드 결합에 사용되는 단 하나의 일차 아민 기를 포함하는 제한된 수의 회전 자유도를 갖는 소수성 화학적 구조인 화합물.

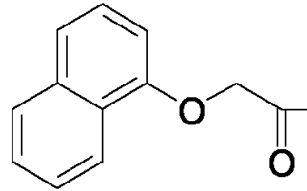
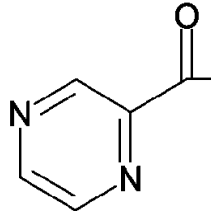
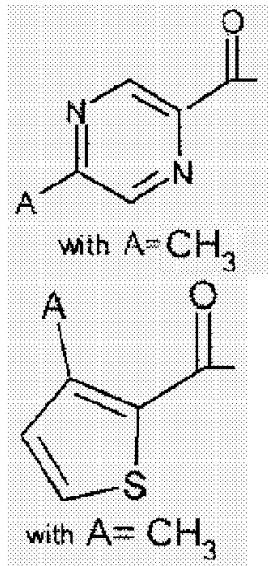
청구항 4

제1항에 있어서, 상기 β -회전 모방체가 분자가 단백질 MyD88과의 결합 형성에 유용한 형태를 취하도록 해주는 화학적 구조인 화합물.

청구항 5

제1항 또는 제2항에 있어서, AA에서, 상기 아르기닌 모방체가 하기로 구성된 군으로부터 선택되는 화합물:

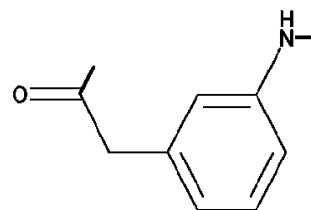
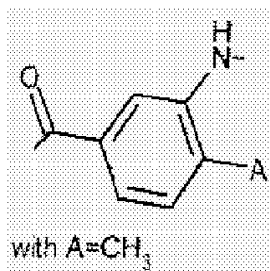
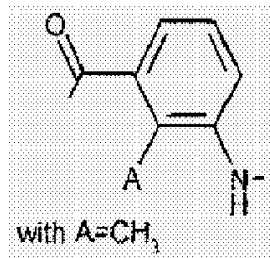
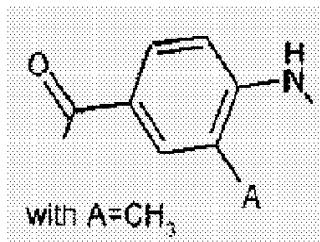
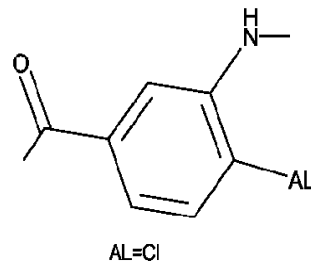
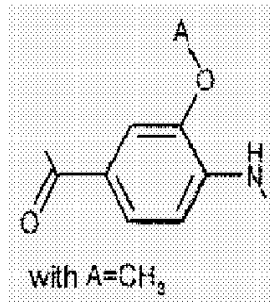
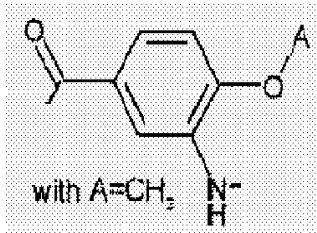


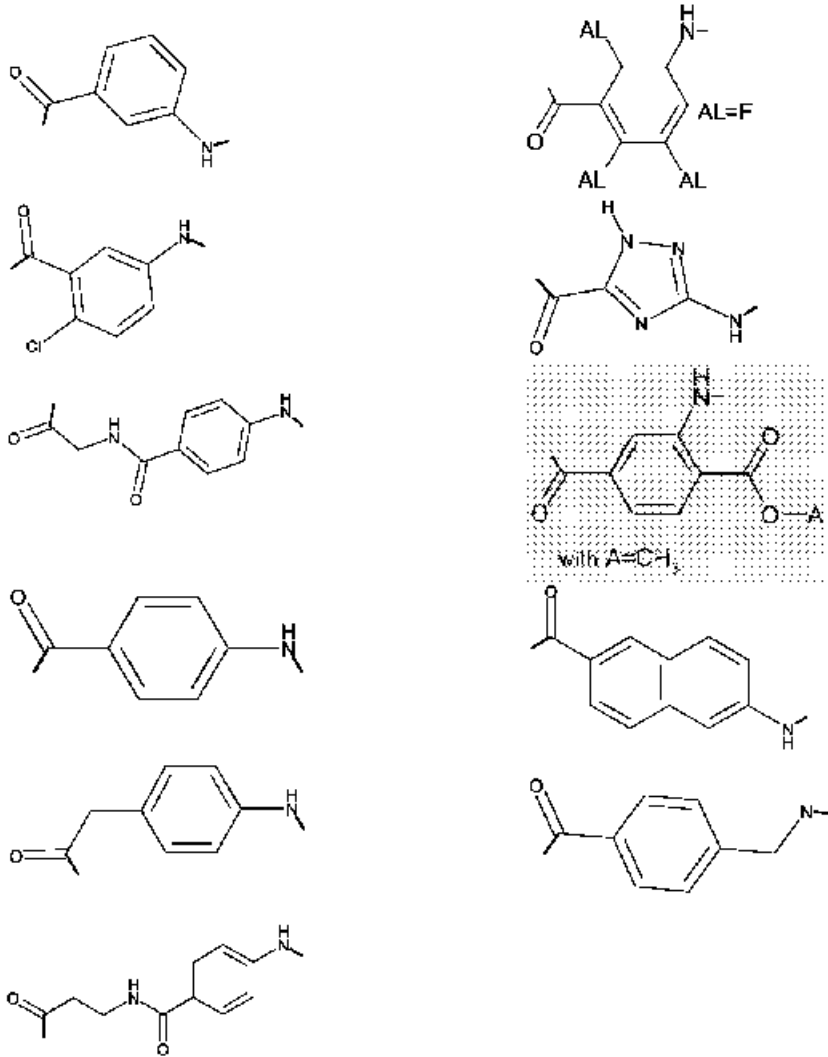


여기서 A가 직쇄 또는 분지된 G-C₄ 알킬 기이고; A1이 F, Cl, Br 및 I로부터 선택되는 할로겐 원자임.

청구항 6

제1항 내지 제3항 중의 어느 한 항에 있어서, AA₂-AA₃-AA₄가 스페이서 (SPX)_n으로 치환될 때, 여기서 n은 0 내지 3이고 하기로 구성된 군으로부터 선택되는 화합물:

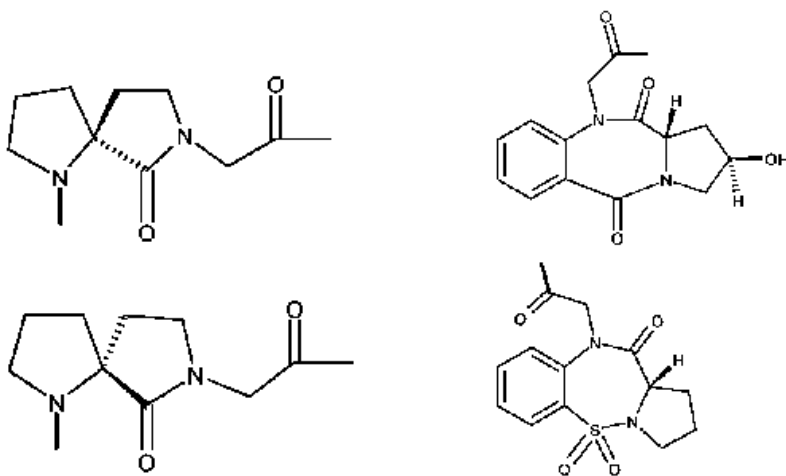


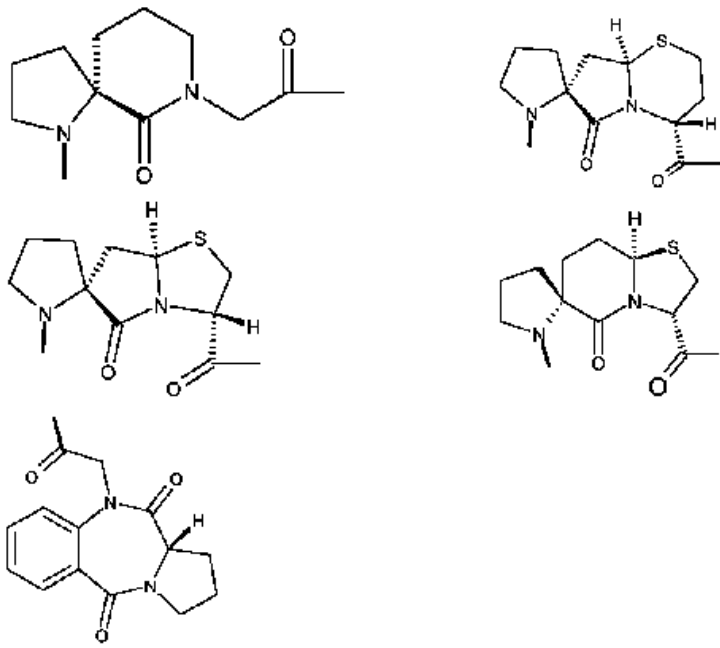


여기서 A가 직쇄 또는 분지된 C1-C4 알킬 기이고; AL이 F, Cl, Br 및 I로부터 선택되는 할로겐 원자임.

청구항 7

제1항 내지 제4항 중의 어느 한 항에 있어서, 상기 β -회전이 하기로 구성된 군으로부터 선택되는 화합물:



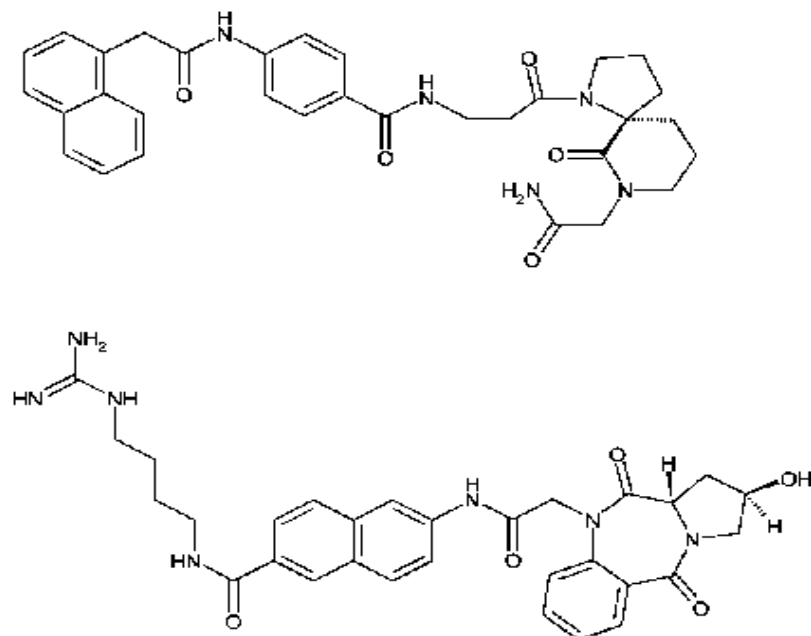


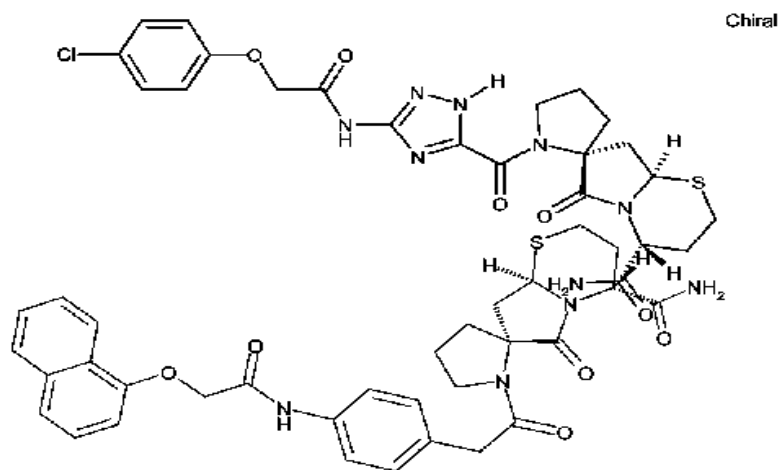
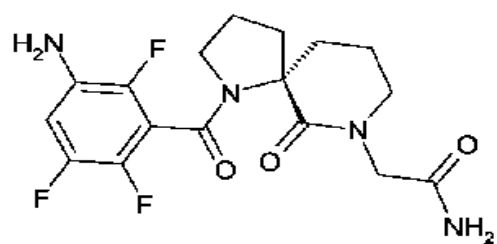
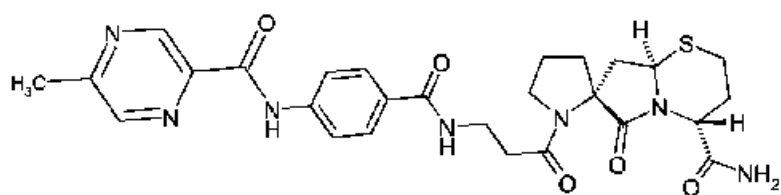
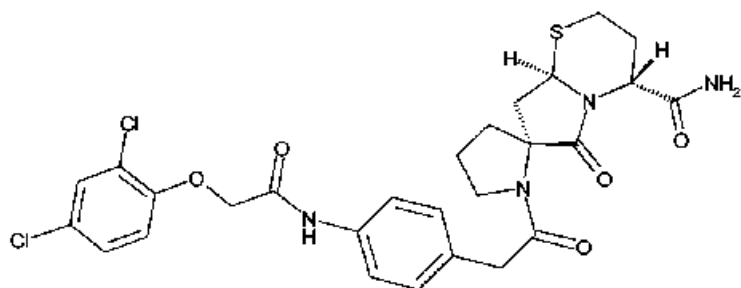
청구항 8

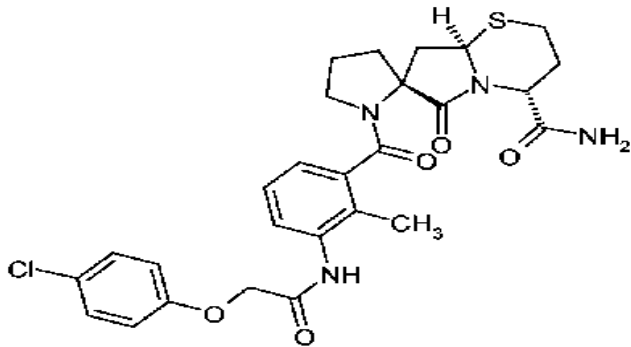
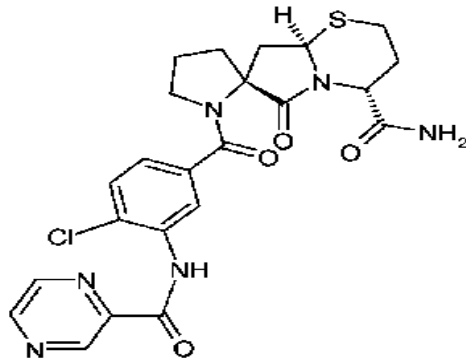
제1항에 있어서, 화학식 Ac-thr-gly-pro-leu-val-asp-arg-NH₂를 갖는 화합물.

청구항 9

제1항에 있어서, 하기로 구성된 군으로부터 선택되는 화합물:





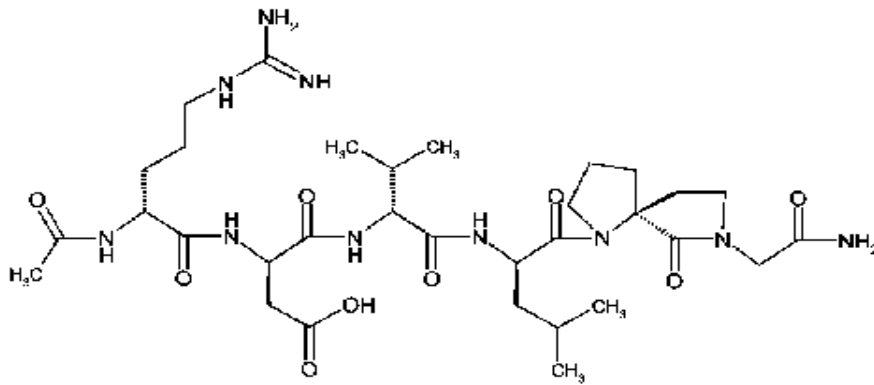


청구항 10

제1항에 있어서, AA₅-AA₆가 β-회전 모방체로 치환되는 화합물.

청구항 11

제10항에 있어서, 하기 화학식을 갖는 화합물:

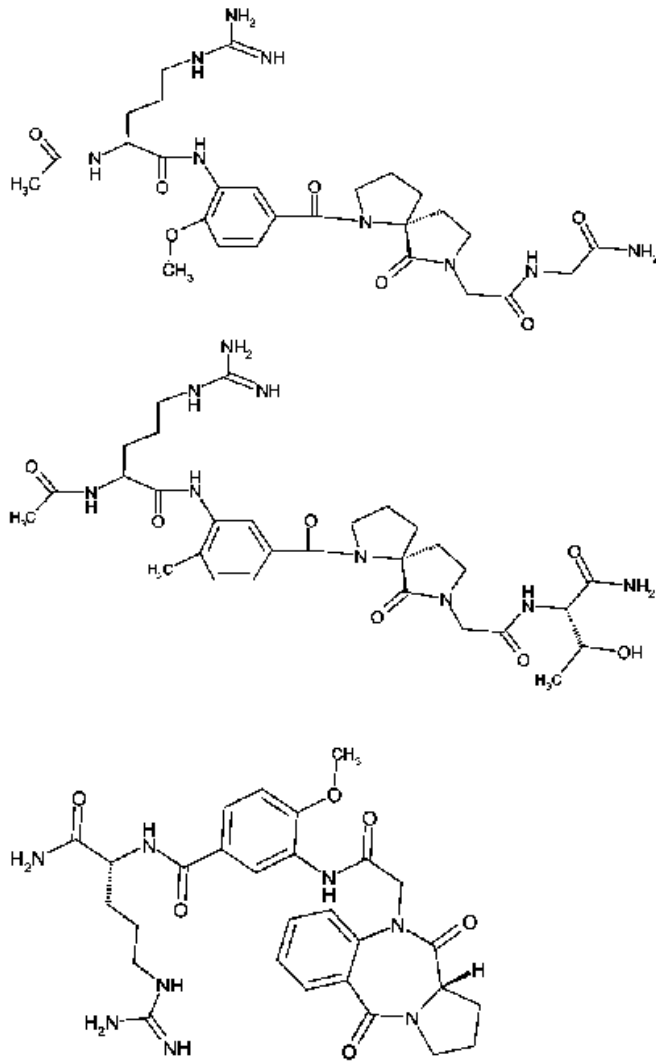


청구항 12

제1항에 있어서, AA₂-AA₃-AA₄가 스페이서로 치환되고 AA₅-AA₆가 β-회전 모방체로 치환되는 화합물.

청구항 13

제12항에 있어서, 하기로 구성된 군으로부터 선택되는 화합물:

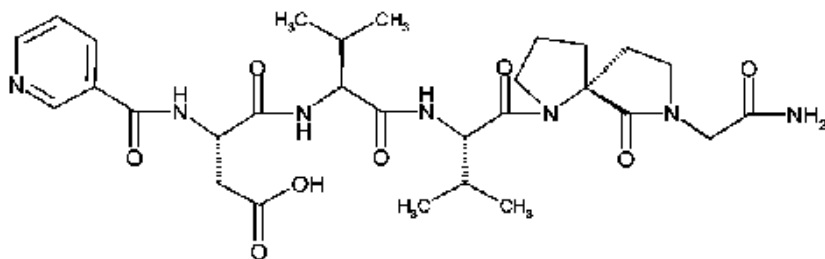


청구항 14

제1항에 있어서, AA₁이 아르기닌-모방체이고 AA₅-AA₆이 β-회전 모방체로 치환되는 화합물.

청구항 15

제14항에 있어서, 하기 화학식을 갖는 화합물:

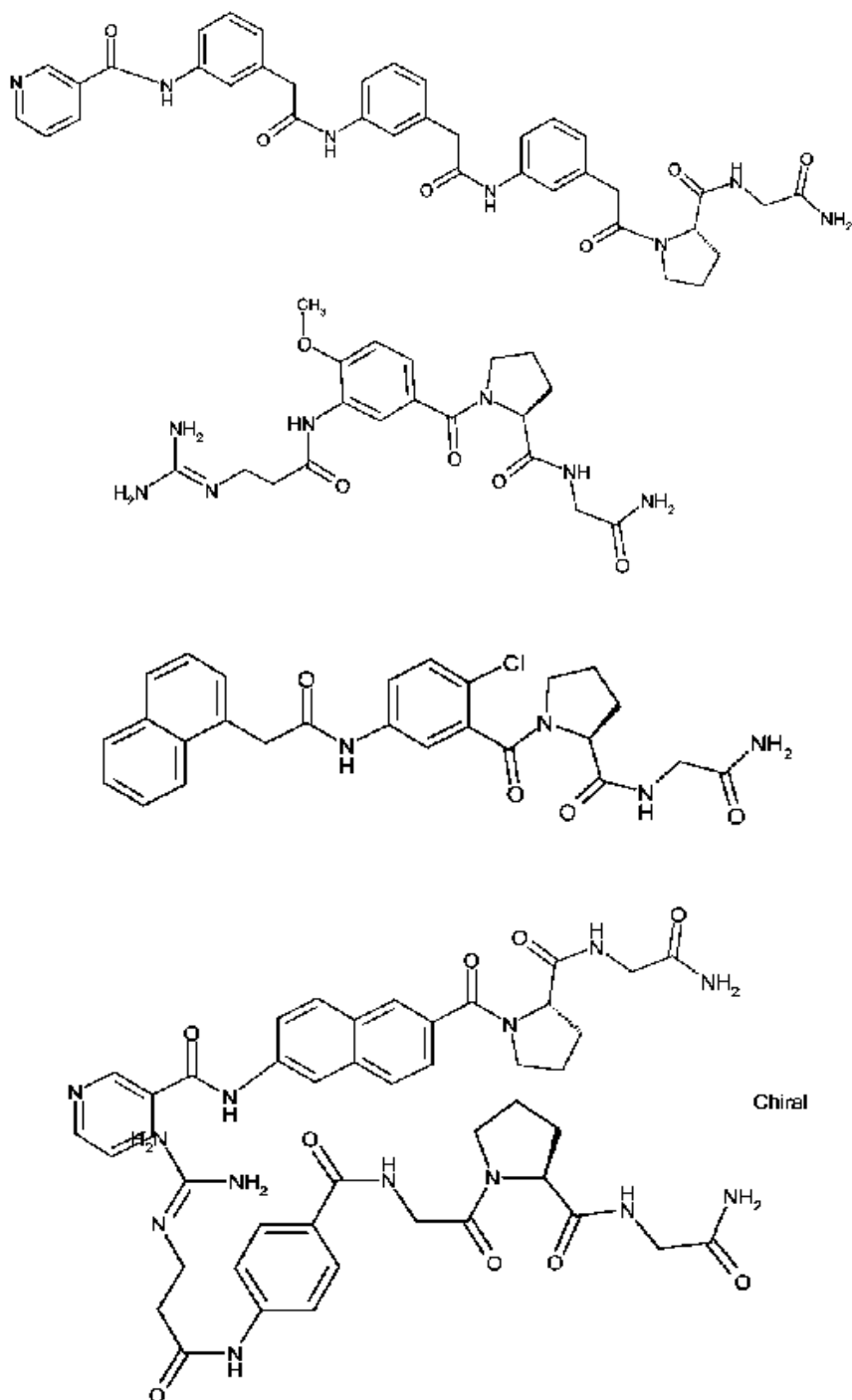


청구항 16

제1항에 있어서, AA₁이 아르기닌-모방체이고 AA₅-AA₃-AA₄가 스페이서로 치환되는 화합물.

청구항 17

제16항에 있어서, 하기로 구성된 군으로부터 선택되는 화합물:

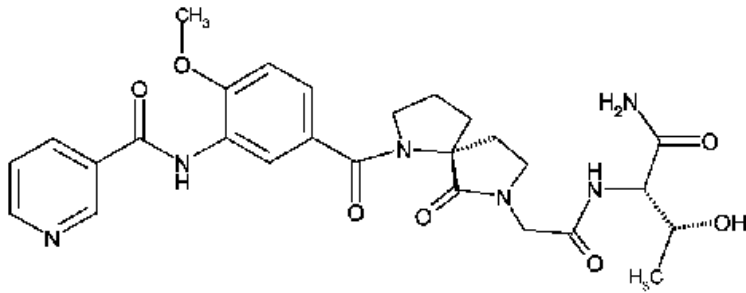


청구항 18

제1항에 있어서, AA₁이 아르기닌-모방체이고, AA₂-AA₃-AA₄가 스페이서로 치환되고, AA₅-AA₆이 β-회전 모방체로 치환되고 AA₇이 아미노산인 화합물.

청구항 19

제18항에 있어서, 하기 화학식을 갖는 화합물:

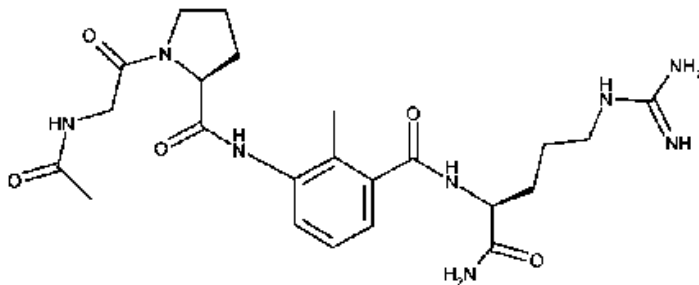


청구항 20

제1항에 있어서, AA₂-AA₃-AA₄가 스페이서로 치환되는 화합물.

청구항 21

제20항에 있어서, 하기 화학식을 갖는 화합물:



청구항 22

제1항에 있어서, 하나 이상의 아미노산이 하나 이상의 아자-아미노산으로 치환되는 화합물.

청구항 23

제16항에 있어서, 하기로 구성된 군으로부터 선택되는 화합물:

H-Arg-Gly-AzaVal-Val-Pro-Gly-NH₂

Ac-Azagly-Azagly-pro-leu-val-asp-arg-NH₂

Ac-Arg-Asp-Azagly-Val-Pro-Gly-NH₂

Ac-thr-Azagly-pro-leu-val-asp-arg-NH₂

Ac-Arg-Asp-Val-AzaVal-Pro-Gly-NH₂

Ac-Arg-Asp-AzaLeu-Val-Pro-Gly-NH₂

청구항 24

MyD88 단백질이 TIR 도메인과 상호작용하는 것을 방해하여 상기 단백질의 동종이량체화를 억제하는, MyD88의 특정 단백질 부분의 모방체로서 제1항 내지 제23항에 따른 화합물의 용도.

청구항 25

약제로서 제1항 내지 제23항에 따른 화합물.

청구항 26

TLR/IL-R1 수용체 시스템의 신호전달 시스템의 조절곤란으로부터 유래하는 질환의 치료에 유용한 약제의 제조를 위한 제1항 내지 제23항에 따른 화합물의 용도.

청구항 27

제26항에 있어서, 상기 질환이 염증성 및 자가면역 질환, 심혈관 및 죽종형성 질환, 패혈증 및 쇼크, 이식거부 반응, 암 및 바이러스 감염으로 구성된 군으로부터 선택되는 용도.

청구항 28

제27항에 있어서, 상기 염증성 및 자가면역 질환이 관절염, 통풍 관절염, 만성 염증성 창자병 (IBD), 건선, 제1형 당뇨병, 다발 경화증, 천식 및 전신 홍반루푸스로 구성된 군으로부터 선택되는 용도.

청구항 29

제27항에 있어서, 상기 심혈관 및 죽종형성 질환이 심근경색증, 바이러스성 심근염, 죽상동맥경화증, 정맥 이식편 죽상동맥경화증, 혈전증, 재협착, 스텐트로 인한 재협착 및 혈관성형술로 인한 재협착으로 구성된 군으로부터 선택되는 용도.

청구항 30

적어도 하나의 약학적으로 허용가능한 부형제 및/또는 첨가제와 혼합물로서 제1항 내지 제23항 중의 적어도 하나의 화합물을 함유하는 약학적 조성물.

명세서

기술분야

- <1> 본 발명은 MyD88 특정 단백질 부분을 흉내내어 그의 동종이량체화를 억제하고, TIR 도메인과의 상호작용을 방해하는 펩타이드 및 펩타이드 모방체 화합물에 관한 것이다.
- <2> 본 발명은 상기 화합물의 제조를 위한 방법, 이를 포함하는 약학적 조성물 및 약제로서의 이들의 용도, 특히 염증성 및 자가면역 질환의 치료를 위한 용도를 제공한다.

배경기술

- <3> 염증 반응은 일반적으로 물리화학적 상해 및 감염성 공격으로 인한 손상을 구별하여 제거하기 위하여 살아있는 유기체에 의해 활성화되는, 방어적 성질의 반응이다. 그러나, 일부 경우에는 지속적인 자극으로 인한 급성 염증성 사례들이, 만성적으로 변하여 종종 정상적인 주변 조직의 자가-파괴를 야기하는 경향이 있는, 만성염증성 과다활성화의 상태로 진화한다. 이 과정은 점착성 분자들의 증가된 유도, 병인성 상해 부위에서 염증성 세포 요소들의 이행 및 일련의 염증성 매개물들의 필연적인 방출에 기인한다 (Shanley, T.P., 등; *Mol. Med. Today*, 40-45, 1995).
- <4> 다양한 매개물들의 전사 서열 및 가능한 생성물은 전사 인자 또는 TFs로 알려진 특정 단백질의 조절 하에 놓인다 (Moller, C. W.; *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 11:26-32, 2001). 이러한 인자들은, 일단 활성화되면, DNA에 존재하는 특정 보존 영역에 결합하여 염증성 체제의 유전자 발현의 유도 또는 과다조절을 위한 분자적 스위치로서 작용한다.
- <5> 다양한 염증 조건에서의 그의 병발과 관련하여, 가장 빈번하게 연구된 전사 인자는 의심할 여지없이 인자 NF- κ B로서, 이는 전-염증성 사이토카인 (TNF, IL-1, IL-2, IL-6, IL-11, IL-17, GM-CSF), 케모카인 (IL-8, RANTES, MIP-1 α , MCP-2), 점착성 분자들 (ICAM-1, VCAM-1, E-셀렉틴) 및 효소 생성 염증성 매개물 (iNOS 및 COX2)을 암호화하는 다양한 유전자들의 인핸서에 대한 보존 서열을 인식한다 (Ghosh, S. 등; *Annu. Rev. Immunol*, 16 225-260, 1998).
- <6> 다양한 종류의 손상 유발 자극에 대하여, NF- κ B 활성화가 면역 반응에 관여하는 거의 모든 세포들에서 관찰된다: 호중구, 대식세포, 림프구 및 내피, 상피 및 중간엽 세포. 따라서, NF- κ B의 즉각적인 이행 활성화는 병인성 손상에 대한 정상적인 생리학적 반응의 기능에 있어서 일차적으로 중요한 특성을 구성한다. 그럼에도 불구하고

하고, 과도한 지속적인 활성화 형태로 스스로 명백해지는 이 정교한 기작의 조절곤란이 만성 염증성 질환과 밀접하게 관련되어 있음이 밝혀졌다 (Barnes, P. J. 및 Karin, M.; *New Engl. J. Med.*, 336:1066-1071, 1997).

- <7> 만성 염증성 질환을 야기하는데 있어 NF- κ B의 결정적인 역할이 이 인자를 표적된 치료학적 시술에 대한 선택의 치료학적 표적으로 만든다.
- <8> "항-NF- κ B" 요법의 안정성이 고려되는 경우에, NF- κ B의 내재적 억제에 직접적으로 기여하는 비-특이적 부작용과 효과 사이에 구분이 이루어져야만 한다. 후자가 정상적인 세포성 생리학적 반응 중에서 다중 신호를 수렴하는데 결정적인 위치를 구성하기 때문에, NF- κ B의 연장된 보편적 및 조직적 억제가 원치않는 손상 효과를 야기할 수 있음을 예견하는 것이 타당하다. 이러한 길항제들의 치료학적 적용의 목적을 위하여, 효과적인 치료를 가능케 하면서 동시에 가능한 원치않는 효과를 최소화하는 물질을 동정하는 것이 명백히 요구되고 있다. 따라서 가능한 NF- κ B 길항제를 고안하는데 있어 경제적 중요성의 변수는 작용의 선택성에 있다.
- <9> 또한, 근위 염증성 신호전달 시스템을 저해함으로써, NF- κ B를 억제할 수 있는 약학적 제제가 보다 원위의 생화학적 사건들에 작용하는 다른 것들보다 안전할 수 있음을 예측된다.
- <10> IL-1의 결합을 유도하고 NF- κ B 및 AP-1과 같은 전사 인자의 활성화를 야기하는 분자적 사건들은 다중 단백질 인자들의 연속적인 활성화에 기초한 증폭 캐스케이드(cascade)를 통해 야기한다.
- <11> 구체적으로, IL-1의 결합은 연속적으로 어댑터 단백질 MyD88을 보충시키는 수용체 이형복합체 IL-1R/11-1RacP의 형성을 유도한다. IL-1R e IL-1RAcP의 세포질내 도메인은 각각의 TIR 도메인 사이에 고정된 호모필릭(homophilic) 유형의 상호작용을 통해 MyD88과 상호작용한다는 것을 강조할만한 가치가 있다. MyD88의 카복시 말단 부분 (TIR 도메인)이 수용체 이형복합체에 대한 MyD88의 결합을 담당하는 반면, 아미노 말단 부분 (사멸 도메인)은, 키나제 IRAK의 사멸 도메인과의 상호작용에 의해 (이 경우 역시 호모필릭 유형의 상호작용을 통한), 이형복합체에 대한 후자의 모집을 허용하는데, 이는 그의 인산화 반응이 일어나는 부위이다. 인산화 반응이 일어난 후, IRAK는 상기 복합체로부터 스스로 분리되어 프로테오솜으로 분해되기 전에 어댑터 단백질 TRAF6과 상호작용하는 것으로 생각된다. 이어서, TRAF6은 자가인산화되고 그 결과로 키나제 MAP2K 및 NIK (NF- κ B 유도 키나제)를 활성화시키는 키나제 TAK1의 활성화를 유도한다. 최종적으로 MAP2K 및 NIK가, 중요한 염증성 매개물을 암호화하는 유전자의 전사에 관여하는, 전사 인자 AP1 및 NF- κ B 각각의 활성화를 야기한다.
- <12> 최근에 수행된 연구는 IL-1R/TLR 슈퍼패밀리(superfamily) 중에 통상적인 신호전달 기전의 존재를 고려하는 가설에 대해 지지를 제공하고 있다. 효과적으로 말하면, IL-1에 의해 활성화된 신호의 전달 기전이 또한 IL-18 ed LPS의 신호전달에서도 작동가능하다는 것이 입증되었다 (O'Neill, LAJ 및 Dinarello, CA; *Immunology Today*, 21 (5):206-209, 2000).
- <13> 구체적으로, 어댑터 단백질 MyD88이 IL-1, IL-18 및 LPS에 의해 촉발되는 전달 사건들에서 중요한 역할을 담당함이 밝혀졌다. 사실상, 완벽하게 생존가능함을 입증하는 것을 통해, MyD88 KO 마우스(mice)가 LPS로의 자극에 대해 반응하는 정상적인 능력이 결여되어 있음이 보고되었다 (Kawai, T, 등; *Immunity*, 11:115-122, 1999).
- <14> 이러한 결과들은 MyD88의 기능적으로 활성 다이머(dimer)의 형성을 억제하는, MyD88의 F56N 점 돌연변이가 NF- κ B 전사 인자의 활성화를 유도하지 않는다는 것을 보여주는 서로 다른 실험적 상태에서 확인되었다(Burns K 등, *J Biol Chem* 273 (20): 12203-12209, 1998).
- <15> 또한, 추가적인 연구가 MyD88 KO 마우스(mice)가 IL-1 또는 IL-18의 자극에 대해 반응하지 않는다는 것을 입증하였다 (Adachi, O., 등; *Immunity*, 9:143-150, 1998). 사실상, 이들 KO 마우스의 가슴샘세포 및 지라 세포는, IL-1으로 자극되면, 정상적인 증식성 반응을 활성화시키지 못한다는 것이 관찰되었다. 게다가, IFN- γ 및 NK 세포 활성의 생성은, 야생형 마우스(mice)에서 일어나는 것과는 달리, IL-18의 자극의 결과로서 증가되지 않는다.
- <16> 본 명세서에 기술된 결과들에 근거하여, IL-1, IL-18과 같은 다양한 서로 다른 염증성 자극원, IL-1R 패밀리(family)의 작용제, 및 예를 들면 LPS와 같은 TLR 패밀리(family)의 작용제에 의해 촉발되는 NF- κ B의 활성화에 중요한 역할을 담당하는 것이 명백하다 (Takeuchi, O. 및 Akira, S.; *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 270:155-67, 2002).
- <17> 염증성 사이토카인의 신호전달을 길항하기 위해 현재 사용되는 방법들의 목표는 지금까지는 특정 단일클론성 항체, 수용체 길항제 또는 수용성 수용체의 사용에 의존하여, 이들 각각의 활성을 특이적으로 중화시키는 것이었다. 상기 자명한 목적은, 외부로부터 적절한 막 수용체에 사이토카인의 결합을 선택적으로 억제하는 것이었다.

- <18> 그러나, 가장 최근의 문헌은 세포질성 어댑터 단백질에 의해 매개되는 세포간 신호전달의 억제에 근거한 실험적 접근의 채택이 효과적이고 혁신적인 전략일 수 있음을 제시한다 (L.A.J. O'Neill 및 CA. Dinarello; *Immunol. Today*, 21:206-209, 2000; M. Muzio, 등; *J. Leukoc. Biol*, 67:450-456, 2000; J. M. Schuster 및 P. S. Nelson; *J. Leukoc. Biol.*, 67:767.773, 2000).
- <19> 따라서, 별개의 리간드를 인식하지만 동일한 전달 기전을 공유하는 세포 막의 외부 표면에 존재하는 수용체로부터의 신호에 의해 촉발되는, NF- κ B의 활성화에 관여하는 MyD88과 같은 어댑터 단백질의 억제는, 이론상으로는 개별적인 리간드 활성화의 억제 보다 훨씬 효과적이다.
- <20> 수용체 IL-1R/TLR 및 MyD88의 TIR 도메인의 일차 서열의 정렬에서, 보존된 영역들 중의 하나는 제2 베타 가닥과 제2 알파-헬릭스간의 루프 (BB 루프)에 존재하는데, 그의 보존 서열은 RDX Φ 1 Φ 2GX로 여기서 X는 임의의 아미노산이고 Φ 1 Φ 2는 두 개의 소수성이고; 특히, Φ 2는 IL-1RI에서 발린인 것을 제외하고는, 프롤린이다. TLR4에서 돌연변이 R677→E P681→H 및 G682→V는 신호전달의 전송을 파괴하고; 또한, P681→H로 돌연변이된 수용체 TLR2 및 TLR2의 세포질내 TIR 도메인의 결정성 좌표를 비교하면, 상기 루프 또는 이에 인접한 영역에 영향을 미치는 어떠한 구조적인 다양성도 관찰되지 않았다 (*Nature*, 2000, Vol. 408,111). 따라서, 이 영역은 어댑터 단백질/수용체 상호작용 공유영역으로 포함될 수 있다. 따라서 이 영역은 또한 MyD88의 동종이량체화에 중요하다고 생각된다.
- <21> 이와 관련하여 Rebek 등에 의해 수행된 연구가 알려져 있는데 (Bartfai, T., 등; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100:7971, 2003), 그는 세포내 TIR 도메인의 수준에서 MyD88/IL-1RI 상호작용을 방해할 수 있는 펩타이드 모방체 화합물의 강력한 적용가능성을 입증하였다; 서로 다른 *toll* 수용체 및 MyD88의 동족체 내 그의 보존 서열과 같이 (F/Y)-(V/L/I)-(P/G)를 갖는, 상기 BB 루프의 중심 부위의 모방체는 IL-1 β 로 자극된 EL4 세포주에서는 단백질 키나제 p38의 인산화를 생체 외에서 억제할 수 있지만, 생쥐 재조합 IL-1 β 가 주입된 마우스에서는 열성 (febrile) 반응을 생체 내에서 현저히 약화시킨다. 그러나, 이 화합물은 MyD88/TLR4 상호작용을 억제하는데 효과적이지 못하다.
- <22> 당분야의 전문가들은 단일 MyD88/수용체 상호작용이 아니라, 상기 어댑터 단백질의 동종이량체화를 억제하여, 그로 인해 보다 많은 전-염증성 신호를 억제하고 따라서 약학적으로 더욱 효과적임을 입증하는 화합물을 환영할 것이다.
- <23> 또한, 미국, 예일대학교에 의해 특허된 최근의 발명 (Yale University, CT, USA. WO 02/090520 A2)은 TLR4 연결에 대한 반응으로 MyD88 비의존성 신호전달을 길항하기 위한 TIRAP 폴리펩티드의 사용을 청구하고 있다.
- <24> TIRAP는 메드지토프 및 오닐에 의해 개별적으로 확인된 Toll/IL-1 수용체 (TIR) 도메인을 포함하는 신규 단백질이다 (Horng, T., Barton, G.M., 및 Medzhitov, R.; *Nat. Immunol.* 2:835-841, 2001) (O'Neill, Fitzgerald, K.A., Palsson-McDermott, EM. 등; *Nature* 413:78-83, 2001). 그러나, TIRAP가 MyD88-비의존성 NF- κ B 활성화에 참여할 것이라는 초기의 기대에도 불구하고, 후속 연구는 TIRAP가 MyD88-비의존성 경로에 참여하지 않고 TLR2 및 TLR4를 통해 개시되는 MyD88-의존성 신호전달 경로에서 어댑터로 작용한다는 것을 발견하였다 (Yamamoto, M., Sato, S., Hemmi, H.; *Nature* 420:324-329, 2002). 실제로, 동일한 연구자들은 Trif로 명명된, 추가적인 어댑터가 NF- κ B의 MyD88-비의존성 활성화에 실제로 관여한다는 것을 밝혔다 (Yamamoto, M., Sato, S., Hemmi, H. 등; *Science* 301, 640-643). 현재 유용한 증거는, TLR3의 유일한 예외를 제외하고는, 모든 TLRs가 MyD88을 이용한다는 것을 시사한다 (Takeda, K. 및 Akira, S.; *Int Immunol.* 17:1-14, 2005). Dunne 등은 TIRAP 및 MyD88가 실제로 TLR2 및 TLR4의 서로 다른 영역에 결합함을 나타내는 TIRAP 및 MyD88과 TLR2 및 TLR4의 상호작용에 대한 심도깊은 연구를 수행하였다 (Dunne, A., Ejdeback, M., Ludidi, P.L. 등; *J Biol Chem* 278:41443-41451, 2003).
- <25> 다시 한 번, 당분야의 숙련자는 단일 MyD88/수용체 상호작용도, 단독으로 TLR2 및 TLR4의 신호전달에 관여하는 어댑터 (TIRAP)도 억제하지 않는 화합물을 환영할 것이다. 오히려, 모든 공지된 TLRs (TLR3 제외)로부터의 신호전달에 관여하는 단일 병목 어댑터 (MyD88)의 억제가 보다 많은 전-염증성 신호들을 길항하기 위해 것으로 계획되고 치료학적으로 더욱 효과적임이 증명된다.
- <26> 문헌에서 현재 유용한 정보를 근거로 하면, TLR/IL-1R 수용체 시스템의 신호전달의 조절관란으로부터 유래되는 많은 질환은, 이에 한정되는 것은 아니지만, 하기를 포함한다:
- <27> -예를 들면, 관절염, 통풍 관절염, 만성 염증성 창자병 (IBD), 건선, 제1형 당뇨병, 다발 경화증, 천식, 및 전신 홍반루푸스 (예를 들면, Sabroe, I, 등; *J. Immunol*; 171:1630-5, 2003; Liu-Bryan R 등, *Arthritis Rheum*.

52:2936-46, 2005; Joosten, LA, 등; *J. Immunol.*, 171:6145-53, 2003; Sabroe, L, 등; *Clin. Exp. Allergy*, 32:984-9, 2002; Lehnardt, S.; *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 100:8514-9, 2003; Choe, JY, 등; *J. Exp. Med.*, 197:537-42, 2003; Sabroe, L; *Thorax*, 59:81, 2004; Bellou, A.; *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol*, 3:487-94, 2003; O'Neill, LA; *Curr. Opin. Pharmacol*, 3:396-403, 2003; Schon, M., 등; *Clin. Exp. Immunol*, 123:505-10, 2001; Leadbetter, EA 등; *Nature*, 416:603-7, 2002; Rifkin, IR 등; *Immunol Rev*. 204:27-42, 2005 참고)와 같은 염증성 및 자가면역 질환.

<28> -예를 들면, 심근경색증, 바이러스성 심근염, 죽상동맥경화증, 정맥 이식편 죽상동맥경화증, 혈전증, 재협착, 스텐트로 인한 재협착 및 시술로 인한 재협착 (de Kleijn, D., 및 Pasterkamp G.; *Cardiovasc Res.*, 60:58-67, 2003; Oyama, J.-L, 등; *Circulation*, 109:784-789, 2004; Satoh, M., 등; *Lab. Invest*, 84:173-81, 2004; Thomas, JA, 등; *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol*, 285:11597-606, 2003 참조); Fairweather, D., 등; *J. Immunol*, 170:4731-7, 2003; Kiechl, S., 등; *Ann. Med.*, 35:164-71, 2003; Edfeldt, K, 등; *Circulation*, 105:1158-1161, 2002; Arditì 등, US20030148986 참조)과 같은 심혈관 및 죽종형성 질환.

<29> -폐혈증 및 쇼크 (예를 들면, Read, RC, 및 Wyllie, DH; *Curr. Opin. Crit. Care*; 7:371-5, 2001; Carrillo-Esper, R.; *Clr. Clr.*, 71:252-8, 2003; Knuefermann, P.; *Chest*, 121:1329-1336, 2002; Knuefermann, P., 등; *Circulation*, 106: 2608-2615, 2002 참조).

<30> -이식거부 반응 (예를 들면, Goldstein, DR., 등; *J. Clin. Invest.*, 111:1571-1578, 2003; Belperio, J.A.; *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 168: 623-624, 2003 참조).

<31> -암 (예를 들면, Huang, B, 등; *Cancer Res*. 65: 5009-14, 2005 참조).

<32> -바이러스성 감염 (예를 들면, Bafica, A. 등; *J Immunol*. 172:7229-34, 2004; Equils, O., 등; *J Immunol* 170:5159-5164, 2003; Scheller, C. 등; *J Biol Chem* 279:21897-21902, 2004; Sund-strom, J.B. 등; *J Immunol* 172:4391-4401, 2004 참조)

<33> 세다스-시나이 메디칼 센터 (Cedars-Sinai Medical Center)의 명의로 출원된, 미국특허출원 제20030148986호는 단백질 MyD88의 발현 또는 생물학적 활성을 억제하는 다양한 방법을 개시하고 있다. 이들은 또한 상기 단백질의 신호전달을 억제하는 펩타이드 모방 제제의 사용을 포함한다. 이러한 억제는 TLR-4 수용체에 결합하여 MyD88과의 결합을 억제하는 소 펩타이드 (10-20개 아미노산)를 이용하여 달성된다. MyD88의 작은 중첩 단편들 (약 10-20개 아미노산)은 이들 중 어느 단편이 TLR-4 수용체에 결합하여 MyD88 세포 신호의 전달을 억제하는지를 조사하기 위해 분리될 수 있다. 분리 후, 상기 단편들은 이 단편이 TLR-4 수용체에 결합하는 MyD88의 적어도 한 부분을 포함하여 MyD88의 결합 및 세포 신호 전달을 억제할 것인지 여부를 결정하기 위하여 복제되고 조사된다. 이 참고문헌에는 어떠한 구체적인 펩타이드의 예시도 제공되지 않는다.

<34> MyD88의 동종이량체화의 억제에 대한 예비 연구가 BB 루프의 보존적 서열을 포함하는 일련의 천연 펩타이드 (N 말단에서 아세틸아마이드 및 카복시 말단에서 일차 아마이드로 합성됨)에 대한 공-면역침전 분석을 이용하여 본 발명자들에 의해 수행되었다. 표 1은 활성인 것으로 입증된 펩타이드들 및 MyD88 동종이량체에서 발견되는 잔여 상호작용을 비처리된 단백질의 백분율로 나타낸 것이다. 단백질 myc-MyD88은 일시적으로 HEK293 세포에서 발현되고 항-myc 항체를 이용한 면역침전에 의해 세포 추출물로부터 분리된다. 면역침전된 단백질은 상기 합성 펩타이드의 부재 또는 존재 하에서 (최종 농도 200 μ M) 4°C에서 60분간 정제된 단백질 GST-MyD88TIR과 함께 배양된다. 적절히 세척한 후, 면역침전에 사용된 수지에 흡착된 단백질을 SDS로 용해시키고 myc-MyD88 및 GST-MyD88TIR의 존재에 대해 웨스턴 블롯팅으로 분석한다. NF- κ B 활성화의 억제 백분율이 또한 이들 두 펩타이드에 대해서 제공된다.

<35> 표 1

명명	펩타이드 (서열)	% 잔여 상호작용	% NF- κ B 억제
ST2348	MyD88 (Ac-RDVLPGT-NH ₂)	29	37
ST2350	IL-18R (Ac-RDVVPGG-NH ₂)	18	20

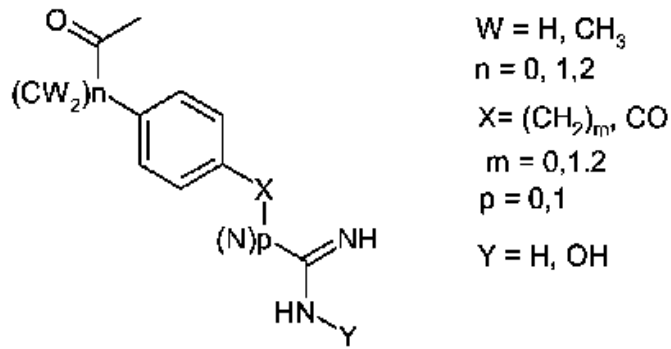
<37> 또한, 드로조필라 (*Drosophila*)의 안테나펩타이드 (Ap) 단백질의 절편 (Ap-MyD88=ST2345)과 접합되고, 서열 RQIKIWQNRRMKWKK (관통) (Gari, J., 및 Kawamura, K; *TRENDS in Biotechnology*, 19:21-28, 2001)을 갖는, 펩타이드 ST2348은 IL-1 α 로 자극된 HeLa 세포에서 NF- κ B 활성화를 억제할 수 있는 반면, 상응하는 스트랩블

(scrambled) 펩타이드 (ST2403 Ap-PTDLVRG-NH₂)는 불활성임이 입증되었다.

- <38> 본 발명의 목적은 MyD88 단백질과 TIR 도메인과의 상호작용을 방해하여 상기 단백질의 동종이량체화를 억제하는 MyD88의 특정 단백질 부분의 모방체를 동정하는 것이다. 이 접근법은 MyD88가 어댑터 단백질로서 그의 역할을 수행하는 IL-1R/TLR 수용체 각각에 동원되는 것을 피할 수 있게 해준다.
- <39> 본 발명에 의해 제공되는 분자들은 만성 염증성 질환의 치료를 위한 약제로 유용하고 IL-1R/TLR 수용체에 의해 매개되는 NF- κ B 활성화를 조절할 수 있다.
- <40> MyD88의 TIR 도메인의 보존적 펩타이드의 모방체를 제조하기 위한 전략이 본 명세서의 하기에 기술된다:
- <41> MyD88의 TIR 도메인의 보존적 펩타이드의 H-Arg-Asp-Val-Leu-Pro-Gly-Thr-OH 구조는 하기로 구성되는 세 개의 개별적인 부분으로 세분화된다: a) 아미노산 Arg-Asp로 구성되는 하전된 부분, b) 아미노산 Val-Leu으로 구성되는 소수성 부분, c) 아미노산 Leu-Pro-Gly-Thr으로 구성되는 β -회전 부분.
- <42> 세 개의 부분들 각각에 대해 특정 유형의 모방체가 상기 세 그룹간의 기능적 링커 기로서 아마이드 결합을 유지 하면서, 보존적 펩티드 서열 내에서 이들 중 하나가 또는 모두가 치환되도록 선택되었다:
- <43> a) Arg 기가 더욱 고려되고 이는 아르기닌 모방체 기로 치환되는데, 여기서 아르기닌모방체가 의미하는 바는 아르기닌이 치환되었을 때 아르기닌의 염기도부터 제로 염기도까지 기능성 기의 염기도를 조절하는 화학적 구조이다.
- <44> b) 아르기닌 및 프롤린 사이의 거리가 고려되고 이는 스페이서로 채워지는데, 여기서 스페이서가 의미하는 바는 다양하게 치환되고 기능화된 방향족 링커 고리, 단 하나의 카복실산 기 및, 아민 결합에 사용되는 단 하나의 일차 아민 기를 포함하는 제한된 수의 회전 자유도를 갖는 소수성 화학적 구조이다.
- <45> c) Pro-Gly β -회전의 중심 부위가 고려되고 이는 β -회전 모방체로 치환되는데, 여기서 β -회전 모방체가 의미하는 바는 Pro-Gly β -회전의 중심 부위를 모방하여, 분자가 단백질 MyD88과의 결합 형성에 유용한 형태를 취하도록 해주는 화학적 구조이다.

발명의 상세한 설명

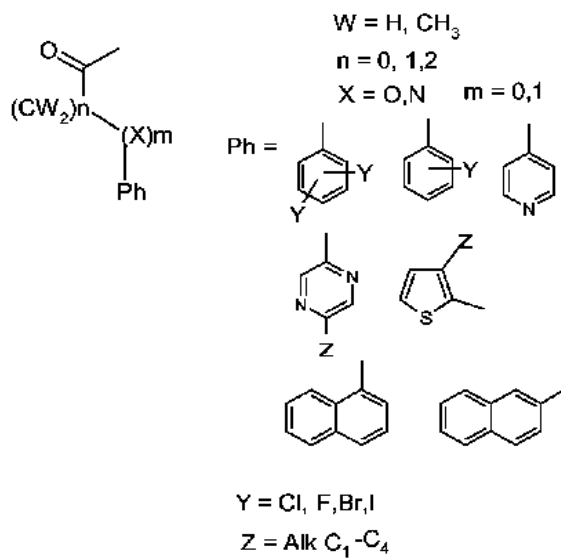
- <46> 발명의 요약
- <47> 본 명세서에서 하기에 기술된 바와 같이 펩타이드 및/또는 펩타이드 모방체 화합물은 MyD88의 특정 단백질 부위를 모방하여 그의 동종이량체화를 억제하고 이 단백질이 TIR 도메인과 상호작용하는 것을 방해할 수 있음이 확인되었다.
- <48> 본 발명의 대상은 하기 화학식 (I)의 펩타이드 및/또는 펩타이드 모방체 화합물이다:
- <49> (X-) AA₁-AA₂-AA₃-AA₄-AA₅-AA₆-AA₇
- <50> (I)
- <51> 여기서, X는 약학적으로 허용가능한 산의 음이온, 또는 부재이고;
- <52> 같거나 다를 수 있는, 기 AA₁-AA₇ 각각은 아미노산 또는 하기 의미를 갖는 아미노산 모방체이고:
- <53> AA₁은 L-아르기닌 (Arg), D-아르기닌 (arg), L-히스티딘 (His), D-히스티딘 (his), 또는 아르기닌 모방체 기의 잔기이고, 여기서 아르기닌 모방체가 의미하는 바는 아르기닌을 대체하고, 아르기닌의 염기도부터 제로 염기도에 이르기까지, 기능성 기의 염기도를 조절하는 하기 화학식 (II), (III) 및 (IV)를 갖는 화학적 구조이고;



<54>

<55>

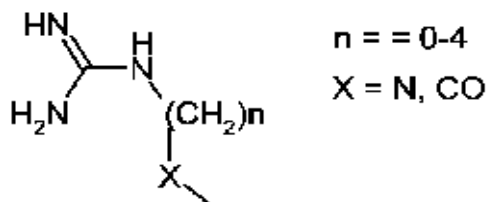
(II)



<56>

<57>

(III)



<58>

<59>

(IV)

<60>

또는 부재이고;

<61>

AA₂는 L-아스파르트산 (Asp), D-아스파르트산 (asp), L-아스파라긴 (Asn), D-아스파라긴 (asn), 글라이신 (gly 또는 Gly), 또는 부재이고;

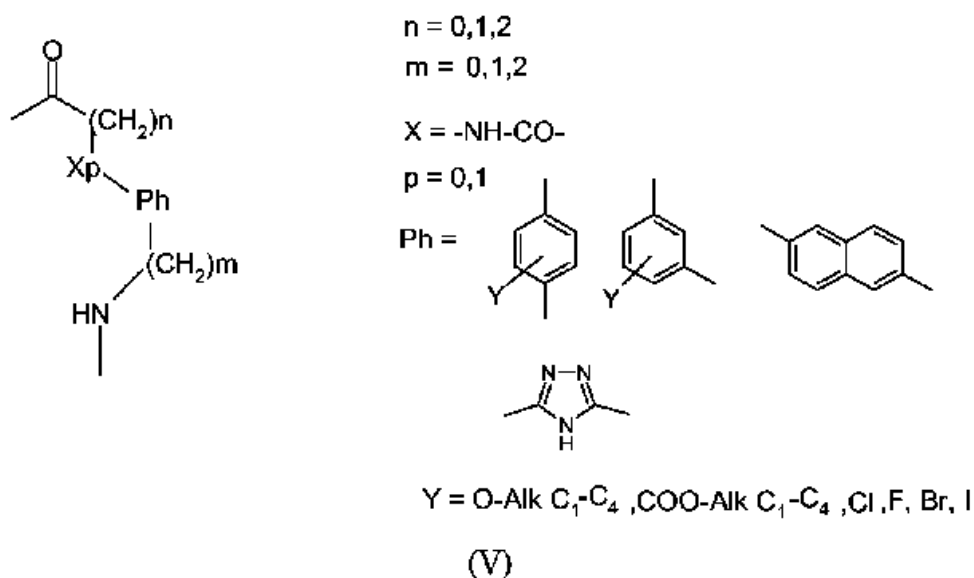
<62>

AA₃은 L-발린 (Val), D-발린 (val), 아자발린 (Aza-Val), 아자글라이신 (Azagly), 아자류우신 (AzaLeu)이고;

<63>

AA₄는 L-류우신 (Leu), D-류우신 (leu), L-발린 (Val), D-발린 (val), L-시스테인 (Cys), D-시스테인 (cys), 아자류우신 (Aza-Leu), 아자발린 (Aza-Val), 아자글라이신 (Azagly)이고;

<64> AA₂-AA₃-AA₄는 함께 스페이서로 치환될 수 있는데, 여기서 스페이서가 의미하는 바는, 화학식 (V)를 갖고, 다양하게 치환되고 기능화된 방향족 링커 고리, 단 하나의 카복실산 및, 아민 결합에 사용되는, 단 하나의 일차 아민 기를 포함하는 제한된 수의 회전 자유도를 갖는 소수성 화학적 구조이고:

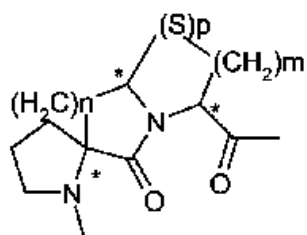


<65>

<66> AA₅는 L-프롤린 (Pro), D-프롤린 (pro), 시스-4,5-(메타노)-L-프롤린 (cMe-Pro), 시스-4,5-(메타노)-D-프롤린 (cMe-pro), 트랜스-4,5-(메타노)-L-프롤린 (tMe-Pro), 트랜스-4,5-(메타노)-D-프롤린 (tMe-pro)이고;

<67> AA₆는 글라이신 (gly 또는 Gly), 사르코신 (Sar), 아자글라이신 (Azagly)이고;

<68> AA₅-AA₆는 함께 β-회전 모방체에 의해 치환될 수 있는데, 여기서 β-회전 모방체가 의미하는 바는, 화학식 (VI) 및 (VII)를 갖고, Pro-Gly β-회전의 중심 부위를 모방하여, 분자가 단백질 MyD88과의 결합 형성에 유용한 형태를 취하도록 해주는 화학적 구조이고,

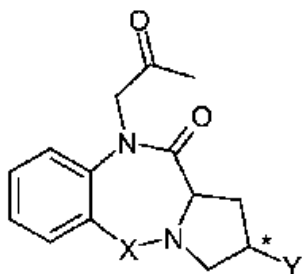


$n = 0, 1, 2$
 $m = 0, 1, 2$
 $p = 0, 1$

* = either racemate and pure enantiomers

(VI)

<69>



$X = CO, SO_2$

$Y = H, OH$

* = either racemate and pure enantiomers

(VII)

<70>

<71> AA₇은 글라이신 (gly 또는 Gly), 아자글라이신 (Azagly), L-트레오닌 (Thr), D-트레오닌 (thr), L-시스테인 (Cys), D-시스테인 (cys)의 잔기이거나, 또는 부재이고;

<72> AA₄와 AA₇이 Cys 또는 cys이면, 상기 두 개의 시스테인 사이에는 이황화 가교가 있고;

<73> AA₁, AA₂, AA₃, AA₄, AA₅, AA₆ 및 AA₇의 일부 또는 모두가 아미노산이면, 이들은 L 또는 D일 수 있고 상기 서열은 반대이거나 그렇지 않을 수 있고;

<74> AA₁-AA₇ 잔기들 사이의 결합은 항상 아마이드 형태이고;

<75> 말단 아민 기는 유리상태이거나, 예컨대, 아세틸, 포밀, 벤조일, 포로피오닐, 사이클로헥실, 미리스토일와 같이 분자를 수송하는데 유용한 약학적으로 허용가능한 라디칼로 아실화될 수 있고; 말단 카복실은 카복실산 또는 일차 아민의 형태일 수 있고,

<76> 개별적인 거울상이성체, 부분입체이성체, 그의 혼합물 및 이들의 약학적으로 허용가능한 염이고;

<77> 하기 조건 하에서:

<78> AA₁-AA₇의 적어도 하나가 상기에 기술된 것들 중에서 천연 아미노산이 아니고, 또는

<79> 만약 모든 AA₁-AA₇이 상기에 기술된 것들 중에서 천연 아미노산이라면, 상기 AA₁-AA₇ 서열은 반대임.

<80> 화학식 (I)의 화합물은 약제, 특히 TLR/IL-R1 수용체 시스템의 신호전달의 조절곤란으로부터 유래하는 질환, 특히 염증성 및 자가면역 질환; 심혈관 및 죽종형성 질환; 패혈증 및 쇼크; 및 이식거부 반응의 치료를 위한 약제로서 유용하다.

<81> 따라서, 본 발명의 목적은 화학식 (I) 화합물, 이를 포함하는 약학 조성물 및 이들의 약제로서의 용도이다.

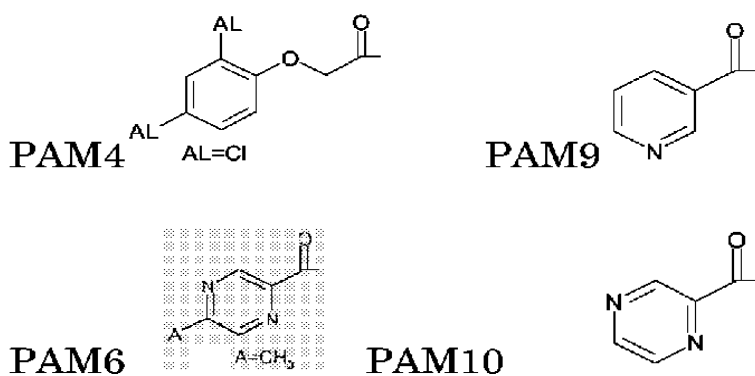
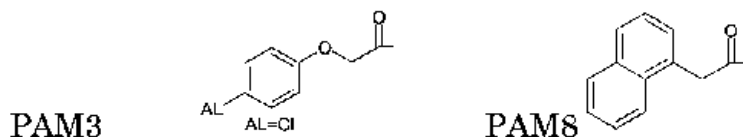
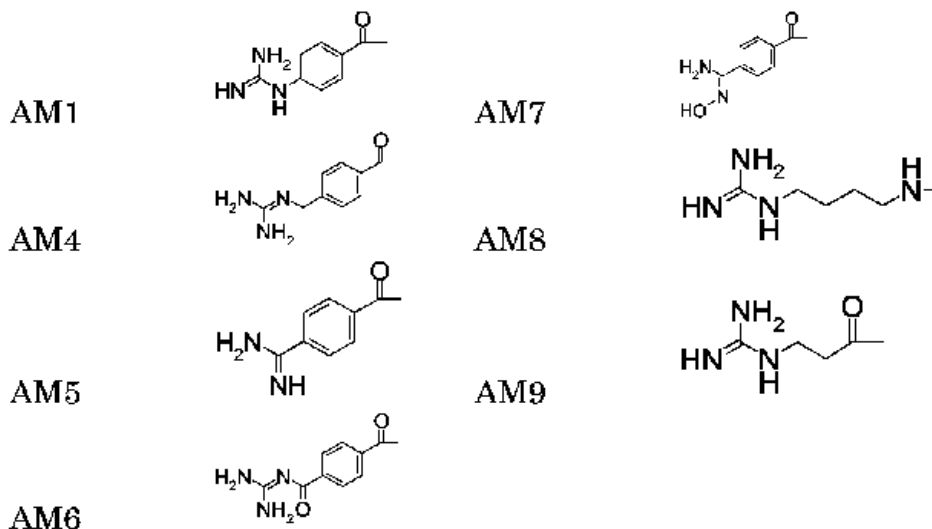
<82> 발명의 상세한 설명

<83> 말단 아민기는 유리 상태이거나 예컨대, 아세틸, 포밀, 벤조일, 포로피오닐, 사이클로헥실, 미리스토일과 같은 분자를 수송하는데 유용한 약학적으로 허용가능한 라디칼로 아실화될 수 있고; 말단 카복실은 카복실산 또는 일차 아민의 형태일 수 있다.

<84> 약학적으로 허용가능한 산의 음이온의 예시로는 Cl⁻, Br⁻, I⁻, CH₃COO⁻, 및 CF₃COO⁻가 있다. 다른 약학적으로 허용가능한 음이온은 당분야에서 사용되는 표준 기준, 예를 들면 무독성 또는 실질적으로 무독성 또는 어떤 경우에는 허용가능한 독성과 같은 표준 기준, 또는 제형 이점, 예를 들면 수용성 또는 결정성 형태와 같은 제형 이점에 따라 당분야의 숙련자에 의해 선택될 수 있다. 약학적으로 허용가능한 염이 의미하는 바는 독성 또는 원치않는 효과를 유도하지 않는 임의의 염으로, 이러한 효과는 임상적 관점에서 허용가능한 형태로 그 자체로서

명백하다. 그 또는 그의 통상적인 지식에 더하여, 평균적인 경험을 갖는 기술자는, 예컨대 유럽 약전 또는 미국 약전과 같은 문헌을 용이하게 참고할 수 있다.

<85> 상기에 기술된 바와 같이 아르기닌 모방체 기의 일반적인 정의를 가정하면, 바람직한 예시는 다음과 같다.

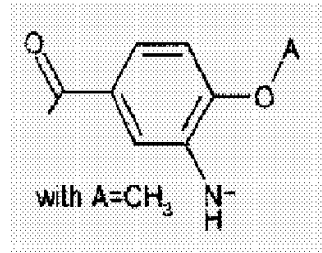


<87>

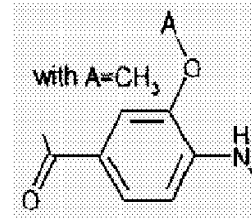
<88> 여기서 A는 직쇄 또는 분지된 G-C₄ 알킬기이고; AL은 F, Cl, Br 및 I로부터 선택되는 할로젠 기이다.

<89> 상기에 기술된 바와 같이 스페이서의 일반적인 정의를 가정하면, 이 기의 바람직한 예시는 n이 0 내지 3인 화학식 (SPX)_n을 가지고, 하기 표에 정의된 바와 같다.

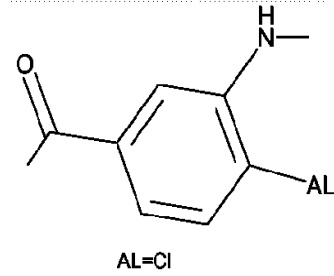
SP2



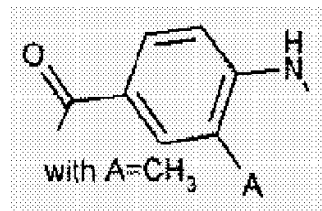
SP25



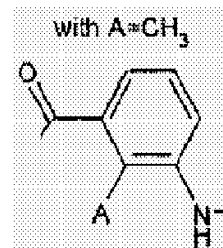
SP6



SP11

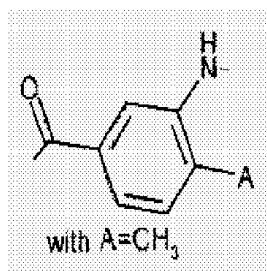


SP30

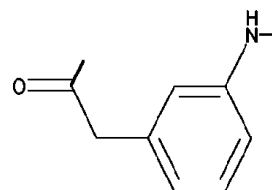


<90>

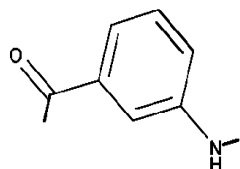
SP12



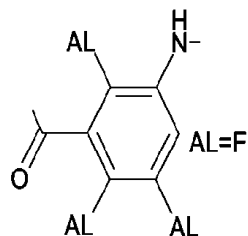
SP31



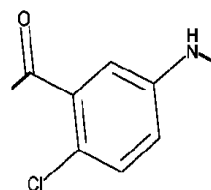
SP14



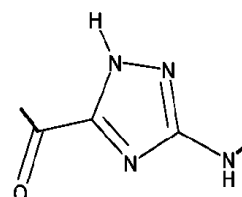
SP32



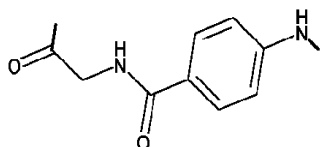
SP15



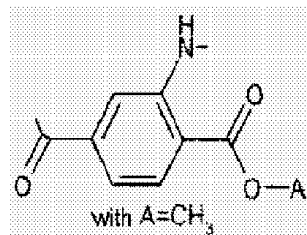
SP33



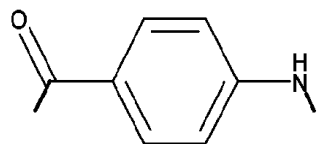
SP17



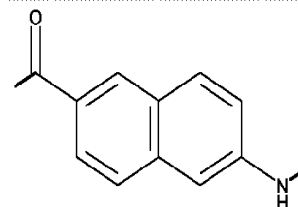
SP34



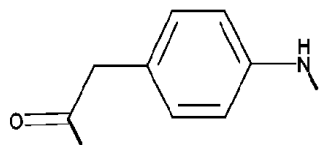
SP18



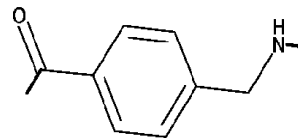
SP38



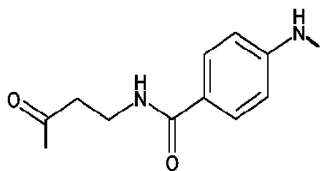
SP19



SP39



SP20

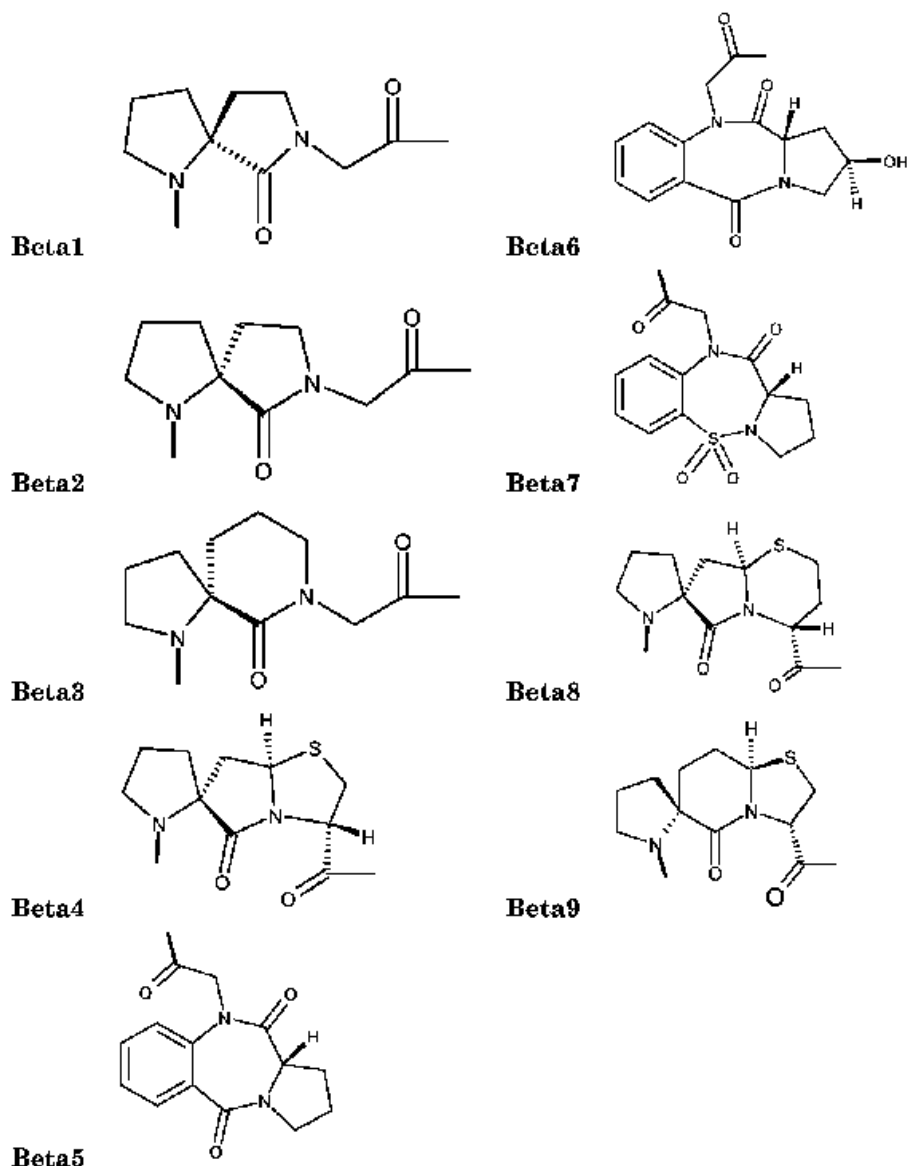


<91>

<92>

여기서 A는 직쇄 또는 분지된 G-C₄ 알킬 기이고; AL은 F, Cl, Br 및 I로부터 선택되는 할로겐 원자이다.

<93> 상기에 기술된 바와 같이 β -회전 모방체의 일반적인 정의를 가정하면, 이 기의 바람직한 예시는 하기와 같다.



<94>

<95> 상기 화합물은 실험 부분에 기술된 3종의 생물학적 일차 스크리닝 분석을 거쳤다: a) 이중 하이브리드 분석, b) NF- κ B 억제 분석 및 c) RGA 분석. 이 3종의 생물학적 분석들 중 어느 하나에서 활성인 것이 증명된 화합물이 활성 화합물로서 간주되었다.

<96> 화학식 (I)로 표시되는 화합물은 하기 세 가지 종류로 구분될 수 있다:

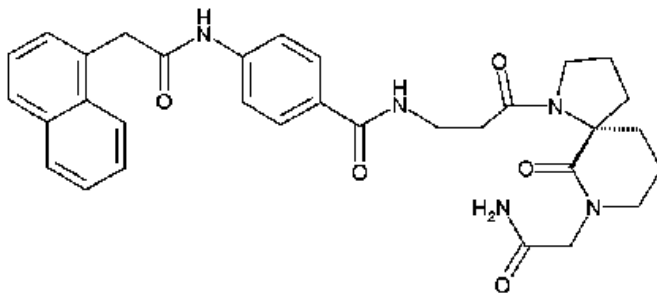
<97> 1. 화학식 I^v 또는 화학식 I^{VI} 까지는 반응식 9에 따라 제조된 펩타이드 화합물.

<98> 바람직한 화합물은 다음과 같다:

<99> ST2565 Ac-thr-gly-pro-leu-val-asp-arg-NH₂

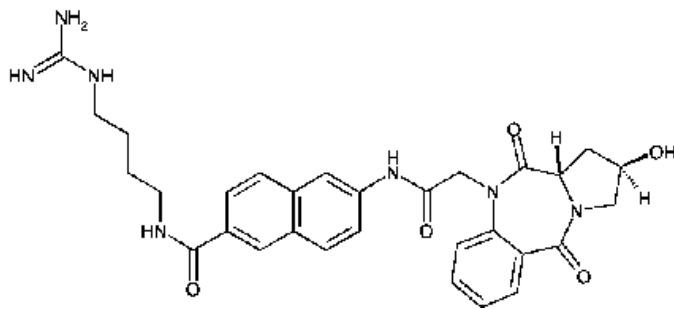
<100> 2. 화학식 I^{II} 또는 화학식 I^{III} 까지는 반응식 9에 따라 제조된 펩타이드 모방체 화합물.

<101> 바람직한 화합물은 다음과 같다:



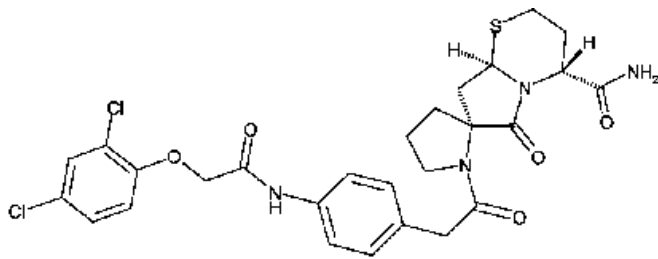
<102>

<103> ST2793 : PAM8-SP20-베타3-NH₂



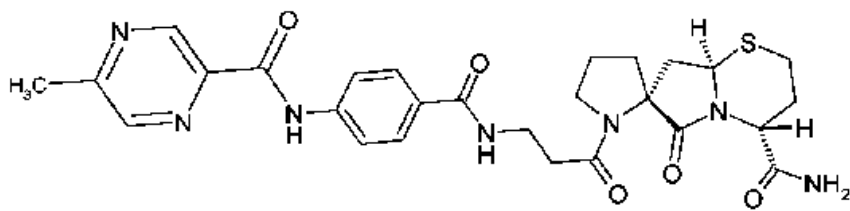
<104>

<105> ST2806 : AM8-SP38-베타6



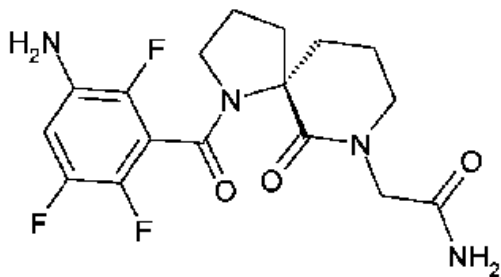
<106>

<107> ST2825 : PAM4-SP19-베타8-NH₂



<108>

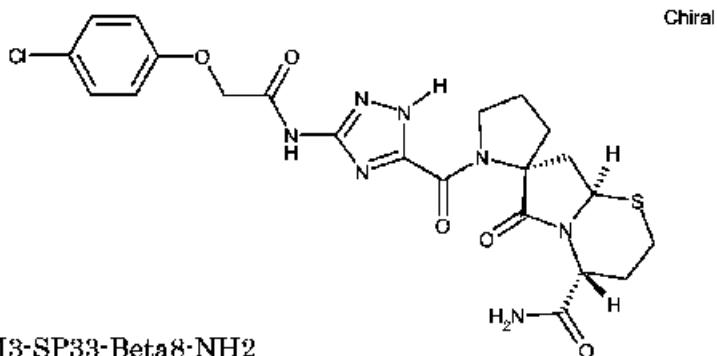
<109> ST2826 : PAM6-SP20-베타8-NH₂



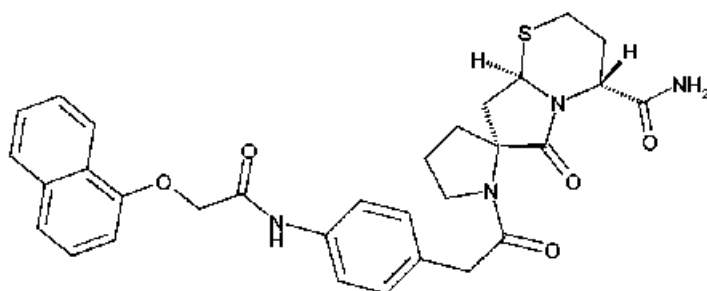
<110>

<111>

ST2828 : SP32-베타3-NH₂



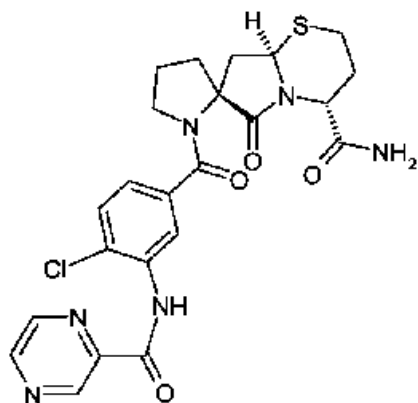
ST2941: PAM3-SP33-Beta8-NH₂



<112>

<113>

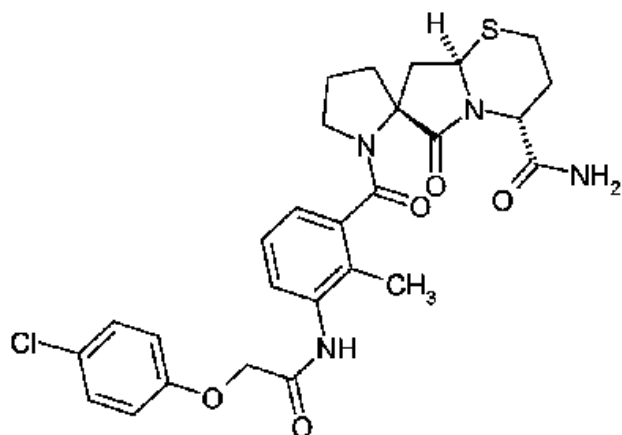
ST3324 : PAM11-SP19-베타8-NH₂



<114>

<115>

ST3374 : PAM10-SP6-베타8-NH₂



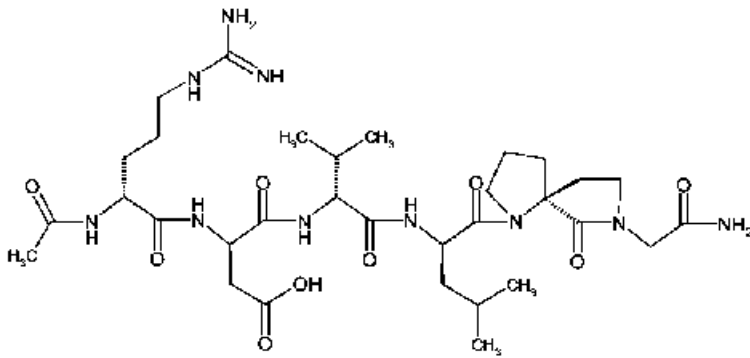
<116>

<117> ST3375 : PAM3-SP30-베타8-NH₂

<118> 3. 화학식 I^{II}, I^{III}, I^{IV} 및 I^V까지는 반응식 9에 따라 제조되고 하기 하위분류로 구분되는 부분적인 펩타이드 화합물:

<119> -화학식 I^{IV} 및 I^V까지는 반응식 9에 따라 제조되는, AA₅-AA₆가 β-회전 모방체로 치환된 부분적인 펩타이드 화합물.

<120> 바람직한 화합물은 다음과 같다:

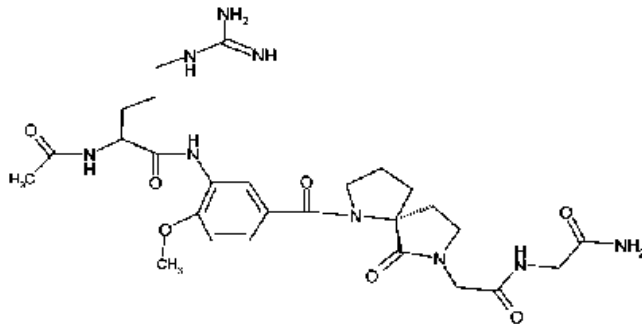


<121>

<122> ST2799 : Ac-arg-asp-val-leu-베타1-NH₂

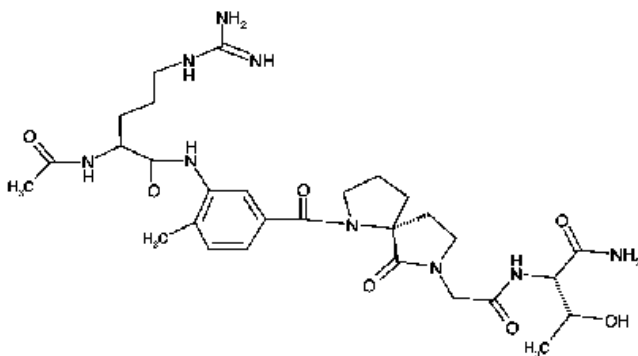
<123> -화학식 I^{II} 및 I^{III}까지는 반응식 9에 따라 제조되는, AA₂-AA₃-AA₄가 스페이서로 치환되고 AA₅-AA₆가 β-회전 모방체로 치환된 부분적인 펩타이드 화합물.

<124> 바람직한 화합물은 다음과 같다:



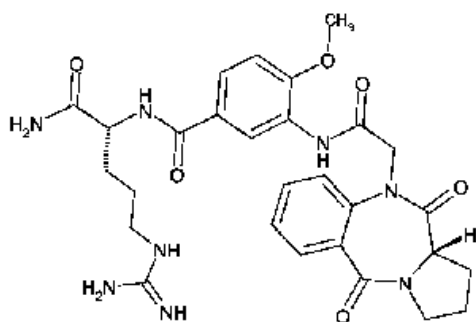
<125>

<126> ST2804 : Ac-Arg-SP02-베타2-Gly-NH₂



<127>

<128> ST2801: Ac-Arg-SP12-베타2-Thr-NH₂

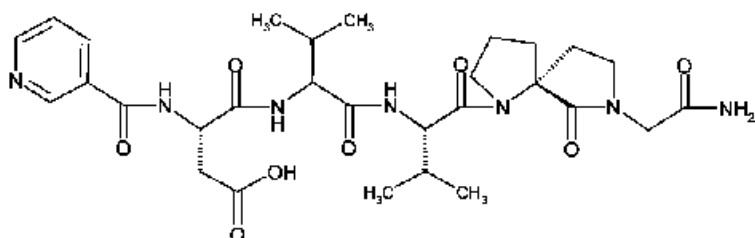


<129>

<130> ST2805 : NH₂-arg-SP02-베타5

<131> -반응식 I^{IV} 및 I^V까지는 반응식 9에 따라 제조되는, AA₁이 아르기닌-모방체이고, AA₅-AA₆이 β-회전 모방체로 치환된 부분적인 펩타이드 화합물.

<132> 바람직한 화합물은 다음과 같다:

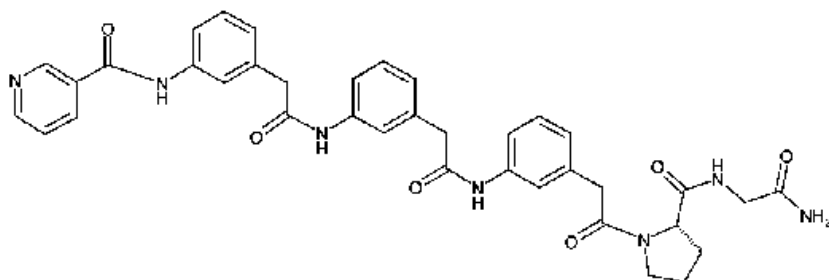


<133>

<134> ST2794 : PAM9-Asp-Val-Val-베타2-NH₂.

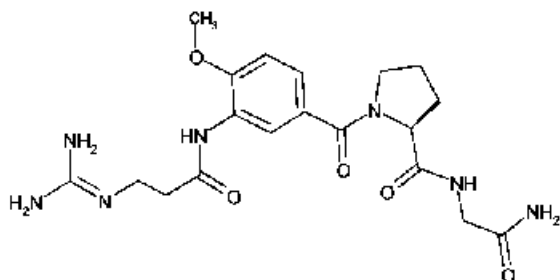
<135> -화합식 I^{III} 및 I^{IV}까지는 반응식 9에 따라 제조되는, AA₁이 아르기닌-모방체이고, AA₂-AA₃-AA₄는 스페이서로 치환된 부분적인 펩타이드 화합물.

<136> 바람직한 화합물은 다음과 같다:



<137>

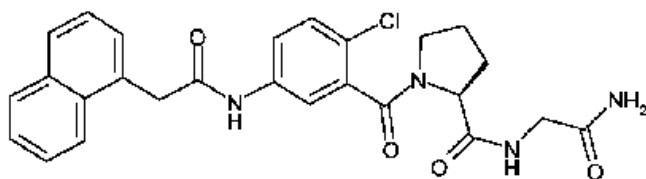
<138> ST2807 : PAM9-(SP31)₃-Pro-Gly-NH₂



<139>

<140>

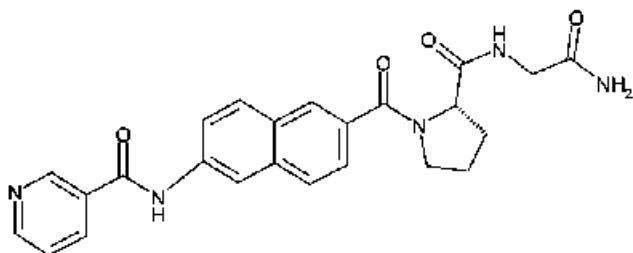
ST2796 : AM9-SP02-Pro-Gly-NH₂



<141>

<142>

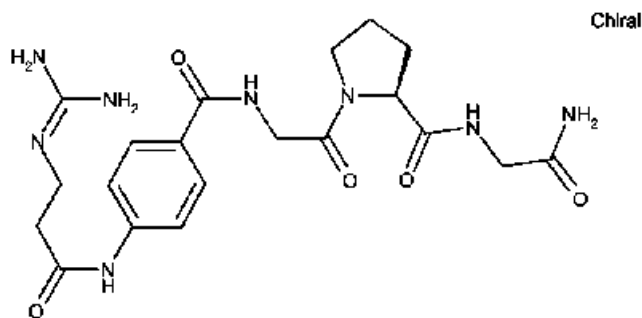
ST2797 : PAM8-SP15-Pro-Gly-NH₂



<143>

<144>

ST2798 : PAM9-SP38-Pro-Gly-NH₂



<145>

<146>

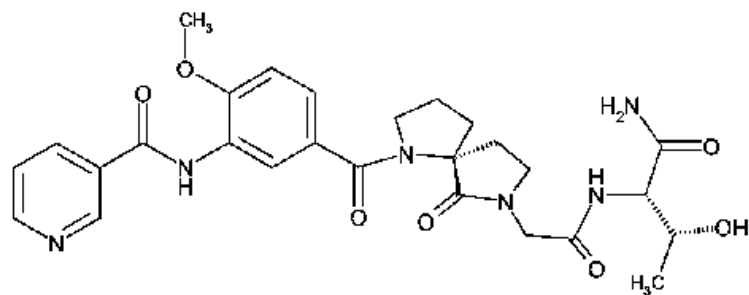
ST2863 : AM9-SP17-Pro-Gly-NH₂

<147>

화학식 I^{III}까지는 반응식 9에 의해 따라 제조되는, AA₁은 아르기닌-모방체이고, AA₂-AA₃-AA₄는 스페이스로 치환되고, AA₅-AA₆은 β-회전 모방체로 치환되고 AA₇은 아미노산인, 부분적인 펩타이드 화합물.

<148>

바람직한 화합물은 다음과 같다:



<149>

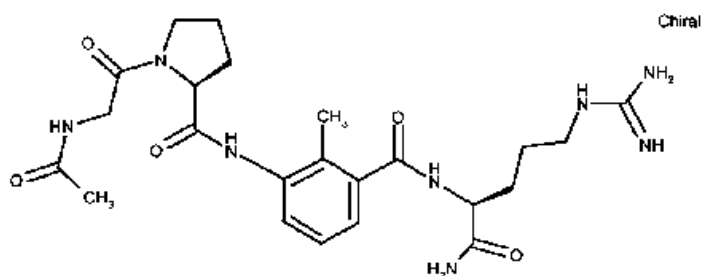
<150>

ST2792 : PAM9-SP02-베타2-Thr-NH₂.

<151>

화학식 I^{III}까지는 반응식 9에 의해 따라 제조되는, AA₂-AA₃-AA₄이 스페이스로 치환된, 부분적인 펩타이드 화합물.

<152> 바람직한 화합물은 다음과 같다:



<153>

<154> ST2864 : Ac-Gly-Pro-SP30-Arg-NH₂

<155> 화학식 I^V 및 I^{VI}까지는 반응식 9에 따라 제조되는, 하나 이상의 아미노산이 하나 이상의 아자-아미노산으로 치환된, 부분적인 펩타이드 화합물.

<156> 바람직한 화합물은 다음과 같다:

<157> ST2926 H-Arg-Gly-AzaVal-Val-Pro-Gly-NH₂

<158> ST3032 Ac-Azagly-Azagly-pro-leu-val-asp-arg-NH₂

<159> ST2927 Ac-Arg-Asp-Azagly-Val-Pro-Gly-NH₂

<160> ST2930 Ac-thr-Azagly-pro-leu-val-asp-arg-NH₂

<161> ST2920 Ac-Arg-Asp-Val-AzaVal-Pro-Gly-NH₂

<162> ST2928 Ac-Arg-Asp-AzaLeu-Val-Pro-Gly-NH₂

<163> 본 발명에 따른 화합물은 당분야의 숙련자에게 익숙한 통상적인 합성 방법들을 이용하여 제조될 수 있다. 일반적인 펩타이드 합성 기술은 본 발명의 목적에 잘 적용된다. 대표적인 참고문헌은, 예를 들면 다음과 같다: Norbert Sewald, Hans-Dieter Jakubke, *Peptides: Chemistry and Biology*, Wiley VCH (2002); Miklos Bodanszky, *Principles of Peptide Synthesis (Sec. Ed.)*, Springer-Verlag (1993); John Jones, *Amino Acid and Peptide Synthesis (Oxford Chemistry Primers)*, Oxford Science Publications (2000).

<164> 일반적인 합성 반응식은 본 명세서 하기에 기술된 반응식 9이고 이는 독자에게 일반적인 설명을 위해 참고된다.

<165> 본 발명에 따른 화합물이 비-펩타이드 부분을 포함할 때, 이들의 합성은 상기 펩타이드 분자가 그 위에서 완성되는 빌딩 블록의 제작을 수반한다.

<166> 본 명세서 하기에 기술된 반응식에서, 빌딩 블록은 많은 바람직한 실시태양을 위해 예시되고, 이들은 그의 완벽한 전후 관계에서 본 발명의 실시태양을 위한 지침서로서 당분야의 숙련자에게는 제공되는 것으로 이해된다. 사실상, 명백히 예시되지 않을 것들을 고려하면, 당분야의 숙련자는 그 또는 그의 일반적인 지식에 의존하여, 예를 들면 상업적으로 구매가능한 것들 중에서 출발 화합물을 찾아내거나, 또는 실시예에 개요된 것들을 분석하여 이들을 제조함으로써 빌딩 블록을 보충할 수 있다.

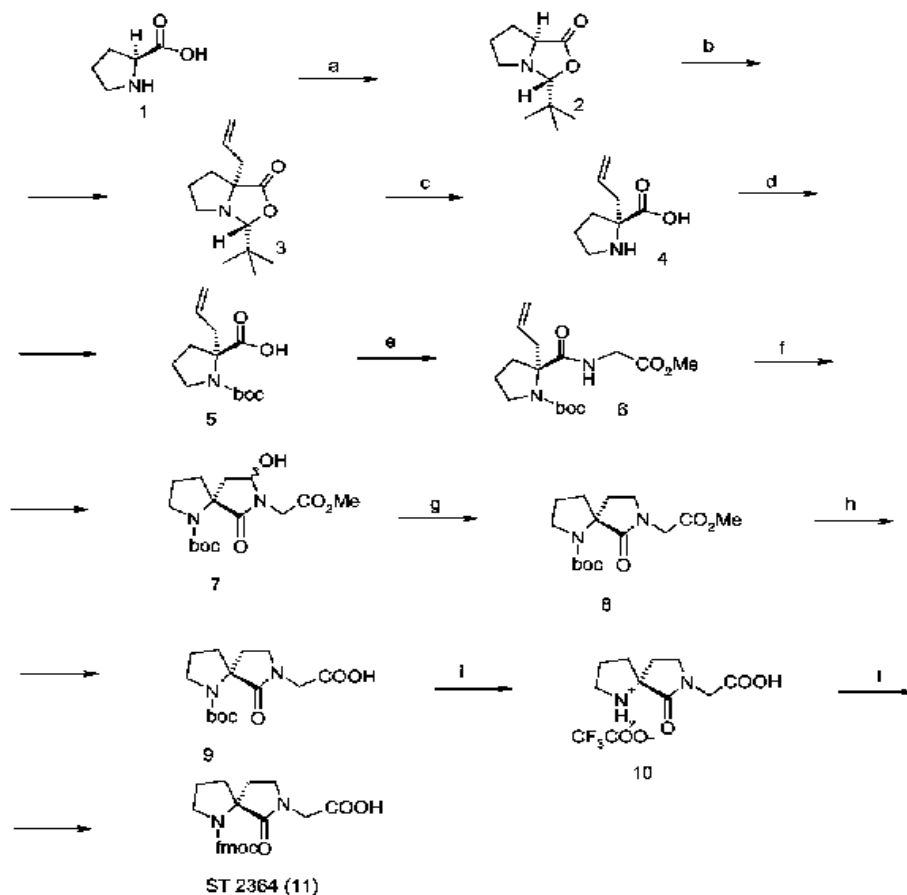
<167> 빌딩 블록의 합성

<168> β-회전 모방체로 불리는 펩타이드 모방체 화합물 부분은 하기 실시예에 기술된 합성 방법에 따라 합성된 빌딩 블록을 사용하여 합성되었다:

<169> β-회전 모방체 베타2를 포함하는 펩타이드 모방체 화합물의 합성에 유용한, 빌딩 블록 ST2364 (11)는 중간체 8까지는 R.D 롱 및 K.D. 윌레 (Long, R.D.; 등; *J. Am. Chem. Soc.*; 1997, 119, 12394-1239)에 따라 변형된 R.L. 존슨 및 그의 동료들에 의해 기술된 방법 (Genin, M.J.; 등; *J. Org. Chem.*; 1993, 58, 2334-2337)을 이용하고 그 후에는 본 명세서 하기의 실시예 1에 기술된 방법을 이용하여 반응식 1에 따라 합성되었다.

<170> 반응식 1

<171> ST2364의 합성



<172>

Reagent: (a) *t*-Bu-CHO, cat. CF₃COOH, (b) 1. LDA, 2. CH₂=CH-CH₂-Br, (c) Silica gel, MeOH/ H₂O (d) (Boc)₂O, (e) Gly-OMe.HCl, DCC, HOBt, NEt₃, (f) OsO₄, NaIO₄, MeOH/H₂O, (g) NaBH₃CN, (h) K₂CO₃, (i) TFA, (l) 1. NaHCO₃, 2. Fmoc-OSu, 3. HCl

<173>

실시예

<174> 실시예 1

<175> {(5R)-1-[(9H-플루오렌-9-일-메톡시)-카보닐]-6-옥소-1,7-다이아자스피로 [4.4]논-7-일}-아세트산 ST2364 (11)의 제조

<176> 중간체 [(5R)-1-(*tert*-부톡시카보닐)-6-옥소-1,7-다이아자스피로 [4.4]논-7-일]-아세트산 (9)의 제조

<177> 8.5 g (0.027 mol)의 (5R)-7-(2-메톡시-2-옥소-에틸)-6-옥소-1,7-다이아자스피로 [4.4]논-1-카복실산 *tert*-부틸 에스테르 (8)를 140 ml의 H₂O 및 140 ml의 di MeOH에 용해시킨다. 상기 용액에 7.48 g (0.054 mol)의 K₂CO₃를 첨가하고 이 혼합물을 실온에서 밤새 교반하면서 방치한다. 그 후에 HCl 2 N로 pH를 5로 산성화시키고 감압 하에서 증발시킨다. 수득된 잔사를 H₂O에 용해시키고, pH를 2-3까지 낮추고 CH₂Cl₂로 추출을 수행한다. 유기 상의 수분을 Na₂SO₄로 제거하고 감압 하에서 건조 상태로 만들어 6.5 g의 유리상 고형물 (수율: 81%)을 수득한다.

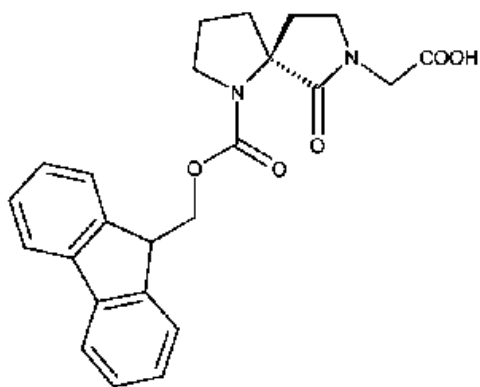
<178> TLC: CHCl₃ 8/ MeOH 2/ AcOH 0.1; RF: 0.54.

<179> ¹HNMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1.30-1.60 (2s, 9H), 1.80-2.20 (m, 4H), 2.20-2.40 (m, 2H), 2.40-2.60 (m, 2H), 3.30-3.70 (m, 4H), 3.85 (d, 1H), 3.20-4.20 (sa, 1H), 4.50 (d, 1H).

<180> 중간체 (5R)-7-(카복시메틸)-6-옥소-7-아자-1-아조니아스피로[4.4]노나노-트라이플루오로아세트레이트 (10)의

제조

- <181> 6 g (0.02 mol)의 [(5R)-1-(*terz*-부톡시카보닐)-6-옥소-1,7-다이하자스피로-[4.4]논-7-일]-아세트산(9)를 100 ml의 CH₂Cl₂ 및 100 ml의 트라이플루오로아세트산에 용해시킨다. 상기 용액을 1시간 동안 실온에서 교반 하에 유지하고, 그 후에 감압 하에서 건조 상태로 만들고 H₂O를 잔사에 첨가하고, 다시 감압 하에서 증발시켜 트라이플루오로아세트산의 모든 잔여물을 제거한다. 수득된 오일을 오일 펌프로 건조시켜 6.2 g의 오일상 생성물 (수율: 100%)을 수득한다.
- <182> TLC: CHCl₃ 60/MeOH 40/H₂O 15/iPrOH 10/AcOH 15; RF: 0.33.
- <183> ¹HNMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 2.10 (m,4H), 2.30 (m,2H), 3.35 (m,2H), 3.50 (m,2H), 4.05 (2d,2H), 9.25 (sa,1H), 9.35 (sa,1H).
- <184> {(5R)-1-[(9H-플루오렌-9-일-메톡시)-카보닐]-6-옥소-1,7-다이하자스피로 [4.4]논-7-일}-아세트산 ST2364 (11)의 제조
- <185> 6.2 g (0.02 mol)의 (5R)-7-(카복시메틸)-6-옥소-7-아자-1-아조니아스피로[4.4]노나노-트라이플루오로아세테이트 (10) 및 4 g (0.047 mol)의 NaHCO₃를 200 ml의 H₂O에 용해시킨다. 300 ml의 아세톤에 용해된 7.0 g (0.021 mol)의 Fmoc-N-OSu를 그 후에 상기 용액에 첨가하고 이 용액을 20시간 동안 실온에서 교반하면서 방치한다. H₂O를 상기 반응 혼합물에 첨가하고 이를 Et₂O로 3회 세척한다. 수성 상의 pH를 HCl 2 N을 이용하여 2-3으로 맞추고 CHCl₃로 추출을 수행한다. 유기 상의 수분을 무수물 Na₂SO₄로 제거하고 감압 하에서 증발을 수행한다. 수득된 끈끈한 고형물을 CHCl₃로 결정화시켜 6.1 g의 백색 고형물 (수율: 73%)을 얻는다.
- <186> TLC: CHCl₃ 8/ MeOH 2/ AcOH 0.1; RF: 0.55.
- <187> MP: 144-146°C.
- <188> [α]_D: -12.6; MeOH 내 농축 0.5%.
- <189> HPLC: 컬럼: μ 본다팩 C18 3.9×150 mm;
- <190> 이동상: KH₂PO₄ 50 mM/CH₃CN 75/25;
- <191> 유속: 1.0 ml/분. 실온;
- <192> R.T.: 10.9 분
- <193> ¹HNMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 1.50 (m,1H), 1.60-2.00 (m,4H), 2.40 (q,1H), 2.60, 3.02 (2m,1H), 3.30 (m,2H), 3.40 (m,2H), 3.70, 4.10 (2d,2H), 4.15, 4.20 (2m,1H), 4.35, 4.75 (2dd,1H), 7.25-7.45 (m,4H), 7.55-7.70 (m,2H), 7.83 (d,2H) 12.70 (sa,1H).
- <194> β-회전 모방체 베타1을 포함하는 펩타이드-모방체 화합물의 합성에 유용한, 빌딩 블록 ST2201은 L-프롤린으로부터가 아니라 D-프롤린으로부터 시작하는, ST 2364 (실시예 1)를 합성하기 위해 사용된 동일한 방법에 의해, 반응식 1에 따라 합성되었다. ST2201의 분석 데이터는 본 명세서 하기 실시예 2에 기술된다.



ST2201

<195>

<196>

실시예 2

<197>

{(5S)-1-[(9H-플루오렌-9-일-메톡시)-카보닐-6-옥소-1,7-다이하자스피로 [4.4]논-7-일}-아세트산 ST2201의 제 조

<198>

TLC: CHCl₃ 8/ MeOH 2; RF: 0.33.

<199>

MP: 138-141°C.

<200>

[α]_D: +15.1; MeOH 내 농축 0.5%.

<201>

HPLC: 컬럼: μ 본다팩 C18 3.9×150 mm;

<202>

이동상: KH₂PO₄ 50 mM/CH₃CN 65/35;

<203>

유속: 1.0 ml/분. 실온;

<204>

R.T.: 8.2분.

<205>

¹HNMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 1.50 (m, 1H), 1.60-2.00 (m, 4H), 2.40 (q, 1H), 2.60, 3.02 (2m, 1H), 3.30 (m, 2H), 3.40 (m, 2H), 3.70, 4.10 (2d, 2H), 4.15, 4.20 (2m, 1H), 4.35, 4.75 (2dd, 1H), 7.25-7.45 (m, 4H), 7.55-7.70 (m, 2H), 7.83 (d, 2H) 12.70 (sa, 1H).

<206>

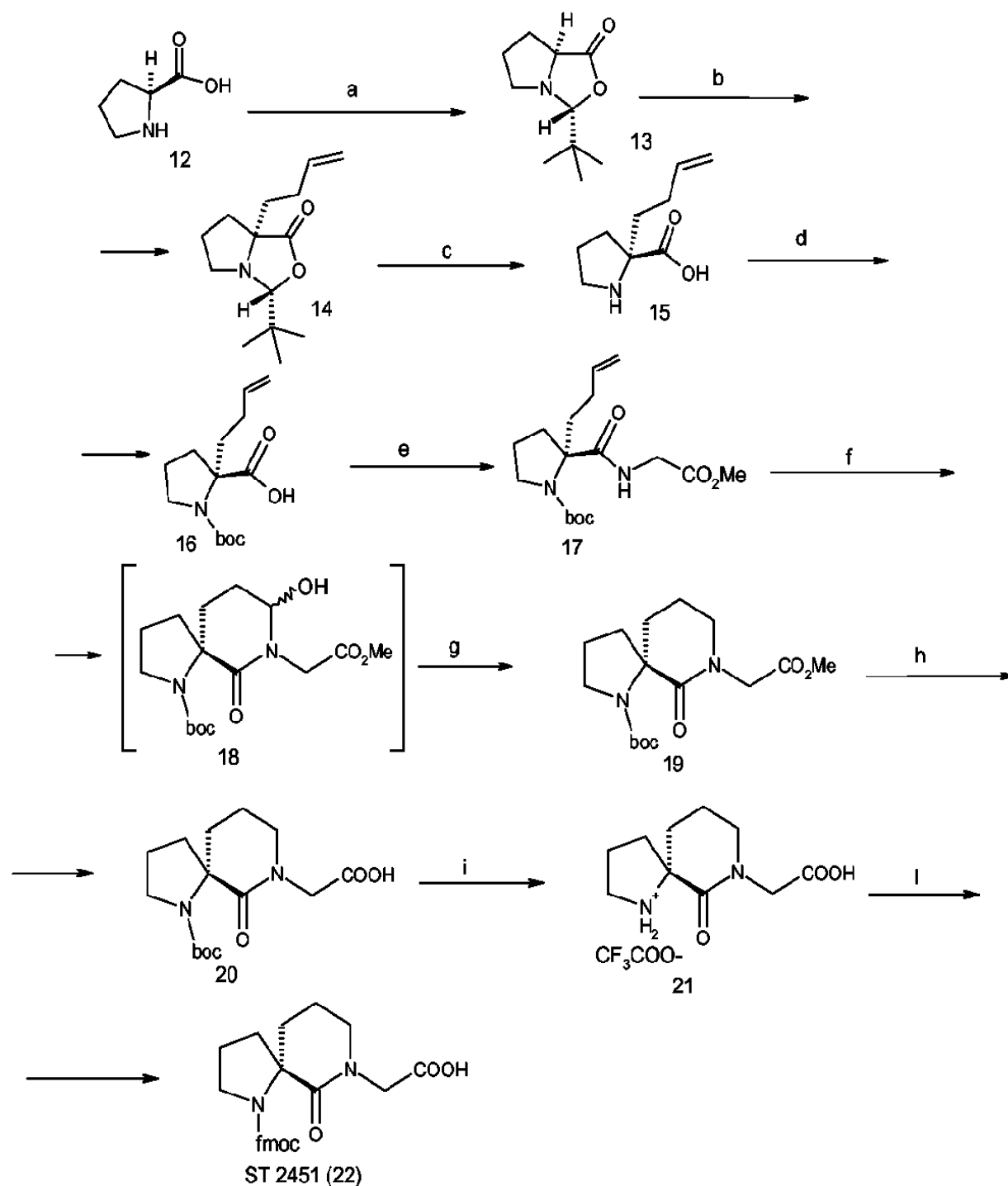
β-회전 모방체 베타3를 포함하는 펩타이드-모방체 화합물의 합성에 유용한, 빌딩 블록 ST2451 (22)는 중간체 16까지는 R.L. 존슨 및 동료들에 의해 기술된 방법 (Genin, M.J.; 등; *J. Med. Chem.*; 1999, 42, 628-637)을 이용하고, 그 후에는 본 명세서 하기 실시예 3에 기술된 방법을 이용하여 반응식 1에 따라 합성되었다.

<207>

반응식 2

<208>

ST2451의 합성



Reagents : (a) *t*-Bu-CHO, cat. CF₃COOH, (b) 1. LDA, 2. CH₂=CH-CH₂-CH₂-Br, (c) Silica gel, MeOH/H₂O, (d) (Boc)₂O, (CH₃)₂NOH. 5H₂O (e) Gly-OMe.HCl, DCC, HOBT, NEt₃ (f) OsO₄, NaIO₄, MeOH/H₂O (g) NaBH₃CN, (h) K₂CO₃, (i) TFA, (l) 1. NaHCO₃, 2. Fmoc-OSu, 3.HCl

<209>

<210>

실시예 3

<211>

{(5S)-1-[(9H-플루오렌-9-일-메틸옥시)-카보닐]-6-옥소-1,7-다이하자스피로 [4.5]테크-7-일}-아세트산 ST2451 (22)의 제조

<212>

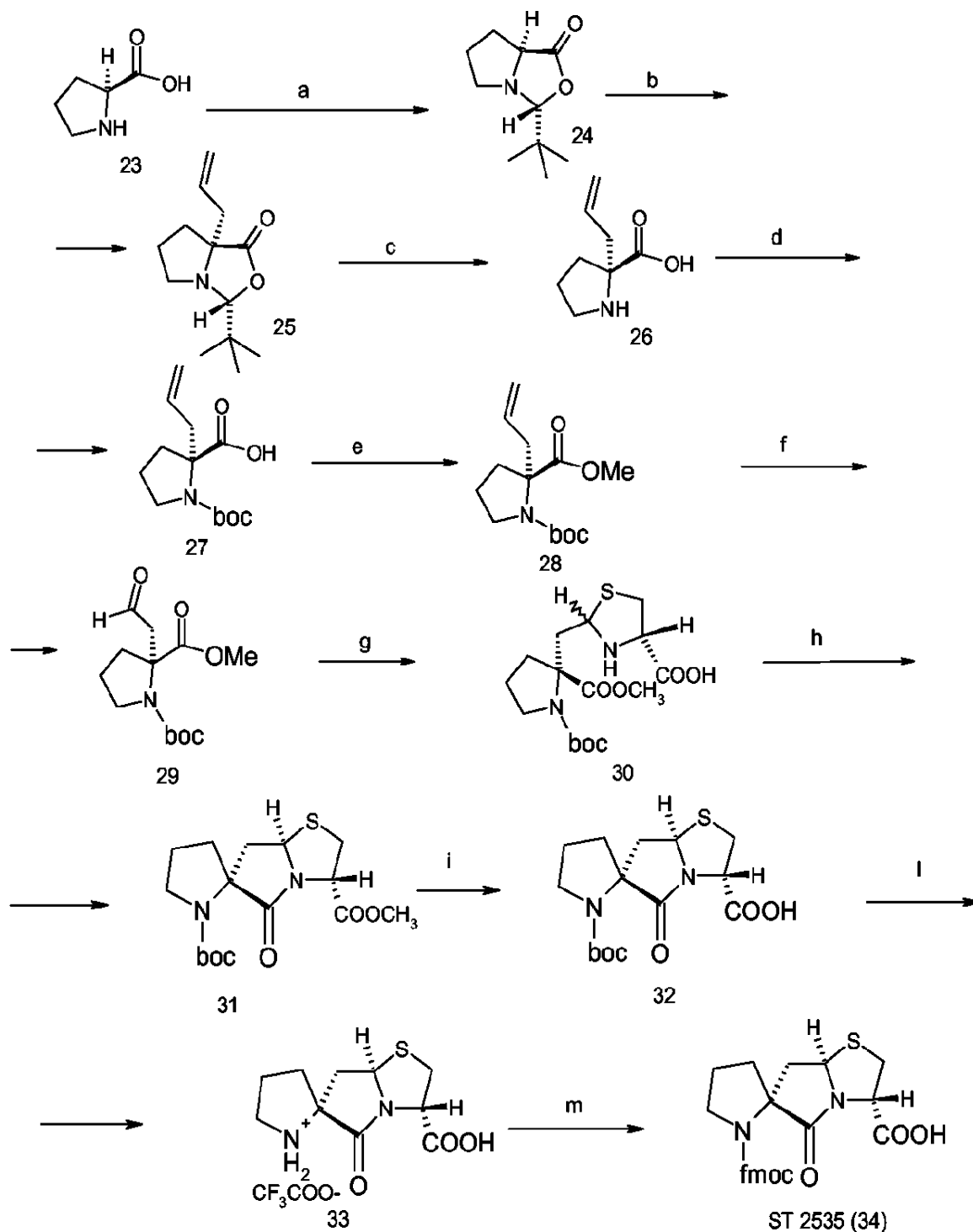
중간체 2-뷰트-3-엔-1-일-1-(terz-뷰톡시-카보닐)-1-프롤릴글라이신 메틸에스테르 (17)의 제조

- <213> 8.0 g (0.0297 mol)의 2-부트-3-엔-1-일-1-(terz-부톡시카보닐)-L-프롤린 (16), 3.7 g (0.0297 mol)의 글라이신 메틸에스테르 하이드로클로라이드 및 4.0 g (0.0297 mol)의 하이드록시벤조트라이아졸을 100 ml의 무수물 CHCl_3 에 용해시킨다. 상기 용액에 4.1 ml (0.0297 mol)의 TEA를 첨가하고 100 ml의 무수물 CHCl_3 에 용해된 6.1 g (0.0297 mol)의 DCC를 첨가한다. 반응 혼합물을 N_2 기체 하, 실온에서 밤새 교반하도록 방치한다. 이로부터 형성된 다이사이클로헥실유레아 (DCU)를 여과하고 여과물을 감압 하에서 건조 상태로 만든다. 그렇게 수득된 잔사를 Et_2O 와 함께 흔들어 주고 모든 DCU를 제거하기 위하여 여과하고 액체 상을 NaHCO_3 1 M, 염 H_2O , 및 10% 시트르산으로 세척하고 다시 염 H_2O 로 세척한다. 유기 상의 수분을 무수물 Na_2SO_4 로 제거하고 감압 하에서 건조 상태로 만들어 13 g의 노란색 오일을 수득하고, 이를 n-헥산/AcOEt 2:1로 용출하는 실리카 겔 크로마토그래피 컬럼을 이용하여 정제한다. 정제를 거쳐 9.4 g의 백색 고형물이 수득된다 (수율: 93%).
- <214> TLC: 헥산 2/AcOEt 1; RF: 0.27.
- <215> ^1H -NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 1.54, 1.60 (2s, 9H), 1.75 (m, 3H), 2.10 (m, 4H), 2.75 (m, 1H), 3.35 (m, 1H), 3.58 (m, 1H), 3.75 (s, 3H), 4.05 (m, 2H), 5.00 (m, 2H), 5.82 (m, 1H), 6.50, 8.32 (2sa, 1H).
- <216> 중간체 (5S)-7-(2-메톡시-2-옥소에틸)-6-옥소-1,7-다이아자스피로 [4.5]데카노-1-카복실산 terz-부틸 에스테르 (19)의 제조
- <217> 9.15 g (0.027 mol)의 2-부트-3-엔-1-일-1-(terz-부톡시카보닐)-L-프롤린글라이신 메틸에스테르 (17)를 300 ml의 di MeOH/ H_2O 2:1에 용해시킨다. 0.33 g (0.0013 mol)의 OsO_4 를 상기 용액에 첨가하고, N_2 거품을 낸 후에 10분간 교반하면서 방치하고, 그 위에 17.1 g (0.08 mol)의 NaIO_4 를 부분-방식으로 첨가한다. 백색 침전물이 어두운 색의 용액으로부터 형성되고 24시간 동안 실온에서 교반하면서 방치한다. H_2O 를 용액이 얻어질 때까지 반응 혼합물에 첨가하고 얻어진 용액을 AcOEt로 수차례 추출한다. 모아진 유기 상을 H_2O 로 세척하고, 무수물 Na_2SO_4 로 산성화시키고 감압 하에서 건조 상태를 만들어 짙은 색깔의 오일로서 9.2 g의 (5R)-8-하이드록시-7-(2-메톡시-2-옥소에틸)-6-옥소-1,7-다이아자스피로 [4.5]-데카노-1-카복실산-terz-부틸 에스테르 (18)의 부분임체이성체의 혼합물을 수득하고 이는 이후의 추가적인 정제과정 없이 반응된다.
- <218> TLC: AcOEt; RF: 0.39 및 0.52 (부분임체이성체).
- <219> 9.0 g (0.026 mol)의 (5R)-8-하이드록시-7-(2-메톡시-2-옥소에틸)-6-옥소-1,7-다이아자스피로 [4.5]데카노-1-카복실산 terz-부틸 에스테르 (18)를 180 ml의 무수물 THF에 용해시킨다. 18 ml의 트라이플루오로아세트산을 상기 용액에 첨가하고 그 용액을 얼음 수조 내에서 냉각시키고 4.68 g (0.074 mol)의 NaBH_3CN 를 첨가한다. 상기 반응 혼합물을 질소 기체 하, 실온에서 20시간 동안 교반한 후 K_2CO_3 로 알칼리화시킨다. 상기 용액을 여과에 의해 잔사로부터 분리하고 여과물을 감압 하에서 건조 상태로 만든다. 수득된 무정형의 덩어리를 H_2O 에 용해시키고 CH_2Cl_2 로 수차례 추출한다. 유기 상의 수분을 무수물 Na_2SO_4 로 제거하고 감압 하에서 건조 상태로 만든다. 9 g의 짙은 색깔의 오일을 수득하고 이를 AcOEt/n-헥산 3:1으로 용출하는 실리카 겔 크로마토그래피로 정제한다. 4.5 g의 밝은 색깔의 오일이 수득된다 (수율: 53%).
- <220> TLC: AcOEt; RF: 0.5.
- <221> ^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 1.40, 1.60 (2s, 9H), 1.60-2.15 (m, 6H), 2.15-3.80 (m, 2H), 3.30 (m, 1H), 3.30-3.80 (m, 4H), 3.75, 3.76 (2s, 3H), 4.70, 4.78 (2d, 1H).
- <222> 중간체 [(5S)-1-(terz-부톡시카보닐)-6-옥소-1,7-다이아자스피로 [4.5]테크-7-일]-아세트산 (20)의 제조
- <223> 4 g (0.012 mol)의 (5S)-7-(2-메톡시-2-옥소에틸)-6-옥소-1,7-다이아자스피로 [4.5]데카노-1-카복실산 terz-부틸 에스테르 (19)를 60 ml의 MeOH에 용해시키고 60 ml의 H_2O ; 3.32 g (0.024 mol)의 K_2CO_3 를 첨가한다. 상기 반응 혼합물을 20시간 동안 실온에서 교반 하에 유지한 후, HCl 2 N로 pH를 5로 맞추고 감압 하에서 건조 상태로 만든다. 수득된 잔사를 H_2O 에 용해시키고, pH 2-3으로 만든 후 CH_2Cl_2 로 수차례 추출한다. 상기 유기 상의 수분을 무수물 Na_2SO_4 로 제거하고 감압 하에서 건조 상태로 만들어 3.2 g의 백색 고형물을 수득한다 (수율: 86%).

- <224> TLC: CHCl₃ 8/MeOH 2/CH₃COOH 0,1; RF: 0.59.
- <225> ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1.43 (s,9H), 1.60-2.15 (m,6H), 2.15-2.50 (m,2H), 3.25 (m,1H), 3.30-3.80 (m,4H), 4.43, 4.98 (2d,1H).
- <226> 중간체 (5R)-7-(카복시메틸)-6-옥소-7-아자-1-아조나이스피로 [4.5]데카노-트라이플루오로아세트이트 (21)의 제조
- <227> 3.1 g (0.01 mol)의 [(5S)-1-(terz-부톡시카보닐)-6-옥소-1,7-다이아자스피로-[4.5]테크-7-일]-아세트산 (20)을 60 ml의 CH₂Cl₂ 및 60 ml의 트라이플루오로아세트산에 용해시키고; 상기 반응 용액을 1시간 동안 실온에서 교반하였다. 그 후에 이를 30℃, 감압 하에서 건조 상태로 만들고 잔사를 H₂O로 취한 후 다시 감압 하에서 건조 상태로 만들고, 오일 펌프를 이용하여 완전히 건조시킨다. 이로부터 3.1 g의 밝은 색깔의 오일이 수득된다 (수율: 95%).
- <228> TLC: CHCl₃ 60/MeOH 40/H₂O 15/isoPrOH/10/AcOH 15; RF: 0.4.
- <229> ¹H-NMR (200 MHz, D₂O): δ 1.85-2.30 (m,8H), 3.20-3.60 (m,4H), 4.05 (d,2H).
- <230> {(5S)-1-[(9H-플루오렌-9-일-메톡시)-카보닐]-6-옥소-1,7-다이아자스피로 [4.5]테크-7-일}-아세트산 ST2451 (22)의 제조
- <231> 3.2 g (0.01 mol)의 (5R)-7-(카복시메틸)-6-옥소-7-아자-1-아조나이스피로-[4.5]데카노-트라이플루오로아세트이트 (21)를 100 ml의 H₂O에 용해시키고; 1.7 g (0.02 mol)의 NaHCO₃를 상기 용액에 첨가한 후 150 ml의 아세톤에 용해된 3.7 g (0.011 mol)의 Fmoc-N-OSu를 첨가한다. 반응 혼합물을 24시간 동안 실온에서 교반하고, 아세톤을 감압 하에서 증발시킨 후 H₂O로 희석하고 Et₂O로 세척한다. 수성 상의 pH를 HCl 2 N을 이용하여 pH 2-3으로 맞춘 후 CHCl₃로 추출한다; 유기 상의 수분을 무수물 Na₂SO₄로 제거하고 감압 하에서 건조 상태로 만든다. 수득된 생성물을 CHCl₂ 및 Et₂O로 결정화하여 1.4 g의 백색 고형물을 수득한다 (수율: 32%).
- <232> TLC: CHCl₃ 8/MeOH 2/CH₃COOH 0,1; RF: 0.62.
- <233> MP: 122℃.
- <234> [CC]D: -26.4 (MeOH 내 0.5%).
- <235> E.A.: 이론 값: C 69.10; H 6.03; N 6.44;
- <236> 실제 값: C 67.81; H 5.90; N 6.31.
- <237> HPLC: 컬럼: 대칭 C18 (5 μ) 3.9×150 mm;
- <238> 이동상: KH₂PO₄ 50 mM pH 3/CH₃CN 65/35;
- <239> 유속: 1.0 ml/분, 실온;
- <240> R.T.: 5.2 분.
- <241> ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1.20, 1.38, 1.62 (3m,1H), 1.78-2.20 (m,5H), 2.22-2.50 (m,2H), 2.80, 3.45 (2m,1H), 3.25 (m,1H), 3.60 (dd,1H), 3.65 (m,1H), 3.80, 3.85 (2d,1H), 4.15, 5.2 (2m,1H), 4.2-4.35 (m,1H) 4.40 (m,1H), 4.60 (m,1H), 7.20-7.45 (m,8H), 7.58 (m,2H), 7.75 (d,2H).
- <242> β-회전 모방체 베타4를 포함하는 펩타이드 모방체 화합물의 합성에 유용한, 빌딩 블록 ST2535 (34)를 중간체 31까지는 R.L. 존슨 및 동료들에 의해 기술된 방법 (Genin, M.J.; 등; J. Med. Chem.; 1999, 42, 628-637)을 이용하고 그 후에는 본 명세서 하기 실시예 4에 기술된 방법을 이용하여, 반응식 3에 따라 합성하였다.
- <243> 반응식 3

<244>

ST2535의 합성



Reagents: (a) *t*-Bu-CHO, cat. CF₃COOH, (b) 1. LDA, 2. CH₂=CH-CH₂-Br, (c) Silica gel, MeOH/H₂O (d)(Boc)₂O, (CH₃)NOH·5 H₂O (e) K₂CO₃, (f) OsO₄, NaIO₄, MeC, 4/H₂O (g) D-Cys-OH·HCl, NaOH, H₂O/ EtOH, (h) 1. NEt₃, DMF, 2. CH₃I, KHCO₃, (i) K₂CO₃ (l) TFA, (m) Fmoc-OSu, NaHCO₃.

<245>

<246>

실시예 4

<247>

(2R,3'S,7a'R)-1-[(9H-플루오렌-9-일-메톡시)-카보닐]-5'-옥소테트라하이드로피로[피롤리딘-2,6'-피롤- [2,1-b][1,3]티아졸]-3'-카복실산 ST2535 (34)의 제조

<248>

중간체 (2R,3'S,7a'R)-1-(terz-뷰톡시-카보닐)-5'-옥소테트라하이드로피로[피롤리딘-2,6'-피롤 [2,1-

b)[1,3]티아졸]-3'-카복실산 (32)의 제조

<249> 5 g (0.014 mol)의 (2R,3'S,7a'R)-5'-옥소테트라하이드로-1H-스피로-[피롤리딘-2,6'-피롤 [2,1-b][1,3]티아졸]-1,3'-다리카복실산 1-terz-뷰틸 3'-메틸에스테르 (31)를 65 ml의 H₂O 및 65 ml의 MeOH에 용해시킨다. 3.87 g (0.028 mol)의 K₂CO₃를 상기 용액에 첨가한다. 현탁액을 20시간 동안 실온에서 교반한 후, 혼합물의 pH를 HCl 2 N을 이용하여 5까지 낮추고 혼합물을 감압 하에서 건조 상태로 만든다. 잔사를 H₂O로 취하고, pH 2-3으로 만든 후 CHCl₃로 추출한다. 유기 상을 H₂O로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시킨 후 감압 하에서 건조 상태로 만든다. 수득된 유리상의 잔사를 Et₂O로 결정화시켜 3 g의 백색 고형물을 수득한다 (수율: 64%).

<250> TLC: CHCl₃ 8/MeOH 2/CH₃COOH 0,1; RF: 0.56.

<251> ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 1.45 (s,9H) 1.75-2.45 (m,5H), 2.85 (dd,1H) 3.50 (m,4H) 4.98 (m,1H), 5.20, 5.30 (d 및 dd,1H), 5.00-6.00 (sa,1H).

<252> 중간체 (2R,3'S,7a'R)-3'-카복시-5'-옥소테트라하이드로스피로 [피롤리딘-2,6'-피롤 [2,1-b][1,3]티아졸]-트라이플루오로아세테이트 (33)의 제조

<253> 3.0 g (0.0087 mol)의 (2R,3'S,7a'R)-1-(terz-뷰톡시카보닐)-5'-옥소테트라하이드로스피로 [피롤리딘-2,6'-피롤 [2,1-b][1,3]티아졸]-3'-카복실산 (32)을 60 ml의 CH₂Cl₂ 및 60 ml의 트라이플루오로아세트산에 용해시킨다. 전체를 2시간 동안 실온에서 교반하고 30℃에서 증발시킨다; 수득된 오일을 피치 (pitch)가 얻어질 때까지 오일 펌프로 건조시키고 이 피치를 CHCl₃로 결정화하여 2.4 g의 백색 고형물을 수득한다 (수율: 80%).

<254> TLC: CHCl₃ 60/MeOH 40/H₂O 15/isoPrOH 10/AcOH 15; RF: 0.57.

<255> ¹H-NMR (200 MHz, D₂O): δ 1.95-2.40 (m,4H), 2.45 (dd,1H), 2.90 (dd,1H), 3.25-3.35 (m,3H) 3.45 (dd,1H), 4.93 (dd,1H), 5.22 (t,1H).

<256> (2R,3'S,7a'R)-1-[(9H-플루오렌-9-일-메톡시)-카보닐]-5'-옥소테트라하이드로스피로 [피롤리딘-2,6'-피롤 [2,1-b][1,3]티아졸]-3'-카복실산 ST2535 (34)의 제조

<257> 2.3 g (0.0064 mol)의 (2R,3'S,7a'R)-3'-카복시-5'-옥소테트라하이드로스피로-[피롤리딘-2,6'-피롤 [2,1-b][1,3]티아졸]트라이플루오로아세테이트 (33)를 100 ml의 H₂O에 용해시키고; 1.1 g (0.013 mol)의 NaHCO₃를 상기 용액에 첨가한 후 150 ml의 아세톤에 용해된 4.4 g (0.013 mol)의 Fmoc-N-OSu를 첨가한다. 전체를 20시간 동안 실온에서 교반하고 아세톤을 감압 하에 증발시킨다. 더 많은 양의 물을 첨가하고 수성 용액을 Et₂O로 세척한 후, pH를 2-3으로 맞추고 CHCl₃로 추출한다. 유기 상을 분리하여 무수물 Na₂SO₄ 상에서 수분을 제거하고 감압 하에서 건조 상태로 만든다. 이로부터 수득된 유리상의 오일을 에틸 아세테이트로 결정화하여 2.3 g의 여과 가능한 백색 고형물을 수득한다 (수율: 80%).

<258> TLC: CHCl₃ 8/MeOH 2/CH₃COOH 0,1; RF: 0.67.

<259> MP: 110℃. decomp.

<260> E.A.: 이론 값: +8.4% H₂O = C59.21; H5.71; N5.52 S6.32;

<261> 실제 값: = C57.11; H4.87; N5.21; S5.43.

<262> [α]_D²⁰: +121.9.

<263> ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1.60-2.20 (m,4H), 2.30 (m,1H), 2.80 (m,1H), 3.30, 3.35-3.60 (3m,4H), 4.05, 4.20 (2m,1H), 4.40 (m,2H), 4.60, 4.98 (2m,1H), 5.05, 5.15 (2m,1H), 6.00-7.20 (sa,1H), 7.20-7.45 (m,8H), 7.58 (m,2H), 7.75 (d,2H).

<264> HPLC: 컬럼: 대칭 C18 (5 μ) 3.9 \times 150 mm;

<265> 이동상: KH_2PO_4 50 mM/ CH_3CN 65/35;

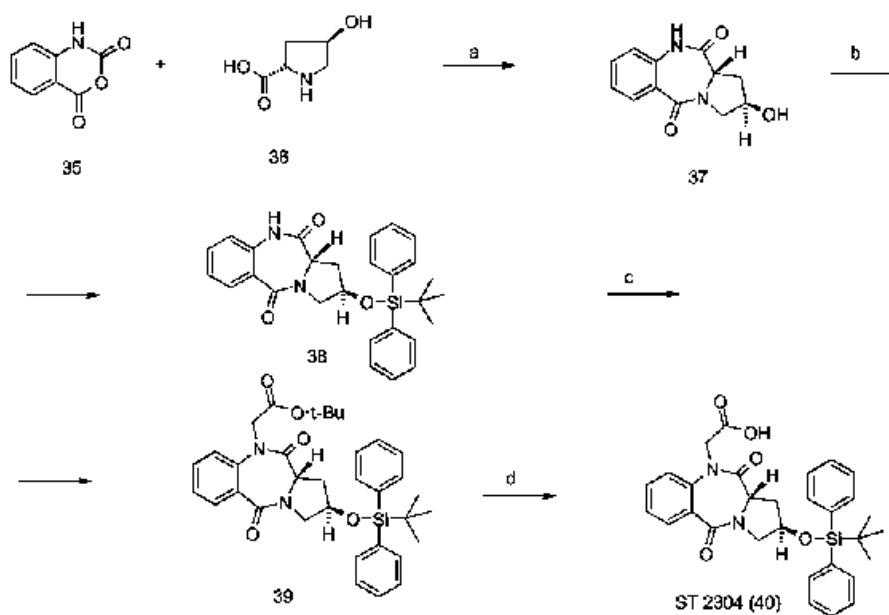
<266> 유속: 1.0 ml/분. 실온;

<267> R.T.: 12.1분.

<268> β -회전 모방체 베타6을 포함하는 펩타이드 모방체 화합물의 합성에 유용한, 빌딩 블록 ST2304 (40)를 중간체 37까지는 M.R. 페나 및 J.K. 스틸에 의해 기술된 방법 (*J. Am. Chem. Soc.*; 1989, 111, 5417-5424)을 이용하고 그 후에는 본 명세서 하기 실시예 5에 기술되는 방법을 이용하여, 반응식 4에 따라 합성하였다.

<269> 반응식 4

<270> ST2304의 합성



Reagent: (a) DMSO -120 $^\circ\text{C}$, 5h, (b) TBDPSCl , 1m, DMF , (c) NaH , $\text{BrCH}_2\text{COO}-t\text{-Bu}$, (d) TFA .

<271>

<272> 실시예 5

<273> (2R,11aS)-2-([terz-부틸 (다이페닐)실릴]-옥시)-5,11-다이옥소-2,3,11,11a-테트라하이드로피롤 [2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-10 (5H)-일)-아세트산 ST2304 (40)의 제조

<274> 중간체 (2R,11aS)-2-([terz-부틸 (다이페닐)-실릴]옥시)-2,3-다이하이드로-1H-피롤 [2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-5,11 (10H,11aH)-다이온 (38)의 제조

<275> 2.3 g (0.01 mol)의 (2R,11aS)-2-하이드록시-2,3-다이하이드로-1H-피롤 [2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-5,11 (10H,11aH)-다이온 (37)을 30 ml의 DMF 에 용해시키고; 3.4 g (0.05 mol)의 이미다졸을 첨가하고 이 용액에 5.6 ml (0.022 mol)의 terz-부틸-다이페닐-실릴클로라이드를 교반 하에 적가하였다. 이 용액을 3.5 ore 동안 실온에서 교반한 후, 100 ml의 H_2O 를 첨가하고 100 ml의 CH_2Cl_2 로 추출하고 유기 상을 H_2O 로 세척한다. 상기 유기 상의 수분을 무수물 Na_2SO_4 로 제거하고, 역시 기계적 펌프를 이용하여, 감압 하에서 건조 상태로 만들어 농후한 오일을 수득한 후 이를 n-헥산/ AcOEt 에 뜨겁게 용해시키고 수차례 재침전시킨다. 기계적 펌프를 이용하여 건조시킨 후 3.9 g의 무정형 고형물을 수득한다 (수율: 83%).

<276> TLC: n-헥산 1/ AcOEt 1; RF: 0.5.

<277> E.A.: 이론 값: C: 71.45; H: 6.42; N: 5.95;

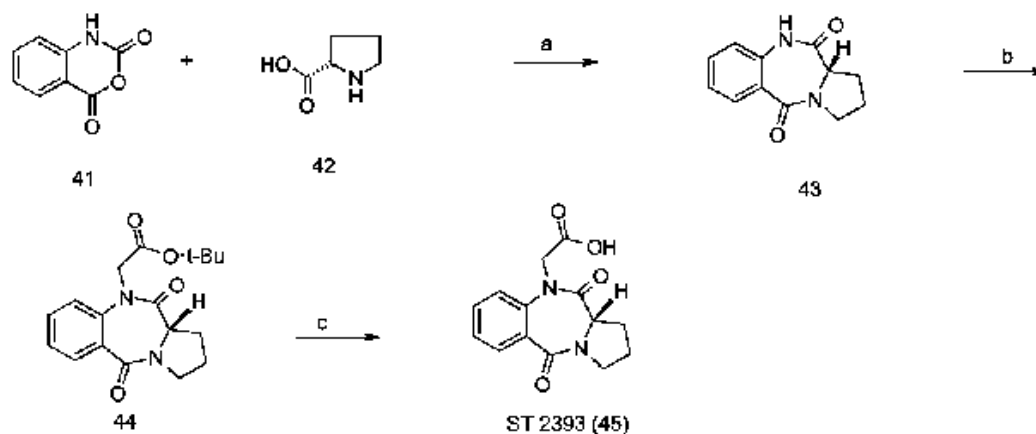
<278> 실제 값: C: 70.47; H: 6.67; N: 5.53.

- <279> $^1\text{H-NMR}$: (200 MHz, CDCl_3): δ 1.03 (s, 9H), 2.20 (m, 1H), 2.78 (m, 1H), 3.55, 3.60 (2d, 1H), 3.85, 3.90 (2d, 1H), 4.25 (m, 1H), 4.55 (m, 1H), 7.00 (d, 1H), 7.25-7.55 (m, 8H), 7.60-7.80 (m, 4H), 8.02 (d, 1H), 8.65 (s, 1H).
- <280> 중간체 [(2R,11aS)-2-{{terz-부틸-(다이페닐)실릴}옥시}-5,11-다이옥소-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-피롤-[2,1-c]-[1,4]벤조다이아제핀-10 (5H)-일}-아세트산 terz-부틸 에스테르 (39)의 제조
- <281> 330 mg (0.008 mol)의 60% NaH를 THF로 수차례 세척한 후 6 ml의 무수물 THF에 현탁한다. 현탁액을 -40℃로 냉각시키고, 용액을 교반 하에 유지하면서 18 ml의 THF에 용해시킨 3.45 g (0.0073 mol)의 (2R,11aS)-2-{{terz-부틸 (다이페닐)-실릴}옥시}-2,3-다이하이드로-1H-피롤 [2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-5,11 (10H, 11aH)-다이온 (38)을 적가한다. 45분 경과 후, 1.2 ml (0.008 mol)의 terz-부틸-브로모아세테이트를 또한 적가하고 혼합물을 2시간 동안 교반 하에서 반응시켜 온도를 실온까지 상승시킨다. 현탁액을 그 후에 50 ml의 H_2O 에 붓고 30 ml의 CH_2Cl_2 로 2회 추출하여 모아진 유기 상을 H_2O 및 염으로 수차례 세척하고 무수물 Na_2SO_4 로 수분을 제거한다. 이 용액을 감압 하에서 건조 상태로 만들어 오일을 수득한 후 이를 석유 에테르로 세척하고 기계적 펌프로 건조시켜 3.6 g의 무정형 고형물을 수득한다 (수율: 84%).
- <282> TLC: n-헥산 7/ AcOEt:3; R.F. 0.5.
- <283> E.A.: 이론 값: C: 69.83; H: 6.89; N: 4.79;
- <284> 실제 값: C: 68.87; H: 7.37; N: 4.01.
- <285> $^1\text{H-NMR}$: (200 MHz, CDCl_3): δ 1.03 (s, 9H), 1.45 (s, 9H), 2.15 (m, 1H), 2.80 (m, 1H), 3.55, 3.60 (2d, 1H), 3.75, 3.82 (2d, 1H), 4.30 (m, 1H), 4.05-4.60 (dd, 2H), 4.62 (m, 1H), 7.20 (d, 1H), 7.30-7.60 (m, 8H), 7.60-7.80 (m, 4H), 8.00 (d, 1H).
- <286> (2R,11aS)-2-{{terz-부틸 (다이페닐)실릴}옥시}-5,11-다이옥소-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-피롤 [2,1-c]-[1,4]벤조다이아제핀-10 (5H)-일}-아세트산 ST2304 (40)의 제조
- <287> 3.6 g (0.0061 mol)의 [(2R,11aS)-2-{{terz-부틸-(다이페닐)실릴}옥시}-5,11-다이옥소-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-피롤 [2,1-c]-[1,4]벤조다이아제핀-10 (5H)-일}-아세트산 terz-부틸 에스테르 (39)를 30 ml의 CH_2Cl_2 에 현탁하고 25 ml의 트라이플루오로아세트산을 15℃에서 교반하면서 적가한다. 온도를 실온까지 상승시킨 후, 상기 용액을 45분간 교반한다. 반응 용액을 기계적 펌프를 이용하여 감압 하에서 건조 상태로 만들고; 냉각에 의해 침전된 잔사를 에틸에테르에 용해시켜 2.6 g의 백색 고형물을 수득한다 (수율: 81%).
- <288> TLC: CHCl_3 8/ MeOH 2/ CH_3COOH 0.1; RF: 0.51.
- <289> M.P.: 191-193℃.
- <290> E.A.: 이론 값: +0.6% H_2O (TG): C: 67.74; H: 6.13; N: 5.26;
- <291> 실제 값: C: 67.12; H: 6.09; N: 5.28.
- <292> $[\alpha]_D^{20} +246.2$; conc.1% CHCl_3 .
- <293> $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 1.03 (s, 9H), 2.05 (m, 1H), 2.75 (m, 1H), 3.50, 3.55 (2d, 1H), 3.75, 3.78 (2d, 1H), 4.25 (m, 1H), 4.20-4.57 (dd, 2H), 4.60 (m, 1H), 7.10 (d, 1H), 7.20-7.50 (m, 8H), 7.60 (m, 4H), 7.90 (d, 1H).
- <294> HPLC: 컬럼: 이너트실 ODS 3 (5 μ) 4.6×250 mm;
- <295> 이동상: $\text{CH}_3\text{CN}/\text{KH}_2\text{PO}_4$ 50 mM 70/30; pH 3 (H_2PO_4 85%);
- <296> 유속: 1.0 ml/분, t = 30℃;
- <297> R.T.: 10.79분.

<298> β -회전 모방체 베타5를 포함하는 펩타이드 모방체 화합물의 합성에 유용한, 빌딩 블록 ST2393 (45)을 등장성 무수물 (41) 및 L-프롤린 (42)을 출발 물질로 사용하여, M.R. 페나 및 J.K. 스틸에 의해 기술된 방법 (*J. Am. Chem. Soc.*; 1989, 111, 5417-5424)을 이용하여 반응식 5에 따라 합성하였다. 상기 합성은 본 명세서 하기에 실시예 6에 기술된다.

<299> 반응식 5

<300> ST2393의 합성



Reagent: (a) DMSO, 120°C, 5h, (b) NaH, BrCH₂COO-t-Bu, (d) TFA.

<301>

<302> 실시예 6

<303> [(11aS)-5,11-다이옥소-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-피롤 [2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-10 (5H)-일]-아세트산 ST 2393 (45)의 제조

<304> 중간체 [(11aS)-2,3-다이하이드로-1H-피롤 [2,1-c]-[1,4]벤조다이아제핀-5,11 (10H,11aH)-다이온 (43)의 제조

<305> 2.67 g (0.0164 mol)의 등장성 무수물 (41)을 N₂ 기체 하에서 20 ml의 무수물 DMSO에 용해시키고 1.72 g의 L-프롤린 (0.0149 mol) (42)을 교반 하에 첨가한다. 이 용액을 2.5시간 동안 교반하면서 120°C로 가열한 후, 냉각시켜 교반 하에 130 ml의 냉각 H₂O에 붓는다. 수성 용액에 의해 형성된 침전물을 여과하고 냉각수로 다시 세척하고 진공 하에서 3시간 동안 오븐-건조한다. 2.6 g이 수득된다 (수율: 80%).

<306> TLC: AcOEt; RF: 0.5.

<307> $[\alpha]_D^{20}$: +528 (0.5% CH₃OH).

<308> ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 2.05 (m,3H), 2.80 (m,1H), 3.65 (m,1H) 3.82 (m,1H) 4.12 (d,1H), 7.00 (d,1H), 7.30 (t,1H), 7.52 (t,1H), 8.03 (d,1H), 8.25 (sa,1H).

<309> 중간체 [(11aS)-5,11-다이옥소-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-피롤 [2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-10 (5H)-일]-아세트산 tert-부틸 에스테르 (44)의 제조

<310> 518 mg (0.0127 mol)의 60% NaH를 THF로 수차례 세척한 후 5 ml의 무수물 THF에 현탁한다. 현탁액을 -40°C로 냉각시키고 25 ml의 무수물 THF에 용해시킨 2.5 g (0.0115 mol)의 [(11aS)-2,3-다이하이드로-1H-피롤-[2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-5,11-(10H,11aH)-다이온 (43)을 상기 용액을 교반 하에 유지하면서 적가한다. 45분 경과 후 1.87 ml (0.0127 mol)의 tert-부틸-브로모아세테이트를 적가하고 이 혼합물을 2시간 동안 교반 하에서 반응시켜 온도를 실온까지 상승시킨다. 현탁액을 150 ml의 H₂O에 붓고 100 ml의 CH₂Cl₂로 2회 추출하고, 모아진 유기 상을 H₂O 및 염으로 수차례 세척한 후 무수물 Na₂SO₄로 수분을 제거한다. 상기 용액을 감압 하에서 건조 상태로 만들어 오일을 수득하고, 이를 석유 에테르로 세척하고 기계적 펌프로 건조시켜 3.7 g의 무정형 고형물을 수득한다 (수율: 97%).

<311> TLC: n-헥산 1/ AcOEt 1; RF: 0.4.

<312> $^1\text{H-NMR}$: (200 MHz, CDCl_3): δ 1.50 (s, 9H), 2.05 (m, 3H), 2.68 (m, 1H), 3.60 (m, 1H), 3.83 (m, 1H), 4.15 (m, 1H), 4.15 (d, 1H), 4.59 (d, 1H), 7.18-7.40 (m, 2H), 7.55 (dt, 1H), 7.97 (dd, 1H).

<313>

<314> [(11aS)-5,11-다이옥소-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-피롤-[2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-10 (5H)-일]-아세트산 ST2393 (45)의 제조

<315> 3.5 g (0.01 mol)의 [(11aS)-5,11-다이옥소-2,3,11,11a-테트라하이드로-1H-피롤 [2,1-c][1,4]벤조다이아제핀-10 (5H)-일]-아세트산 *tert*-부틸 에스테르 (44)를 30 ml의 CH_2Cl_2 에 용해시키고 25 ml의 트라이플루오로아세트산을 교반 하에 10°C에서 적가한다. 온도를 실온까지 상승시킨 후, 이 용액을 1.5시간 동안 교반한다. 반응 용액을 기계적 펌프를 이용하여 감압 하에서 건조 상태로 만들고; 잔사를 에틸에테르로 처리한 후, 이를 고체화시키고 진공 하에서 오븐 건조시켜 2.65 g의 백색 고형물을 수득한다 (수율: 96%).

<316> TLC: CHCl_3 60/ MeOH 40/ H_2O 15/ *i*PrOH 10/ CH_3COOH 15; RF: 0.8.

<317> M.P.: 267-269°C.

<318> E.A.: 이론 값: +1.9% H_2O (TG): C: 60.14; H: 5.26; N: 10.02;

<319> 실제 값: C: 60.31; H: 5.36; N: 9.70.

<320> $[\alpha]_D^{20}$: +408 (0.7% CHCl_3).

<321> $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, MeOD): δ 2.07 (m, 3H), 2.61 (m, 1H) 3.55 (m, 1H), 3.77 (m, 1H), 4.25 (m, 1H), 4.48 (d, 1H), 4.60 (d, 1H), 7.38 (m, 2H), 7.60 (m, 1H), 7.83 (m, 1H).

<322> HPLC: 컬럼: 대칭 C18 (3.5 μ);

<323> 이동상: KH_2PO_4 50 mM/ CH_3CN ;

<324> 농도구배: 100% 내지 30% KH_2PO_4 50 Mm;

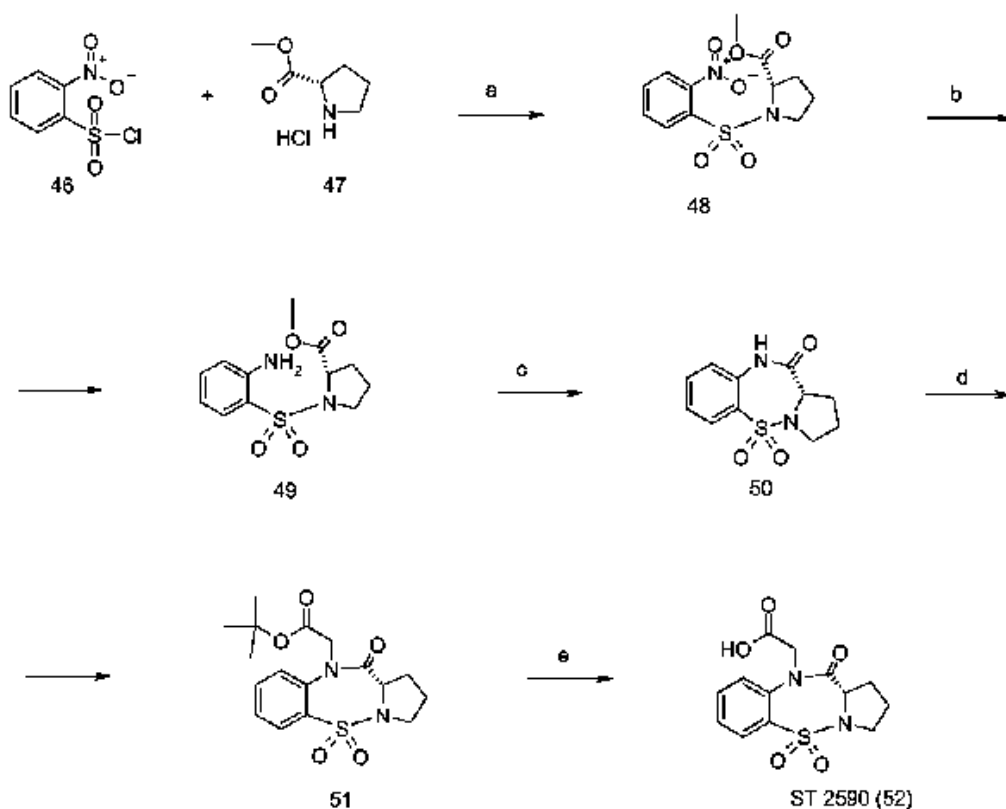
<325> 유속: 1.0 mL/분., 실온;

<326> R.T.: 10.85분.

<327> β -회전 모방체 베타7을 포함하는 펩타이드 모방체 화합물의 합성에 유용한, 빌딩 블록 ST2590 (52)을 상업적으로 구매가능한 물질 (46) 및 (47)로부터 시작하여, 본 명세서 하기의 반응식 6에 따라 합성하였다. ST2590의 합성은 본 명세서 하기 실시예 7에 기술된다:

<328> 반응식 6

<329> ST2590의 합성



Reagent: (a) TEA, CH_2Cl_2 , (b) Ni-Raney, (c) HCl, Toluene/Riflusso, (d) 1. NaH, 2. $\text{BrCH}_2\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$, (e) TFA.

<330>

<331> 실시예 7

<332> [(11aS)-5,5-다이오시도-11-옥소-2,3,11,-11a-테트라하이드로-피롤 [1,2-b][1,2,5]벤조티아다이하제핀-10 (1H)-일]-아세트산 ST2590 (52)의 제조:

<333> 중간체 1-[(2-나이트로페닐)설포닐]-L-프롤린 메틸에스테르 (48)의 제조

<334> 5.0 g (30 mmol)의 L-프롤린 메틸에스테르 (47)를 30 ml의 CH_2Cl_2 에 용해시키고 8.5 ml (60 mmol)의 트라이에틸 아민을 교반 하에 첨가한다. 30 ml의 di CH_2Cl_2 에 용해시킨 6.75 g (30 mmol)의 2-나이트로-벤젠설포닐 클로라이드 (46)를 5°C, N_2 하에서 적가하고 그 혼합물을 N_2 기체 하에서 1.5시간 동안 교반하면서 반응시킨다. 반응 용액을 냉각수로 2회 세척하고, 유기 상을 분리한 후 무수물 Na_2SO_4 로 수분을 제거하고 진공 하에서 건조 상태로 만들어 오일 조 생성물을 수득하고, 이를 n-헥산/에틸 아세테이트 6:4를 용출액으로 이용하는 실리카 상에서 크로마토그래피를 수행하여 3.5 g의 생성물을 수득한다 (수율: 37%).

<335> TLC: n-헥산 1/ AcOEt:1; R.F. 0.56.

<336> ^1H -NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 1.90-2.20 (m, 3H), 2.20-2.45 (m, 1H), 3.45-3.85 (m, 1H), 3.70 (s, 3H), 4.65 (dd, 1H), 7.70 (m, 3H), 8.17 (m, 1H).

<337> 중간체 1-[(2-아미노페닐)-설포닐]-L-프롤린 메틸에스테르 (49)의 제조

<338> 3.95 g (12.5 mmol)의 1-[(2-나이트로페닐)설포닐]-L-프롤린 메틸에스테르 (48)를 55 ml의 메탄올에 용해시키고, 메탄올 내에서 활성화시킨 과량의 Ni-레이니 (Raney)를 50% 수성 현탁액으로 상기에 첨가하고 이 용액을 2.5시간 동안 교반한다. 더 활성화된 니켈-레이니(Ni-Raney)를 첨가한 후, 이 용액을 추가로 45분간 교반하고 셀라이트 상에서 여과하고, 니켈-레이니(Ni-Raney) 잔사를 건조 상태로 만들지 않으면서 에틸 아세테이트 및 메탄올의 혼합물로 세척한다. 메탄올 여과 용액을 무수물 Na_2SO_4 로 수분을 제거하고 진공 하에서 건조 상태로 만

들어 3.1 g의 충분히 순수한 생성물을 수득한다 (수율: 87 %).

<339> TLC: n-헥산 1/ AcOEt 1; R.F. 0.45.

<340> $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): δ 1.80-2.35 (m, 4H), 3.40 (t, 2H), 4.55 (dd, 1H), 5.05-5.40 (sa, 1H), 6.74 (t, 2H), 7.30 (t, 1H), 7.72 (d, 1H).

<341> 중간체 ((11aS)-1,2,3,11a-테트라하이드로피롤-[1,2-b][1,2,5]벤조티아다이하제핀-11 (10H)-온 5,5-다이옥사이드 (50)의 제조

<342> 3.1 g (10.9 mmol)의 1-[(2-아미노페닐)-설포닐]-L-프롤린 메틸에스테르 (49)를 50 mg의 p-톨루엔설포산 (0.268 mmol)과 함께 250 ml의 톨루엔에 용해시키고 3일간 환류 온도에서 가열하여, 딘-스탁 (Dean-Stark)을 이용하여 수분을 제거한다. 이 용액을 NaHCO_3 의 포화 용액 및 중성 pH의 물로 2회 세척하고, 무수물 Na_2SO_4 로 수분을 제거하고, 여과하고 감압 하에서 건조 상태로 만든다. 갈색의 조 고형물을 헥산 및 에틸 아세테이트를 이용하여 고온에서 결정화시켜 1.1 g의 생성물을 수득한다. 감압 하에서 건조 상태로 만든, 모액을 n-헥산/AcOEt 55:45을 용출액으로 이용한 플래쉬 크로마토그래피로 처리하여 추가로 550 mg의 생성물을 얻는다. 총 1.65 g의 생성물이 이로부터 수득된다 (수율: 60%).

<343> TLC: n-헥산1/ AcOEt 1; R.F. 0.25.

<344> $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): δ 1.75-2.15 (m, 2H), 2.15-2.38 (m, 1H), 2.38-2.63 (m, 1H), 3.05 (q, 1H), 3.55 (q, 1H), 4.65 (t, 1H), 7.00-7.40 (m, 2H), 7.55 (t, 1H), 7.95 (d, 1H), 8.80 (sa, 1H).

<345> 중간체 [(11aS)-5,5-다이옥사이드-11-옥소-2,3,11,11a-테트라하이드로피롤 [1,2-b][1,2,5]벤조티아다이하제핀-10 (1H)-일] 아세트산 terz-뷰틸 에스테르 (51)의 제조

<346> -40°C , 질소 유동 하에서 15 ml의 무수물 THF 중의 200 mg의 NaH (0.0087 mol) 현탁액에 25 ml의 무수물 THF 중의 2.0 g의 (11aS)-1,2,3,11a-테트라하이드로피롤 [1,2-b][1,2,5]-벤조티아다이하제핀-11 (10H)-온 5,5-다이옥사이드 (50) (0.0079 mol) 용액을 첨가한다. -40°C 에서 45분 경과 후, 1.17 ml의 terz-뷰틸-브로모아세테이트 (0.0087 mol)를 첨가하고 온도를 20°C (실온)까지 상승시키고 이 용액을 2시간 동안 교반한다. 상기 용액을 냉각수로 희석하고 CH_2Cl_2 로 2회 추출하고, 모아진 유기 추출물을 물 및 염으로 세척한다. 상기 유기 용액의 수분을 무수물 Na_2SO_4 로 제거하고, 여과하고 감압 하에서 건조 상태로 만든다. 생성물을 헥산 및 에틸 아세테이트로 고온에서 결정화시켜, 1.76 g의 생성물을 수득한다 (수율: 61 %).

<347> TLC: n-헥산 / AcOEt 1:1; R.F. 0.55.

<348> $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): δ 2.52 e 2.58 (2s, 9H), 2.80-2.22 (m, 3H), 2.45 (m, 1H), 3.45 (m, 2H), 3.88 (t, 1H), 4.05 (d, 1H), 4.70 (d, 1H), 7.45 (t, 2H), 7.68 (t, 1H), 8.03 (d, 1H).

<349> [(11aS)-5,5-다이옥사이드-11-옥소-2,3,11,11a-테트라하이드로-피롤[1,2-b][1,2,5]벤조티아다이하제핀-10 (1H)-일]-아세트산 ST2590 (52)의 제조

<350> 0°C 로 냉각된 20 ml CH_2Cl_2 중의 1.75 g (0.00478 mol)의 [(11aS)-5,5-다이옥사이드-11-옥소-2,3,11,11a-테트라하이드로피롤 [1,2-b][1,2,5]벤조티아다이하제핀-10 (1H)-일] 아세트산 terz-뷰틸 에스테르 (51)에 13 ml의 TFA에 적가하고, 이 용액을 2시간 동안 실온에서 교반한다.

<351> TLC 대조군 (실리카, CHCl_3 9/MeOH 1) 후에, 용매를 증발시키고, 잔사를 CH_2Cl_2 로 취하고 유기 상을 Na_2CO_3 의 포화 용액으로 처리하여 분리한다.

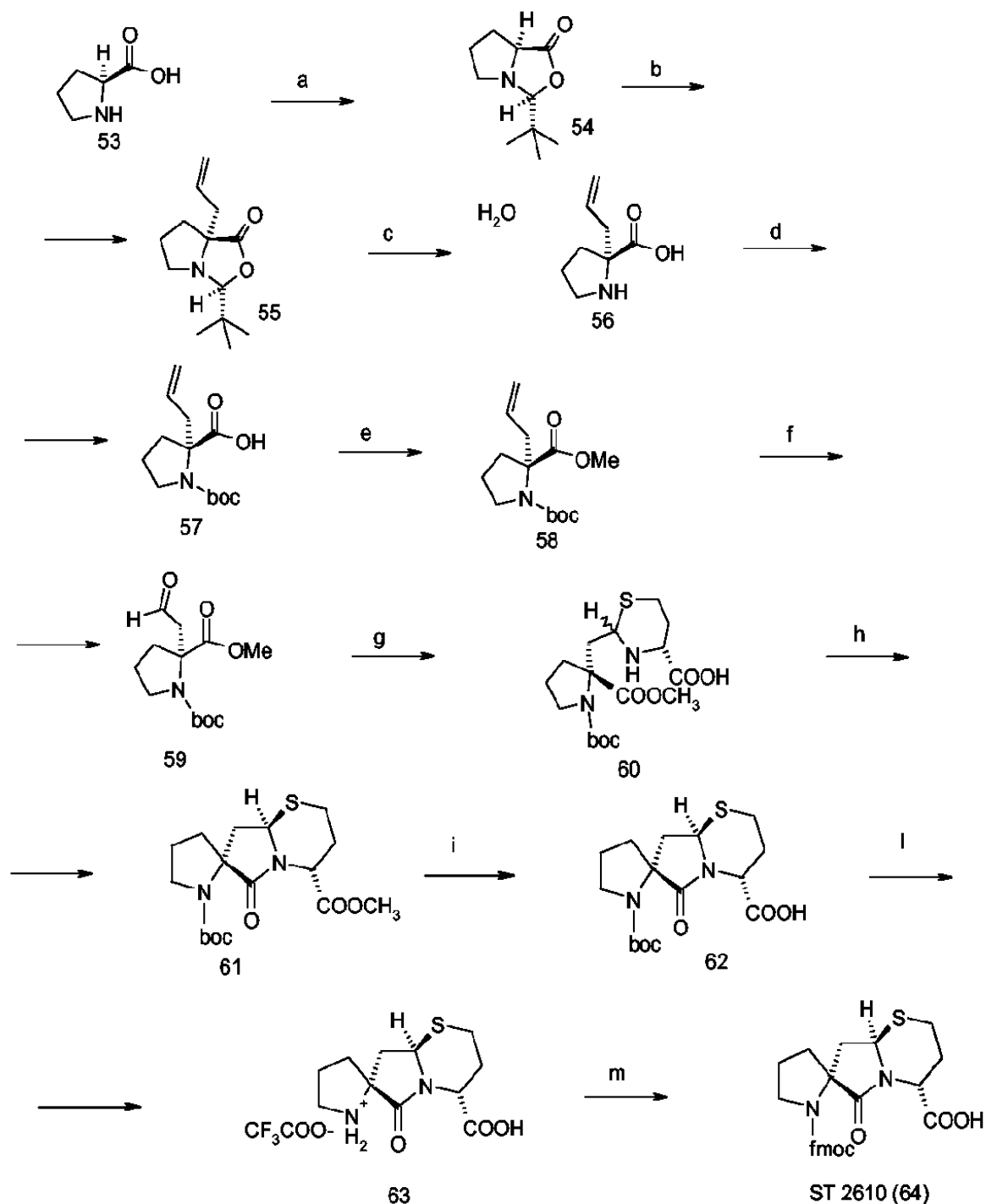
<352> 그 후 이를 에틸에테르로 세척하고 농축 HCl 용액으로 처리한다. 생성물이 용액으로부터 침전되고, 이를 CH_2Cl_2 로 추출하고, Na_2SO_4 로 수분을 제거하고 회전증발기 상에서 건조 상태로 만들어, 1.1 g의 98% 순수한 최종 생성물을 수득한다 (수율: 74%).

<353> M.P.: $149-152^\circ\text{C}$.

- <354> $[\text{OC}]_D^{20}$: +210.1; cone. 0.47% Me-OH.
- <355> HPLC: 컬럼: 대칭 C18 (3.5 μ) 4.6×150 mm;
- <356> 이동상: KH_2PO_4 50 mM pH 3/ CH_3CN 80/20;
- <357> 유속: 1.0 ml/분; 실온;
- <358> R.T.: 10.51분.
- <359> ^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 1.8-2.2 (3H, m, CH_2CH_2); 2.4-2.6 (1H, m, CH_2CH_2); 3.4-3.6 (2H, m, CH_2N); 3.8-3.9 (1H, m, CHN); 4.25 및 4.75 (2H, 2d, CH_2COOH); 5.6-6.6 (1H, bs, COOH); 7.45 (2H, t, Ar); 7.7 (1H, t, Ar); 8.0 (1H, d, Ar).
- <360> E.A. ($\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4$): 이론 값: C: 50.31; H: 4.54; N: 9.02; S: 10.33;
- <361> 실제 값: C: 50.03 H: 4.45; N: 8.78; S: 10.13.
- <362> β -회전 모방체 베타8을 포함하는 펩타이드 모방체 화합물의 합성에 유용한, 빌딩 블록 ST2610 (64)을 중간체 61까지는 예함 M. 하일 및 동료들에 의해 기술된 방법 (Ehab M. Khalil, 등, *J. Med. Chem.*; 1999, 42, 628-637)을 이용하고, 그 이후는 본 명세서 하기 실시예 8에 기술된 방법을 이용하여, 본 명세서 하기의 반응식 7에 따라 합성하였다.
- <363> 반응식 7

<364>

ST2610의 합성



Reagenti: (a) t-Bu-CHO, cat. CF₃COOH, (b) 1. LDA, 2. CH₂=CH-CH₂-Br, (c) Silica gel, MeOH/H₂O, (d) (Boc)₂O, (e) K₂CO₃, (f) OsO₄, NaIO₄, MeOH/H₂O, (g) D-Homocys-OH.HCl, NaOH, H₂O/ EtOH, (h) 1. NEt₃, DMF, 2. CH₃I, KHCO₃, (i) 1. K₂CO₃, (l) TFA, (m) Fmoc-OSu, NaHCO₃.

<365>

<366>

실시예 8

<367>

(2R,4'R,8a'R)-1-[(9H-플루오렌-9-일-메톡시)카보닐]-6'-옥소테트라하이드로-2'H-스피로 [피롤리딘-2,7'-피롤- [2,1-b][1,3]티아진]4'-카복실산 ST2610 (64)의 제조

<368>

중간체 (2R,4'R,8a'R)-1-(terz-뷰톡시-카보닐)-6'-옥소테트라하이드로-2'H-스피로 [피롤리딘-2,7'-피롤- [2,1-

b)[1,3]-티아진-4'-카복실산 (62)의 제조

<369> 2.55 g (0.0069 mol)의 (2R,4'R,8a'R)-6'-옥소테트라하이드로-1H,2'H-스피로 [-피롤리딘-2,7'-피롤 [2,1-b][1,3]티아진]-1,4'-다리카복실산 1-terz-뷰틸 4'-메틸에스테르 (61)를 45 ml의 MeOH 및 45 ml의 H₂O에 용해시키고; 이 용액에 1.9 g (0.0138 mol)의 K₂CO₃를 첨가한다. 상기 용액을 20시간 동안 실온에서 교반한 후, pH를 5까지 낮추어 처리하고 감압 하에서 건조 상태로 만든다. 수득된 잔사를 H₂O로 취하고, pH를 2-3으로 맞춘 후 CHCl₃로 추출한다. 유기 상을 무수물 Na₂SO₄ 상에서 수분을 제거한 후 이어서 건조 상태로 증발시킨다. 피치 덩어리를 에틸에테르로 결정화시켜 2.4 g의 여과성 백색 고형물을 수득한다 (수율: 97%).

<370> TLC: CHCl₃ 8/MeOH 2/CH₃COOH 0.1; RF: 0.65;

<371> ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1.40, 1.45 (2d,9H), 2.70-2.05 (m,4H), 2.00-2.30 (m,1H), 2.25-2.55 (m,1H), 2.55-2.80 (m,1H), 2.75-3.15 (m,1H), 3.50 (m,2H), 3.70 (t,2H), 4.98 (dd,1H), 5.10 (d,1H).

<372> 중간체 (2R,4'R,8a'R)-4'-카복시-6'-옥소테트라하이드로-2'H-스피로 [피롤리딘-2,7'-피롤 [2,1-b][1,3]티아진]트라이플루오로아세트 (63)의 제조

<373> 2.1 g (0.0058 mol)의 (2R,4'R,8a'R)-1-(terz-뷰톡시카보닐)-6'-옥소테트라하이드로-2'H-스피로 [피롤리딘-2,7'-피롤 [2,1-b][1,3]티아진]-4'-카복실산 (62)을 45 ml의 트라이플루오로아세트산에 용해시킨다. 혼합물을 3시간 동안 실온에서 교반하고 감압 하에, 30℃에서 건조 상태로 증발시킨다. 수득된 잔사를 소량의 CHCl₃에 용해시키고, 에틸에테르로 침전시켜 형성된 고형물을 신속하게 여과한다. 이 과정을 2회 수행하여 1.55 g의 고 흡습성 백색 고형물을 수득한다 (수율: 74%).

<374> TLC: (CHCl₃ 60/MeOH 40/H₂O 15/IsoPrOH 10/AcOH 15); RF: 0.68.

<375> ¹H-NMR (300 MHz, D₂O): δ 1.75-2.00 (m,1H), 2.00-2.38 (m,5H), 2.45 (dd,1H), 2.70 (dt,1H), 2.77-3.05 (m,2H), 3.25-3.55 (m,2H), 3.96 (d,1H), 5.18 (d,1H).

<376> (2R,4'R,8a'R)-1-[(9H-플루오렌-9-일-메톡시)카보닐]-6'-옥소테트라하이드로-2'H-스피로 [피롤리딘-2,7'-피롤 [2,1-b][1,3]티아진]-4'-카복실산 ST2610 (64)의 제조

<377> 1.48 g (0.004 mol)의 (2R,4'R,8a'R)-4'-카복시-6'-옥소테트라하이드로-2'H-스피로 [피롤리딘-2,7'-피롤 [2,1-b]-[1,3]티아진] 트라이플루오로아세트 (63)를 50 ml의 H₂O에 용해시킨다. 0.67 g (0.008 mol)의 NaHCO₃를 상기 용액에 첨가한 후 75 ml의 아세톤에 용해시킨 1.42 g (0.0042 mol)의 Fmoc-N-OSu를 첨가한다. 반응 용액을 20시간 동안 실온에서 교반한 후, 아세톤을 감압 하에서 제거하고, H₂O를 첨가하고 이 용액을 Et₂O로 세척한다. 수성 용액의 pH를 HCl 2 N을 이용하여 3으로 맞추고 CHCl₃로 추출한다. 유기 상을 무수물 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고 증발을 수행하여 1.9 g의 유리상의 백색 고형물을 수득한다 (수율: 98%).

<378> M.P.: 108° -115°C.

<379> [OC]_D²⁰: +70.1.

<380> E.A.: (C₂₆H₂₆N₂O₅S). 이론 값: 7.47% H₂O: C: 60.38; H: 5.90; N 5.41; S: 6.20;

<381> 실제 값: C : 56.77; H: 4.85; N: 5.06; S: 5.26.

<382> ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1.85 (m,1H), 1.94 (dd,1H), 2.05 (m,1H), 2.15 (m,1H), 2.42 (m,1H), 2.67 (d,1H), 2.82 (m,2H), 3.00 (m,1H), 3.58 (dd,2H), 4.20 (t,1H).

<383> HPLC: 컬럼: 대칭 C18 (5 μ) 3.9×150 mm;

<384> 이동상: KH₂PO₄ 50 mM/CH₃CN 65/35;

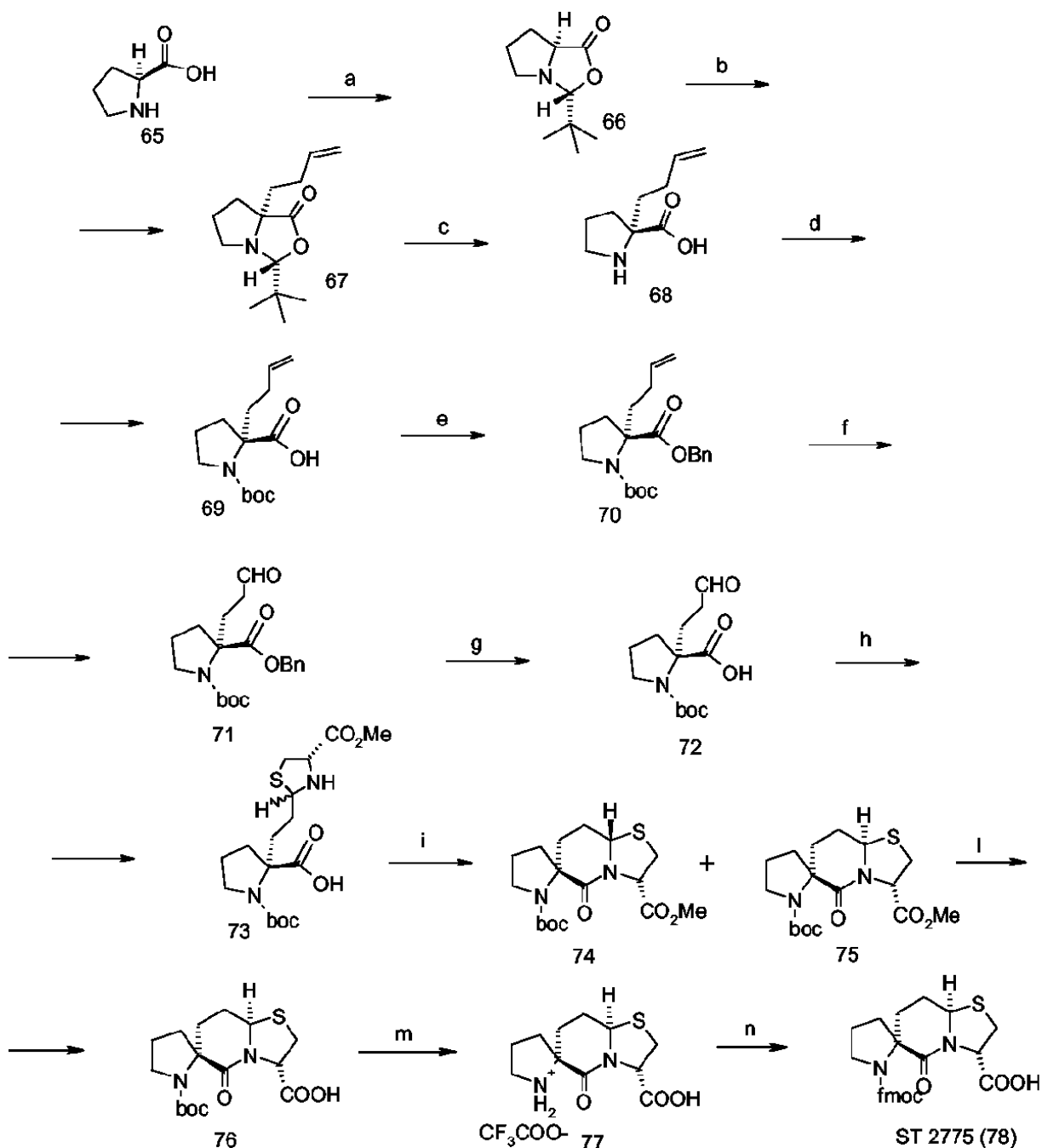
<385> 유속: 1.0 ml/분; 실온;


<386> R.T.: 12.19분.

<387> β-회전 모방체 베타9를 포함하는 펩타이드 모방체 화합물의 합성에 유용한, 빌딩 블록 ST2775 (78)을 중간체 75까지는 에합 M. 카일 및 동료들에 의해 기술된 방법 (*J. Med. Chem.*; 1999, 42, 628-637)을 이용하여 합성하였고, 그 이후에는 본 명세서 하기 실시예 9에 기술된 방법을 이용하여, 반응식 9에 따라 합성하였다.

<388> 반응식 8

<389> ST2775의 합성



Reagents: (a) t-Bu-CHO, cat. CF₃COOH, (b) 1. LDA, 2. CH₂=CH-CH₂-CH₂-Br, (c) Silica gel, MeOH/H₂O, (d) (Boc)₂O, (e) BnBr, DBU, Benzene, (f) OsO₄, NaIO₄, MeOH/H₂O, (g) 10% Pd/C, H₂, Benzene, (h) D-Cys-OMe.HCl, NaHCO₃, H₂O/EtOH, (i) , NEt₃, CH₂Cl₂, (j) K₂CO₃, MeOH/H₂O, (m) 1. TFA, CH₂Cl₂, (n) Fmoc-OSu, NaHCO₃

<390>

- <391> 실시예 9
- <392> 중간체 (2R,3'S,8a'R)-1-[(9H-플루오렌-9-일-메톡시)카보닐]-5'-옥소테트라하이드로-7'H-스피로 [피롤리딘-2,6'-[1,3]-티아졸 [3,2- α]-피리딘]-3'-카복실산 ST2775 (78)의 제조
- <393> 중간체 (2R,3'S,8a'R)-1-(terz-뷰톡시-카보닐)-5'-옥소테트라하이드로-7'H-스피로 [피롤리딘-2,6'-[1,3]티아졸 [3,2- α]-피리딘]-3'-카복실산 (76)의 제조
- <394> 1.5 g (0.004 mol)의 (2R,3'S,8a'S)-5'-옥소테트라하이드로-1H,7'H-스피로 [피롤리딘-2,6'-[1,3]티아졸 [3,2- α]-피리딘]-1,3'-다리카복실산 1-terz 뷰틸 3'-메틸에스테르 (75)를 80 ml의 MeOH 및 50 ml의 H₂O에 용해시킨다. 이 용액에 1.1 g (0.008 mol)의 K₂CO₃를 첨가하고 상기 반응 혼합물을 20시간 동안 실온에서 교반한다.
- <395> 상기 반응 용액의 pH를 HCl 2 N로 pH 5까지 낮추어 처리하고 감압 하에서 건조 상태로 만든다. 수득된 잔사를 H₂O로 취하여, pH를 2-3으로 맞추고 CHCl₃로 추출을 수행한다. 유기 상의 수분을 무수물 Na₂SO₄ 상에서 제거하고 이어서 건조 상태로 증발시켜 1.4 g의 유리상의 백색 고형물을 수득한다 (수율: 100%).
- <396> TLC: CHCl₃ 8/MeOH 2/CH₃COOH 0.1; RF: 0.7.
- <397> ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1.45, 1.50 (2s, 9H), 1.60-2.18 (m, 6H), 2.20-2.50 (m, 2H), 3.20-3.80 (m, 4H), 4.95 (dd, 1H), 4.38 (dd, 1H), 7.35 (sa, 1H).
- <398> 중간체 (2R,3'S,8a'R)-3'-카복시-5'-옥소-테트라하이드로-7'H-스피로 [피롤리딘-2,6'-[1,3]티아졸 [3,2- α]-피리딘] 트라이플루오로아세트레이트 (77)의 제조
- <399> 1.4 g (0.004 mol)의 (2R,3'S,8a'R)-1-(terz-뷰톡시-카보닐)-5'-옥소테트라하이드로-7'H-스피로 [피롤리딘-2,6'-[1,3]티아졸-[3,2- α]-피리딘]-3'-카복실산 (76)을 25 ml의 CH₂Cl₂ 및 25 ml의 트라이플루오로아세트산에 용해시킨다. 혼합물을 실온에서 교반한다; 2시간 경과 후 30°C에서 증발을 수행한다. 수득된 잔사를 소량의 CHCl₃에 용해시키고, Et₂O로 침전시킨 후 형성된 침전물을 재빨리 여과한다. 이 과정을 두 번 반복한다. 1.07 g의 고 흡습성 백색 고형물이 수득된다 (수율: 70%).
- <400> TLC: CHCl₃ 60/MeOH 40/H₂O 15/IPrOH 10/AcOH 15; RF: 0.5.
- <401> ¹H-NMR (300 MHz, D₂O): δ 1.70-2.50 (m, 8H), 3.15 (dd, 1H), 3.22-3.60 (m, 3H), 4.60-5.00 (m, 2H).
- <402> (2R,3'S,8a'R)-1-[(9H-플루오렌-9-일-메톡시)카보닐]-5'-옥소테트라하이드로-7'H-스피로 [피롤리딘-2,6'-[1,3]티아졸 [3,2- α]-피리딘]-3'-카복실산 ST2775 (78)의 제조
- <403> 1.00 g (0.0027 mol)의 (2R,3'S,8a'R)-3'-카복시-5'-옥소테트라하이드로-7'H-스피로 [피롤리딘-2,6'-[1,3]티아졸 [3,2- α]-피리딘]트라이플루오로아세트레이트(77)를 50 ml의 물에 용해시킨다. 0.45 g (0.0054 mol)의 NaHCO₃ 및 5분 뒤에 75 ml의 아세톤에 용해시킨 0.94 g. (0.0028 mol)의 Fmoc-N-OSu를 상기에서 수득된 용액에 첨가한다. 보다 많은 양의 아세톤을 용액이 얻어질 때까지 상기 현탁액에 첨가하고, 이를 실온에서 교반한다. 24시간 경과 후, 아세톤을 증발시키고, 물을 수복하고, Et₂O로 세척한다. 그 후에 혼합물을 HCl 2 N을 이용하여 pH 3으로 맞추고 수성 상을 CHCl₃로 추출한다. 유기 상의 수분을 무수물 Na₂SO₄로 제거하고 및 감압 하에서 건조 상태로 만들어 1.2 g의 a 유리상의 백색 고형물을 수득한다 (수율: 90%).
- <404> M.P.: 95-100°C.
- <405> E.A.: (C₂₆H₂₆N₂O₅S).
- <406> 3.76% H₂O 함유 이론 값: C: 62.80; H: 5.69; N: 5.63; S: 6.44.
- <407> 실제 값: C: 57.27; H: 4.89; N: 4.97; S: 5.25.
- <408> [OC]_D²⁰: +108.6; MeOH 내 농도 0.5%
- <409> TLC: CHCl₃ 8/MeOH 2; RF: 0.64.

<410> $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 300 MHz): δ 1.60-2.20 (m, 5H), 2.25-2.45 (m, 2H), 2.80, 3.05 (2dd, 1H), 3.30-3.50 (m, 2H), 3.50-3.70 (m, 2H), 4.07, 4.17-4.35 (s, m, 2H), 4.37-4.50 (m, 1H), 4.73, 4.92 (t, dd, 1H), 5.35, 5.65 (2dd, 1H), 5.00-6.40 (sa, 1H), 7.22-7.45 (m, 4H), 7.50-7.65 (m, 2H), 7.65-7.80 (m, 2H).

<411> HPLC: 컬럼: 대칭 C18 ($5\ \mu$) $3.9 \times 150\ \text{mm}$;

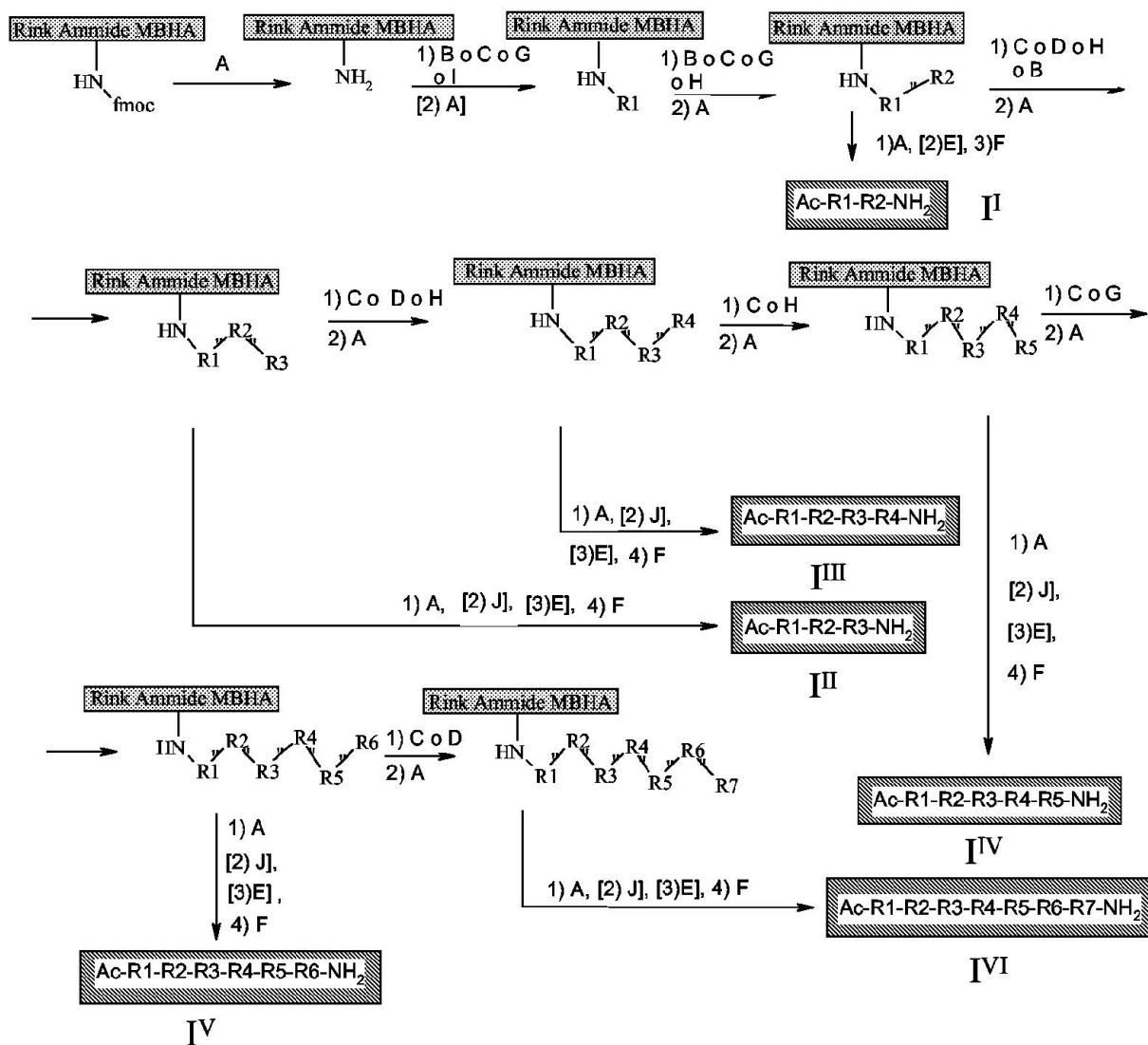
<412> 이동상: KH_2PO_4 50 mM/ CH_3CN 60/40;

<413> 유속: 1.0 ml/분. 실온;

<414> R.T.: 7.38 분;

<415> 최종 화합물의 제조

<416> 반응식 9



<417>

<418> $R_1 = \text{AA}_1$ 또는 AA_6 또는 AA_7 또는 $\text{AA}_5\text{-AA}_6$ (베타)

<419> $R_1 = \text{AA}_1$ 인 경우, $R_2 = \text{AA}_2$ 또는 $\text{AA}_2\text{-AA}_3\text{-AA}_4$ (SP)

<420> $R_1 = \text{AA}_5\text{-AA}_6$ (베타)인 경우, $R_2 = \text{AA}_4$ 또는 $\text{AA}_2\text{-AA}_3\text{-AA}_4$ (SP)

<421> $R_1 = \text{AA}_6$ 인 경우, $R_2 = \text{AA}_5$

- <422> $R_1 = AA_7$ 인 경우, $R_2 = AA_6$
- <423> $R_2 = AA_2$ 인 경우, $R_3 = AA_3$
- <424> $R_2 = AA_6$ 인 경우, $R_3 = AA_5$
- <425> $R_2 = AA_5$ 인 경우, $R_3 = AA_4$ 또는 $AA_2-AA_3-AA_4$ (SP)
- <426> $R_2 = AA_4$ 인 경우, $R_3 = AA_3$
- <427> $R_2 = AA_2-AA_3-AA_4$ (SP)인 경우, $R_3 = AA_1$ 또는 AA_5-AA_6 (베타)
- <428> $R_3 = AA_4$ 인 경우, $R_4 = AA_4$ 또는 AA_2
- <429> $R_3 = AA_5$ 인 경우, $R_4 = AA_4$
- <430> $R_3 = AA_4$ 인 경우, $R_4 = AA_3$
- <431> $R_3 = AA_2-AA_3-AA_4$ (SP)인 경우, $R_4 = AA_1$
- <432> $R_4 = AA_4$ 인 경우, $R_5 = AA_5$ 또는 AA_3
- <433> $R_4 = AA_3$ 인 경우, $R_5 = AA_2$
- <434> $R_4 = AA_2$ 인 경우, $R_5 = AA_1$
- <435> $R_5 = AA_5$ 인 경우, $R_6 = AA_6$
- <436> $R_5 = AA_3$ 인 경우, $R_6 = AA_2$
- <437> $R_5 = AA_2$ 인 경우, $R_6 = AA_1$
- <438> $R_6 = AA_6$ 인 경우, $R_7 = AA_7$
- <439> $R_6 = AA_2$ 인 경우, $R_7 = AA_1$
- <440> A. 통상적인 탈보호 과정.
- <441> B. 아민 기에 대한 제1 아미노산 또는 β -회전 모방체 (AA_5-AA_6)의 결합에 관한 통상적인 과정.
- <442> C. 카복실에 대한 연속된 아미노산 또는 스페이서 ($AA_2-AA_3-AA_4$) 또는 β -회전 모방체 (AA_5-AA_6)의 결합을 위한 통상적인 과정.
- <443> D. 카복실에 대한 아르기닌 모방체 기의 결합을 위한 통상적인 과정.
- <444> E. 통상적인 아세틸화 과정.
- <445> F. 통상적인 절단 과정.
- <446> G. 아자글라이신의 형성을 위한 통상적인 과정.
- <447> H. 아자발린 또는 아자-류우신의 형성을 위한 통상적인 과정.
- <448> I. 구아니딘 기의 형성과 함께 아르기닌 모방체의 결합을 위한 통상적인 과정.
- <449> J. 말단 아민 기의 통상적인 구아니딜화 과정.
- <450> 모든 분자들은 변형된 링크 링커 (Rink linker, 0.74 mmol/g)를 갖는 아미노메틸 노바겔 (Nova GelTM)을 포함하는 고분자 지지체 상에서 합성되었고 상기 펩타이드 모방체 서열은 Fmoc 화학에 근거한 방법을 이용하여 합성되었다. 반응들은 일반적으로 아실화 반응에서 활성 종으로서 HOBt-TBTU를 이용하고 양자 소거제로서 DIPEA를 이용하여, DMF에서 수행되었다. 카복실 기능의 좀 더 강력한 아실화가 요구되는 경우, 예를 들면, 방향족 아민의

아실화에서는, 상기 반응이 70℃에서 수행되거나 Fmoc-보호된 아실화 종의 카복실 기능을 그에 상응하는 티오닐 클로라이드를 갖는 (SOCl₂), 아실 클로라이드^[1]로 전환시킴으로써 수행되었다. 이 경우에, 상기 반응은 양자 소거제로서 DIPEA 또는 콜리딘을 사용하여 70℃에서 테트라하이드로퓨란 중에서 수행되었다.

<451> 상기 합성에 사용된 보호된 중성 아미노산, 용매 및 시약은 켐-임플렉스 (Chem-Impex)로부터 구매하였고; 치환된 아미노벤조산 (스페이서)는 시그마-알드리치 (Sigma-Aldrich)로부터 구매하였고, 문헌에 기재된 바와 같이, 플루오렌일메틸옥시카보닐 클로라이드 (Fmoc-Cl)로 보호하였다.

<452> 합성 중간체 및 반응 생성물의 LC/MS 및 MS-inf. 분석을 루나 (Phenomenex) C18 컬럼에서는; 50×2 mm; 3 μm, 0.5 mL/분의 유속 (농도구배 1) 또는 쥬피터 (Phenomenex) C18 컬럼에서는; 250×4.6 mm; 5 μm, 1.0 mL/분의 유속 (농도구배 2)으로 HPLC-RP 작동을 위해 0.1% TFA로 완충된 pH를 갖는 H₂O-아세트나이트릴 농도구배 시스템 (용매 B)을 이용하는 써모피니간 (Thermofinnigan) LCQ-Duo 질량 분광 시스템 상에서 수행하였고,

<453>

	농도구배 1					
시간	0	2	13	15	18	20
% B	5	5	60	95	95	5

<454>

	농도구배 2					
시간	0	5	45	48	50	52
% B	5	5	60	95	95	5

<455> 이들 모두는 TFA/H₂O/Tis/ (95:2.5:2.5) (300 μL)로 구성된 절단 혼합물을 이용한 건조 수지 시료 (5-10 mg)의 처리로 획득되는 물질 상에서 3시간 동안 전개되는 것으로 이해된다.

<456> 반예비적인 HPLC 정제가 250×21.2 mm; 10 μm; 90 Å, H₂O-MeCN-TFA (97:3:0.1) 농도구배 시스템 [용매 A] 및 MeCN:H₂O:TFA (80:20:0,1) [용매 B]를 이용하는 쥬피터-프로테오 (Phenomenex) C 컬럼 상에서 수행되었다;

<457>

시간	3	20	10	10	10	5	3
%B	8	30	40	60	98	98	8

<458> 약자

<459> AAA 아미노산 (일반적인 표시)

<460> Ac₂O 아세트산 무수물

<461> DMF 다이메틸폼아마이드

<462> DIPEA 다이아이소프로필에틸아민

<463> DIPEAabs 순수 다이아이소프로필에틸아민

<464> Fmoc 9-플루오렌일메틸옥시카보닐

<465> HOBt 1-하이드록시-1H-벤조트라이아졸

<466> MeCN 아세트나이트릴

<467> min 분

<468> TBTU 2-(1H-벤조트라이아졸-1-일)-1,1,3,3-테트라메틸 유로늄 테트라플루오 로보레이트

<469> THF 테트라하이드로퓨란

<470> TFA 트라이플루오로아세트산

<471> Tis 트라이아이소프로필실란

<472> 통상적인 반응 과정 (반응식 9 참조)

- <473> 통상적인 과정 A-링크 아마이드 MBHA 수지의 링커의 아민 기능기 또는 상기 수지에 고정된 펩타이드-모방체 서열로부터 Fmoc의 제거.
- <474> 뚜껑 및 다공성 프리트 및 바닥에 배수 마개가 장착된 폴리프로필렌 반응기에서, 메틸렌 클로라이드 (15 mL/g의 수지) 및 다이메틸폼아마이드 (15 mL/g의 수지)로 상기 수지를 팽창시켰다. 링커의 아민 기능기 또는 상기 수지에 고착되어 성장하는 펩타이드 모방체 서열로부터 Fmoc 보호 기를 제거하기 위하여 상기 수지를 다이메틸폼아마이드 (15 mL/g의 수지) 중의 피페리딘 25% 용액으로 처리하였다. 상기 혼합물을 20분간 교반하였다. 지정된 시간 경과 후에, 탈보호 혼합물을 배수시키고 상기 수지를 다이메틸폼아마이드 (15 mL/g의 수지, 각각 5분간 5회 반복)로 세척하였다.
- <475> 통상적인 과정 B-링크 아마이드 MBHA 상에 제1 아미노산 또는 β -회전 모방체의 로우딩.
- <476> 뚜껑 및 다공성 프리트 및 바닥에 배수 마개가 장착된 폴리프로필렌 반응기에서, 항목 A에서 기술된 바와 같이 수득된, 상기 수지 링커의 자유 아민 기능기를 통상적인 과정 C에 기술된 펩타이드 결합의 형성을 위한 표준 과정을 이용하여 제1 아미노산 또는 β -회전 모방체의 로우딩을 위하여 아실화 중 (상기 수지에 대하여 5 당량)으로 처리하였다. 상기 반응 동향은 비-반응성 아민에 대한 카이저 테스트 (Kaiser test)를 이용하여 관찰하였다. 양성 카이저 테스트를 나타내는 수지를 반응 혼합물로부터 배수시키고 다이메틸폼아마이드 (15 mL/g의 수지, 각각의 세척 당 5분씩 5회 반복함)로 세척하였다.
- <477> 통상적인 과정 C-펩티딜-아미노아실-수지 또는 β -회전 모방체-수지 상에 아미노산 또는 소수성 스페이서의 로우딩.
- <478> 뚜껑 및 다공성 프리트 및 바닥에 배수 마개가 장착된 폴리프로필렌 반응기에서, 통상적인 과정 B에서 기술된 바와 같이 수지에 고정된 Fmoc-탈보호된 펩타이드 모방체 서열을 아실화 중 (상기 수지에 대하여 5 당량)으로 처리하였고, 다이메틸폼아마이드 중의 HOBt 및 TBTU 0.5 M (상기 수지에 대하여 5 당량) 용액 및 다이메틸폼아마이드 중의 DIPEA 1.0 M (상기 수지에 대하여 10 당량)에 용해시켰다. 상기 혼합물을 교반하고 가능하다면, 결합 동향을 카이저 테스트를 이용하여 관찰하였다. 120분을 초과하지 않는 범위 내에서, 상기 수지를 반응 혼합물로부터 배수시키고 다이메틸폼아마이드 (15 mL/g의 수지, 각각 5분씩 5회 반복)로 세척하였다.
- <479>
- <480> 통상적인 과정 D-소수성 스페이서의 방향족 아민 기능기에 아미노산 또는 아르기닌 모방체의 결합.
- <481> 나사 뚜껑을 갖는 유리 반응기에서, 수지에 고착된 펩타이드 모방체 서열에 모 Fmoc-아미노산 또는 아르기닌 모방체 (하기 통상적인 과정에서의 제조를 위하여, 수지에 대해 5 당량)의 아실 클로라이드 및 테트라하이드로퓨란에 용해시킨 양성자 소거제 DIPEA (또는 콜리딘) (500 μ L)를 첨가하였다. 혼합물을 70°C에서 2시간 동안 교반하였다. 양성 시험 결과를 나타내는 수지를 반응 혼합물로부터 배수시키고 다이메틸폼아마이드 (15 mL/g의 수지, 각각 5분씩 5회 반복함)로 세척하였다.
- <482> 아르기닌 모방체 아실 클로라이드의 제조. 통상적인 과정
- <483> 유리 반응기에 티오닐 클로라이드 (5 mL)를 자석 교반 하에 에틸에테르 (20 mL 내 16 mmol) 내 아르기닌 모방체 산 또는 Fmoc 보호된 아르기닌 모방체 산의 현탁액에 첨가하였다. 이로부터 수득된 현탁액을 2시간 동안 환류 조건 (75-80°C)까지 가열하였다. 이 단계 동안에, 혼합물은 투명해진다. 변형이 종결되면 (IPC: TLC 실리카 겔 60 F₂₅₄마크 플레이트, 메탄올 용해 생성물, 용출액 N-헥산-AcOEt 70:30), 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고 상기 용액을 증발시켰다. N-헥산 (4×50 mL)로 공-증발시키고 고 진공 하에서 건조시켜, 오일 잔사를 목적 생성물로서 궁극적으로 수득하였다.
- <484> 통상적인 과정 E-수지에 고착된 펩타이드 모방체의 N-말단 아민기의 아세틸화.
- <485> 펩타이드 모방체의 합성이 종결되고 통상적인 과정 A에서 기술된 바와 같이 Fmoc 보호기가 제거되면, 뚜껑 및 다공성 프리트 및 바닥에 배수 코크가 장착된 폴리프로필렌 반응기 내에서, 펩타이드 모방체 서열의 N-말단의 α -아민기의 아세틸화를 위하여 상기 수지에 고착된 서열을 Ac₂O/DIPEA/DMF [15:45:40] (10 mL/g의 수지, 각각 30 분씩 2회 반복함) 혼합물로 처리하였다. 아세틸화 경향을 카이저 테스트를 이용하여 관찰하였다. 양성 시험 결과를 나타내는 수지를 반응 혼합물로부터 배수시키고 다이메틸폼아마이드 (15 mL/g의 수지, 각각 5분씩 5회 반복함), 다이클로로메탄 (15 mL/g의 수지, 각각 5분씩 3회 반복함), 에틸에테르 (15 mL/g의 수지)로 세척하고 가스 상태의 질소 유동에 의해 건조시켰다.

- <486> 통상적인 과정 F-링크 아마이드 MBHA 수지로부터 펩타이드 모방체 서열의 분리.
- <487> 뚜껑 및 다공성 프리트 및 바닥에 배수 코크가 장착된 폴리프로필렌 반응기 내에서, 에틸에테르 및 질소 유동으로 세척한 후, 펩타이드 모방체의 분리를 위하여 상기 수지를 TFA-TiS-H₂O [95:2,5:2.5] (10 mL/g의 수지) 혼합물로 처리하였다. 상기 혼합물을 2시간 동안 교반하였다. 지시된 시간 후에 이 혼합물을 수지로부터 여과하였고 에틸에테르 (15 mL)를 여과물에 첨가하였다. 얻어진 용액을 -20℃에서 12시간 동안 냉각시켰다. 침전물이 상기 용액으로부터 분리되는 경우에는, 이 혼합물을 원심분리하여 고형물을 회수하였다. 침전물이 생성되지 않으면, 상기 용액을 감압 하에서 증발시켜 고형물을 회수하였다.
- <488> 통상적인 과정 G-수지 상에 아자글라이신의 형성.
- <489> 이 과정을 위하여, 케슬러에 의해 문헌 (Kessler, *J. Org. Chem.*; 1999, 64, 7388-7394)에 기술된 방법을 사용하는데, 상기 문헌에 기술된 수지 대신에, 통상적인 과정 A에 따라 처리한 후에 Fmoc-보호된 링크 아마이드 MBHA를 이용하였다:
- <490> 뚜껑 및 다공성 프리트 및 바닥에 배수 코크가 장착된 폴리프로필렌 반응기 내에서, 통상적인 과정 B에 기술된 바에 따라 제조된 Fmoc 탈보호된 링크 아마이드 MBHA 수지 또는 상기 수지에 고착된 Fmoc-보호된 펩타이드 모방체 서열을 무수물 CH₂Cl₂ (3×1 mL)로 세척하고 무수물 CH₂Cl₂ (1 mL) 중의 5-(9H-플루오렌-9-일메톡시)-1,3,4-옥사다이하졸-2 (3H)-온 (상기 수지에 대해 5 당량) 용액을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 90분간 흔들어준 후, 상기 수지를 반응 혼합물로부터 배수시키고 무수물 CH₂Cl₂ (3×1 mL) 및 다이메틸폼아마이드 (3×1 mL)로 세척하였다.
- <491> 통상적인 과정 H-수지 상에 아자발린 및 아자류우신의 형성.
- <492> 이 과정을 위하여, 케슬러에 의해 문헌 (Kessler, *J. 또는g. Chem.*; 1999, 64, 7388-7394)에 기술된 방법을 사용하는데, 수지 2-(클로로카보닐)-1-Fmoc-2-메틸-하이드라진 대신에 수지 2-(클로로카보닐)-1-Fmoc-2-아이소프로필-하이드라진 또는 2-(클로로카보닐)-1-Fmoc-2-아이소부틸-하이드라진 상에 아자-알라닌의 형성을 위하여 통상적인 과정 A에서 기술된 바에 따라 처리한 후, 상기 문헌에 기재된 수지 대신에 Fmoc-보호된 링크 아마이드 MBHA 수지를 이용하였다:
- <493> 뚜껑 및 다공성 프리트 및 바닥에 배수 코크가 장착된 폴리프로필렌 반응기 내에서, 통상적인 과정 B에 기술된 바와 같이 제조된 Fmoc 탈보호된 링크 아마이드 MBHA 수지 또는 상기 수지에 고착된 Fmoc-탈보호된 펩타이드 모방체 서열을 무수물 다이메틸폼아마이드 (3×1 mL)로 세척하였고 2-(클로로카보닐)-1-Fmoc-2-아이소프로필-하이드라진 또는 2-(클로로카보닐)-1-Fmoc-2-아이소부틸-하이드라진 (상기 수지에 대해 5 당량) 용액 및 1 ml의 무수물 다이메틸폼아마이드 중의 47 μL의 DIPEA를 첨가하였다. 반응 혼합물을 15시간 동안 실온에서 흔들어준 후, 상기 수지를 반응 혼합물로부터 배수시키고 무수물 다이메틸폼아마이드 (3×1 mL)로 세척하였다.
- <494> 통상적인 과정 I-아르기닌 모방체 AM8의 제조. 링크 아마이드 MBHA 수지 상에 Fmoc-아이소티오사이아네이트에 의한 구아니딜 기의 합성.
- <495> 뚜껑 및 다공성 프리트 및 바닥에 배수 코크가 장착된 폴리프로필렌 반응기 내에서, 다이메틸폼아마이드 (4.0 mL/g)에 용해시킨 Fmoc-아이소티오사이아네이트 (상기 수지에 대해 10 당량)를 통상적인 과정 A에서 기술된 바와 같이 처리된 링크 아마이드 MBHA 수지에 첨가하였다. 혼합물을 12시간 동안 교반하였다. 12시간 경과 후, 상기 수지를 배수시키고, 다이메틸폼아마이드 (5 mL×5)로 세척하고 다이메틸폼아마이드 (10 mL) 중의 CH₃I (상기 수지에 대해 10 당량) 및 DIPEA (상기 수지에 대해 30 당량) 용액으로 처리하였다. 상기 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반한 후, 배수시키고 다이메틸폼아마이드 (5 mL×5)로 세척하였다. 이 물질에 다이메틸폼아마이드 (10 mL) 중의 1,4-다이아미노뷰탄 (상기 수지에 대해 10 당량) 용액을 첨가하였다. 상기 혼합물을 실온에서 12시간 동안 교반하였다. 12시간 경과 후, 상기 수지를 배수시키고 다이메틸폼아마이드 (5×5 mL)로 세척하였다.
- <496> 통상적인 과정 J-링크 아마이드 MBHA 수지에 고착된 펩타이드 모방체 서열의 말단 아민기의 구아니딜화.
- <497> 뚜껑 및 다공성 프리트 및 바닥에 배수 코크가 장착된 폴리프로필렌 반응기 내에서, Fmoc 무함유 펩타이드 모방체 서열이 고착된 수지를 다이클로로메탄 (15 mL/g) 중의 1,3-다이-Boc-2-(트라이플루오로메틸설포닐)구아니딘 (3.0 당량) 용액을 이용한 N-말단 아민기의 구아니딜화로 처리하였다. 상기 혼합물을 24시간 동안 교반하였다. 양성 시험 결과를 나타내는 수지를 반응 혼합물로부터 배수시키고, 다이클로로메탄 (15 mL/g의 수지, 각각 5분

씩 5회 반복함) 및 에틸에테르 (15 mL/g의 수지)로 세척하고 가스 상태의 질소 유동으로 건조시켰다.

<498>

실시예 10

<499>

ST2565 [Ac-thr-gly-pro-leu-val-asp-arg-NH₂, MW = 797.4]의 제조.

<500>

뚜껑 및 다공성 프리트 및 바닥에 배수 코크가 장착된 폴리프로필렌 반응기 내에서, 상기에 기술된 바와 같은 제1 아미노산의 로우딩을 위하여 Fmoc-(D)Arg (pbf)-OH (250 μ mol)를 통상적인 과정 A에 기술된 바와 같이 처리된 링크 아마이드 MBHA (66 mg, \sim 50 μ mol)에 첨가하였다. 상기 혼합물을 45분간 교반하였다. 지시된 시간 이후에, 상기 수지를 다이메틸폼아마이드 (2 mL \times 5)로 세척하였고 Fmoc의 제거를 위해 처리하였다 (통상적인 과정 A). 기술된 합성 주기를 제1 아미노산 이후에 다음 아미노산들의 로우딩을 위해 반복하였다. 성장하는 펩타이드 모방체를 서열 Fmoc-(D)Asp (Ot-Bu)-OH (250 μ mol), Fmoc-(D)Val-OH (250 μ mol), Fmoc-(D)Leu-OH (250 μ mol), Fmoc-(D)Pro-OH (250 μ mol), Fmoc-Gly-OH (250 μ mol), 및 Fmoc-(D)Thr (OtBu)-OH (250 μ mol)에 첨가하였다. 상기 결합을 카이저 테스트를 이용하여 관찰하였다. 기술된 바와 같이 상기 서열이 종결되고 Fmoc가 제거되면, 펩타이드 모방체를 상기에 기술된 바와 같이 마지막 아미노산의 α -아민기의 아세틸화를 위하여 Ac₂O/DIPEA/DMF [15:45:40] (2 mL \times 2 \times 30분) 용액으로 처리하였다. 상기 아세틸화 경향을 카이저 테스트를 이용하여 관찰하였다. 양성 시험 결과를 나타내는 수지를 다이메틸폼아마이드 (2 mL \times 5), 다이클로로메탄 (2 mL \times 3), 및 에틸에테르 (2 mL)로 세척하였고 가스 상태의 질소 유동으로 건조시켰다.

<501>

상기 건조 수지를 상기에 기술된 바와 같이 TFA-TiS-H₂O [95: 2.5: 2.5] (2시간 동안 1 mL)의 혼합물로 펩타이드 절단에 의해 처리하였다. 지시된 시간 이후에, 상기 혼합물을 여과하고 에틸에테르 (15 mL)를 여과물에 첨가하였다. 이 공정의 결과로, 침전물이 상기 용액으로부터 분리되었다. 상기 현탁액을 -20℃에서 12시간 동안 보관한 후 원심분리하였다. 얻어진 고형물을 H₂O/아세트나이트릴/TFA [50:50:0.1] (5 mL)의 용액에 용해시키고 동결건조시켜 목적하는 펩타이드를 수득하였다 [13.5 mg; LC (농도구배 1): 정체 시간 = 5.70분; Ms: (m + 1) = 주어진 범위 내].

<502>

실시예 11

<503>

ST2792 [PAM9-SP02-베타2-Thr-NH₂, MW = 552.1]의 제조

<504>

뚜껑 및 다공성 프리트 및 바닥에 배수 코크가 장착된 폴리프로필렌 반응기 내에서, Fmoc-Thr (OtBu)-OH (250 μ mol)을 통상적인 과정 B 및 C에 기술된 바와 같은 제1 아미노산의 로우딩을 위하여, 통상적인 과정 A에 기술된 바와 같이 처리된 링크 아마이드 MBHA 수지 (66 mg, \sim 50 μ mol)에 첨가하였다. 혼합물을 45분간 교반하였다. 45분 경과 후, 상기 수지를 반응 혼합물로부터 배수시키고, 다이메틸폼아마이드 (2 mL \times 5)로 세척하였고 통상적인 과정 A의 Fmoc 제거를 위하여 처리하였다.

<505>

기술된 합성 주기를 Fmoc-[베타2]-OH (250 μ mol) 및 Fmoc-SP02-OH (250 μ mol)의 로우딩을 위하여 반복하였다. Fmoc 제거 후, PAM9-Cl (250 μ mol)을 PAM9-Cl과 SP02 아민기의 결합 반응에서 소거체로서 DIPEA를 사용하여 통상적인 과정 D에 기술된 바와 같이 수득된 상기 펩타이드-모방체 서열에 첨가하였다. 상기 혼합물을 70℃에서 2시간 동안 교반하였다. 양성 시험 결과를 나타내는 수지를 반응 혼합물로부터 배수시키고, 다이메틸폼아마이드 (2 mL \times 5), 다이-클로로메탄 (2 mL \times 3), 및 에틸에테르 (2 mL \times 3)로 세척하였고 가스 상태의 질소 유동을 이용하여 건조시켰다. 최종적으로, 상기 건조 수지를 통상적인 과정 F에 기술된 바와 같은 펩타이드 모방체의 절단에 의해 처리하였다. 상기 수지로부터 얻은 절단 산물을 HPLC-RP로 정제하였고 동결건조시켜 궁극적으로 목적하는 분자를 수득하였다 [9.1 mg; LC (농도구배 1): 정체 시간 = 5.55분; Ms: (m + 1) 주어진 범위 내].

<506>

실시예 12

<507>

ST2864 [Ac-Gly-Pro-SP30-Arg-NH₂, MW = 502.6]의 제조.

<508>

지시된 펩타이드 모방체 서열을 실시예 11에 기술된 바와 같이 링크 아마이드 MBHA 수지 (66 mg, \sim 50 μ mol) 상에서 합성하였다. 상기 수지로부터의 절단 산물을 HPLC-RP로 정제하고 동결건조시켜 궁극적으로 목적하는 분자를 수득하였다 [19.0 mg; LC (농도구배 2): 정체 시간 = 17.31분; Ms: (m + 1) 주어진 범위 내].

<509>

실시예 13

- <510> ST2794 [PAM9-Asp-Val-Val-메타2-NH₂, MW = 615.2]의 제조
- <511> 지시된 펩타이드 모방체 서열을 실시예 11에 기술된 바와 같이 링크 아마이드 MBHA 수지 (66 mg, ~50 μ mol) 상에서 합성하였다. 상기 수지로부터의 절단 산물을 HPLC-RP로 정제하고 동결건조시켜 궁극적으로 목적하는 분자를 수득하였다 [19.0 mg; LC (농도구배 1): 정제 시간 = 6.20분; Ms: (m +1) 주어진 범위 내].
- <512> 실시예 14
- <513> ST2796 [AM9-SP02-Pro-Gly-NH₂, MW = 433.2]의 제조
- <514> 지시된 펩타이드 모방체 서열을 실시예 11에 기술된 바와 같이 링크 아마이드 MBHA 수지 (66 mg, ~50 μ mol) 상에서 합성하였다. 상기 서열 합성이 종결되고 Fmoc가 제거되면, 상기 수지 상에 잔존하는 펩타이드 모방체를 통상적인 과정 J에 기술된 바와 같이 β -알라닌의 말단 아민기의 구아니딘화에 의해 처리하였다. 상기 수지로부터의 절단 산물을 HPLC-RP로 정제하고 동결건조시켜 궁극적으로 목적하는 분자를 수득하였다 [10.0 mg; LC (농도구배 2): 정제 시간 = 19.12분; Ms: (m +1) 주어진 범위 내].
- <515> 실시예 15
- <516> ST2863 [AM9-SP17-Pro-Gly-NH₂, MW = 460.5]의 제조
- <517> 지시된 펩타이드 모방체 서열을 실시예 13에 기술된 바와 같이 링크 아마이드 MBHA 수지 (66 mg, ~50 μ mol) 상에서 합성하였다. 상기 수지로부터의 절단 산물을 HPLC-RP로 정제하고 동결건조시켜 궁극적으로 목적하는 분자를 수득하였다 [12.5 mg; LC (농도구배 2): 정제 시간 = 18.12분; Ms: (m +1) 주어진 범위 내].
- <518> 실시예 16
- <519> ST2797 [PAM8-SP15-Pro-Gly-NH₂, MW = 492.1]의 제조
- <520> 지시된 펩타이드 모방체 서열을 실시예 11에 기술된 바와 같이 링크 아마이드 MBHA 수지 (66 mg, ~50 μ mol) 상에서 합성하였다. 상기 수지로부터의 절단 산물을 HPLC-RP로 정제하고 동결건조시켜 궁극적으로 목적하는 분자를 수득하였다 [8.3 mg; LC (농도구배 2): 정제 시간 = 29.03분; Ms: (m +1) 주어진 범위 내].
- <521> 실시예 17
- <522> ST2807 [PAM9-(SP31)₃-Pro-Gly-NH₂, MW = 675.5]의 제조
- <523> 지시된 펩타이드 모방체 서열을 실시예 11에 기술된 바와 같이 링크 아마이드 MBHA 수지 (66 mg, ~50 μ mol) 상에서 합성하였고, 통상적인 과정 C를 3회 반복하였다. 상기 수지로부터의 절단 산물을 HPLC-RP로 정제하고 동결건조시켜 궁극적으로 목적하는 분자를 수득하였다 [4.4 mg; LC (농도구배 2): 정제 시간 = 22.54분; Ms: (m +1) 주어진 범위 내].
- <524> 실시예 18
- <525> ST2798 [PAM9-SP38-Pro-Gly-NH₂, MW = 445.3]의 제조
- <526> 지시된 펩타이드 모방체 서열을 실시예 11에 기술된 바와 같이 링크 아마이드 MBHA 수지 (66 mg, ~50 μ mol) 상에서 합성하였다. 상기 수지로부터의 절단 산물을 HPLC-RP로 정제하고 동결건조시켜 궁극적으로 목적하는 분자를 수득하였다 [11.8 mg, LC (농도구배 2): 정제 시간 = 18.83분; Ms: (m +1) 주어진 범위 내].
- <527> 실시예 19
- <528> ST2799 [Ac-arg-asn-val-leu-메타1-NH₂, MW = 722.3]의 제조
- <529> 지시된 펩타이드 모방체 서열을 실시예 10에 기술된 바와 같이 링크 아마이드 MBHA 수지 (66 mg, ~50 μ mol) 상에서 합성하였다. 상기 수지로부터의 절단 산물을 HPLC-RP로 정제하고 동결건조시켜 궁극적으로 목적하는 분자를 수득하였다 [11.9 mg; LC (농도구배 1): 정제 시간 = 6.30분; Ms: (m +1) 주어진 범위 내].
- <530> 실시예 20
- <531> ST2801 [Ac-Arg-SP12-메타2-Thr-NH₂, MW = 629.3]의 제조

- <532> 지시된 펩타이드 모방체 서열을 통상적인 과정 A, B, C 및 D (이 경우 통상적인 과정 E 및 F에서 콜리딘을 Fmoc-Arg (pbf)-Cl과 스페이서 12 아민 작용기와의 결합에 소거제로서 사용함)에 기술된 바와 같이 링크 아미드 MBHA 수지 (66 mg, ~50 μmol) 상에서 합성하였다. 상기 수지로부터의 절단 산물을 HPLC-RP로 정제하고 동결건조시켜 궁극적으로 목적하는 분자를 수득하였다 [2.9 mg; LC (농도구배 2): 정제 시간 = 18.16분; Ms: (m +1) 주어진 범위 내].
- <533> 실시예 21
- <534> ST2804 [Ac-Arg-SP02-베타2-Gly-NH₂, MW = 601.0]의 제조
- <535> 지시된 펩타이드 모방체 서열을 실시예 21에 기술된 바와 같이 링크 아미드 MBHA 수지 (66 mg, ~50 μmol) 상에서 합성하였다. 상기 수지로부터의 절단 산물을 HPLC-RP로 정제하고 동결건조시켜 궁극적으로 목적하는 분자를 수득하였다 [2.7 mg; LC (농도구배 2): 정제 시간 = 18.22분; Ms: (m +1) 주어진 범위 내].
- <536> 실시예 22
- <537> ST2806 [AM8-SP38-베타6-NH₂, MW = 571.3]의 제조
- <538> 뚜껑 및 다공성 프린트 및 바닥에 배수 코크가 장착된 폴리프로필렌 반응기 내에서, 링크 아미드 MBHA 수지 (135 mg, ~100 μmol)를 통상적인 과정 I에서 기술된 바와 같이 처리하였다. 펩타이드 모방체 서열의 합성을 통상적인 과정 B, C 및 F에 기술된 바와 같이, 수지 (80 mg의 수지 ~50 μmol) 상에 구축된 G8 상에서 종결하였다. 상기 수지로부터의 절단으로 수득된 물질을 HPLC-RP로 정제하고 동결건조시켜 궁극적으로 목적하는 분자를 수득하였다 [0.9 mg; LC (농도구배 1): 정제 시간 = 6.78분; Ms: (m +1) 주어진 범위 내].
- <539> 실시예 23
- <540> ST2805 [NH₂-arg-SP02-베타5, MW = 578.3]의 제조
- <541> 지시된 펩타이드 모방체 서열을 실시예 11에 기술된 바와 같이 링크 아미드 MBHA 수지 (66 mg, ~50 μmol) 상에서 합성하였다. 상기 수지로부터의 절단 산물을 HPLC-RP로 정제하고 동결건조시켜 궁극적으로 목적하는 분자를 수득하였다 [0.3 mg, LC (농도구배 2): 정제 시간 = 20.70분; Ms: (m +1) 주어진 범위 내].
- <542> 실시예 24
- <543> ST2825 [PAM4-SP19-베타8-NH₂, MW = 591.0]의 제조
- <544> 지시된 펩타이드 모방체 서열을 실시예 11에 기술된 바와 같이 링크 아미드 MBHA 수지 (66 mg, ~50 μmol) 상에서 합성하였다. 상기 수지로부터의 절단 산물을 HPLC-RP로 정제하고 동결건조시켜 궁극적으로 목적하는 분자를 수득하였다 [9.3 mg; LC (농도구배 1): 정제 시간 = 12.28분; Ms: (m +1) 주어진 범위 내].
- <545> 실시예 25
- <546> ST2828 [H-SP32-베타3-NH₂, MW = 384.1]의 제조
- <547> 지시된 펩타이드 모방체 서열을 실시예 11에 기술된 바와 같이 링크 아미드 MBHA 수지 (66 mg, ~50 μmol) 상에서 합성하였다. 상기 수지로부터의 절단 산물을 HPLC-RP로 정제하고 동결건조시켜 궁극적으로 목적하는 분자를 수득하였다 [33.3 mg; LC (농도구배 1): 정제 시간 = 7.62분; Ms: (m +1) 주어진 범위 내].
- <548> 실시예 26
- <549> ST3324 [PAM11-SP19-베타8-NH₂, MW = 572.7]의 제조
- <550> 지시된 펩타이드 모방체 서열을 실시예 11에 기술된 바와 같이 링크 아미드 MBHA 수지 (66 mg, ~50 μmol) 상에서 합성하였다. 상기 수지로부터의 절단 산물을 HPLC-RP로 정제하고 동결건조시켜 궁극적으로 목적하는 분자를 수득하였다 [9.4 mg; LC (농도구배 1): 정제 시간 = 17.30분; Ms: (m +1) 주어진 범위 내].
- <551> 실시예 27
- <552> ST3374 [PAM10-SP6-베타8-NH₂, MW = 514.99]의 제조
- <553> 지시된 펩타이드 모방체 서열을 실시예 11에 기술된 바와 같이 링크 아미드 MBHA 수지 (66 mg, ~50 μmol) 상

에서 합성하였다. 상기 수지로부터의 절단 산물을 HPLC-RP로 정제하고 동결건조시켜 궁극적으로 목적하는 분자를 수득하였다 [1.6 mg; LC (농도구배 1): 정제 시간 = 10,15분; Ms: (m +1) 주어진 범위 내].

<554> 실시예 28

<555> ST3375 [PAM3-SP30-베타8-NH₂, MW = 557.07]의 제조

<556> 지시된 펩타이드 모방체 서열을 실시예 11에 기술된 바와 같이 링크 아마이드 MBHA 수지 (66 mg, ~50 μmol) 상에서 합성하였다. 상기 수지로부터의 절단 산물을 HPLC-RP로 정제하고 동결건조시켜 궁극적으로 목적하는 분자를 수득하였다 [0.6 mg; LC (농도구배 1): 정제 시간 = 11,23분; Ms: (m +1) 주어진 범위 내].

<557> 실시예 29

<558> ST2793 [PAM8-SP20-베타3-NH₂, MW = 569.2]의 제조

<559> 지시된 펩타이드 모방체 서열을 실시예 11에 기술된 바와 같이 링크 아마이드 MBHA 수지 (66 mg, ~50 μmol) 상에서 합성하였다. 상기 수지로부터의 절단 산물을 HPLC-RP로 정제하고 동결건조시켜 궁극적으로 목적하는 분자를 수득하였다 [3.5 mg; LC (농도구배 1): 정제 시간 = 10.02분; Ms: (m +1) 주어진 범위 내].

<560> 실시예 30

<561> ST2941 [PAM3-SP33-베타8-NH₂, MW = 533.0]의 제조

<562> 지시된 펩타이드 모방체 서열을 실시예 11에 기술된 바와 같이 링크 아마이드 MBHA 수지 (66 mg, ~50 μmol) 상에서 합성하였다. 상기 수지로부터의 절단 산물을 HPLC-RP로 정제하고 동결건조시켜 궁극적으로 목적하는 분자를 수득하였다 [1.3 mg; LC (농도구배 1): 정제 시간 = 10.08분; Ms: (m +1) 주어진 범위 내].

<563> 실시예 31

<564> ST2826 [PAM6-SP20-베타8-NH₂, MW = 565.2]의 제조

<565> 지시된 펩타이드 모방체 서열을 실시예 11에 기술된 바와 같이 링크 아마이드 MBHA 수지 (66 mg, ~50 μmol) 상에서 합성하였다. 상기 수지로부터의 절단 산물을 HPLC-RP로 정제하고 동결건조시켜 궁극적으로 목적하는 분자를 수득하였다 [5.5 mg; LC (농도구배 1): 정제 시간 = 8.87분; Ms: (m +1) 주어진 범위 내].

<566> 실시예 32

<567> ST2926 [H-ArS-Gly-AzaVal-Val-Pro-Gly-NH₂, MW = 583.7]의 제조

<568> 통상적인 과정 H의 기술에 따라 아자발린의 형성이 수행된 것을 제외하고는, 지시된 펩타이드 모방체 서열을 실시예 11에 기술된 바와 같이 링크 아마이드 MBHA 수지 (66 mg, ~50 μmol) 상에서 합성하였다. 상기 수지로부터의 절단 산물을 HPLC-RP로 정제하고 동결건조시켜 궁극적으로 목적하는 분자를 수득하였다 [4.9 mg; LC (농도구배 1): 정제 시간 = 4.98분; Ms: (m +1) 주어진 범위 내].

<569> 실시예 33

<570> ST3032 [Ac-Azagly-Azagly-pro-leu-val-asg-arg-NH₂, MW = 755.8]의 제조

<571> 통상적인 과정 G의 기술에 따라 아자글라이신의 형성이 수행되는 것을 제외하고는, 지시된 펩타이드 모방체 서열을 실시예 11에 기술된 바와 같이 링크 아마이드 MBHA 수지 (66 mg, ~50 μmol) 상에서 합성하였다. 상기 수지로부터의 절단 산물을 HPLC-RP로 정제하고 동결건조시켜 궁극적으로 목적하는 분자를 수득하였다 [10.0 mg; LC (농도구배 1): 정제 시간 = 8.25분; Ms: (m +1) 주어진 범위 내].

<572> 실시예 34

<573> ST2927 [Ac-Arg-Asp-Azagly-Val-Pro-Gly-NH₂, MW = 641.7]의 제조

<574> 통상적인 과정 G의 기술에 따라 아자글라이신의 형성이 수행되는 것을 제외하고는, 지시된 펩타이드 모방체 서열을 실시예 11에 기술된 바와 같이 링크 아마이드 MBHA 수지 (66 mg, ~50 μmol) 상에서 합성하였다. 상기 수지로부터의 절단 산물을 HPLC-RP로 정제하고 동결건조시켜 궁극적으로 목적하는 분자를 수득하였다 [18.2 mg; LC (농도구배 1): 정제 시간 = 5.17분; Ms: (m +1) 주어진 범위 내].

- <575> 실시예 35
- <576> ST2930 [Ac-thr-Azagly-pro-leu-val-asp-arg-NH₂, MW = 798.9]의 제조
- <577> 통상적인 과정 G의 기술에 따라 아자글라이신의 형성이 수행되는 것을 제외하고는, 지시된 펩타이드 모방체 서열을 실시예 11에 기술된 바와 같이 링크 아마이드 MBHA 수지 (66 mg, ~50 μmol) 상에서 합성하였다. 상기 수지로부터의 절단 산물을 HPLC-RP로 정제하고 동결건조시켜 궁극적으로 목적하는 분자를 수득하였다 [19.1 mg; LC (농도구배 1): 정제 시간 = 6.20분; Ms: (m + 1) 주어진 범위 내].
- <578> 실시예 36
- <579> ST2920 [Ac-Arg-Asp-Val-AzaVal-Pro-Gly-NH₂, MW = 681.8]의 제조
- <580> 통상적인 과정 H의 기술에 따라 아자발린의 형성이 수행된 것을 제외하고는, 지시된 펩타이드 모방체 서열을 실시예 11에 기술된 바와 같이 링크 아마이드 MBHA 수지 (66 mg, ~50 μmol) 상에서 합성하였다. 상기 수지로부터의 절단 산물을 HPLC-RP로 정제하고 동결건조시켜 궁극적으로 목적하는 분자를 수득하였다 [11.7 mg; LC (농도구배 1): 정제 시간 = 5.88분; Ms: (m + 1) 주어진 범위 내].
- <581> 실시예 37
- <582> ST2928 [Ac-Arg-Asp-AzaLeu-Val-Pro-Gly-NH₂, MW = 697.8]의 제조
- <583> 통상적인 과정 H의 기술에 따라 아자류우신의 형성이 수행되는 것을 제외하고는, 지시된 펩타이드 모방체 서열을 실시예 11에 기술된 바와 같이 링크 아마이드 MBHA 수지 (66 mg, ~50 μmol) 상에서 합성하였다. 상기 수지로부터의 절단 산물을 HPLC-RP로 정제하고 동결건조시켜 궁극적으로 목적하는 분자를 수득하였다 [12.00 mg; LC (농도구배 1): 정제 시간 = 5.18분; Ms: (m + 1) 주어진 범위 내].
- <584> 본 발명에 따른 화합물은 약제 및 생물학적 분석에 사용하기 위한 수단으로서 유용하다.
- <585> 이들의 활성은 단백질 MyD88의 동종이량체화를 억제하여 수많은 전-염증성 신호들을 억제하고 보다 효과적인 치료제를 구성할 수 있다는 것이다.
- <586> 이들의 일반적인 적용에서, 본 발명은 TLR/IL-R1 수용체 시스템의 신호전달 시스템의 조절곤란으로부터 유도되는 질환의 치료에 유용한 약제의 제조를 위한 화학식 (I) 화합물의 용도를 제공한다.
- <587> 당분야의 주지기술은 숙련자가 상기에 지시된 분자 생물학적 기전에 근거하여 치료될 수 있는 질환을 결정하는 것을 허용한다.
- <588> 본 발명에 따라 치료될 수 있는 질환은 염증성 및 자가면역 질환; 심혈관 및 죽종형성 질환; 패혈증 및 쇼크; 및 이식거부 반응으로 구성된 군으로부터 선택된다.
- <589> 염증성 및 자가면역 질환의 예로는 관절염, 만성 염증성 창자병 (IBD), 건선, 제1형 당뇨병, 다발 경화증, 천식, 및 전신 홍반루푸스가 있다.
- <590> 심혈관 및 죽종형성 질환의 예로는 심근경색증, 바이러스성 심근염, 죽상동맥경화증, 정맥 이식편 죽상동맥경화증, 혈전증, 재협착, 스텐트로 인한 재협착 및 혈관성형술로 인한 재협착이 있다.
- <591> 비-염증성 질환의 예로는 암 및 AIDS를 포함한다.
- <592> 본 발명에 따른 약제는 정상적인 임상 시험에 따라 결정된 유효량의 화학식 (I) 화합물을 포함할 것이다. 일차 진료 의사는 그 후에 치료될 질환의 유형, 환자의 상태 및 임의의 수반 요법에 따라 약량을 결정할 것이다.
- <593> 생물학적 분석
- <594> MyD88의 동종이량체화를 부분적으로 또는 전반적으로 억제하여 NF-κB의 활성을 조절하는 능력을 규명하기 위하여 본 발명의 대상인 화합물에 대하여 생물학적 특성 시험을 수행하였다. 이러한 목적으로, 세 종류의 분석이 사용되었다: a) 효모에서의 이중 하이브리드 분석으로 이의 간략한 서술은 하기에 제공되고, b) NF-κB 억제 분석으로 이 또한 본 명세서의 하기에 기술되며, c) 루시퍼라제 활성의 리포터 유전자 분석으로 이 또한 본 명세서의 하기에 기술된다. 활성인 것으로 간주되는 화합물은 상기 세 종류의 생물학적 분석들 중의 하나에서 활성인 것으로 확인된 것들이다.

- <595> a) 이중 하이브리드 분석
- <596> 효모 *사카로마이세스 세레비지에*에서의 이중 하이브리드 시스템은 전사 인자 GAL4를 *in vitro*에서 재구성하는 능력에 근거하는데, 전사 인자 GAL4는 활성화 도메인 (AD) 및 결합 도메인 (BD)의 두 개의 기능성 도메인으로 구분될 수 있다 (Field, S.; Song, O.; *Nature*, 1989, 340:245-247; Chien, CT.; 등; *Proc. Nat. Acad. Sci USA*; 1991, 88:9578-9582). 만약, 분자 생물학 기술을 이용하여, 이들 두 도메인을 상호작용할 수 있는 두 개의 단백질과 융합시킨다면, 그 결과로 GAL4의 기능적 재구성이 얻어질 것이고, 이는 GAL4 자신의 상부 활성화 서열 (UAS)의 조절 하에서 많은 리포터 유전자들의 전사를 활성화시킬 것이다. GAL4의 UAS의 조절 하에서 리포터 유전자들의 전사는 선택 배지에서 성장에 중요한 효소들의 합성을 허용할 것이다. 이 분석은 산소 농도에 민감하게 반응하여 방출하는 형광 물질이 도입된 실리콘 기질이 바닥에 위치하는 384-웰 플레이트를 이용하여 수행된다 (Wodnicka, M.; 등; *J. Biomol. Screen*; 1995, 5:141-152). 이중 하이브리드 시스템에서 GAL4의 BD 및 AD 도메인에 융합된 두 개 단백질 사이에서 상호작용이 각각 일어나면, 효모는 선택 배지에서 성장할 수 있고 산소를 소비하여 형광을 방출할 것이며, 이는 시간의 경과에 따라 비례적으로 증가할 것이고 적합한 형광 판독기 (Fusion, Perkin Elmer)에 의해 검출될 것이다. 만약 효모가 이러한 상호작용을 억제할 수 있는 분자의 존재 하에 놓인다면, 리포터 유전자의 전사가 감소될 것이고 따라서 최소 배지에서 성장할 수 있는 능력이 형광 신호의 감소와 함께 둔화될 것이다.
- <597> 도메인 AD 및 BD와 융합된 MyD88의 발현을 위해 사용된 벡터들 (pGBKT7 및 pGADT7)은 공-형질전환에 사용된 효모 균주 AH109 (MATa, trp1-901 leu2-3 112 ura3-52 his3-200 gal4 Δ gal80 Δ) 및 최소 배지 SGd/-Leu/-Trp e SGd/-Ade/-His/-Leu/-Trp와 같이 클론텍에 의해 공급되었다. 상기 분석에 사용되는 384-웰 플레이트는 BD 바이오사이언스 (산소 바이오센서 플레이트)로부터 공급되었고 형광의 측정을 위한 장치는 퍼킨 엘머 융합 장치이다. 두 개의 유전자 융합 (AD-MyD88 및 BD-MyD88)으로 공-형질전환된 균주 AH109를 2 ml의 SGd/-Leu/-Trp에 전-배양하고 200 rpm으로 교반하면서 30°C에서 밤새 배양한다; 그 후에 상기 전-접종물을 분석하고자 하는 분자 (최종 농도 100 mM)가 존재하는 384-웰 플레이트의 각 웰에 대하여 100 ml의 SGd/-Ade/-His/-Leu/-Trp 로 희석한다 (1/20). 상기 플레이트를 30°C 융합 장치에서 배양하고 각각의 개별적인 웰에서 방출되는 형광을 485 nm의 형광단의 여기 파장을 이용하여 측정하고 매 90분마다 총 25회 판독에 대해 플레이트의 바닥으로부터 630 nm에서의 방출을 판독한다. 형광 강도는 임의의 단위이므로 표준화가 요구된다: 시간 n에서 웰의 형광 강도를 동일 웰의 초기 형광 강도로 나누어야만 한다.
- <598> 형광 증가 곡선의 분석
- <599> 이중 하이브리드 분석에 의해 형성된 형광 증가 곡선은 이러한 유형의 조사를 위해 특이적으로 정교하게 만들어진 시스템을 이용하여 분석된다 (크리살리스 s.a.s. 소프트웨어-하우스에 의해 정교하게 만들어진 소프트웨어로서, 테크노젠 S.C.p.A.에 비제한적인 사용 인가가 허용됨).
- <600> 곡선 분석 시스템은 데이터의 어떠한 전처리도 요구하지 않는 데이터 획득 장치에 의해 생성된 파일들과 직접적으로 상호작용할 수 있어서 즉각적인 정성적-유형의 분석을 허용한다.
- <601> 일례로서, 도 1/4는 대부분의 클래스 2 화합물을 포함하는 하나의 플레이트로부터 얻어진 곡선을 나타낸다. 형광에 있어서의 증가에 대한 상기 곡선은 시간의 함수로서 NRF (시간 0에서 표준화된 상대 형광)로 나타내어진다.
- <602> 상기 소프트웨어는 도면에 나타난 바와 같이, 뚜렷하게 다른 양상을 나타내는, 개별적인 곡선들의 특성을 기술할 수 있는 정량적인 파라미터들을 제공한다. 구체적으로, 7개의 다른 기술어들이 사용되었다: 경사도 (평탄역 (plateau)의 경사), 고도 (평탄역 (plateau)의 높이), 범위 (평탄역 (plateau) 범위), ΔT (성장 시간), $t_{1/2}$ (평탄역 (plateau) 높이의 50%까지 성장하는데 걸리는 시간), 인자 ("돌출 (hump)" 인자), 및 Tau (S자 모양의 τ). 이들 정량적 파라미터들에 의해, 한 세트의 실험적 곡선들의 다차원 표현을 얻는 것이 가능하다. 이로부터 개시하고 주 구성성분을 위한 추출 기술을 이용하여, 데이터의 이-차원 표현이 곡선들 간의 차이를 가능한 명확하게 강조하는 방식으로 구축된다. 수반되는 계승 평면은 분석된 플레이트로부터 수득된 곡선들 사이에서 확인된 변동성 (서로 다른 기호로 표시됨)을 "설명하여" 이들을 다양한 파라미터들 또는 이들의 조합에 귀착시킨다 (도 2/4).
- <603> 첫 번째 두 개의 계승 축에 의해 설명되는 변동성은 $77.6\% + 13.7\% = 91.3\%$ 로 나타나 상기 첫 번째 계승 평면의 이-차원 그래프가 곡선들의 공간 분포도를 높은 수준의 근사값으로 나타내기에 더욱 충분하다. 첫 번째 계승 축은 높은 평탄역 (plateau) 수준을 가져 상기 축의 오른쪽에서 발견되는 곡선들을 보다 낮은 평탄역 고도를 가

져, 반대로, 상기 축의 왼쪽에서 발견되는 곡선들로부터 분리시키는 경향이 있다.

<604> 후자는 또한 오른쪽에 위치하는 곡선들보다 높은 ΔT , τ , VA, 범위 및 경사도를 갖는 특성을 나타낸다. 이들 기술어들의 값이 높을수록 이들이 두 축의 교차점으로부터 더 멀리 있는 것이다.

<605> 이러한 표현 유형은 유사한 거동을 나타내는 곡선들의 “그룹” (동일한 기호를 나타내는 곡선들은 유사한 특성을 갖는 곡선들에 상응함)을 동정하게 하고 어떠한 곡선이 산소 소비 및 그로 인한 효모 성장에 영향을 미치는 화합물에 의해 형성된 것인지를 명확하게 확인시켜 준다.

<606> 본 명세서 하기에 통계학적으로 보고된 바와 같이, 이 플레이트 상에 존재하는 화합물에 의해 형성된 곡선의 평균값과 비교하여 보다 낮은 평탄역 고도 및 보다 긴 성장 시간 (ΔT) 및 τ 값을 나타내는, 도 2/4에서 기호 x로 표시된 곡선들의 그룹이 이러한 표현 (도 3/4)을 제공하는 상기 플레이트로부터 선택되었다:

<607> $\Delta T = 36.001 \pm 0.0$ (14.615 ± 10.252)

<608> 고도 = 2.884 ± 0.667 (4.763 ± 1.131)

<609> 경사도 = 0.263 ± 0.077 (0.125 ± 0.096)

<610> 범위 = 0.801 ± 0.279 (0.364 ± 0.294)

<611> $\tau = 30.005 \pm 0.0$ (8.805 ± 12.146)

<612> $t^{1/2} = 33.006 \pm 0.012$ (25.142 ± 4.738)

<613> 인자 = 0.006 ± 0.002 (0.402 ± 0.258)

<614> 괄호 안에 기재된 값들은 분석된 플레이트에서 이들 파라미터에 대해 얻어진 평균값들이다.

<615> 또한, 도 2/4에서 기호 ●로 나타낸 곡선들의 그룹은 이 플레이트로부터 선택되었고, 이들이 하기 평균값 이상의 인자 및 평균값 이하의 ΔT 값을 나타낸다는 사실에도 불구하고, 이들은 본 명세서 하기의 통계 자료에서 보고된 바와 같이, 플레이트 상에 존재하는 화합물에 의해 형성된 곡선들의 평균값 이상의 $t^{1/2}$, 범위 및 경사를 나타내었다 (도 4/4):

<616> $\Delta T = 22.687 \pm 1.577$ (14.615 ± 10.252)

<617> 고도 = 4.044 ± 0.377 (4.763 ± 1.131)

<618> 경사도 = 0.261 ± 0.071 (0.125 ± 0.096)

<619> 범위 = 0.746 ± 0.201 (0.364 ± 0.294)

<620> $\tau = 30.005 \pm 0.003$ (8.805 ± 12.146)

<621> $t^{1/2} = 33.004 \pm 0.0$ (25.142 ± 4.738)

<622> 인자 = 0.619 ± 0.056 (0.402 ± 0.258)

<623> 기술된 분석 시스템은 본 발명에 따른 화합물의 선별을 위해 사용된 모든 플레이트에 동일한 방식으로 적용되었고 하기 결과를 산출하였다:

<624> 클래스 1

<625> 명명 서열

<626> ST2402 Ac-arg-asp-val-leu-pro-gly-NH₂

<627> ST2565 Ac-thr-gly-pro-leu-val-asp-arg-NH₂

<628> ST2842 Arg-Asn-Val-Cys-Pro-Gly-Cys-NH₂

<629> ST2946 Ac-arg-asn-val-leu-pro-gly-NH₂

<630> ST2947 Ac-arg-asp-val-val-pro-gly-NH₂

<631> 클래스 2

<632>	명명	서열
<633>	ST2793	PAM8-SP20-베타3-NH ₂
<634>	ST2806	AM8-SP38-베타6
<635>	ST2825	PAM4-SP19-베타8-NH ₂
<636>	ST2826	PAM6-SP20-베타8-NH ₂
<637>	ST2827	PAM6-(SP39) ₂ -베타3-NH ₂
<638>	ST2828	SP32-베타3-NH ₂
<639>	ST2848	AM8-SP12-베타7
<640>	ST2849	PAM8-SP33-베타4-NH ₂
<641>	ST2851	PAM3-SP39-베타3-NH ₂
<642>	ST2852	PAM6-(SP39) ₄ -베타3-NH ₂
<643>	ST2935	PAM8-SP12-베타3-NH ₂
<644>	ST2936	PAM10-SP19-베타3-NH ₂
<645>	ST2937	AM8-SP33-베타5
<646>	ST2938	PAM3-SP39-베타4-NH ₂
<647>	ST2940	AM4-SP33-베타3-NH ₂
<648>	ST2941	PAM3-SP33-베타8-NH ₂
<649>	ST3374	PAM10-SP6-베타8-NH ₂

<650> 클래스 3

<651>	명명	서열
<652>	ST2791	PAM8-SP2-베타1-Thr-NH ₂
<653>	ST2795	PAM6-SP18-Pro-Gly-NH ₂
<654>	ST2796	AM9-SP2-Pro-Gly-NH ₂
<655>	ST2797	PAM8-SP15-Pro-Gly-NH ₂
<656>	ST2853	AM1-GLY-SP30-Pro-Gly-NH ₂
<657>	ST2854	베타7-SP2-arg-NH ₂
<658>	ST2855	Ac-ARG-SP12-베타1-THR-NH ₂
<659>	ST2856	PAM8-ASP-VAL-VAL-Pro-Gly-Gly-NH ₂
<660>	ST2857	PAM10-SP18-Pro-Gly-NH ₂
<661>	ST2858	PAM3-SP18-Pro-Gly-NH ₂

- <662> ST2859 PAM6-SP12-Pro-Gly-NH₂
- <663> ST2862 AM9-SP15-Pro-Gly-NH₂
- <664> ST2863 AM9-SP17-Pro-Gly-NH₂
- <665> ST2864 Ac-Gly-PRO7-SP30-Arg-NH₂
- <666> ST2867 베타6-val-val-asp-arg-NH₂
- <667> ST2868 Ac-Gly-Pro-SP2-Arg-NH₂
- <668> ST2869 Ac-Pro-Gly-SP2-ARG-NH₂
- <669> ST2870 PAM8-(SP31)₄-Pro-Gly-NH₂
- <670> ST2942 베타5-SP38-His-OH
- <671> ST2943 PAM10-SP2-Pro-Gly-NH₂
- <672> ST2944 PAM6-SP14-Pro-Gly-NH₂
- <673> ST2945 PAM9-(SP17)₂-Pro-Gly-NH₂
- <674> b) NF-κB 억제 분석
- <675> NF-κB의 활성화는 MyD88의 동종이량체화 및 수많은 수용체 복합체의 세포질내 부위로의 이들의 결합 하류에서 일어나는 사건이다. 이에 본 발명의 대상이 되는 화합물의 IL1α에 의해 촉발되는 신호의 증폭 캐스케이드(cascade)의 NF-κB 하류 활성화를 억제하는 능력을 평가하였다.
- <676> 모든 분자들은 NF-κB 억제 분석에 사용된 화합물의 용량이 독성 용량보다 낮다는 것을 평가하는, MTT 세포 생존 시험으로 미리 평가되었다.
- <677> 헬라* 세포를 2 mM 글루타민 + 1% 비-필수 아미노산 + 7.5% FBS (소 태아 혈청) + 10 ml/L의 페니실린-스트렙토마이신 용액 (10,000 단위/ml 페니실린 및 10 mg/ml 스트렙토마이신)이 첨가된 EMEM (EBSS) 배지에서 배양하였다.
- <678> (모든 세포 배지 및 다양한 성분들은 시그마-알드리치로부터 구입하였다. *시그마 알드리치 ECACC Ref No: 93021013로부터 헬라 세포주 인간 흑인계 자궁경부 상피모양 암종 인간, IL1α* = 대장균에서 발현된 시그마 I2778 인터류킨-1-알파 IL1α 인간, 재조합).
- <679> 상기 세포를 14 내지 35회 범위의 많은 세포 계대 후에 사용하였다.
- <680> 세포를 완전 배지에서 300,000 세포/웰의 농도로 6-웰 플레이트에 접종하고 37℃, 5% CO₂에서 밤새 배양하였다.
- <681> 약 18시간 경과 후, 완전 배지를 제거하고, 세포를 PBS 1×로 2회 세척하고 1 ml의 FBS-무함유 배지를 각 웰에 첨가한다.
- <682> 시험되는 분자들을 100 μM의 농도로 상기 배지에 이어서 첨가한다. 그리고 나서 세포들을 37℃, 5% CO₂에서 6 시간 동안 배양한다.
- <683> 분석되는 모든 분자들을 DMSO에 용해시켰다.
- <684> 동일한 부피의 DMSO를 음성 대조군, 즉 상기 분자로 처리되지 않은 세포에 첨가한다.
- <685> 분자로의 처리 마지막에, 세포들을 5 ng/ml의 IL1α*로 30분간 자극시킨 후 37℃, 5% CO₂에서 배양한다.
- <686> 동일한 부피의 PBS/BSA 0.4% (IL1α를 용해시키는데 사용된 용액)를 음성 대조군, 즉 비-자극된 세포에 첨가한다.
- <687> IL1α로의 자극 후, 세포들을 PBS 1×로 2회 세척하고 세포를 긁어서 수집한다.

- <688> 그리고 나서 세포들을 800 rpm, 4℃에서 10분간 원심분리한다.
- <689> 상등액을 제거한다. 침전물을 용해 완충용액**에 재현탁하고, 4℃에서 10분간 배양한 후 4℃에서 최대 속도로 원심분리한다. 상기 침전물을 제거하고 상등액을 -80℃에서 냉동시킨다.
- <690> 이어서 총 단백질 함량을 표준품으로서 공지된 농도의 BSA를 이용한 브래드포드 분석에 의해 측정하고 본 명세서 하기에 기술된 바와 같이 ELISA 분석에 사용한다.
- <691> NF-κB의 활성화/억제를 트랜스 AM# (활성 모티프) 키트를 이용하여 평가한다.
- <692> I1 트랜스 AM 키트는 통상적인 ELISA 분석의 마지막에 수득되는 비색 반응을 통해 IL1α에 의해 유도되는 NF-κB의 활성화를 검출하게 된다.
- <693> 상기 키트는 NF-κB의 보존 지역 (5'-GGGACTTT-CC-3')을 포함하는 올리고뉴클레오타이드로 유도화된 96-웰 플레이트를 제공한다. 이 올리고뉴클레오타이드는 IL1α의 자극 후에 방출되는 NF-κB의 활성화형에만 특이적으로 결합한다. NF-κB 검출을 위해 제공된 제1 항체는 전사 인자가 활성화되어 표적 DBNA 서열에 결합한 경우에만 접근가능한 p65 에피토프를 인식한다.
- <694> 제공된 제2 항체는, 발색 기질의 첨가와 함께, 450 nm의 파장에서 분광광도적으로 평가될 수 있는 비색 반응을 수득하는 것을 가능케하는, 당근 과산화효소에 접합된다.
- <695> 시료를 중복하여 분석하고 10 μg의 각 추출물을 각 웰에 로우딩한다.
- <696> 분석 마지막 단계에서, 하기와 같이 분광광도적 관독에서 얻어진 값들을 처리하여 % 억제를 계산한다:
- <697> $IL^*-C^*/IL-C = NF-\kappa B$ 의 % 활성화.
- <698> IL^* = 자극되고 시험 분자들로 처리된 세포들의 A_{60} .
- <699> C^* = 자극되지도 않고 시험 분자들로 처리되지도 않은 세포들의 A_{60} .
- <700> IL = IL1α로 처리되고 상기 분자들로 처리되지 않은 세포들의 A_{60} .
- <701> C = 자극되지도 않고 처리되지도 않은 세포들의 A_{60} .
- <702> NF-κB 활성화가 증가하면 할수록, 분석된 분자의 활성화는 감소할 것이다.
- <703> 세포 용해 및 ELISA 분석을 수행하는데 사용된 모든 시약들은 사용된 키트에서 제공된다.
- <704> NF-κB 억제 분석에서 양성으로 간주된 화합물들은 15% 이상의 백분율 억제를 나타낸 것들이다.
- <705> 클래스 1
- <706> 명명 서열 % NF-κB 억제
- <707> ST2565 Ac-thr-gly-pro-leu-val-asp-arg-NH₂ 30
- <708> 클래스 2
- <709> 명명 서열 % NF-κB 억제
- <710> ST3375 PAM3-SP30-베타8-NH₂ 33
- <711> ST2828 SP32-베타3-NH₂ 27
- <712> ST2825 PAM4-SP19-베타8-NH₂ 26
- <713> ST2806 AM8-SP38-베타6 24
- <714> ST2826 PAM6-SP20-베타8-NH₂ 23
- <715> ST2793 PAM8-SP20-베타3-NH₂ 18

- <716> ST2863 AM9-SP17-Pro-Gly-NH₂ 17
- <717> ST2941 PAM3-SP33-베타8-NH₂ 17
- <718> 클래스 3
- <719> 명명 서열 % NF-κB 억제
- <720> ST2804 Ac-Arg-SP2-베타2-Gly-NH₂ 34
- <721> ST2807 PAM9-(SP31)₃-Pro-Gly-NH₂ 33
- <722> ST2794 PAM9-Asp-Val-Val-베타2-NH₂ 25
- <723> ST2799 Ac-arg-asp-val-leu-베타1-NH₂ 23
- <724> ST2792 PAM9-SP2-베타2-Thr-NH₂ 22
- <725> ST2797 PAM8-SP15-Pro-Gly-NH₂ 20
- <726> ST2798 PAM9-SP38-Pro-Gly-NH₂ 18
- <727> ST2796 AM9-SP2-Pro-Gly-NH₂ 17
- <728> ST2801 Ac-Arg-SP12-베타2-Thr-NH₂ 17
- <729> ST2864 Ac-Gly-Pro-SP30-Arg-NH₂ 16
- <730> ST2805 NH2-arg-SP2-베타5 15

- <731> c) IL-1로 자극된 인간 장관 CaCo2 상피세포에서 루시퍼라제 활성화의 리포터 유전자 분석.
- <732> 상기 분석은 루시퍼라제 리포터 유전자 발현이 IL-1-반응성 인간 IL-8 프로모터 유전자 영역의 조절 하에 있는 리포터 유전자 플라스미드로 CaCo2 인간 장내 상피세포의 일시적인 공-형질전환에 기초한다. 공-형질전환에서 제2 플라스미드는 대조군 레닐라 루시퍼라제 리포터 유전자를 암호화하는 벡터로서 이의 구성적 발현이 시험된 화합물의 비특이적 세포 독성을 평가하기 위하여 사용된다. 상기 분석의 정보 판독은 하기와 같이 초파리 및 레닐라 루시퍼라제에 대한 상대적 반응 비율 (RRR)로서 정의되었다:

$$RRR = \frac{(experimental\ sample)-(negative\ control)}{(positive\ control)-(negative\ control)} \times 100$$

- <733>
- <734> 여기에서 실험 시료는 임의의 미상 시료에 대해 정의된 바와 같이, 실험 리포터 발광의 초당 cont (cps)에서의 값이다. 양성 대조군은 기준 억제제 화합물의 부재 시에 IL-1에 의한 최대한의 유도를 나타내는 시료에 대해 정의된 바와 같이, 리포터 발광의 cps 내 값이다. 음성 대조군은 IL-1에 의한 유도의 부재를 확인하는 시료에 대해 정의된 바와 같이, 리포터 발광의 cps 내 값이다. 비-유도성 레닐라 루시퍼라제에 대해서는, RRR이 다음과 같이 정의되었다:

$$RRR = \frac{(experimental\ sample)}{(positive\ control)} \times 100.$$

- <735>
- <736> RGA는 상기 실험들의 정보 판독이고 이는 하기와 같이 수행되었다:

- <737> 6×10^6 부착성 CaCo2 세포를 10 cm 플레이트 상에 도말한다. 18 내지 24시간 경과 후 배양 배지를 FBS 및 항생제 무함유 9 ml의 D-MEM + 글루타민 580 mg/L을 이용하여 교환한다. 그리고 나서 각각의 플레이트에 대해, 26 μg의 IL-1-반응성 리포터 벡터 DNA (pGL2-NA-INT) 및 4 μg의 대조군 리포터 벡터 DNA를 500 μL 옵티멤 (Optimem, 인비트로젠)에 용해시킨다. 리포펙타민 2000 시약 (인비트로젠) 30 μL를 그 후에 500 μL 옵티멤에

첨가한다; 나중의 반응 혼합물을 실온에서 5분간 방치한다. 상기 DNA 혼합물을 리포펙타민 2000 혼합물에 한 방울씩 첨가한다. 그 결과 DNA/리포펙타민 혼합물을 실온에서 20분간 방치하고 상기 배양 플레이트 자체를 천천히 흔들면서 그 위에 한 방울씩 첨가한다. 배양 플레이트를 37℃ 및 5% CO₂에서 약 6시간 동안 배양한다. 그리고 나서 실험 고안에 의해 요구되는 바와 같이, 세포들을 트립신으로 처리하고, 100 μL의 배양 배지 (FBS 1% + 글루타민 580 mg/L 함유 DMEM) 내 5×10⁴ 세포/웰의 농도로 96-웰 플레이트로 옮긴다. 그 후에, 세포를 37℃ 및 5% CO₂에서 16 내지 18시간 동안 배양하고 다음과 같이 처리한다:

- <738> · 각 웰로부터 배양 배지를 취한다.
- <739> · 대조군 세포 웰에 60 μL의 신선한 배양 배지를 첨가한다.
- <740> · IL-1-처리된 웰에 40 μL의 신선한 배양 배지를 첨가한다.
- <741> · 억제제 물질 웰에 40 μL의 신선한 배양 배지 및 100 μM 농도의 20 μL의 물질 및 0.4% DMSO를 첨가한다.
- <742> · IL-1-처리된 웰 및 대조군 세포 웰에 0.4% DMSO가 보충된 20 μL의 신선한 배양 배지를 첨가한다.
- <743> · 37℃ 및 5% CO₂에서 4시간 동안 배양한다.
- <744> · 2시간 후, 37℃ 및 5% CO₂에서 추가 2시간 동안 20 μL의 IL-1 (500 pg/mL)으로 자극시킨다.
- <745> · 적당량의 루시페라제 표준품 단백질을 부가적인 분석 웰에 첨가한다.
- <746> · 각 웰에 80 μL의 초파리 루시페라제 기질 (이중-글로 루시페라제 분석 시스템 시약)을 첨가한다.
- <747> · 실온에서 10분간 방치한다.
- <748> · 베리타스 발광측정기 (터너 바이오시스템즈) 상에서 초파리 루시페라제 출력을 판독한다.
- <749> · 각 웰에 80 μL의 레닐라 루시페라제 기질 (이중-글로 루시페라제 분석 시스템 시약)을 즉시 첨가한다.
- <750> · 실온에서 10분간 방치한다.
- <751> · 베리타스 발광측정기 (터너 바이오시스템즈) 상에서 레닐라 루시페라제 출력을 판독한다.
- <752> RGA 분석에서 양성으로 간주된 화합물들은 20% 이상의 백분율 억제를 나타낸 것들이었다.

클래스 2

명명	서열	% 억제
<754>	ST2828	SP32-베타3-NH ₂ 24
<756>	ST2825	PAM4-SP19-베타8-NH ₂ 71
<757>	ST2793	PAM8-SP20-베타3-NH ₂ 20
<758>	ST3324	PAM11-SP19-베타8-NH ₂ 51 (80 μM)

클래스 3

명명	서열	% 억제
<760>	ST2926	H-Arg-Gly-AzaVal-Val-Pro-Gly-NH ₂ 20
<762>	ST3032	Ac-Azagly-Azagly-pro-leu-val-asp-arg-NH ₂ 21
<763>	ST2927	Ac-Arg-Asp-Azagly-Val-Pro-Gly-NH ₂ 22
<764>	ST2930	Ac-thr-Azagly-pro-leu-val-asp-arg-NH ₂ 24
<765>	ST2920	Ac-Arg-Asp-Val-AzaVal-Pro-Gly-NH ₂ 25

<766> ST2928 Ac-Arg-Asp-AzaLeu-Val-Pro-Gly-NH₂ 29

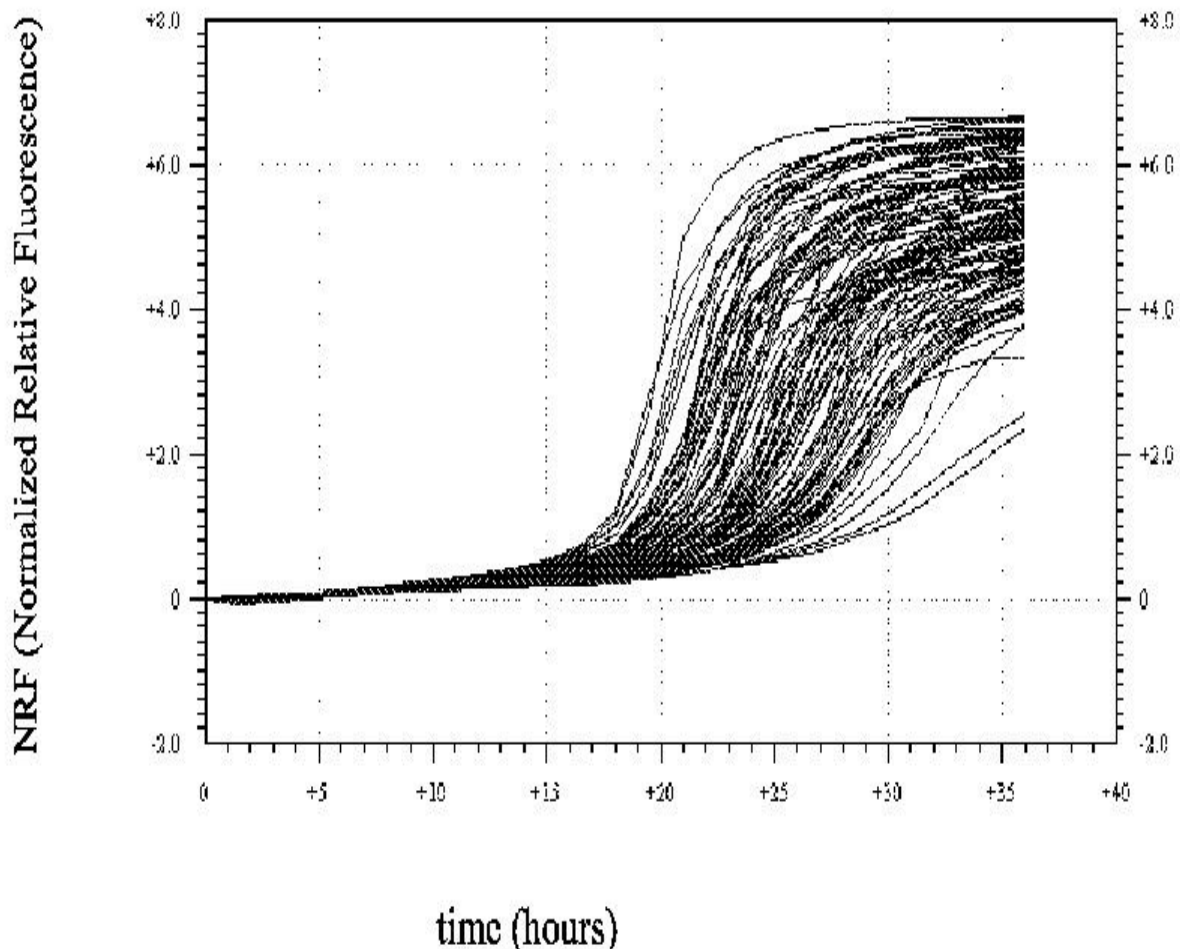
<767> ST2797 PAM8-SP15-Pro-Gly-NH₂ 31

<768> 본 발명에 따르면, 약학 조성물은 적어도 하나의 활성 성분을 현저한 치료 효과를 나타낼 수 있을 정도의 양으로 함유한다. 본 발명에 포함되는 상기 조성물은 온전히 통상적이고 약학 산업에서 일반적으로 수행되는 방법들, 예컨대, 예를 들면 문헌 (Remington's Pharmaceutical Science Handbook, Mack Pub. N.Y.-latest edition)에 개시된 방법들에 의해 수득된다. 선택된 투여 경로에 따라, 조성물은 경구, 비경구 또는 정맥내 투여에 적합한 고형 또는 액체 형태일 것이다. 본 발명에 따른 조성물은 활성 성분과 함께 적어도 하나의 약학적으로 허용가능한 부형제 또는 첨가제를 포함한다. 제형 보조제, 예를 들면 용해제, 분산제, 현탁제 또는 유화제가 특히 유용할 것이다.

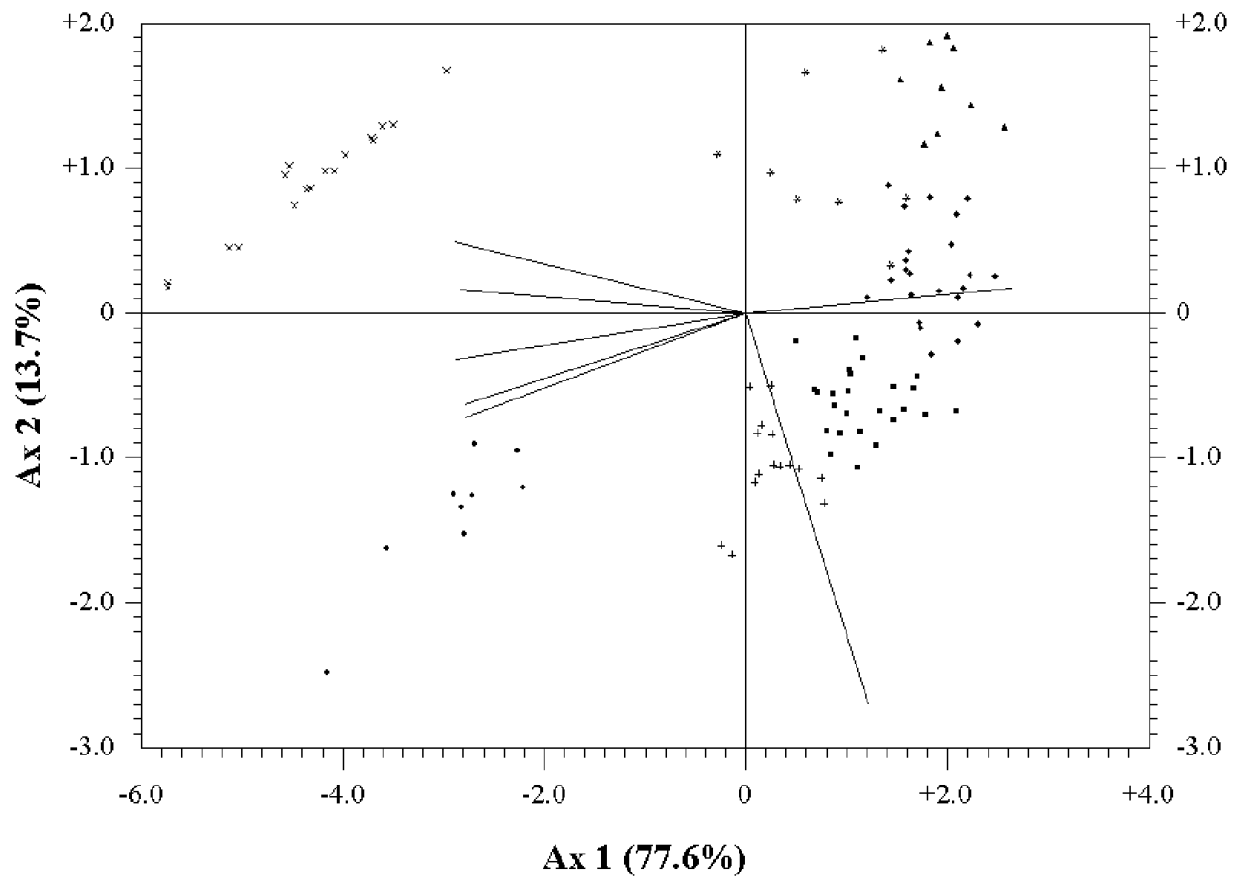
<769> 본 발명에 따른 화합물의 펩타이드 성질을 고려하여, 이 분야에서 평균적인 경험을 가진 기술자들은 위보호된 또는 조절된-방출 형태로 경구 투여를 위한 약학 조성물 내에 상기 화합물을 제형화하는 타당성을 결정할 수 있을 것이다.

도면

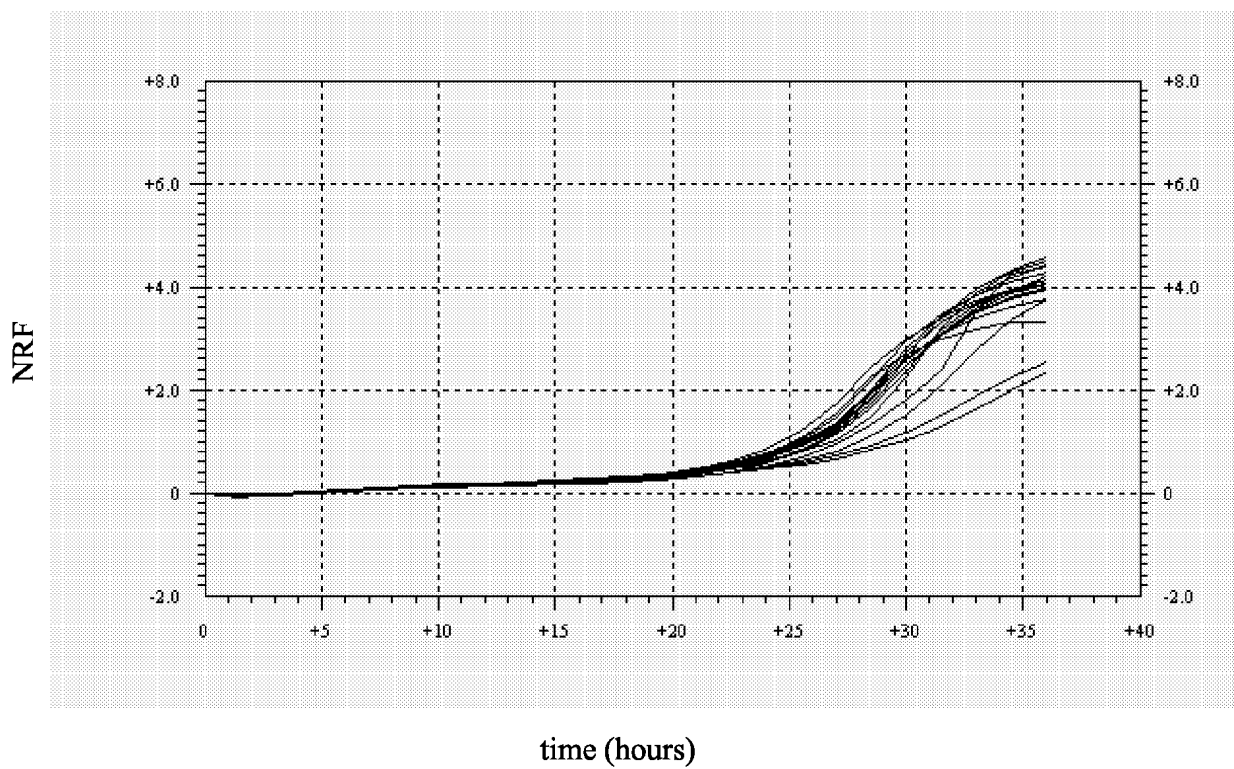
도면1



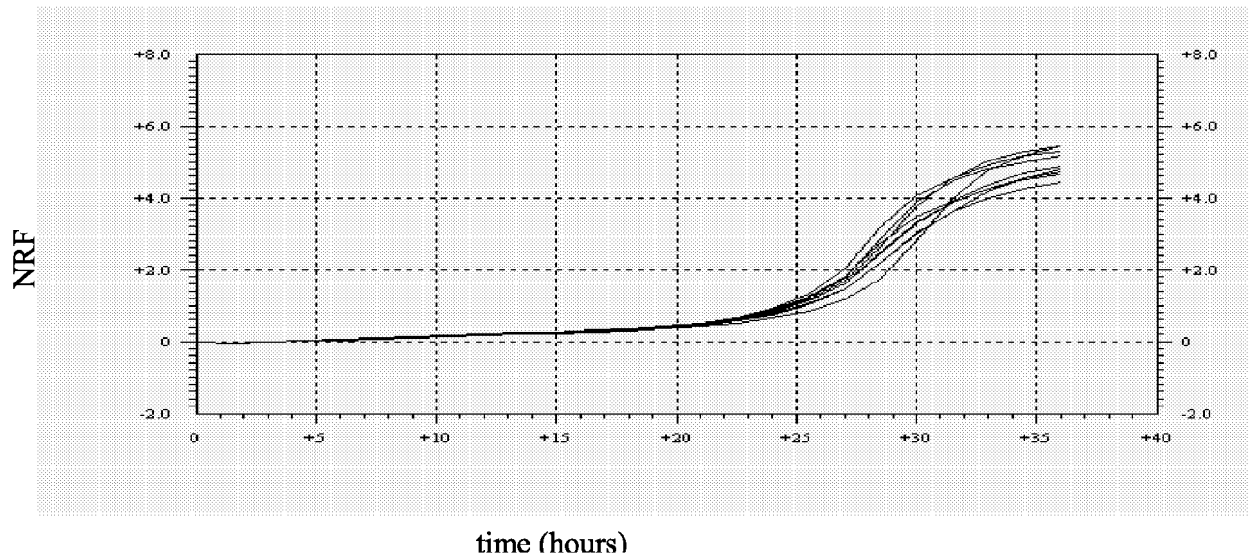
도면2



도면3



도면4



서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> SIGMA-TAU INDUSTRIE FARMACEUTICHE RIUNITE S.P.A.

<120> MYD88 HOMODIMERIZATION INHIBITORS

<130> EPI-8803

<140> EP 04425929.9

<141> 2005-01-14

<160> 14

<170> PatentIn Ver. 3.3

<210> 1

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 1

Arg Asp Val Leu Pro Gly Thr
1 5

<210> 2

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 2

Arg Asp Val Val Pro Gly Gly
1 5

<210> 3

<211> 16

<212> PRT

<213> Drosophila melanogaster

<400> 3

Arg Gln Ile Lys Ile Trp Phe Gln Asn Arg Arg Met Lys Trp Lys Lys
1 5 10 15

<210> 4

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 4

Pro Thr Asp Leu Val Arg Gly
1 5

<210> 5

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 5

Leu Pro Gly Thr
1

<210> 6

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 6

Thr Gly Pro Leu Val Asp Arg
1 5

<210> 7

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 7

Arg Asp Val Leu

1

<210> 8

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 8

Arg Asp Val Leu Pro Gly

1

5

<210> 9

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 9

Arg Asn Val Cys Pro Gly Cys

1

5

<210> 10

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 10

Arg Asn Val Leu Pro Gly
1 5

<210> 11

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 11

Arg Asp Val Val Pro Gly
1 5

<210> 12

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 12

Asp Val Val Pro Gly Gly
1 5

<210> 13

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 13

Val Val Asp Arg
1

<210> 14

<211> 10

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide

<400> 14

gggactttcc

10