

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) Int. Cl.⁶
C07K 5/00
A61K 38/00
C07K 7/00

(45) 공고일자 2003년08월02일
(11) 등록번호 10-0380124
(24) 등록일자 2003년04월01일

(21) 출원번호	10-1996-0706004	(65) 공개번호	특1997-0702875
(22) 출원일자	1996년10월25일	(43) 공개일자	1997년06월10일
번역문제출일자	1996년10월25일		
(86) 국제출원번호	PCT/US1995/05268	(87) 국제공개번호	WO 1995/29189
(86) 국제출원일자	1995년04월25일	(87) 국제공개일자	1995년11월02일
(81) 지정국	국내특허 : 오스트레일리아 바베이도스 불가리아 브라질 캐나다 중국 체코 그루지야 헝가리 일본 북한 대한민국 스리랑카 리투아니아 라 트비아 마다가스카르 몽고 노르웨이 뉴질랜드 폴란드 루마니아 슬로 베니아 슬로바키아 트리니다드토바고 우크라이나 우즈베키스탄 베트남 에스토니아 라이베리아 멕시코 AP ARIPO특허 : 말라위 EA 유라시아특허 : 아르메니아 벨라루스 키르기즈 카자흐스탄 몰도바 러시아 타지키스탄 EP 유럽특허 : 핀란드 OA OAPI특허 : 부르키나파소 베냉 중앙아프리카 콩고 코트디부와르 카 메룬 가봉 기네 말리 모리타니 니제르 세네갈 차드 토고		

(30) 우선권주장 08/233,054 1994년04월26일 미국(US)

(73) 특허권자 셀렉타이드 코포레이션

미국 85737-9525 아리조나주 턱슨 이스트 핸리 볼러바드 1580

(72) 발명자 앨-오베이다, 패이해드

미국 85704 애러조우너주 턱슨 이스트 와인 플럼 드라이브 548
레이블, 마이칼

미국 85737 애러조우너주 턱슨 캐년 웨이 그랜빌 1246011
오스트램, 제임스, 에이.

미국 85718 애러조우너주 턱슨 이스트 철라 바이스타 로드 1202
새이파, 패이블

미국 85737 애러조우너주 턱슨 노쓰 라 리저브 드라이브 #6205 10700
스티랜더바, 앨리나

미국 85737 애러조우너주 턱슨 노쓰 라 리저브 드라이브 #9201 10700
스트럽, 피터

미국 85737 애러조우너주 턱슨 노쓰 라 리저브 드라이브 #9201 10700
월서, 애르민

(74) 대리인 미국 85712 애러조우너주 턱슨 이스트 클라인대이트 로드 4425
주성민

심사관 : 김재현

(54) 인자Xa억제제

명세서

<1> **발명의 배경**

<2> **발명의 분야**

<3> 본 발명은 일반적으로 혈액 응고 (blood clotting)에 관여하는 단백질의 억제, 보다 특히 혈액 응고 효소 인자 Xa에 대한 특이적 억제제에 관한 것이다.

<4> **배경정보**

<5> 혈병 (blood clots) 형성 능력은 생명체의 생존에 필수적이다. 그러나, 특정 질병 상태에서, 순환계 내에서의 혈병 형성은 그 자체가 질병의 원인이다. 따라서, 때로는 혈병 형성 방지가 바람직할 수 있다. 그러나, 생명을 위협할 만큼의 출혈이 일어날 것이기 때문에 혈병계를 완전히 억제하는 것은 바람직하지 않다.

<6> 혈병의 혈관내 형성을 저하시키기 위해, 당업자는 혈병 형성 중에 트롬빈을 활성화시키는 프로트롬

비나제 복합체로 혼합되는 프로트롬비나제 또는 인자 Xa의 효과적 억제제를 개발하려고 노력해왔다.

- <7> 인자 Xa 억제제의 적절한 농도는 혈병 형성 개시에 필요한 프로트롬비나제 형성제 수준을 증진시킬 것이지만, 일단 트롬빈의 억제 농도가 수득된 이후에는 혈병 형성 과정을 과도하게 연장시키지는 않을 것이다. 그러나, 이러한 억제제가 바람직하다는 장기간의 지속적인 인식에도 불구하고, 인자 Xa에 대해 임상적 용도로 유효한 특이적 억제제는 현재 존재하지 않는다.
- <8> 다수의 임상 적용에서, 항응고제 처리에 대한 요구가 크다. 현재 입수가 가능한 약물은 다수의 특정 임상 적용에서 만족스럽지 않다. 예를 들면, 전체 둔부 이식된 환자 중 약 50%에서는 심재 정맥 혈전증(DVT)이 발생한다. 현재 승인된 요법으로는 고정 투여량의 저분자량 헤파린(LMWH) 및 가변 투여량의 헤파린이 포함된다. 이들 약물 섬생법을 이용한 환자일지라도, 환자 중 10 내지 20%에서는 DVT가 발생하고 5 내지 10%에서는 출혈 합병증이 발생한다.
- <9> 보다 좋은 항응고제를 필요로 하는 또다른 임상 상태는 트랜스루미날(tranaluminal) 관상 혈관 형성술을 경험한 환자 및 심근경색증의 위험에 있는 환자 또는 점강성 협심증을 앓는 환자와 관련이 있다. 헤파린 및 아스피린의 투여로 이루어지는 통상 허용되는 현행 요법은 공정 24시간 내에 돌연한 혈관 폐쇄율 6 내지 8%와 관련이 있다. 수술 요법을 필요로 하는 출혈 합병률은 또한 헤파린의 사용으로 인해 약 7%이다. 더욱이, 비록 폐쇄 지연이 상당할 지라도, 수술 종료 후의 헤파린 투여는 거의 무가치하며 유해해질 수 있다.
- <10> 가장 널리 사용하는 혈액 응고 억제제는 헤파린 및 관련 황산화 폴리사카리드, LMWH 및 헤파린 황산염이다. 이들 분자는 혈액 응고 과정의 천연 조절제인 항트롬빈 III와 트롬빈 및 인자 Xa와의 결합을 촉진시킴으로써 이들의 항혈액 응고 효과를 나타낸다. 헤파린의 억제 활성은 주로 트롬빈에 대한 것이며 이것은 인자 Xa보다 약 100배 신속하게 비활성화된다. 헤파린, 헤파린 황산염 및 LMWH가 트롬빈 보다 Xa의 약간 더 강력한 억제제일지라도, 시험관내 차이는 그다지 크지 않으며 (3 내지 30배) 생체내 효과는 중요하지 않을 수 있다. 히루딘 및 히루록 2가지는 현재 임상적으로 시도되는 추가의 트롬빈-특이적 항응고제이다. 그러나, 트롬빈을 억제하는 이들 항응고제는 또한 출혈 합병증과 관련이 있다.
- <11> 비비원숭이 및 개에서의 예비임상 연구를 통해, 인자 Xa의 특이적 억제제가 직접적인 트롬빈 억제제를 사용한 경우에 관찰된 출혈 부작용을 발생시키지 않으면서 혈병 형성을 방지한다는 것이 밝혀졌다. 이러한 인자 Xa 억제제의 예로는 2,7-비스-(4-아미디노벤질리덴)-시클로헥탄논 및 N α -토실글리실-3-아미디노페닐알라닌 메틸 에스테르 ("TENSTOP") 등이 있으며, 이는 유효한 억제 농도(K_i)가 각각 약 20 nM 및 800 nM이다. (+)-(2S)-2-(4-({(3S)-1-아세티미도일-3-피롤리딘일}옥시)페닐-3-(7-아미디노-2-나프틸)프로파노산도 역시 대표적인 인자 Xa 억제제 일종이다 (참조: Katakura 등, Biochem, Biophys, Res. Comm. 197:965-972, 1993). 그러나, 여태까지는 이들 화합물이 임상적으로 개발되지 않았다.
- <12> 또한, 인자 Xa의 특이적 단백질 억제제가 확인되어 왔고 예를 들어 항스타틴("ATS") 및 참진드기 항응고제 펩티드("TAP") 등이 있다. 거머리(*Haemeterin officinalis*)로부터 단리한 ATS는 119개의 아미노산을 함유하며 인자 Xa에 대한 K_i가 0.05 nM이다. 참진드기(*Ornithodors moubata*)로부터 단리한 TAP는 60개의 아미노산을 함유하며 인자 Xa에 대한 K_i는 약 0.5 nM이다.
- <13> 재조합적으로 생성된 ATS 및 TAP의 효능은 다수의 동물 모델 시스템에서 연구되어 왔다. 상기 2종의 억제제 모두가 다른 항응고제에 비해 출혈 시간을 단축시키고 심재 정맥 혈전증의 트롬보플라스틴 유도된 결합된 경정맥 모델에서의 혈액 응고를 방지한다. 이 모델에서 얻은 결과는 최근 선택된 약물 헤파린을 사용하여 얻은 결과와 상관관계가 있다.
- <14> 피하 ATS는 또한 파종성 혈관내 응고(DIC)의 트롬보플라스틴 유도된 모델에서 효과적인 치료법인 것으로 밝혀졌다. TAP는 활성 부분 트롬보플라스틴 시간(aPTT)을 임상적으로 허용가능하게, 즉 약 2배 미만으로 연장시키는 폴리에스테르("DACRON") 이식편(利殖片)을 외과술을 통해 이식함으로써 유발되는 "고 전단" 동맥 혈전증 및 "혈류 유동성 저하(reduced flow)"를 효과적으로 방지한다. 비교에 의해, 표준 헤파린은 aPTT를 5배 증가시키는 투여량에서조차 혈전증을 방지하지 못하고 이식편 내에서의 혈류 유동성 저하를 방지하지 못하였다. aPTT는 혈액 응고의 임상 분석법 중 트롬빈 억제제에 대해 특히 민감한 분석법이다.
- <15> ATS 및 TAP가 임상 개발되어 오지는 않았다. 이들 두 억제제의 1가지 큰 단점은 필요한 반복 투여량의 투여가 중화 항체를 생성시켜서, 이들의 잠재적 임상 용도를 제한한다는 점이다. 더욱이, TAP 및 ATS의 크기를 고려할 때, 경구 투여가 불가능하므로, 이들 작용제가 유익할 수 있는 환자 수가 더욱 제한된다.
- <16> 인자 Xa의 특이적 억제제는 의학의 실시에 있어서 실질적인 실용성이 있을 것이다. 특히, 인자 Xa 억제제는 선택된 본 약물 헤파린 및 관련 황산화 폴리사카리드가 비효과적이거나 단지 최저한으로 효과적인 경우에 효과적일 것이다. 따라서, 효과적이지만 원치 않은 부작용을 유발시키지 않는, 저분자량의 인자 Xa 특이적 혈병 억제제에 대한 수요가 있다. 본 발명은 이 수요를 만족시킬 뿐만 아니라 관련인점도 제공한다.
- <17> 발명의 개요
- <18> 본 발명은 인자 Xa 활성을 특이하게 억제하는 화합물을 제공한다. 본 발명의 화합물의 화학식은 X₁-Y-I-R-X₂이며, 여기에서 X₁은 수소(H), 아실, 알킬 또는 아릴알킬기, 또는 아미노산 1개 이상이고, X₂는 개질된 C-말단기, 카르복시 보호기(하기 참조) 1개 이상, 아미노산 1개 이상, 또는 기타 치환체이고, Y, I 및 R은 각각 아미노산 티로신, 이소류이신 및 아르기닌이고, 각각 티로신, 이소류이신 및 아르기닌과 동일한 기능 활성을 갖는 펩티드유사물 또는 유기 구조물이다. 또한, 본 발명의 화합물의 화학식은 본 명세서에서 정의한 바와 같이 A1-A2-(A3)_n-B이다.
- <19> 본 발명의 화합물은 N-말단 또는 C-말단 또는 둘 다에서 개질되고 약 2-43개 잔기 길이의 선형 또는 환형 화합물일 수 있다. 이러한 화합물은 인자 Xa 활성에 대한 특이적 억제제 K_i ≤ 100 μM, 바람직하

게는 $K_1 \leq 2nM$ 이며, 응고 캐스캐이드(cascade)에 관여하는 기타 프로테아제의 활성을 실질적으로 억제하지는 않는다. 이러한 화합물의 구체적인 예로는 Ac-Tyr-Ile-Arg-Leu-Ala-NH₂, Ac-Tyr-Ile-Arg-Leu-Pro-NH₂, Ac-(iBu)Tyr-Ile-Arg-Leu-Pro-NH₂; Ac-Tyr-Ile-Arg-N(CH₃)O(CH₃); Ac-Tyr- $\{\Psi(CH_2NH)\}$ -Ile-Arg-Leu-Pro-NH₂ (여기에서, " Ψ "는 예를 들면 "(CH₂NH)"로 나타낸 바와 같은 환원된 결합일 수 있는 것인 슈도 펩티드 결합이고, 슈도 펩티드 결합은 종괄호로 묶인 " Ψ ", 즉 " $\{\Psi\}$ "로 나타낸다); Ac-Try-Ile-Arg-NH-CH₂(4-피리딜); Ac-Tyr-Ile- $\{\Psi(CH_2NH)\}$ -Arg-Leu-Pro-NH₂; Ac-Tyr-Chg-Arg(NO₂)- $\{\Psi(CH_2NH)\}$ -Leu-NH₂; Ac-Tyr-Ile-Arg- $\{\Psi(COCH_2)\}$ -Gly-Pro-NH₂, Ac-Tyr-Ile-Dab(N ϵ -C₃H₇N)-Leu-Ala-NH₂; Ac-Tyr-Ile-PalMe(3)-NH₂; Tyr-Ile-Arg-NH₂, (D)-Tyr-Ile-Arg-Leu-Pro-NH₂; Ac-(Bzl)Gly-(Chx)Gly-(3-구아니도프로필)Gly-NH₂; 시클로(Gly-Tyr-Ile-Arg-Gly); Tfa-(iBu)Tyr-Chg-Arg-Leu-Pro-NH₂; Ac-pAph-Chg-Arg-Leu-Pro-NH₂; Ac-Nal(2)-Chg-Arg-Leu-Pro-NH₂; Ac-pAph-Chg-PalMe(3)-NH₂; 및 이들의 약제학적으로 허용가능한 염 및 아마이드, 에스테르, 알콜 및 알데히드와 같은 C-말단 유도체 (또한 표5를 참조한다)가 포함된다. 인자 Xa의 활성을 특이하게 억제하는 방법 및 개체에서 혈병을 억제하는 방법도 역시 제공된다. 인자 Xa 수준 또는 활성의 검출 방법도 제공된다.

발명의 상세한 설명

- <20> 혈액 응고는 혈장 효소원이 제한된 단백질 분해에 의해 연속적으로 활성화되어 일련의 효소 활성 반응들이 진행적으로 증폭되는 것을 포함하는 복잡한 과정이다. 기계학적으로 혈액 응고 캐스캐이드는 내인성 및 외인성 경로로 분리되는데, 이 경로들은 인자 Xa의 활성화에서 다시 만나서 이후의 트롬빈 생성은 공통적인 단일 경로를 통해 진행된다 (도 1을 참조한다).
- <21> 본 증거는 내인성 경로가 피브리린 형성의 유지 및 성장에 중요한 역할을 하지만, 외인성 경로는 혈액 응고의 개시 단계에 매우 중요함을 제안한다. 통상, 혈액 응고는 조직 인자/인자 VIIa 복합체 형성 후에 물리적으로 개시된다고 여겨진다. 일단 형성된 이 복합체는 인자 IX 및 X를 활성화시킴으로써 신속하게 응고를 개시한다. 이어서, 새로 생성된 인자 Xa가 인자 Va 및 인지질과의 1:1 복합체를 형성하여, 가용성 피브리노겐을 불용성 피브리린으로 전환시키는 프로트롬비나제 복합체가 형성된다. 시간이 경과함에 따라, 인자 VIIa/조직 인자 복합체의 활성 (외인성 경로)은 인자 Xa와 복합체를 형성하는 경우에 인자 VIIa/조직 인자의 단백질 분해 활성을 직접 억제할 수 있는 쿠니츠(Kunitz)형 프로테아제 억제제 단백질 TFPI에 의해 저해된다. 억제된 외인성 시스템의 존재 하에서 응고 과정을 유지하기 위해, 추가의 인자 Xa가 내인성 경로의 트롬빈 매개된 활성을 통해 생성된다. 따라서, 트롬빈은 트롬빈 자체의 생성 매개 및 피브리노겐의 피브리린으로의 전환 매개의 2가지 자가촉매 역할을 한다.
- <22> 트롬빈 생성의 자가촉매 성질은 비조절된 출혈에 대하여 중요한 안전 장치이고, 일단 주어진 억제 수준의 프로트롬비나제가 존재하면, 예를 들면 출혈의 종결이 완결될 때까지 혈액 응고가 진행될 것임을 보장한다. 따라서, 트롬빈을 직접 억제하지 않고도 응고를 억제하는 작용제를 개발하는 것이 가장 바람직하다.
- <23> 본 발명은 인자 Xa 활성을 억제하지만 실질적으로 혈액 응고 경로에 관여하는 기타 프로테아제의 활성은 억제하지 않는 YIR 펩티드를 제공한다. 본 명세서에서 사용한 바와 같은 용어 "화합물" 또는 "YIR 펩티드"란 비천연 Tyr-Ile-Arg(YIR) 펩티드 및 이의 동족체 및 유사물을 의미하며, 이것은 인자 Xa 활성을 억제할 수 있다. YIR 배열 그 자체는 본 명세서에서 "YIR 모티프"를 의미하며 트리펩티드 티로신-이소류이신-아르기닌 또는 pAph-Chg-PalMe(3), pAph-Chg-PalMe(3)-NH₂ 및 pAph-Chg-AMP(4)와 같은 이의 기능적 등가물로 이루어진다 (약어를 위해 표 1을 참조한다). 본 발명의 이러한 화합물은 YIR 모티프 또는 이의 기능적 등가물 1개 이상을 포함하며 인자 Xa의 활성을 특이하게 억제할 수 있다. 편의상, 용어 "화합물" 및 "YIR 펩티드"를 본 명세서에서는 펩티드 동족체, 펩티드 유사물 및 합성 유기 화합물과 같은 기능적 등가물을 포함하는 본 발명의 펩티드를 의미하며 가장 넓은 의미로 사용한다. 본 발명의 YIR 펩티드의 기능적 등가물은 부분적으로, 구조가 본 명세서에 기재된 바와 같고 인자 Xa 활성 억제에 대한 K_i 가 $K_i \leq 100 \mu M$ 임을 특징으로 할 수 있다 (실시에 XXXVII를 참조한다).
- <24> 본 발명의 YIR 펩티드의 펩티드 동족체로는, 예를 들면 화합물이 인자 Xa 억제 활성을 보유하는 경우, 비천연 아미노산 또는 화학적 개질된 아미노산 함유 펩티드가 포함된다 (예를 들면, 표 2를 참조한다). 유사하게, 펩티드 유사물은 본 발명의 YIR 펩티드의 구조를 모방하고 인자 Xa 억제 활성을 보유하는 비아미노산 화학 구조물이다. 이러한 유사물은 통상, 정상 YIR 펩티드 대응물에서 밝혀진 바와같이 적절한 공간 배향으로 존재하는 크기, 전하 또는 소수성과 같은 유사한 물성을 나타냄으로써 특징지어진다. 펩티드 유사물의 구체적인 예는 아미노산 1개 이상들 사이의 아마이드 결합이, 예를 들면 탄소-탄소 결합 또는 당업계에 널리 공지된 바(예를 들면, 본 명세서에서 참조로서 인용하는 문헌[참조: Sawyer, Peptide Based Drug Design, pp. 387-422 (ACS, Washington DC 1995)]을 참조한다)와 같은 기타 결합에 의해 치환되는 화합물이다. 따라서, 본 발명은 추가로, 화학식이 A1-A2-(A3)_m-B인 인자 Xa 억제 화합물을 제공하며, 여기에서 m은 본 명세서에 기재한 바와 같이 0 또는 1이다 (이하를 참조한다) 유사물 화합물일 수 있는 이러한 펩티드의 예는 본 명세서에서 제공된다.
- <25> 본 명세서에서 사용한 바와 같이, 용어 "아미노산"은 가장 넓은 의미로 사용되어 천연 아미노산 20종을 의미하며, 이것은 유전 코드로부터 번역되며 별다른 구조적 언급이 없는 한은 L-아미노산 및 D-아미노산 뿐만 아니라, 아미노산 동족체와 같은 화학적 개질된 아미노산, 통상 노르류이신과 같은 단백질로 혼입되지 않는 천연 아미노산, 및 아미노산의 특성이 것으로 당업계에서 공지된 특성을 갖는 화학적 합성 화합물도 포함하는 단백질의 빌딩 블록(building block)을 함유한다. 예를 들면, 천연 Phe 또는 Pro와 같은 펩티드 화합물과 동일한 구조적 제한을 허용하는 페닐알라닌 또는 프롤린의 동족체 또는 유사물은 "아미노산"의 정의 내에 포함되며 당업자에게 공지되어 있다. 이러한 동족체 및 유사물은 본 명세서에서 아미노산의 "기능적 등가물"을 의미한다. 아미노산 및 아미노산 동족체의 기타 예는 (본 명세서에서 참조로서 인용하는) 문헌[참조: Roberts 및 Vellaccio, The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology, Eds.

Gross 및 Meienhofer, Vol. 5, p. 341, Academic Press, Inc., N.Y 1983]에 기재되어 있다. 아미노산, 아미노산 동족체 및 유사물 화학식의 약어는 표 1에 기재되어 있다.

표 1

본 명세서에서 사용한 약어

화합물	약어 1	약어 2*
아세틸	Ac	
알라닌	Ala	A
3-(2-티아졸릴)-L-알라닌	Tza	
아미딘	AMDN	
아미독심 (C(NH ₂)=N-OH)	(CNOH.NH ₂)	
(N-메틸피리디늄)메틸	AMP	
(4-(N-메틸피리디늄)메틸	AMP(4)	
1-(N-메틸피리디늄)에티-1-일	AEMP	
1-(4-(N-메틸피리디늄))에트-1-일	AEMP(4)	
아르기닌	Arg	R
아스파라긴	Asn	N
아스파르트산	Asp	D
벤조일	Bz	
2-벤조푸란카르복시	Bzf	
벤질	Bzl	
벤질옥시카르보닐	Cbz	
5-벤즈이미다졸카르복시	5-Bzim	
t-부틸옥시카르보닐	Boc	
벤조트리아졸-1-일옥시-트리스-(디메틸아미노)- 포스포늄-헥사플루오로포스페이트	Bop	
β -알라닌	β Ala	
β -발린	β Val	
β -(2-피리딜)-알라닌	Pal(2)	
β -(3-피리딜)-알라닌	Pal(3)	
β -(4-피리딜)-알라닌	Pal(4)	
β -(3-N-메틸피리디늄)-알라닌	PalMe(3)	
브로모-트리스-피롤리디노-포스포늄- 헥사플루오로포스페이트	PyBroP	
t-부틸	tBu, But	
t-부틸옥시카르보닐	Boc	
카페산	Caff	
카르보닐디이미다졸	CDI	

시스테인	Cys	C
5-클로로인돌-2-카르복시	ClCA	
시클로헥실	Chx	
시클로헥실알라닌	Cha	
시클로헥실글리신	Chg	
2,4-디아미노부티르산	Dab	
Dab-유도된 디메틸아미디늄	Dab(N ⁷ -C ₃ H ₇ N)	
2,3-디아미노프로피온산	Dap	
Dap-유도된 디메틸아미디늄	Dap(N ^β -C ₃ H ₇ N)	
3,5-디니트로티로신	Tyr(3,5-NO ₂)	Y(3,5-NO ₂)
3,5-디요오도티로신	Tyr(3,5-I)	Y(3,5-I)
3,5-디브로모티로신	Tyr(3,5-Br)	Y(3,5-Br)
N,N-디이소부틸카르복스아미드	DIBA	
N,N-디이소프로필카르복스아미드	DIPA	
4-N,N-디메틸아미노 피리딘	DMAP	
9-플루오레닐메틸옥시카르보닐	Fmoc	
5-플루오로인돌-2-카르복시	FICA	
포르밀	For	
글루타민	Gln	Q
글루탐산	Glu	E
γ-카르복시글루탐산	Gla	
글리신	Gly	G
히스티딘	His	H
호모아르기닌	hArg	hR
5-히드록시인돌-2-카르복시	5-Hic	
N-히드록시벤조트리아졸	HOBt	
3-히드록시프롤린	Hyp	
이미노디아세트산	Ida	
5-아미노인돌-2-카르복시	5AM2IN	
5-니트로인돌-2-카르복시	5NOINDC	
DL-인돌린-2-카르복시	2INCA	
이소부틸	iBu	
이소류이신	Ile	I
이소니코틴산	Isn	
N-메틸-이소니코틴산	IsnMe	
이소니페코트산	Ina	
이소프로판올	iPrOH	

1-이소퀴놀린카르복시	1-Iqc	
3-이소퀴놀린카르복시	3-Iqc	
루이신	Leu	L
3급-루이신	Tle	
리신	Lys	K
메르캅토- β, β -시클로펜타메틸렌프로피온산	Mpp	
메르캅토아세트산	Mpa	
메르캅토프로피온산	Mpr	
메탄올	MeOH	
메티오닌	Met	M
4-모르폴리노카르보닐아미드	MORA	
N-메틸모르폴린	NMM	
1-나프틸알라닌	Nal(1)	
2-나프틸알라닌	Nal(2)	
니코틴산	Nic	
니페코트산	Npa	
N-메틸 니코틴산	NicMe	
노르아르기닌	nArg	nR
노르루이신	Nle	nL
노르발린	Nva	nV
오르니틴	Orn	
오르니틴-유도된 디메틸아미디늄	Orn(N ^{δ} -C ₃ H ₇ N)	
페닐	Ph	
페닐알라닌	Phe	F
p-구아니디노페닐알라닌	Phe(Gua)	F(pGua)
p-아미노페닐알라닌	Phe(NH ₂)	F(pNH ₂)
p-클로로페닐알라닌	Phe(Cl)	F(pCl)
p-플루오로페닐알라닌	Phe(F)	F(pF)
p-니트로페닐알라닌	Phe(NO ₂)	F(pNO ₂)
p-히드록시페닐글리신	Pgl(OH)	
p-톨루엔술포닐	Tos	
2,2,5,7,8-펜타메틸-크로만-6-술포닐	Pmc	
m-아미디노페닐알라닌	mAph	
p-아미디노페닐알라닌	mAph	
페닐글리신	Pgl	
페닐말론산	Pma	
피페리디닐	PIP	

1-피페리디노카르보닐 아미드	PIPA	
L-피페콜론산	Pip	
프롤린	Pro	P
2-피라진카르복시	Pza	
2-퀴놀린카르복시	2-Qca	
4-퀴놀린카르복시	4-Qca	
사르코신	Sar	
S-3급-부틸	SBut	
"TENTAGEL"에 부착된 SCAL 링커	SCAL-TG	
세린	Ser	S
테트라히드로이소퀴놀린-3-카르복실	Tic	
테레오닌	Thr	T
트리플루오로아세틸	Tfa	
트립토판	Trp	W
티로신	Tyr	Y
3-요오도티로신	Tyr(3-I)	Y(3-I)
O-메틸 티로신	Tyr(Me)	Y(Me)
발린	Val	V

*D 배위의 아미노산은 3문자 코드를 사용하는 D-접두어(예: D-Ala, D-Cys, D-Asp, D-Trp)에 의해 또는 1 문자 코드를 사용하여 소문자(각각, a, c, d, w)로 나타낸다.

<30> 본 명세서에서 사용한 바와 같은 용어 "인자 Xa 활성"은 인자 Xa 자체로서 또는 프로트롬비나제 복합체로 공지된 서브유닛(subunit)의 집합체로서 프로트롬빈의 트롬빈으로의 전환을 촉매할 수 있는 능력을 의미한다. 인자 Xa 활성과 관련하여 사용하는 경우, 용어 "억제"는 인자 Xa 활성의 직접 및 간접 억제 둘 다를 포함한다. 인자 Xa 활성의 직접 억제는 예를 들면, 본 발명의 YIR 펩티드를 인자 X 또는 프로트롬비나제와 결합시켜서 프로트롬빈이 프로트롬비나제 복합체 활성 부위와 결합하지 않도록 방지함으로써 수행할 수 있다. 인자 Xa 활성의 간접 억제는 예를 들면, 본 발명의 화합물을 가용성 인자 Xa와 결합시켜 그것의 집합체가 프로트롬비나제 복합체로 되지 않도록 방지함으로써 수행할 수 있다.

<31> 본 명세서에서 사용한 바와 같은 용어 "특이성"은 인자 Xa 활성의 억제와 관련하여 사용하는 경우, VIR 펩티드가 (동일한 농도의 억제제를 사용하여) 플라스민 및 트롬빈을 포함하는 기타 특이화된 프로테아제의 활성을 실질적으로 억제하지 않고도 인자 Xa 활성을 억제할 수 있음을 의미한다. 이러한 프로테아제는 혈액 응고 및 섬유소 용해 캐스케이드에 포함된다 (표 2를 참조하고; 또한 실시예 XXVII를 참조한다).

표 2

선택된 화합물의, 효소 5종에 대한 억제 활성

K_i(μ M)

화합물	Xa	트롬빈	플라스민	트립신	엘라스타제
Ac-Y-I-R-L-A-A-F-T	1.5	100	NT	>200*	>100
Ac-Y-I-R-L-P	0.5	>200	>200	>200	>100
y-I-R-L-P	0.2	>200	>200	>200	>100
Ac-(iBu)Y-I-R-L-P	0.04	25	>200	NT	>100
"TENSTOP"	2	2	>200	NT	>200

*는 (나타낸) 시험 화합물의 최고 농도에서 효소 활성을 유의하게 억제하지 않았음을 나타낸다.

<33> 표 2에서의 결과는 본 발명의 YIR 펩티드가 인자 Xa의 억제제로서 유용하지만 실질적으로는, 혈액 응고의 방법 및 섬유소 용해에 포함되는 트롬빈 또는 플라스민과 같은 기타 세린 프로테아제의 활성을 억제하지 않음을 나타낸다.

<34> 본 명세서에서 사용한 바와 같은 용어 "치환체"는 본 명세서에 기재한 펩티드, 펩티드 동족체, 유사물 또는 유기 화합물의 펩티드 골격 또는 측쇄 상에 치환되는 임의의 각종 화학기를 의미한다. 치환체로는 당업자에게 공지된 임의의 여러 상이한 부분이 포함될 수 있다 (예를 들면, 본 명세서에서 참조로서 인용하는 문헌[참조: Giannis 및 Kolter, Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 32:1244-1267 (1993)]을 참조한다). 치환체의 치환을 증명하는 다수의 예는, 예를 들면 pNH₂ 치환체가 페닐알라닌 상에 치환되어 F(pNH₂)를 수득하는 치환 및 할로겐이 티로신 상에 치환되어, 예를 들면 Y(3-I) 또는 Y(3,5-I)를 수득하는 치환을 포함하여 본 명세서에 기재한다. 더욱이, 치환체는 예를 들면, 치환체에 의해 치환될 수 있는 질소(N; 예를 들면 Pal 을 참조한다), 산소(O; 예를 들면 O-메틸티로신을 참조한다) 또는 황(S; 예를 들면 Tyr-(SO₃H)를 참조한다)과 같은 헤테로 원자일 수 있다. 따라서, -SO₃H와 같이 N-, S- 또는 O-함유 부분을 본 명세서에서 정의한 바와 같이 "치환체"로 간주한다. 또한, 치환체는 아미노 보호기 또는 카르복시 보호기일 수 있다.

<35> 본 명세서에서 사용한 바와 같은 용어 "알킬"은 가장 넓은 의미로 사용되어 탄소수 약 1-13의 선형, 분지형 또는 환형 포화 또는 불포화 쇠를 의미한다. 따라서, 용어 "알킬"로는 예를 들면, 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, 2급-부틸, 1-메틸부틸, 2,2-디메틸부틸, 2-메틸펜틸, 2,2-디메틸프로필, n-펜틸 및 n-헥실기, 알킬렌기, 및 시클로헥실 및 시클로펜틸기와 같은 환형 탄소 원자쇄 뿐만 아니라, 메틸-시클로헥실 또는 시클로프로필-메틸렌기와 같이 선형 또는 분지쇄와 환형 탄소 원자 쇠와의 혼합물도 포함된다. 더욱이, 본 명세서에서 정의한 바와 같은 알킬이 치환체에 의해 치환될 수 있음을 인식해야 한다. 유사하게는, 용어 "아실"은 가장 넓은 의미로 사용되어, 탄소수 약 1-13의 선형, 분지형 또는 환형 포화 또는 불포화 쇠를 의미하며, 이것은 카르복실기를 포함한다. 따라서, 용어 "아실"로는 예를 들면, 포르밀, 아세틸, 벤조일 등과 같은 기가 포함된다.

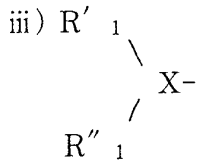
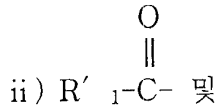
<36> 용어 "아릴"은 탄소 원자 약 5-13개를 포함하며 공액 파이(pi) 전자계를 갖는 "환"기 1개 이상을 포함하는 방향족기를 의미한다. 아릴의 예로는 예를 들면, 헤테로시클릭 아릴기, 비아릴기 및 이들의 동족체 및 유도체가 포함되며, 이것들은 모두 임의로 치환체 1개 이상에 의해 치환될 수 있다. 용어 "아릴알킬"은 아릴기에 의해 치환된 상기 정의한 바와 같은 알킬을 의미한다. 적합한 아릴알킬기로는 벤질, 피콜릴 등이 포함되며, 이것들은 모두 임의로 치환될 수 있다.

<37> 용어 "헤테로알킬", "헤테로아릴알킬" 및 "헤테로아릴"도 역시 본 명세서에서 사용하며, N,O 또는 S 원자와 같은 헤테로원자 1개 이상에 의해 치환된 알킬, 아릴알킬 및 아릴 각각을 의미한다. 더욱이, 용어 "헤테로시클릭"은 헤테로원자 1개 이상에 의해 치환된 시클릭 알킬 또는 아릴기와 관련하여 사용

다. 헤테로알킬, 헤테로아릴알킬, 헤테로아릴 및 헤테로시클릭의 다수 예는, 예를 들면 표 1 및 3에 기재되어 있거나, 또는 당업계에 기타로 공지되어 있다.

- <38> 본 발명의 펩티드를 각각 아미노 보호기 또는 카르복시 보호기를 사용하여 N-말단 또는 C-말단에서 개질시킬 수 있다. 이러한 다수의 개질을 본 명세서에 기재 하고 있다 (예를 들면, 표 3을 참조한다). 펩티드 또는 펩티드 동족체의 N-말단을 화학적으로 개질시켜서, N-말단 아미노기를 예를 들면, 아세틸, 시클로펜틸 카르복시, 이소퀴놀릴카르복시, 푸로일, 토실, 피라진카르복시, 또는 상기 기술한 바와 같이 치환체에 의해 치환될 수 있는 기타 기로 치환시킬 수 있게 된다. N-말단 아미노기도 역시 예를 들면, 가역 아미드 결합에 의해 치환시킬 수 있다. 용어 "아미노기"를 본 명세서에서 가장 넓은 의미로 사용되어, 펩티드 중에 존재하는 1급, 2급 또는 3급 아미노기를 포함하는 임의의 유리 아미노기를 의미해야 한다. 비교에서, 용어 "N-말단"은 통상적인 방법으로 기재된 펩티드 중에 존재하는 제1 아미노산의 α -아미노기를 의미한다.
- <39> 본 발명의 펩티드의 N-말단은 아미노 보호기를 연결시킴으로써 보호할 수 있다. 용어 "아미노 보호기"는 본 명세서에서 가장 넓은 의미로 사용되어, 예를 들면 본 발명의 펩티드의 N-말단에 존재하는 α -아미노기를 포함하는 유리 아미노기와 반응할 수 있는 것인 화학 기를 의미한다. 이것과 반응하는 성질에 의해, 아미노 보호기는, 예를 들면 합성 공정 동안에 또는 최종 화합물에 대한 엑소펩티다제 활성때문에 발생할 수 있는 바와 같은 바람직하지 않은 반응에 대하여 반응성 아미노기를 보호한다. 아미노기의 개질은 또한, 예를 들면 화합물의 용해성 또는 활성의 증진을 포함하는 추가 잇점을 제공할 수 있다. 여러 아미노 보호기는 본 명세서 (표 3을 참조한다)에 기재되어 있거나 또는 당업계에 공지되어 있고 예를 들면, 아실기, 예를 들어 아세틸, 피콜로일, 3급 부틸아세틸, 3급-부틸옥시카르보닐, 벤질옥시카르보닐, 벤조일기, 예를 들어 2-아릴-2-0-벤질옥심과 같은 벤질옥심 (실시에 XVI을 참조한다) 뿐만 아니라, 그 자체를 아미노 보호기에 의해 개질시킬 수 있는 아미노아실 잔기도 포함된다. 기타 아미노 보호기는 예를 들면, 각각이 본 명세서에서 참조로서 인용하는 문헌 [참조: The Peptides, eds. Gross 및 Meienhofer, Vol. 3(Academic Press, Inc., N.Y. 1981); 및 Greene 및 Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis 2d ed., pages 309-405 (John Wiley & Sons, New York (1991))]에 기술되어 있다. 본 발명의 펩티드 또는 펩티드 동족체의 N-말단 아미노기의 임의의 이러한 개질 생성물은 본 명세서에서 "N-말단 유도체"를 의미한다.
- <40> 유사하게, 펩티드의 C-말단에 존재하는 카르복시기와 같은 카르복시기를 카르복시 보호기를 사용하여 화학적으로 개질시킬 수 있다. 용어 "카르복시기" 및 "C-말단"은 상기 정의한 바와 같은 용어 "아미노기" 및 "N-말단"과 같은 방식으로 사용된다. 펩티드의 C-말단에 존재하는 것과 같은 카르복시기를 C-말단 카르복시기의 알콜 또는 알데히드로의 환원에 의해 또는 경구용 에스테르의 형성에 의해 또는 티아졸릴, 시클로헥실 또는 기타 기와 같은 치환체에 의한 카르복시기의 치환에 의해 개질시킬 수 있다. 경구용 에스테르는 당업계에 널리 공지되어 있으며, 예를들면, 메톡시메틸, 에톡시메틸, 이소-프로폭시메틸 등과 같은 알콕시메틸기; 메톡시메틸, 에톡시메틸, 프로폭시메틸, 이소프로폭시메틸 등과 같은 알파-(C₁₋₄)알콕시메틸; 5-메틸-2-옥소-1,3-디옥솔렌-4-일메틸, 5-페닐-2-옥소-1,3-디옥솔렌-4-일메틸 등과 같은 2-옥소-1,3-디옥솔렌-4-일메틸기; 메틸티오메틸, 에틸티오메틸, 이소프로필티오메틸 등과 같은 C₁₋₃ 알킬티오메틸기; 피발로일옥시메틸, 알파-아세톡시메틸등과 같은 아실옥시메틸기; 에톡시카르보닐-1-메틸기; 알파-아세톡시메틸과 같은 알파-아실톡시-알파-치환된 메틸기, 3-프탈리딜 또는 5,6-디메틸프탈리딜기, 1-(에톡시카르보닐옥시)에트-1-일기와 같은 1-(C₁₋₄ 알킬옥시카르보닐옥시)에트-1-일기; 및 1-(메틸아미노카르보닐옥시)에트-1-일기와 같은 1-(C₁₋₄ 알킬아미노카르보닐옥시)에트-1-일기를 포함한다.
- <41> 본 발명의 펩티드는 여기에 카르복시 보호기를 연결시킴으로써 개질시킬 수 있다. 카르복시 보호기는 당업계에 널리 공지되어 있고, 펩티드와 결합됨에 의해, 바람직하지 않은 반응에 대해 카르복시기를 보호한다 (예를 들면, 본 명세서에서 참조로서 인용하는 문헌 (참조: Greene 및 Wuts, 상기 문헌, pp. 224-276 (1991))을 참조한다). 당업자는 펩티드의 N-말단 아미노기 또는 C-말단 카르복시기에 영향을 줄 수 있는 상기 기술한 바와 같은 개질이 유사하게는, 예를 들면, 본 발명의 펩티드내의 아미노산 또는 아미노산 동족체의 축쇄 상에 존재하는 임의의 반응성 아미노기 또는 카르복시기에 영향을 줄 수 있음을 인식할 것이다. 이러한 개질의 수행 방법은 본 명세서에 기재되어 있거나 당업계에 공지되어 있다.
- <42> 본 발명은 인자 X_a의 활성을 특이적으로 억제하는 화합물을 제공한다. 본 발명의 화합물의 화학식은 X₁-Y₁R-X₂ 또는 이의 기능적 등가물이며, 여기에서 X₁은 H, 아실, 알킬, 아릴알킬 또는 1개 이상의 아미노산이고, X₂는 개질된 C-말단기, 1개 이상의 카르복시 보호기 또는 1개 이상의 아미노산 또는 아미노 보호기와 같은 기타 치환체이다. 본 발명의 화합물은 각종 임상 상태의 치료법을 위한 항응고제로서 유용하다. 본 발명의 화합물은 또한 혈액 시료의 응고를 예방하기 위한 각종 실험실 공전에서 유용하다.
- <43> 또한, 본 발명은 인자 X_a의 활성을 특이적으로 억제하는 화학식 A1-A2-(A3)_m-B의 화합물을 제공하고,
- <44> 상기 식에서,
- <45> m은 0 또는 1이고;
- <46> A1은 R₁-R₂-R₃이고,
- <47> A2는 R₄-R₅-R₆이고;
- <48> A3은 R₇-R₈-R₉이고; 여기에서

<49> R₁은 i) 1-20개의 아미노산,



<51> 로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기에서

<52> X는 N, CH 및 NC(O)로 이루어진 군으로부터 선택되고,

<53> R'₁ 및 R''₁은 각각 H, 알킬, 아실, 아릴, 아릴알킬 및 아미노 보호기로 이루어진 군으로부터 선택되고,

<54> R₁은 치환체에 의해 치환될 수 있고,

<55> R₂는 -CR₉₉R₁₀₀-이고, 여기에서 R₉₉ 및 R₁₀₀은 각각 H, 알킬, 아릴알킬, 헤테로 아릴알킬 및 헤테로 아릴로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기에서 R₉₉ 및 R₁₀₀은 각각 치환체에 의해 치환될 수 있고;

<56> R₃는 -C(O)-, -CH₂-, -CHR₉₉-C(O)- 및 -C(O)-NR₃₅-CH₂-C(O)-로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기에서 R₃₅는 가교기 -C(O)-CR₅₅-의 CHR₅₅기이고;

<57> R₄는 -CH₂- 및 -NR₅₉-으로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기에서 R₅₀은 H, 알킬, 아릴알킬 및 헤테로시클릭으로 이루어진 군으로부터 선택되고;

<58> R₅는 >CR₂₀₁R₂₀₂이고, 여기에서 R₂₀₁ 및 R₂₀₂는 각각 H, 알킬, 아릴 및 아릴알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고, R₂₀₁ 및 R₂₀₂는 각각 치환체에 의해 치환될 수 있고;

<59> R₆는 -C(O)-, -CH₂- 및 -CHR₉₉-C(O)-로 이루어진 군으로부터 선택되고;

<60> R₇는 -CH₂- 및 -NR₅₁- (여기에서, R₅₁은 H, 알킬, 아릴알킬, 헤테로알킬 및 헤테로아릴알킬이다), 및 Q 및 -(CH₂)_n-Q (여기에서, n은 1-5이고 Q는 치환체에 의해 치환될 수 있는 아미노, 아미디노, 이미다졸 및 구아니디노기로 이루어진 군으로부터 선택된다) 및 이들의 약제학적으로 허용가능한 염, 이소우레이드 또는 이소티오우레이드의 모노-, 디-, 트리- 또는 테트라-알킬암모늄으로 이루어진 군으로부터 선택된 치환체에 의해 치환된 이들 부분 중 임의의 것으로 이루어진 군으로부터 선택되고;

<61> R₈는 -CR₂₁₀R₂₁₁- (여기에서, R₂₁₀ 및 R₂₁₁은 각각 H, 알킬, 알킬아릴 및 헤테로시클릭으로 이루어진 군으로부터 선택된다) 및 Q 및 -(CH₂)_n-Q (여기에서, n은 1-5이고 Q는 치환체에 의해 치환될 수 있는 아미노, 아미디노, 이미다졸 및 구아니디노기로 이루어진 군으로부터 선택된다) 및 이들의 약제학적으로 허용가능한 염, 이소우레이드 또는 이소티오우레이드의 모노-, 디-, 트리- 또는 테트라-알킬암모늄으로 이루어진 군으로부터 선택된 치환체에 의해 치환된 이들 부분 중 임의의 것으로 이루어진 군으로부터 선택되고,

<62> R₉는 -C(O)-, -CH₂- 및 -CHR₉₉-C(O)-로 이루어진 군으로부터 선택되고;

<63> m이 1인 경우, B는 1-20개의 아미노산, -NHR₅₂, -NR₆₀R₆₁, -OR₇₀ 및 CHR₆₀R₆₁로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기에서 R₅₂는 H, 알킬, 아릴알킬, 헤테로아릴알킬 및 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택되고, R₆₀ 및 R₆₁은 각각 H, 알킬, 아릴알킬, 아릴, 헤테로아릴알킬 및 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택되고, R₇₀은 H, 아실, 알킬, 아릴알킬 및 헤테로아릴알킬로 이루어진 군으로부터 선택되며,

<64> m이 0인 경우, B는 아마이드 결합 또는 에스테르 결합에 의해 R₆과 결합된 1-20개의 아미노산, -OR₇₀, -NHR₅₂ 및 -NR₆₀R₆₁로 이루어진 군으로부터 선택되고;

<65> B는 치환체에 의해 치환될 수 있고;

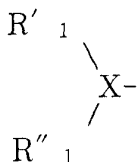
<66> 단, R₃이 -CH₂- 또는 -CHR₉₉-C(O)-인 경우, R₄는 NR₅₀이고;

<67> R₄가 -CH₂-인 경우, R₃는 -C(O)- 또는 -CHR₉₉-C(O)-이고;

<68> R₄가 -CH₂-인 경우, R₃는 -C(O)- 또는 -CHR₉₉-C(O)-이고;

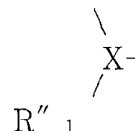
<69> R₆이 -CH₂-인 경우, R₇는 -NHR₅₁-이고;

<70> R₇이 CH₂인 경우, R₆은 -C(O)- 또는 -CHR₉₉-C(O)-이고,



<71> R₄가 -NR₅₀-이고 R₁이 인 경우, R₅₀ 및 R'₁은 함께 화학식 -C(O)-CHR₅₅-의 가교기를 형성하고, 여기에서 CHR₅₅는 R₅₀를 나타내고 카르보닐기는 R'₁을 나타내고, R''₁ 및 R₅₅는 각각 H, C₁₋₆ 알킬 또는 아릴알킬이고;

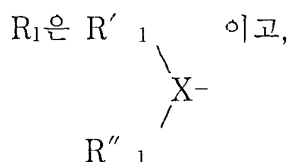
R₃이 -C(O)-NR₃₅-CH₂-C(O)-인 경우, R₄는 -NR₅₀-이고, R₁은 R'₁ 이고,



<73> R₃₅ 및 R'₁은 함께 화학식 -C(O)CHR₅₅-의 가교기를 형성하고, 여기에서 C(O)는 R'₁을 나타내고 CHR₅₅는 R₃₅를 나타내고, R''₁ 및 R₅₅는 각각 H 또는 C₁₋₆ 알킬이다 (예를 들면, 도 2를 참조한다).

<74> 본 발명의 화합물은 R₁, R₂, R₃ 및 경우에 따라 R₄에 의해 형성된 환형 N-말단을 포함할 수 있다. 이러한 화합물은 예를 들면, 상기 기술한 바와 같은 화학식 A1-A2-(A3)_m-B에 의해 정의되며, 여기에서

R₄는 -NR₅₀-이고,



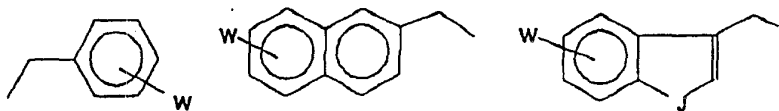
<76> R₅₀ 및 R'₁은 함께 화학식 -C(O)-CHR₅₅의 가교기를 형성하고, 여기에서 R₅₅는 H이고;

<77> R₁은 H 또는 메틸이고;

<78> R₉₉ 및 R₁₀₀은 각각 H, 아릴알킬, 알킬 및 헤테로알킬로 이루어진 군으로부터 선택되거나 C₁₋₃이고, 여기에서 R₉₉ 및 R₁₀₀은 페닐, 티에닐, 티아졸릴, 피리딜, 나프틸, 티오나프틸, 인돌릴 또는 포화 알킬, 알콕시, 모노알킬아미노, 디알킬아미노, 테트라알킬암모늄, 아릴알킬아미노, 아미노알킬아릴, 카르복시, 할로, 히드록시, 아미노, 아마이드, 아마이드노, 구아니디노, 트리아졸릴 및 술포닐로 이루어진 군으로부터 선택된 부분과 추가로 연결될 수 있고;

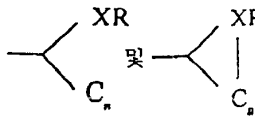
<79> R₃은 -C(O)- 및 -C(O)-NR₃₅-CH₂-C(O)-로 이루어진 군으로부터 선택된다.

<80> 더욱이, 화합물 A1-A2-(A3)_m-B에서, R'₁ 및 R''₁ 부분은 예를 들면 알킬을 포함하고, -OCH₂-, -SCH₂-, >N-CH₂-, >NC(O)-, -CO- 또는 -NY-CO-NZ와 같은 기에 의해 임의로 연결된 6개 이하의 치환체에 의해 치환될 수 있고, 여기에서 Y 및 Z는 H, 알킬, 아릴알킬 또는 헤테로아릴알킬일 수 있다. 더욱이, R₉₉ 및 R₁₀₀은 독립적으로 페닐, 티에닐, 티아졸릴, 피리딜, 나프틸, 티오나프틸 또는 인돌릴기와 같은 치환체, 또는 이와 상응하고 알킬 알콕시, 모노-, 디- 또는 트리-알킬아민, 테트라알킬암모늄, 아릴알킬아미노, 아미노알킬아릴, 카르복시, 할로겐, 히드록시, 아미노, 아마이드, 아마이드노, 구아니디노, 트리아졸릴 또는 술포닐로부터 선택된 5개 이하의 기에 의해 임의로 치환된 포화기에 의해 치환될 수 있다. R₂ 위치에 치환체가 있는 바람직한 화합물은 R₁₀₀이 H이고 R₉₉는 화학식



<82> 중의 하나인 경우이고, 여기에서 치환된 화합물 중의 W는 예를 들면, 할로겐, 히드록실, 아미노 또는 아마이드기일 수 있고, J는 예를 들면, 산소, 황 또는 -NR일 수 있고, 여기에서 R은 H 또는 알킬, 아릴 또는 아릴알킬이다.

<83> A2 부분 상에서 치환된 치환체를 함유하고 인자 Xa 억제 활성을 나타내는 본 발명의 화합물은 예를 들면, R₅₀, R₂₀₁ 또는 R₂₀₂가 N, O 또는 S와 같은 1개 이

상의 헤테로 원자에 의해 치환될 수 있다. R₂₀₂도 역시 로부터

<85> 선택된 치환체에 의해 치환될 수 있고, 여기에서 X는 C, N 또는 S이고; R은 부재하거나, 헤테로 원자에 의해 치환될 수 있는 H 또는 알킬이고, n은 1-5이다.

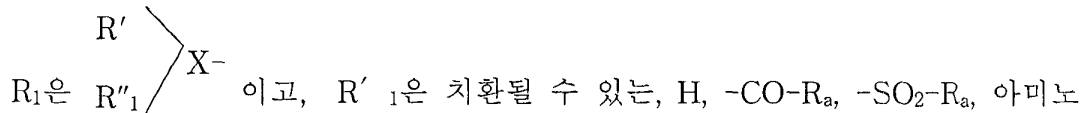
<86> A3 부분 상에서 치환된 치환체를 포함하고 인자 Xa 억제 활성을 나타내는 본 발명의 화합물은 예를 들면, N, O 또는 S와 같은 헤테로 원자에 의해 암의로 치환된, H, 알킬, 아릴알킬 또는 헤테로시클릭과 같은 1개 이상의 치환체에 의한 R₅₁의 치환을 포함할 수 있다. R₂₁₀ 및 R₂₁₁은 예를 들면, 약제학적으로 허용가능한 염, 이소우레이드 또는 이소티오우레이드의 치환체 -(CH₂)_n-Q일 수 있고, 여기에서 n은 약 1-5이고 Q는 아미노, 아미디노, 우레아, 이미다졸, 구아니디노, 모노-, 디-, 트리- 또는 테트라-알킬이미늄이다. 별법으로, R₂₁₀ 또는 R₂₁₁은 예를 들면, 알킬, 아릴 또는 알킬아릴일 수 있다. 이들 기는 히드록시 또는 C₁₋₄ 알콕시기와 같은 치환체에 의해 추가로 치환될 수 있다.

<87> 본 발명의 화합물은 B부분을 함유하는 치환체의 별법 배열을 함유할 수 있다. 치환체의 이러한 별법 배열은 예를 들면, N, O 또는 S에 의한 R₅₂의 치환 또는 1개 이상의 헤테로 원자 또는 알킬기에 의한 R₆₀, R₆₁ 또는 R₇₀의 치환을 포함할 수 있다.

<88> 본 명세서에 기재된 화학식은 트리펩티드인 YIR 등에 의해 부여된 인자 Xa 억제 활성을 보유하는, 본 발명의 각종 화합물을 나타낸다. 또한 본 명세서에 기재한 구조에서, 비천연 아미노산, 아미노산 유사물 및 기타 유기 구조물을 함유하는 화합물 및 유사한 기능을 나타내는 치환체를 나타낸다. 이러한 기능적 등가물은 효과적인 인자 Xz 억제 기능을 부여하는 목적하는 전하 및 힘의 적절한 공간적 군별(spatial grouping)을 제공한다.

<89> 본 발명의 화합물의 구체적 예로는 예를 들면, Ac-Tyr-Ile-Arg-Leu-Ala-NH₂; Ac-Tyr-Ile-Arg-Leu-Pro-NH₂; Ac-(iBu)Tyr-Ile-Arg-Leu-Pro-NH₂; Ac-Tyr-Ile-Arg-N(CH₃)O(CH₃); Ac-Tyr-{φ(CH₂NH)}-Ile-Arg-Leu-Pro-NH₂; Ac-Tyr-Ile-Arg-NH-CH₂(4-피리딜); Ac-Tyr-Ile-{φ(CH₂NH)}-Arg-Leu-Pro-NH₂; Ac-Tyr-Chg-Arg(NO₂)-{φ(CH₂NH)}-Leu-NH₂; Ac-Tyr-Ile-Arg-{φ(COCH₂)}-Gly-Pro-NH₂; Ac-Tyr-Ile-Dab(Nv-C₃H₇N)-Leu-Ala-NH₂; Ac-Tyr-Ile-PalMe(3)-NH₂; Tyr-Ile-Arg-NH₂; D-Tyr-Ile-Arg-Leu-Pro-NH₂, Ac-(Bzl)Gly-(Chx)Gly-(3-구아니도프로필)Gly-NH₂, 시클로(Gly-Tyr-Ile-Arg-Gly); Tfa-(iBu)Tyr-Chg-Arg-Leu-Pro-NH₂; Ac-pAph-Chg-Arg-Leu-Pro-NH₂; 및 Ac-Nal(2)-Chg-Arg-Leu-Pro-NH₂가 포함된다. 본 발명의 추가 YIR 펩티드의 예를 표 3 및 5에 나타냈다.

<90> 또한, 본 발명은



<92> 보호기 및 1-6개의 아미노산으로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기에서 상기 1-6개의 아미노산의 N-말단은 H, -CO-R₂, -SO₂-R_a 및 아미노 보호기로 이루어진 군으로부터 선택된 치환체에 의해 치환되고, 여기에서 R_a는 알킬, 아릴 및 헤테로알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고, R₁은 H, 아실 및 알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고, X는 N이고,

<93> R₂는 -CHR₉₉-이고, 여기에서 R₉₉는 1-6개의 플루오로, 클로로, 브로모, 요오도, 아미노, 니트로, 아미디노, 아미도, 카르복시, 에스테르, 에테르 및 히드록시기로 이루어진 군으로부터 선택된 치환체에 의해 치환될 수 있는, 알킬, 아릴, 아릴알킬, 헤테로알킬 및 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택되고;

<94> R₃는 -C(O)-이고;

<95> R₄는 -NH-이고;

<96> R₅는 -CHR₂₀₁-이고, 여기에서 R₂₀₁은 알킬이고;

<97> R₆는 -C(O)-이고;

<98> R₇는 -NH-이고;

<99> R₈는 -CHR₂₁₀-이고, 여기에서 R₂₁₀은 정식 양전하 1개 이상을 갖는 헤테로알킬이고, 여기에서 헤테로 원자는 1-6개의 질소 원자이고;

<100> R₉는 -C(O)-이고;

<101> B는 -OR_b 및 -NR_cR_d로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기에서 R_b는 H, 알킬 및 카르복시 보호기로 이루어진 군으로부터 선택되고, R_c는 H 및 알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고, R_d는 치환체에 의해 치환될 수 있는, 알킬, 헤테로알킬 및 1-20개의 아미노산으로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기에

서 이러한 화합물의 C-말단이 1차 아마이드기 또는 R₁의 아미노기와 함께 형성된 2급 또는 3급 아마이드기로서 카르복시 보호기, 1급 아마이드기 또는 시클릭 펩티드의 일부에 의해 개질될 수 있는 화학식 A1-A2-(A3)_m-B의 화합물을 제공한다. 이러한 화합물을 1개 이상의 아미노산 보호기를 포함할 수 있다.

<102> 본 발명의 화합물은 예를 들면, A1이 0 또는 1개의 아미노 보호기를 함유하고, Tyr, F(pNH₂), mAph, pAph 및 NaI(2)로 이루어진 군으로부터 선택되고; A2는 Ile 및 Chg로 이루어진 군으로부터 선택되고; A3은 Arg, PalMe(3), Dab(Nr-C₃H₇N), Dap(Nβ-C₃H₇N) 및 Orn(Nδ-C₃H₇N)으로 이루어진 군으로부터 선택되고; B는 -H, -OH, -NH₂, 1-5개의 아미노산 또는 이들의 기능적 등가물 및 카르복시 보호기로 이루어진 군으로부터 선택된다. 이러한 화합물의 예로는 Ac-pAph-Chg-PalMe(3)-NH-CH₂-Chx; Ac-pAph-Chg-PalMe(3)-NH-Chx; Bzf-pAph-Chg-PalMe(3)-NH₂; Ac-pAph-Chg-PalMe(3)-L-P-NH₂; Ac-pAph-Chg-PalMe(3)-NH₂; 시클로펜틸-CO-pAph-Chg-PalMe(3)-NH₂; 3-lqc-pAph-Chg-PalMe(3)-NH₂; 2-푸로일-pAph-Chg-PalMe(3)-NH₂; 5-Me-티에닐-CO-pAph-Chg-PalMe(3)-NH₂; 및 Ac-pAph-Chg-PalMe(3)-올이 포함된다 (또한 표 5를 참조한다).

<103> 본 발명은 추가로 화학식 A1-A2-B, 즉 A1-A2-(A3)_m-B의 화합물을 제공하고, 여기에서 m은 0이다. 이러한 화합물에서, B는 (4-(N-메틸피리디늄))메틸, 2-(3-(N-메틸피리디늄))에트-1-일; 1-(4-(N-메틸피리디늄))에트-1-일; (p-아미디노)벤질; 2-(4-(N-메틸피리디늄))프로프-2-일, 및 2-(4-(N-메틸피리디늄))에트-1-일과 같은 헤테로아릴알킬일 수 있다. Ac-pAph-Chg-AMP(4) 및 Ac-pAph-Chg-AEMP(4)는 이러한 화합물의 예이다.

<104> 본 발명의 화합물에서, L-또는 D-아미노산을 포함하는 선택은 부분적으로 펩티드의 목적하는 특징에 따라 변할 수 있다. 예를 들면, 1개 이상의 D-아미노산의 혼입은 시험관내 또는 생체내 화합물에 증진된 안정성을 부여할 수 있다. 1개 이상의 D-아미노산의 혼입은 또한 화합물의 약물학적 활성을 증진 또는 저하시킬 수 있다. 몇몇의 경우, 화합물로 하여금 단지 단시간 동안만 활성인 채로 있도록 하는 것이 바람직할 수 있다. 이러한 경우에서, 화합물 내에 1개 이상의 L-아미노산을 혼입함으로써 개체 내의 외인성 펩티다제나 생체내에서 화합물을 소화하도록 하여 활성 화합물에 대한 개체의 노출을 제한하도록 할 수 있다. 당업자는 예를 들면, 개체의 연령 및 일반적 건강을 고려하여 본 발명의 화합물에 필요한 바람직한 특징을 결정할 수 있다.

<105> 본 발명의 화합물은 예를 들면, 자동화 합성기를 사용하여 화학적으로 합성할 수 있다 (실시예 1을 참조한다). 아미노산 측쇄 상에 존재하는 기와 같은 반응기 또는 펩티드 내의 N-말단 또는 C-말단 반응기의 선택적 개질은 본 발명의 화합물에게 용해성 증진 또는 억제 기능 향상과 같은 바람직한 특징을 부여할 수 있다.

<106> 고체상 합성 방법을 이용하는 경우, 화합물의 화학 조성은 초기 단계의 펩티드가 수지에 부착되는 동안, 또는 펩티드를 수지로부터 절단하여 N-말단 아세틸화 화합물과 같은 N-말단 유도체를 수득한 후에 조작할 수 있다. 유사한 개질은 또한 예를 들어 아마이드화될 수 있는 C-말단 카르복시기를 포함하는, 화합물의 카르복시기에 대해 수행할 수 있다. 당업자는 또한 용액상 유기 화학을 이용하여 본 발명의 YIR 펩티드를 합성할 수 있다. 합성된 화합물은 역상 고성능 액체 크로마토그래피(RP-HPLC; 실시예 1을 참조한다)와 같은 널리 공지된 방법 또는 예를 들면, 화합물의 크기, 전하 또는 소수성을 기준으로 한 기타의 분리 방법을 이용하여 정제할 수 있다. 유사하게는, 아미노산 서열 분석 또는 질량 분광술(MS)과 같은 널리 공지된 방법을 이용하여 본 발명의 화합물의 구조를 특징화시킬 수 있다 (실시예 1을 참조한다).

<107> 본 발명의 YIR 펩티드는 선형 또는 환형일 수 있다 (예를 들면, 이하의 표 3을 참조한다). 고리화는 YIR 모티프의 내부 또는 외부에 존재할 수 있는 2개의 비인접 잔기, 부분 또는 치환체들 사이에 가교를 형성시킴으로써 수행할 수 있다. 고리화는 또한 예를 들면, YIR 모티프 내의 잔기들 중 하나와 YIR 서열 외부의 비인접 잔기, 부분 또는 치환체 사이에 가교를 형성시킴으로써 수행할 수도 있다. 예를 들면, 펩티드 또는 펩티드 유사물은 S-S, -CH₂-S-, -CH₂-O-CH₂-, 락탐 또는 에스테르 결합을 통해 또는 이미 보고된 바 (각각이 본 명세서에서 참조로서 인용되는 문헌 (참조: Hruby, Life Sci, 31:189-199 (1982); Toniolo, Int. J. Pept. Prot. Res. 35:287-300 (1990); Kates 등, Tetr. Lett. 34:1549-1552 (1993))을 참조한다)와 같이 고리화시킬 수 있다.

<108> 본 명세서에서 사용한 바와 같은 어구 "YIR 모티프의 외부"는 본 발명의 YIR 펩티드 내에 존재하는 YIR 서열 또는 그의 등가물의 티로신, 이소류이신 또는 아르기닌 잔기를 배제함을 의미한다. 반대로, 어구 "YIR 모티프의 내부"는 YIR 서열 또는 그의 등가물의 티로신, 이소류이신 및 아르기닌 잔기 1개 이상을 포함함을 의미한다. 환형 화합물에 대한 언급에서 사용되는 용어 "가교"는 본 발명의 YIR 펩티드에 존재하는 2개의 비인접 아미노산들 사이에 형성된 결합을 의미한다.

<109> 고리화는 예를 들면, X₁과 X₂ 사이에 이황 결합 또는 락탐 결합을 형성시킴으로써 달성할 수 있다. 이황 결합을 형성할 수 있는 잔기의 예로는, Cys, Pen, Mpr 및 Mpp 및 이의 2-아미노기 함유 등가물이 포함된다. 락탐 가교를 형성할 수 있는 잔기로는 예를 들면, Asp, Glu, Lys, Orn, 알파, 베타-디아미노프로피온산, 알파-아미노-아디프산, 알파, 감마-디아미노부티르산, 디아미노아세트산, 아미노벤조산 및 매크캅토벤조산이 포함된다. 본 명세서에 기재한 화합물은 예를 들면, 1개의 비인접 잔기의 측쇄 기를 이용하여 X₁ 또는 Y의 N-말단 아미노기와 공유 결합을 형성할 수 있는 락탐 결합을 통해 고리화시킬 수 있다. 별법의 가교 구조물도 역시 S-S, -CH₂-S-, -CH₂-O-CH₂-, 락탐, 에스테르 또는 기타의 결합을 고리화시킬 수 있는, 예를 들면 펩티드 및 펩티드 유사물을 포함하는 본 발명의 화합물을 고리화시킬 수 있다 (문헌 (Hruby, 상기 문헌, 1982; Toniolo, 상기 문헌, 1990; Kates 등, 상기 문헌, 1993)을 참조한다).

<110> 본 발명의 조성물은 균일 조성물로서 또는 치환체들의 각종 조합을 포함하는 화합물들의 혼합물로서 제공될 수 있다. 치환체의 선택에 따라, 펩티드 화합물 동족체의 물리 화학적 특성이 상당한 정도로 조절된다. 치환체의 선택도 역시 화합물의 결합 친화성에 영향을 준다 (실시예를 참조한다).

<111> 치환체의 상이한 배열을 포함하는 각종 화합물은 인자 X_a에 대해 상이한 수준의 억제 활성을 나

타낸다. 이들 화합물은 실시예에 기술된 공정에 따라 합성하였다. 억제 활성에 대한 펩티드 시험을 실시예 XXXVII 및 XXXVIII에 기술된 분석법을 이용하여 수행하였다. 이러한 방법을 이용하여, 당업자는 그의 개질을 포함하여, 본 명세서에 기재한 바와 같은 화합물을 합성할 수 있고, 화합물의 인자 Xa 억제 활성을 측정할 수 있다.

<112> 본 발명은 인자 Xa의 활성을 특이적으로 억제하는 화합물을 제공한다. 이러한 화합물은 인자 Xa의 활성에 대해 $K_i \leq 100 \mu\text{M}$, 바람직하게는 $\leq 2 \text{ nM}$ 을 가지며 인자 Xa의 억제에 대한 응혈 및 섬유소 용해에 수반된 기타 프로테아제의 활성을 실질적으로 억제하지 않는다. 이러한 기타 프로테아제로는 예를 들면, 트롬빈 및 플라스민이 포함된다. 본 발명의 화합물들의 특이성을 이하 실시예 XXXVII에서 증명했다(또한 상기 표 2를 참조한다).

<113> 본 발명의 화합물을 유리하게는 항응고제로서 사용할 수 있고, 이것을 혈액시료와 접촉시켜 응혈을 예방할 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 화합물의 유효량을 신선하게 취한 혈액 시료와 접촉시켜 혈액 시료의 유형을 예방할 수 있다. 본 명세서에서 사용한 바와 같은 용어 "유효량"을 본 발명이 화합물을 언급할 때 사용되는 경우, 이것은 인자 Xa의 활성을 억제하는 화합물의 양을 의미한다. 당업자는 본 발명의 화합물의 유효량을 본 명세서에 기재한 방법(실시예 XXXVII 및 XXXVIII를 참조한다) 또는 당업계에 공지된 방법을 이용하여 결정할 수 있음을 알 것이다. 본 발명의 화합물의 기재된 유용성의 관점에서, 당업자는 또한 헤파린과 같은 작용제를 본 발명의 화합물과 대체할 수 있음을 알 것이다. 이와 같이 본 발명의 화합물을 사용함으로써 예를 들면, 기타 항응고제와 비교하여 비용이 절약될 수 있다.

<114> 더욱이, 본 발명의 화합물을 예를 들면, 심혈관 장애 또는 예를 들면, 감염 또는 수술과 관련된 합병증의 치료를 포함하는 각종 임상적 상태의 치료를 위해 개체에 투여할 수 있다. 심혈관 장애의 예로는 혈관 형성술에 수반되는 재발협착증, 성인 호흡 곤란 증후군, 복합 기관 부전, 졸중 및 전염된 정맥내 응혈 장애가 포함된다. 수술과 관련된 연관 합병증의 예로는 예를 들면, 수술 후에 발생할 수 있는 심재정맥 및 근위 정맥 혈전증이 포함된다. 따라서, 본 발명의 화합물은 개체에서 원치 않는 응혈을 저하 또는 억제시키기 위한 의약으로서 유용하다.

<115> 본 발명의 Y1R 펩티드가 인자 Xa의 활성을 억제할 수 있기 때문에, 이러한 화합물은 개체에서 혈병을 저하시키거나 억제하는데 유용할 수 있다. 본 명세서에서 사용한 바와 같은 용어 "개체"는 인체와 같은 포유류를 포함하는 척추 동물을 의미하며, 여기에서 인자 Xa는 응혈 캐스캐이드에 포함된다.

<116> 개체 내의 혈병은 본 발명의 Y1R 펩티드를 치료 유효량으로 개체에게 투여함으로써 저하 또는 억제시킬 수 있다. 본 명세서에서 사용한 바와 같은 용어 "치료 유효량"은 개체에서 인자 Xa의 활성을 억제하기 위해 개체에게 투여해야 하는 Y1R 펩티드의 투여량을 의미한다. 더욱 구체적으로, 본 발명의 화합물의 치료 유효량은 인자 Xa 촉매 활성을 프로트롬비나제 복합체 내에서 또는 가용성 서브유닛으로서 직접 억제하거나 인자 Xa가 프로트롬비나제 복합체로 조립되는 것을 억제함으로써 간접적으로 억제한다. 특히, 이러한 화합물은 $K_i \leq 100 \mu\text{M}$, 바람직하게는 $K_i \leq 2 \mu\text{M}$ 인 인자 Xa의 활성을 억제할 수 있다. 치료 유효량은 예를 들면, 실시예 XXXVII 및 XXXVIII에 기술한 방법 또는 당업계에 공지된 방법을 이용하여 결정할 수 있다.

<117> 본 발명의 치료 방법의 실시에서, 개체에게 투여할 제약 조성물의 치료 유효량을 달성하기 위한 특정 투여량은 질병의 성질 또는 심각성, 투여 계획, 및 개체의 연령 및 신체 특징을 포함하는 각종 사정에 따라 변화시킬 것이다. 적절한 투여량은 당해 의료 분야에 널리 공지된 임상적 접근을 이용하여 설정할 수 있다. 따라서, 본 발명은 인자 Xa를 서열이 $X_1\text{-Y1R-X}_2$ 또는 $A1\text{-A2-(A3)}_m\text{-B}$ 인 화합물 또는 이의 기능적 등가물과 접촉시킴으로써 인자 Xa의 활성을 특이적으로 억제하는 방법을 제공하고, 여기에서 m은 0 또는 1이다. 본 발명은 추가로 본 발명의 화합물의 치료 유효량을 투여함으로써 개체에서의 혈병 형성을 저하 또는 억제시키는 방법을 제공한다.

<118> 일반적으로, 본 발명의 화합물은 상기 화합물 및 억제학적으로 허용가능한 담체를 함유하는 조성물로서 개체에게 투여될 것이다. 용어 "억제학적으로 허용가능한 담체"는 개체에게 무독성이거나 적절한 조정법으로 측정된 바와 같은 허용가능한 독성을 갖는 매질 또는 조성물을 의미한다. 본 명세서에서 사용한 바와 같은 용어 억제학적으로 허용가능한 담체는 인산염 완충된 염수, 물, 유/수 또는 수/유 에멀전과 같은 에멀전 등의 표준 억제학적 담체 중 임의의 것, 또는 각종 형태의 습윤제중 임의의 것을 포함한다. 적합한 억제학적 담체 및 이들의 제제는 (본 명세서에서 참조로서 인용하고 있는) 문헌(참조: Martin, Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th Ed. (Mack Publishing Co., Easton 1975))에 기술되어 있다. 이러한 조성물은 통상, 본 발명의 화합물의 치료 유효량을 담체 적량량과 함께 함유하여 개체에 투여하기에 적합한 투여량을 함유할 것이다. 따라서, 청구한 화합물은 개체에서 인자 Xa의 활성 및 혈병을 억제하기 위한 의약으로서 유용할 수 있다.

<119> 억제학적 허용가능한 담체는 또한 예를 들면, 기타 매질, 화합물, 또는 그의 약물학적 기능을 증진시키는 인자 Xa 억제제 화합물에 대한 개질을 포함할 수 있다. 억제학적 허용가능한 매질은 예를 들면, 염산, 브롬화수소산, 인산, 황산 또는 과염소산과 같은 무기 산에 의해, 또는 아세트산, 옥살산, 말레산, 말산, 타르타르산, 시트르산, 숙신산 또는 말론산과 같은 유기 산에 의해 형성된 염과 같은 산 부가염을 포함할 수 있다. 기타의 억제학적으로 허용가능한 염은 예를 들면, 나트륨, 리튬, 칼륨, 칼슘 또는 마그네슘과 같은 알칼리 및 알칼리 토금속 기재의 양이온 뿐만 아니라, 암모늄, 메틸암모늄, 디메틸암모늄, 트리메틸암모늄, 테트라메틸암모늄, 에틸암모늄, 트리에틸암모늄 및 테트라에틸암모늄과 같은 무독성 암모늄, 4급 암모늄 및 아민 양이온도 포함하지만 이들로만 제한되는 것은 아닌 무기 질산염, 황산염, 아세트산염, 말산염, 포름산염, 락트산염, 타르타르산염, 숙신산염, 시트르산염, p-톨루엔술포산염 등을 포함한다.

<120> 화합물의 약물학적 기능을 증진시키는 개질의 예는 C_{1-6} 알킬 에스테르, 바람직하게는 C_{1-4} 알킬 에스테르의 형성과 같은 에스테르화를 포함하며, 여기에서 알킬기는 직쇄 또는 분지쇄이다. 기타의 허용가능한 에스테르는 예를 들면, 벤질 에스테르와 같은 C_{5-7} 시클로알킬 에스테르 및 아릴알킬 에스테르를 포함한다. 이러한 에스테르는 펩티드 화학 분야에 널리 공지된 종래 방법을 이용하여 본 명세서에 기술한

화합물로부터 제조할 수 있다.

<121> 약제학적 허용가능한 개질은 또한 예를 들면, 펩티드 아미드의 형성을 포함할 수 있다. 본 발명의 화합물에 대해 영향을 줄 수 있는 이러한 아미드 개질은 예를 들면, 암모니아, 알킬기가 직쇄 또는 분지쇄인 경우의 1급 C₁₋₆ 디알킬 아민, 또는 각종 치환체를 갖는 아릴아민으로부터 유도된 것들을 포함한다. 2급 아민의 경우, 상기 아민은 또한 예를 들면, 질소 원자를 포함하는 5원 또는 6원 헤테로시클의 형태로 존재할 수 있다. 이러한 아민의 제조 방법은 당업계에 널리 공지되어 있다.

<122> 본 발명의 또다른 양태에서, YIR 펩티드는 인자 Xa의 존재를 확인하거나 인자 Xa를 실질적으로 정제된 형태로 분리하기 위한 분석법에 사용할 수 있다. 바람직하게는 본 발명의 화합물을 예를 들면, 방사성 동위 원소를 사용하여 표지하고, 표지된 화합물을 특정 표지 검출에 유용한 통상의 방법을 이용하여 검출한다. 더욱이, YIR 펩티드는 생체내, 시험관내 또는 생체외에서 인자 Xa 활성의 위치 또는 양을 검출하기 위한 탐침으로 유리하게 사용할 수 있다.

<123> 본 발명의 각종 양태의 활성에 실질적으로 영향을 주지 않는 개질이 본 명세서에 기재된 본 발명 내에 포함된다는 것을 이해해야 한다. 따라서, 하기 실시예는 본 발명을 제한하는 것이 아니라 설명하려는 의도이다.

도면의 간단한 설명

<124> 도 1은 혈액 응고 캐스케이드의 개략도이다.

<125> 도 2는 본 발명의 화합물을 위한 화학식을 예시한다.

<126> 도 3은 본 발명의 화합물 일부의 제조를 위한 합성 개략도이다

실시예

<127> 실시예 1

<128> 펩티드 합성 공정

<129> 합성에 사용한 출발물질은 알드리히 (Aldrich), 시그마 (Sigma), 플루카 (Fluka), 노바 비오켄 (Nova Biochem) 및 어드밴스 켈텍 (Advance Chemtech)과 같은 화학 약품 판매상으로부터 구입하였다. 이들 화합물의 합성 동안에 상기 방법에 사용한 아미노산 유도체의 관능기는 커플링 단계 동안의 부 반응을 방지하기 위해 기를 차단함으로써 보호하였다. 적합한 보호기 및 이들의 용도의 예는 본 명세서에서 참조 조서 인용하는 문헌 (참조: The Peptides, 상기 문헌, 1981, 및 Vol. 9, Udenfriend 및 Meienhofer ed. 1987)에 기술되어 있다.

<130> 통상의 고체상 펩티드 합성법을 이용하여 본 발명의 화합물을 제조했다. 이러한 방법은 예를 들면, (본 명세서에서 참조 조서 인용하는) 문헌 (참조: Steward 및 Young, Solid Phase Peptide Synthesis, Freeman and Co., San Francisco, 1969)에 기술되어 있다.

<131> 별다른 언급이 없는 한, 펩티드는 1% 디비닐벤젠에 의해 가교 결합된 폴리스티렌 수지 상에서 합성하였다. 산 민감성 링커 (Rink Linker)를 고형 지지체와 커플링시켰다(각각이 본 명세서에서 참조 조서 인용하는 문헌 (참조: Rink, Tetr. Lett. 28: 3787(1987); 및 Sieber, Tetr. Lett 28:2107 (1987)). 커플링은 N,N'-디이소프로필카르보디이미드 (DIC)를 동량의 HOBt의 존재 하에 사용하여 수행하였다. 모는 커플링은 실온 (RT)에서 40분 동안 N,N-디메틸포름아미드 (DMF) 또는 DMF:디클로로메탄 (1:1 혼합물) 중 하나에서 수행하였다. 커플링의 완결은 닐히드린 시험에 의해 모니터링 (monitoring)하였다.

<132> Fmoc기의 탈보호는 DMF 중의 50% 피페리딘을 10분 동안 사용하여 수행하였다. Fmoc의 방출량은 탈보호 후의 용액의 300 nm에서의 흡광도, 세척액의 부피, 및 합성에 사용한 수지의 중량으로부터 결정하였다. 2차 (이중) 커플링은 제1경우에서 커플링이 완결되지 않은 경우에 수행하였다. 커플링 및 방법 각각의 주기는 하기와 같다:

단계	작용	시약 및 용매
1	1 g 펩티드 수지	10 ml DMF
2	2.4 배 과량 아미노산 유도체	
3	2.4 당량	DIC
4	2.4 당량	HOBt
5	40분 동안 커플링	
6	세척 (3 x 8 ml)	DMF
7	넉히드린 시험	
8	탈보호 (10 분) 피페리딘/DMF	8 ml 50 %
9	세척 (6 x 8 ml)	DMF
10	세척 (2 x 8 ml)	디클로로메탄 (DCM)
11	넉히드린 시험	
12	단계 2에서 출발하는 반복	

<134> 수지 상에서 펩티드 조립이 완결된 후에 최종 Fmoc 탈보호를 수행한 다음, 정상적으로 세척하고 탈보호에 의한 Fmoc기 방출량을 결정하였다. 몇몇 경우에서, $N\sigma$ 비보호된 펩티드를 DCM 중 20배 과량의 아세트산 무수물/피리딘 (1:1)을 사용하여 펩티드 수지를 15분 동안 진탕시킴으로써 아세틸화시켰다. 펩티드 수지를 연속적으로 DCM, DMF 및 DCM을 사용하여 세척한 다음, 진공 하에서 건조시켰다.

<135> 펩티드 수지를 시약 K (본 명세서에서 참조로서 인용하는 문헌 (참조: King 등, Int. J. Pept. Prot. Res. 36:266(1990)) 콕테일 (cocktail) (5 ml/g 펩티드 수지) 중에서 실온에서 180분 동안 현탁시킨 다음, 절단 혼합물을 무수 디에틸 에테르중에서 여과시켰고 고형 침전물을 원심 분리에 의해 단리하였고 진공 중에서 고형 KOH 펠릿 상에서 건조시켰다. 건조된 펩티드를 물 중 0.1 % TFA 및 아세트오트릴 (ACN)의 적절한 구배를 이용하여 HPLC 정제시켰다. 의도한 합성 생성물을 함유하는 피크 (peak)를 수집한 후, 펩티드 용액을 동결 건조시켰고 펩티드의 확인 과정을 수행하였고, 이것은 전기 분무 MS 및 아미노산 분석을 포함하여 정확한 화합물이 합성되었음을 확인하였다.

<136> 펩티드 정제를 위해, 조 동결 건조된 펩티드 시료를 10-50 % ACN을 함유하는 0.1 % 수성 TFA 혼합물 중에서 용해시켰다. 일반적으로, 펩티드 용액을 0.45 μ m 나일론 "ACRODISC" 13 (Gelman Sciences; Ann Arbor MI) 여과기와 연결된 주사기를 통해 여과시켰다. 여과된 펩티드 용액 적절량을 반-에비 C18 칼럼 (Vydac Protein and Peptide C18, 218TP1010; The Separation Group; 및 Hesperia CA)으로 주입시켰다. 용출제로서 0.1 % TFA 완충액 및 ACN의 구배 또는 등용매(isocratic) 혼합물 (HPLC 등급)의 유속을 베크만 (Beckman) "SYSTEM GOLD" HPLC를 사용하여 유지시켰다. 펩티드의 용출을 230 nm에서의 자외선 감출법을 통해 모니터링하였다 (Beckman, System Gold, Programmable Solvent Module 126 및 "SYSTEM GOLD" 소프트웨어에 의해 조절된 Programmable Detector Module 166). 합성된 화합물에 상응하는 피크를 MS를 이용하여 확인한 후, 화합물을 수집하여 동결 건조하고 생물학적으로 시험하였다. MS를 SCIEX API III+ 기구를 사용하여 수행하였다. 더욱이, NMR을 제너럴 일렉트릭 (General Electric) 기구 (300 MHz)를 사용하여 수행하였다. NMR을 위해, 시료를 전형적으로 헥사데우테로디메틸설폭시드 또는 데우테로클로로포름 ($CDCl_3$; Aldrich) 중에서 측정하였다.

<137> 아미노산 알데히드를 당업계에 널리 공지된 방법을 이용하여 제조하였다. 아미노산 및 펩티드 알데히드는 예를 들면, 각각 본 명세서에서 참조로서 인용하는 문헌 (참조: Fehrentz 및 Castro, Synthesis 676 (1983); Bajusz 등, J. Med. Chem. 33:1729 (1990); Kawamura 등, Chem. Pharm. Bull. 17:1902 (1969), 및 Someno 등, Chem. Pharm. Bull., 34:1748 (1986))에 보고되어 있다. 환원된 펩티드 결합의 합성은 용액 중의 디펩티드 (예를 들면, Tyr- $\{\psi(CH_2NH)\}$ -Ile)의 수준에서 수행한 다음, 적절히 보호된 디펩티드를 고체상 펩티드 합성을 이용하여 수지 상에서 나머지 펩티드와 커플링시켰다. 별법으로, 보호된 아미노산 알데히드를 문헌 (참조: Ho 등, Rept. Res. 6:10 6:10-12 (1993), 및 여기에서 인용되고 각각이 본 명세서에서 참조로서 인용하는 문헌)에 기술된 방법을 이용하여 수지 상에서 상기 펩티드와 커플링시켰다.

<138> 실시에 II

- <139> Ac-Tyr-Ile-Arg-Leu-Alg-NH₂의 합성
- <140> Ac-Tyr-Ile-Arg-Leu-Ala-NH₂의 합성을 위해, 링크 수지 (0.6 mmol NH₂/g 수지) 1 g을 상기 기술한 바와 같은 공정으로 사용하였다. 수득한 펩티드를 MS에 의해 분석하였다. (M+M)+ 실측치 659.4, 계산치 659.9.
- <141> 실시예 III
- <142> Ac-Tyr-Ile-Arg-Leu-Pro-NH₂의 합성
- <143> Ac-Tyr-Ile-Ile-Leu-Pro-NH₂의 합성을 위해, 링크 수지 (0.6 mmol NH₂/g 수지) 1 g을 실시예 I에 기술한 바와 같은 공정으로 사용하였다. 수득한 펩티드는 (M+H)+ 실측치가 685.4이고, 계산치는 685.9이었다.
- <144> 실시예 IV
- <145> Ac-(iBu)Tyr-Ile-Arg-Leu-Pro-NH₂의 합성
- <146> 링크 수지 (0.6 mmol NH₂/g 수지) 1 g을 사용하였다. 상기 기술한 통상의 고체상 합성을 이용하였다. Tyr의 탈보호 및 펩티드 수지의 적합한 세척 후에, 2 % 빙초산을 함유하는 DMF 중의 50 당량 이소부티르알데히드를 가하였다. 수득한 혼합물을 실온에서 4시간 동안 진탕시켰다. 펩티드 수지를 2 % 빙초산을 함유하는 DMF (2 x 8 ml)를 사용하여 세척한 후, 2 % 아세트산을 함유하는 DMF 10 ml 중의 NaBH₃CN 1g을 가하였다. 펩티드 수지를 30분 동안 진탕시킨 다음, 펩티드 수지를 여과시켰고 DMF/아세트산 중의 신선한 NaBH₃CN 혼합물을 가하였고 반응을 30분 동안 더 계속하였다.
- <147> 이어서, 펩티드 수지를 DMF/2 % 아세트산 (2 x 8 ml) 및 DMF (2 x 8 ml)를 사용하여 세척하였다. 수득한 모노알킬화된 펩티드 수지를 DMF 중의 아세트산 무수물 트리에틸아민 혼합물 (30 당량, 6시간)을 사용하여 아세틸화시켰다. 펩티드수지의 적합한 세척 후에, 펩티드를 절단하고 실시예 I에 기술한 바와 같이 탈보호시켰다. HPLC 정제한 펩티드를 MS에 의해 분석하였다. (M+M)+ 실측치 758.4, 계산치 758.5.
- <148> 실시예 V
- <149> Tfa-(iBu)Tyr-Ile-Arg-Leu-Pro-NH₂의 합성
- <150> 실시예 IV에 기술한 바와 동일한 프로토콜을 사용하여 (iBu)Tyr-Ile-Arg-Leu-Pro-링크 수지를 제조하였다. 펩티드 수지를 디이소프로필에틸아민 (DIEA) 및 N-메틸 이미다졸 (NMI)의 존재 하에 0.7M 트리플루오로아세트산 무수물 (3:0.3:1 당량)을 사용하여 45분 동안 처리함으로써 최종 트리플루오로아세틸화를 수행하였다. 펩티드의 수지로부터의 절단 및 펩티드의 단리를 실시예 IV에 기술한 바와 같이 수행하였다. 정제된 펩티드를 MS에 의해 확인하였다 (M+M)+ 실측치 812.4, 계산치 812.5.
- <151> 실시예 VI
- <152> Ac-Tyr-Ile-Arg-N(CH₃)O(CH₃)의 합성
- <153> Boc-Arg(NG-Tos)-N(CH₃)O(CH₃)의 합성을 문헌 공정 (참조: Fehrentz 및 Castro, 상기 문헌, 1983)에 따라 수행하였다. Boc-Arg(Nr-Tos)-N(CH₃)O(CH₃) (200 mg)를 실온에서 트리플루오로아세트산 (TFA) 5 ml와 혼합하였고 20분 동안 교반하였다. 출발 물질의 사라짐을 CHCl₃:MeOH:CH₃COOH (90:9:1)를 사용하는 박층 크로마토그래피 (TLC)에 의해 모니터링하였고 ninhydrin 분무 및 자외선 조명에 의해 가시화시켰다. 진공 하의 잔류 TFA의 증발 및 진공 중의 KOH 펠릿 상에서의 건조에 의해 적합한 매스를 갖는 고형 물질을 수득하였다. (M+H)+ 실측치 371.2, 계산치 371.4.
- <154> 제1 플라스크에서, 상기 제조한 물질 150 mg을 DMF 1 ml 중에서 용해시킨 다음, 트리에틸아민 57 μ l를 가하였고 혼합물을 0 $^{\circ}$ C까지 냉각시켰다. 제2 플라스크에서, Z-Tyr-Ile-OH (Biochem Bioscience Inc.; 미국 PA 필라델피아 소재) 171 mg을 무수 테트라히드로푸란 (THF) 중에서 용해시켰고 -10 $^{\circ}$ C까지 냉각시킨 다음, NNM 44 μ l 및 이소부틸클로로포르메이트 52 μ l를 N₂ 하에서 가하였고 혼합물을 15분 동안 교반시켰다. 미리 제조한 DMF 중의 Arg(Tos)N(CH₃)OCH₃ 용액을 Z-Tyr-Ile-OH 디펩티드의 혼합된 무수물에 가하였고 혼합물을 -10 $^{\circ}$ C에서 30분 동안 및 이어서 실온에서 밤새 교반시켰다.
- <155> 실시예 I에 기술한 바와 같은 반응 혼합물의 후처리 후에, 펩티드를 진공 하에서 건조시켰고 일부를 HPLC에 의해 정제하여 MS에 의해 분석하였고; 펩티드는 기대한 분자량 (781)을 가졌다. 수득한 펩티드 Z-Tyr-Ile-Arg(Tos)-N(CH₃)OCH₃를 아니솔 500 μ l를 사용하여 혼합하였고 통상의 공정에 의해 HF 탈보호시켰다. 후처리 후에, 생성물 Tyr-Ile-Arg-N(CH₃)O(CH₃) 169 mg을 단리시켰고 MS에 의해 확인하였다 (실측치 493.6, 계산치 494). 이어서, 잔류 펩티드를 1N HCl 1 ml 중에서 용해시켰고 동결 건조시켰다.
- <156> Tyr-Ile-Arg-N(CH₃)OCH₃ · 2HCl (76 mg)를 ACN 중에서 용해시켰고 0 $^{\circ}$ C까지 냉각시켰고 피리딘 13 μ l를 가한 다음 아세트산 무수물 15 μ l를 가하였다. 혼합물을 0 $^{\circ}$ C에서 3시간 동안 교반시켰고 반응의 완결은 ninhydrin 시험에 의해 모니터링하였다. 실온에서 8시간 동안 교반한 후, 반응 혼합물을 후처리하였고 생성물 Ac-Tyr-Ile-Arg-N(CH₃)OCH₃를 MS에 의해 특성화했다 (실측치 535.6, 계산치 535.3).
- <157> 실시예 VII
- <158> Ac-Tyr-{ ψ (CH₂NH)}-Ile-Arg-Leu-Pro-NH₂의 합성
- <159> a. Fmoc-Tyr(But)-H의 합성

<160> Fmoc-Tyr(But)-OH 4.6 g (10.0 mmol), 디스클로헥실카르보디이미드 (DCC) 2.1 g (10.1 mmol), 벤질메르캅탄 1.26 g (10.1 mmol) 및 DMAP 0.12 g을 (본 명세서에서 참조로서 인용하는 문헌 (참조: Ho 및 Ngu, J. Org. Chem. 58:2315 (1993))에 기술된 바와 같이 DCM 중에서 반응시켰다. 후처리 후에, Fmoc-Tyr(But)-S-CH₂C₆H₅를 단리시켰고, 탄소 상 10 % Pd의 존재 하에서 트리에틸실란을 사용하여 교반함으로써 티오에스테르를 환원시키고 섬광 크로마토그래피에 의해 정제하면서 Fmoc-Tyr-(But)-H를 81% 수율로 수득하였다. 생성물의 NMR 및 매스는 기대 범위 내에 존재하였다.

<161> b. Fmoc-Tyr(But)-{ψ(CH₂NH)-Ile}-(0-알릴)의 합성

<162> DMF 중의 1 % AcOH 20 ml 중의 Fmoc-Tyr(But)-OH 0.73 g (1.66 mmol), 및 NaBH₃CN 0.209 g (3.32 mmol)을 DMF 2 ml 중의 TFA, Ile-(0-알릴) 0.516 g(1.82 mmol) 용액에 가하였다. 2시간 후에, 반응 혼합물을 후처리하였고 섬광 크로마토그래피 (에틸 아세테이트:헥산, 35:65)에 의해 정제시켜 적합한 NMR 및 MS를 갖는 오일 생성물을 수득하였다. (M⁺H) 실측치 599, 계산치 598.7

<163> c. Fmoc-Tyr(But)-{ψ(CH₂NH)}-Ile-OH의 합성

<164> DCM 10 ml 중의 Fmoc-Tyr(But)-{ψ(CH₂NH)}-Ile-O 알릴 0.467 g (0.78 mmol)에 HOAc 89 μl (1.56 mmol), 트리에틸아민 (TEA) 20 μl 및 복합 PdCl₂(Ph₃)₂ 0.02 g을 가하였다. Bu₃SnH 231 μl (0.86 mmol)을 한꺼번에 가하였고 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물의 적합한 후처리 후에, 생성물을 섬광크로마토그래피 (CHCl₃:MeOH, 20:1) 상에서 정제시켜 69 % 수율 (0.319 g)의 기대 펩티드를 수득하였다. (M⁺H)⁺ 실측치 559, 계산치 558. 이어서, Fmoc-Tyr(But)-{ψ(CH₂NH)}-Ile-OH를 실시예 1에 기술한 바와 같은 통상의 고체상 기술을 이용하여 Arg(Pmc)-Leu-Pro-링크 수지와 커플링시켰다. 최종 펩티드 수지 Ac-Tyr(But)-{ψ(CH₂NH)}-Ile-Arg(Pmc)-Leu-Pro-링크를 탈보호시켰고 실시예 1에 기술한 바와 같이 통상적으로 절단시켰고 C18 컬럼 상에서 HPLC에 의해 정제시켰다.

<165> 실시예 VIII

<166> Ac-Tyr-Ile-Arg-NH-CH₂(4-피리딜)의 합성

<167> 옥심 수지 (문헌 (참조: DeGrado 및 Kaiser, J. Org. Chem. 45:1295 (1980))(0.6 mmol/g, 0.862 g)를 DIC/HOBt의 존재 하에서 Boc-Arg(Tos)-OH를 사용하여 방새 커플링시켰다. 수지를 DMF 및 이어서 DCM을 사용하여 세척시켰고 DCM 중의 아세트산 무수물/DIEA (1:1 당량)를 사용하여 아세틸화시켰다. 수지를 DCM, DMF 및 DCM을 사용하여 세척시킨 후, 그것을 DCM 중의 25 % TFA를 사용하여 30분 동안 탈보호시켰다. 탈보호된 수지를 DCM, 이소프로판올 및 DCM을 사용하여 세척시켰다. TFA.Arg(Tos)-OxmR과 DCM 중의 DIEA 1.5 당량의 존재 하에 대칭무수물 형태의 Boc-Ile-OH (3 당량)을 커플링시켰다. 상기 기술한 바와 같은, 세척, 아세틸화 및 탈보호의 주기를 반복하였다. 탈보호 후에, Boc-Tyr(2-BrZ)-OH를 Ile과 유사한 방법으로 커플링시킨 다음, 최종 펩티드 수지 Boc-Tyr(2-BrZ)-Ile-Arg(Tos)-OxmR을 탈보호시켰고 아세틸화시켜 Ac-Tyr(2-BrZ)-Ile-Arg(Tos)-OxmR을 수득하였다. 펩티드 수지를 진공 하에서 건조시켜 전체 중량 0.216 g을 수득하였다.

<168> 수지 1/3에 DCM 6 ml 중의 DIEA 120 μl 및 빙초산 60 μl의 존재 하에 4-(디메틸아미노)피리딘 100 μl (800 μmol)를 가하였다. 수지를 실온에서 방새 진탕시켰다. DCM 용액의 여과 후에, 수지를 DMF 3 ml를 사용하여 세척시켰고 세척물을 DCM 여액과 혼합시켰다. 용매의 증발 후에, 잔류 펩티드를 HF/아니솔을 사용하여 탈보호시켰고 통상적으로 처리하여 기대 펩티드를 수득하였다. 전기 분무 MS를 수행하였다. (M⁺H)⁺ 실측치 582.3, 계산치 582.

<169> 실시예 IX

<170> Ac-Tyr-Ile-{ψ(CH₂NH)}-Arg-Leu-Pro-NH₂의 합성

<171> a. Boc-Ile-H의 합성

<172> 알데히드를 문헌 (참조: Fehrentz 및 Castro, 상기 문헌, 1983)에 기술된 바와 같이 Boc-Ile-N-(Me)OMe 1g로부터 합성시켰다. 알데히드를 TLC 및 NMR에 의해 문헌에 기술된 바와 같이 확인하였다.

<173> b. Arg(Tos)-Leu-Pro-MBHA의 합성

<174> 트리펩티드 수지의 합성을 실시예 1에 기술한 통상의 고체상 접근법에 의해 수행하였다.

<175> c. Boc-Ile-{ψ(CH₂NH)}-Arg(Tos)-Leu-Pro-MBHA의 합성

<176> Boc-Ile-H를 1 % 아세트산을 함유하는 DMF중의 NaBH₃CN을 사용하여 환원성 아민화에 의해 트리펩티드 수지 Arg(Tos)-Leu-Pro-MBHA와 커플링시켰다. Boc 기를 통상 대로 절단시켰고 Ac-Tyr-OH를 DIC/HOBt를 사용하여 커플링시켰다. 최종 펩티드 수지 (0.7 g)를 탈보호시켰고 HF/티오아니솔 혼합물을 사용하여 수지로부터 절단시켰다. 조 Ac-Tyr-Ile-{ψ(CH₂NH)}-Arg-Leu-Pro-NH₂ 19 mg을 C18 컬럼 상에서 HPLC 정제시켜 90 % 순도의 기대 펩티드 약 5 mg을 수득하였다. (M⁺H)⁺ 실측치 688.4, 계산치 687.9.

<177> 실시예 X

<178> Ac-Tyr-Ile-Dab(N^γ-C₃H₇N)-Leu-Ala-NH₂의 합성

<179> SCAL-TG (0.2 mmol NH₂/g) 0.2 g (본 명세서에서 참조로서 인용하는 문헌 (참조: Patek 및 Lebl, Tetr. Lett. 32:3891-3894 (1991))을 실시예 1에 기술한 바와 같은 방법을 이용하여 Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Dab(Boc)-OH, Fmoc-Ile-OH 및 Fmoc-Tyr(But)-OH와 커플링시켰다. N-말단의 아세틸화 및 TFA에 의한 축쇄 탈보호 후에, 펩티드 수지 Ac-Tyr-Ile-Dab-Leu-Ala-SCAL-TG를 세척시켰고, 중화시켰고 DMF

중의 0.3M PyBroP/NMI를 사용하여 2시간 동안 처리하였다. 최종 펩티드를 DCM 중의 1 M 트리페닐포스핀 / $(\text{CH}_3)_3\text{SiCl}$ (3 x 1시간)을 사용하여, 이어서 100 % TFA (1시간)에 의해 수지로부터 절단시켰다. 디에틸 에테르 침전법에 의한 조 펩티드의 단리 후에, 펩티드를 0.1 % TFA 수용액으로부터 동결 건조시켰다. 펩티드 Ac-Tyr-Ile-Dab($\text{N}^x\text{-C}_3\text{H}_7\text{N}$)-Leu-Ala-NH₂를 HPLC에 의해 정제시켰고 MS를 통해 특성화했다. (M+H)⁺ 실측치 676.4, 계산치 676.4.

<180> 실시예 XI

<181> Ac-Tyr-Ile-PalMe(3)-NH₂의 합성

<182> 실시예 I에 기술한 방법을 이용하여 Fmoc-Pal(3)-OH, Fmoc-Ile-OH 및 Fmoc-Tyr(But)-OH를 링크 수지 1.0 g (0.48 mmol NH₂/g)과 커플링시켰다. DCM중의 500 μl 요오드화메틸 (MeI)을 0.25 g의 최종 펩티드 수지 Fmoc-Tyr(But)-Ile-Pal(3)-링크에 가하였고 펩티드 수지를 6시간 동안 진탕시켰다. 최종 펩티드 수지 Fmoc-Tyr(But)-Ile-PalMe(3)-링크를 탈보호시켰고 실시예 I에 기술한 바와 같이 아세틸화 및 절단시켰다. 조 펩티드 일부는 HPLC에 의해 정제시켰고 최종 펩티드를 MS에 의해 특징지어졌다.

<183> 실시예 XII

<184> Ac-시클로(Glu-Tyr-Ile-Arg-Leu-Lys)-NH₂의 합성

<185> 실시예 I에 기술한 방법을 이용하여 1 g SCAL-TG (0.29 mmol NH₂/g) (참조: 실시예 X)를 Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Arg(Pmc)-OH, Fmoc-Ile-OH, Fmoc-Tyr(But)-OH 및 Fmoc-Glu(OtBu)-OH와 커플링시켰다. Fmoc 제거 후에, 펩티드 수지를 아세틸화시켰고 DMF 및 이어서 DCM을 사용하여 세척시켰다. 펩티드 수지 Ac-Glu(OtBu)-Tyr(But)-Ile-Arg(Pmc)-Leu-Lys(Boc)-SCAL-TG를 시약 K를 사용하여 탈보호시켰고 세척시켰고 중화시켰고 DMF 중의 BOP/HOBt/DIEA (5:5:5 당량)를 사용하여 고리화시켰다. 커플링의 완결은 문헌 (본 명세서에서 참조로서 인용하는 문헌 (참조: Kaiser 등, Anal. Biochem, 34:595 (1970)에 기술된 바와 같은 닐히드린 시험에 의해 모니터링하였다. 고리화 후에, 펩티드를 수지로부터 절단시켰고, HPLC에 의해 정제시켰고 MS에 특징지어졌다. (M+H)⁺ 실측치 844.5, 계산치 844.5.

<186> 실시예 XIII

<187> 시클로(Gly-Tyr-Ile-Arg-Gly)의 합성

<188> 1 g 옥심 수지 (참조: 실시예 VIII) (0.6 mmol NH₂/g)를 DIC/HOBt의 존재 하에 Boc-Gly-OH를 사용하여 방새 커플링시켰다. 수지의 세척 및 탈보호 후에, 실시예 VIII에 기술한 바와 같은 방법을 이용하여 Boc-Arg(Toc)-OH, Boc-Ile-OH 및 Boc-Tyr(2-BrZ)-OH를 커플링시켰다. 1/3의 펩티드 수지 Boc-Tyr(2-BrZ)-Ile-Arg(Tos)-Gly-옥심 수지를 탈보호시켰고 DIC/HOBt에 의해 Boc-Gly를 사용하여 커플링시켰다. 최종 펩티드 수지를 탈보호시켰고, 중화시켰고 1 % 아세트산을 함유하는 DMF 중에서 방새 고리화시켰다. 수지를 여과시켰고 세척 (DMF)시켰고, 여액을 혼합시켰고 유기 용매를 진공 중에서 증발에 의해 제거시켰다. 잔류 펩티드를 탈보호 (HF/아니솔)시켰고, 동결 건조시켰고, HPLC 정제시켰고 M.S.에 의해 특징지어졌다. (M+H)⁺ 실측치 547.8, 계산치 547.8.

<189> 실시예 XIV

<190> N-치환된 글리신 화합물의 합성:

<191> Ac-(Bzl)Gly-(Chx)Gly-(3-구아니도프로필)Gly-NH₂의 합성

<192> N-치환된 글리신의 합성을 위해, 문헌 (본 명세서에서 참조로서 인용하는 문헌 (참조: Zuckermann 등, J. Am. Chem. Soc. 114:10646 (1992))의 공정을 이용하였다. 1 g SCAL-TG (0.29 mmol NH₂/g) (참조: 실시예 X)를 DCM/DMF 중의 대칭 무수물을 통해 브로모아세트산과 커플링시켰다. 각각의 커플링 반응을 2회 반복시켰다. Br-CH₂CO-SCAL-TG 수지에 DMSO 중의 Boc-NH-CH₂CH₂CH₂NH₂를 가하였고 수지를 2시간 동안 흔들었다. 탈보호 후에, 공정을 Br-CH₂COOH의 수지와 커플링 및 브로모아세트산 수지와 적합한 아민과의 반응을 교대시킴으로써 반복시켰다. (Bzl)Gly-(Chx)Gly-(Boc-NH-(CH₂)₃)Gly-SCAL-TG 수지를 DMF 중의 아세트산 무수물/DIEA/NMI (1:1:0.25)를 사용하여 방새 아세틸화시켰다. Boc기의 탈보호 후에, 수지 Ac-(Bzl)Gly-(Chx)Gly-(3-아미노프로필)Gly-SCAL-TG를 실온에서 3시간 동안 DMF 중의 DIEA (1:1)의 존재 하에 1.8M 카르복시아미디노피라졸 · HCl (참조: 본 명세서에서 참조로서 인용하는 문헌 (참조: Bernatowicz 등, J. Org. Chem. 57:2497-2502 (1992))을 사용하여 처리하였다. 구아닐화의 완결은 카이저(Kaiser) 시험에 의해 모니터링하였다. 수득한 펩티드의 절단 및 처리를 실시예 X에 기술한 바와 같이 수행하였고 M.S.에 의해 분석하였다 (M+H)⁺ 실측치 502.3, 계산치 502.3.

<193> 실시예 XV

<194> 디케토피페라진 화합물의 합성

<195> 시클로(Ser-Ile)-Ile-Arg-Leu-Ala-NH₂의 합성

<196> 출발 보호된 테트라펩티드 Fmoc-Ile-Arg(Pmc)-Leu-Ala-링크를 링크 수지상에서 Fmoc 방법에 의해 제조하였다 (참조: 실시예 I). 펩티드 수지의 Fmoc 탈보호 후에, Fmoc-Ile-OMe-OH (3 당량: DIC, HOBt) 및 Fmoc-Ser(tBu)-OH (7 당량: 대칭 무수물)를 연속적으로 커플링시켰다. 최종 탈보호 및 자발적인 고리화를 50 % 피페리딘/DMF와의 1시간 노출에 의해 동시에 수행하였다. 세척 단계 후에, 최종 펩티드를 절단 하였고 TFA/티오아니솔/H₂O (95:2.5:2.5)를 사용하여 탈보호시켰다. 수득한 펩티드를 상기 기술한 바와 같이 처리하였고 그것을 HPLC에 의해 (>95 %) 및 MS에 의해 분석하였다. (M+H)⁺ 실측치 655.4, 계산치

655.38.

- <197> 실시에 XVI
- <198> Ph-C(NOCH₂Ph)-CO-I-R-NH₂의 합성
- <199> 0.2 g 링크 수지를 Fmoc-Arg(Pmc)-OH, Fmoc-Ile-OH와 커플링시킨 다음 Fmoc 보호를 제거하였다 (참조: 실시에 I), 상기 기술한 DIC/HOBt 프로토콜을 사용하여 펩티드 수지 Ile-Arg(Pmc)-링크를 Ph-C(NOCH₂Ph)-COOH와 커플링시켰다. 최종 펩티드 수지 Ph-C(NOCH₂Ph)-CO-Ile-Arg(Pmc)-링크를 실시에 I에 기술한 바와 같이 후처리하였고 MS에 의해 분석하였다. (M+H)⁺ 실측치 524.3, 계산치 524.6.
- <200> 실시에 XVII
- <201> Ac-pAph-Ile-Arg-Leu-Pro-NH₂의 합성
- <202> 하기 아미노산 유도체를 사용하여 실시에 I의 방법에 따라 100 mg 링크 수지 (0.48 mmol/g) 상에서 합성을 수행하였다: Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Arg(Pmc)-OH, Fmoc-Ile-OH 및 Fmoc-pAph-(Fmoc)-OH (라세미 혼합물) 펩티드의 절단 및 단리를 실시에 I에 기술한 바와 같이 수행하였다. 부분 입체 이성체들 다의 펩티드를 RP-HPLC에 의해 단리하였고 MS에 의해 확인하였다. (M+H)⁺ 실측치 754.4. 계산치 754.5.
- <203> 실시에 XVIII
- <204> Ac-Tyr-Chg-Arg-올의 합성
- <205> 펩티드 서열을 실시에 I에 기술한 방법을 이용하여 0.25 g Fmoc-Arg(Pmc)-사스린 수지 (0.5 mmol NH₂/g 수지; Bachem Bioscience) 상에서 형성시켰다. N-말단 Fmoc 탈보호 및 아세틸화 후에, 보호된 펩티드를 C-말단 알콜로서 환원성 분해에 의해 수지로부터 절단시켰다 (참조: 본 명세서에서 참조로서 인용하는 문헌(참조: Mergler 등, Peptides, pp. 177-178 1 eds, Schneider 및 Eberle; Leiden 1993)). 펩티드 수지를 2 ml THF:EtOH (6:1) 중의 NaBH₄ (4 당량) 용액을 사용하여 24시간 동안 진탕시켰다. 절단 반응 후에, 수지를 DCM을 사용하여 세척한 다음, 절단 용액 및 세척물을 혼합하였고 동결 건조시켰다. 동결 건조된 펩티드를 TFA/물/티오아니솔 (90:5:5)을 사용하여 2시간 동안 처리함으로써 탈보호시켰고 침전에 의해 단리시켰다. HPLC 정제된 펩티드를 MS에 의해 분석하였다. (M+H)⁺ 실측치 505.3, 계산치 505.3.
- <206> 실시에 XIX
- <207> Ac-Tr-Chg-Arg-올 · 아세테이트의 합성
- <208> 보호된 펩티드 알콜을 실시에 XVIII에 기술한 바와 같이 제조하였다 10 mg 조 물질을 DCM/ACN 중 에서 용해시켰고 TEA (2.4 mmol)의 존재 하에 20분동안 아세트산 무수물 (2 mmol)을 사용하여 처리하였다. 용액을 여과하였고, 증발시켰고 펩티드를 상기 기술한 바와 같이 탈보호시켰다. HPLC 정제된 펩티드를 MS에 의해 분석하였다. (M+H)⁺ 실측치 547.3, 계산치 547.3.
- <209> 실시에 XX
- <210> Ac-Phe(pNH₂)-Chg-Orn(C(NH)CH₃)-Leu-Pro-NH₂의 합성
- <211> 1 g "TENTAGEL S" NH₂ 수지 (0.28 mmol NH₂/g 수지; Rapp Polymer; Tübingen Germany)를 실시에 X에 기술한 바와 같이 SCAL 링커를 사용하여 관능화시켰고 하기 아미노산을 커플링시켰다. Fmoc-Pro-OH; Fmoc-Leu-OH; Fmoc-Orn(Boc)-OH 및 Fmoc-Chg-OH. 펩티드 수지 Fmoc-Chg-Orn(Boc)-Leu-Pro-SCAL-TG를 DCM 중의 50 % TFA를 사용하여 처리 (1분 동안 1회 세척 및 이어서 30분 동안 1회 세척)하였고, DCM을 사용하여 3회 세척하였고, DCM 중의 5 % DIEA를 (2 x 30 초) 사용하여 중화시켰고 DCM을 2회 사용하여 중화시켰다. 4 ml 1:1 피리딘:DIEA 및 3 ml DMF 중의 1.5 g 에틸 아세티미데이트 히드로클로리드 (Aldrich) 용액을 펩티드 수지에 가하였고 커플링을 실온에서 밤새 계속시켰다.
- <212> 펩티드 수지 Fmoc-Chg-Orn(C(NH)CH₃)-Leu-Pro-SCAL-TG를 DMF 중의 20 % 피페리딘을 사용하여 12 분 동안 탈보호시켰고, DMF를 사용하여 4회, DCM을 사용하여 4회 세척시켰고 Fmoc-Phe(pNH-BOC)-OH를 DMF 중의 DIC/HOBt 커플링을 이용하여 커플링시켰다. Fmoc의 탈보호 및 아세트산 무수물:피리딘 (1:1)을 사용하는 20분 동안의 아세틸화 후에 펩티드 수지 Ac-Phe(pNH-BOC)-Chg-Orn(C(NH)CH₃)-Leu-Pro-SCAL-TG를 수득하였다. SCAL 링커의 환원 및 펩티드의 절단 후에, 조 생성물의 HPLC 정제에 의해 기대 화합물을 수득하였다. (M+H)⁺ 실측치 740.2, 계산치 740.48.
- <213> 실시에 XXI
- <214> Ac-Phe(pNH₂)-Chg-Dap(N^β-C₆H₁₁N)-Leu-Pro-NH₂의 합성
- <215> 0.5 g SCAL-TG (0.32 mmol NH₂/g)를 Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Dap(Boc)-OH 및 Fmoc-Chg-OH와 커플링시켰다. 측쇄로부터인 Boc기를 50% TFA를 20분 동안 사용하여 제거시켰고 펩티드 수지를 10 % DIEA/DCM을 사용하여 세척시킴으로써 중화시켰다. 측쇄의 유리 아미노기를, 펩티드 수지를 DMF 중의 0.3M PyBroP/NMI를 20분 동안 사용하여 처리함으로써 디메틸아미디늄기로 변형시켰다. 60분 동안 50% 피페리딘 /DMF를 사용하여 Fmoc기의 탈보호에 의해 Dap의 측쇄 내 피페리디늄기에 의한 디메틸아미디늄의 교환이 초래되었다. 서열을 Fmoc-Phe(Boc)-OH의 커플링 및 Fmoc기의 탈보호에 의해 완성시켰다. 펩티드를 실시에 X에 기술한 바와 같이 아세틸화 및 절단시켰다. HPLC 정제된 펩티드를 MS에 의해 분석하였다. (M+H)⁺ 실측치 752.4, 계산치 752.4.

<216> 실시예 XXII<217> Ac-pAph-Chg-PalMe(3)-NH₂의 합성

<218> 라세미 H-Phe(pCN)-OH를 아세트아미도말로네이트 방법에 의해 합성시켰다(본 명세서에서 참조로 인용하는 문헌 (참조: Wagner 등, DDR 특허 제155,954호(허여일: 1982. 7. 21; 재심사일: 1988. 11. 9)). 상응하는 메틸티오이미데이트 (시아노기의 황화수소와의 반응에 의해 제공됨)의 가암모니아 분해에 의한 시아노기의 전관 및 MeI에 의한 이후의 메틸화에 의해 라세미 Ac-pAph-OH를 합성시켰다.

<219> 1 g "TENTAGEL" 수지 (치환 = 0.21 mmol NH₂/g 수지) 및 크노르(Knorr) 링커 (본 명세서에서 참조로 인용하는 문헌 (참조: Bernatowicz 등, Tetr. Lett. 30:4645 (1989)))를 펩티드의 합성을 위해 사용하였다. 디펩티드 Fmoc-Chg-Pal-크노르-TG를 실시예 1에 기술한 바와 같이 조립하였다. 이어서, 3-피리딜알라닌을 DCM 중의 1 ml MeI를 사용하여 방새 메틸화시켰다. Fmoc 탈보호 후에, Ac-pAph-OH를 DIC/HOBt 방법을 이용하여 커플링시켰고 펩티드를 실시예 1에 기술한 바와 같이 후처리하였다. (M+H)⁺ 실측치 550.3, 계산치 550.31.

<220> 실시예 XXIII<221> Ac-Tyr-Chg-pAph-Leu-Pro-NH₂의 합성

<222> 펜타펩티드 Ac-Tyr(But)-Chg-Phe(pCN)-Leu-Pro-크노르-TG를 실시예 1에 기술한 바와 같이 0.4 g "TENTAGEL" (치환 = 0.2 mmol NH₂/g 수지) 상에서 조립시켰다. 수지를 밀폐된 주사기에서 방새 H₂S에 의해 포화된 8 ml 피리딘/트리에틸아민 (75:25)을 사용하여 처리하였다. 수지 결합된 티오아미드를 50°C에서 30분 동안 8 ml 아세톤 중의 0.5 ml MeI를 사용하여 메틸화시킨 후에 아세톤 및 메탄올로 세척했다. 메틸티오아미드를 55°C에서 3시간 동안 메탄올 중의 암모늄 아세테이트와 반응시켜 최종 화합물을 수득하였고, 이것을 수지로부터 절단시켰고 상기 기술한 바와 같이 정제시켰다. (M+H)⁺ 실측치 761.4, 계산치 760.43.

<223> 실시예 XXIV<224> Ac-Phe(pCH₂NH₂)-Chg-Arg-Leu-Pro-NH₂의 합성

<225> Ac-DL-Phe(pCN)-Chg-Arg-Leu-Pro-NH₂ (조 펩티드)를 실시예 1에 기술한 바와 같은 1 g 링크 수지 (0.6 mmol NH₂/g 수지) 상에서 합성시켰다. 125 mg 조 펩티드를 50 ml MeOH 중에서 용해시켰고 0.5 ml 라니(Raney) Ni 현탁액(Aldrich)을 가하였다. 펩티드 및 촉매의 혼합물을 실온에서 4시간 동안 35 psi로 수소화시켰다. 촉매를 여과시켰고 용액을 증발시켜 건조시켰다. 잔사를 30% ACN을 함유하는 0.1% 수성 TFA로부터 동결 건조시켰다. 건조된 조 생성물을 HPLC에 의해 정제시켰고 MS에 의해 분석하였다. (M+H)⁺ 실측치 741.4, 계산치 741.1

<226> 실시예 XXV<227> Ac-Phe(pC(NO₂)NH₂)-Chg-Arg-Leu-Pro-NH₂의 합성

<228> 실시예 XXIV에서 기술한 바와 같이 제조한 21.1 mg 조 펩티드를 1.5 ml MeOH, 0.7 ml 피리딘 및 0.5 ml TEA 중의 60.3 mg, NH₂OH · HCl (Aldrich)과 혼합시켰다. 혼합물을 실온에서 72시간 동안 교반시킨 다음, 용매 및 휘발 물질을 진공 중에서 증발시켰다. 펩티드를 HPLC에 의해 정제시켰고 MS에 의해 분석하였다. (M+H)⁺ 실측치 770.4, 계산치 770.3.

<229> 실시예 XXVI<230> A1-A2-B 화합물의 합성

<231> A1-A2-B 화합물, 즉 A1-A2-(A3)_m-B 화합물 (여기에서, m은 0이다)을 도 3에 도시한 대로 제조하였다. 간단히, 라세미 N-아세틸-4-시아노페닐알라닌과 L-시클로헥실글리신 메틸 에스테르(H-Chg-OMe)와의 커플링에 의해 2종의 부분 입체이성체 디펩티드의 혼합물을 수득하였고, 이들을 크로마토그래피에 의해 분리하였다. L-시클로헥실글리신 메틸 에스테르를 사용하여 염을 형성시킴으로써 라세미 N-아세틸-4-시아노페닐알라닌을 부분적으로 분해시켰다. 덜 가용성인 D,L-염을 용이하게 결정화시킨 다음 커플링시킴으로써 실질적으로 순수한 형태의 Ac-f(pCN)-Chg-OMe를 수득하였다. "모액"을 L,L-염 중에서 증강시켰고 커플링에 의해 조 Ac-f(pCN)-Chg-OMe를 수득하였으며, 이것을 실리카 겔 상에서 크로마토그래피에 의해 더 정제시켰다. 실온에서 메탄올/물 중의 수산화리튬을 사용하여 이들 디펩티드 에스테르를 상응하는 산이 되도록 가수분해시켰다. 적절한 아민 RNH₂와의 통상적인 커플링에 의해 치환된 아미드가 되도록 2종 디펩티드 산을 모두 전환시켰다. 표준 화학 방법을 이용하여, 상업적으로 이용 가능하지 않는 아민을 제조하였다.

<232> 티오아미드 및 메틸티오이미데이트를 통해 또는 상응하는 아미드옥심의 수소화(실시예 XXV)에 의해 표준 화학 방법을 이용하여, 시아노기의 상응하는 아미딘으로의 전환을 수행하였다. 니트릴을 히드록실아민과 반응시킴으로써 후자를 수득하였다. 하기 기술하는 실시예는 이들 선택한 방법에 의한 표제 화합물의 제조를 설명한다. 각종 다른 방법을 이용하여 본 발명의 화합물을 제조할 수 있음 및 여기에서 예시된 공정을 편리성을 위해 선택하였음을 인지한다.

<233> 실시예 XXVII<234> Ac-pAph-Chg-NHCH₂-(4-메틸피리디늄)의 합성

<235> 실시예 XXII에 기술한 방법을 이용하여 Ac-f(pCN)-Chg-NHCH₂-(4-피리딜)의 전환에 의해 Ac-pAph-

Chg-NHCH₂-(4-메틸피리디늄)의 합성을 수행하였다. 실시예 1에 기술한 바와 같이 HPLC에 의해 최종 화합물을 정제시켰다. MS 분석: (M+H)⁺ 실측치 493.3, 계산치 493.29.

<236> 하기와 같이 출발 물질을 제조하였다:

<237> a) Ac-(D,L)-F(pCN) 2.32 g (10 mmol)을 가온하면서 75 ml 에탄올 중에서 용해시켰다. L-시클로헥실글리신 메틸 에스테르 (1.75 g, 10mmol)를 가하였고 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시켰다. 침전된 결정을 완전히 여과시켰고 건조시켜 1.55 g D,L-염을 수득하였다. 여액을 부분적으로 증발시켰고 에테르를 사용하여 희석시켰다. 분리된 결정을 수집하였고 건조시켜 D,L-염에 의해 오염된 2.1 g L,L-염을 수득하였다. 조 L,L-염을 20 ml DMF, 0.71 g HOBt 및 1.18 g DCC와 혼합시켰다. 혼합물을 실온에서 24시간 동안 교반시켰다. 우레아를 여과시켰고 여액을 증발시켰다. 잔사를 염화메틸렌 중에서 용해시켰고 용액을 1N HCl 및 중탄산나트륨 포화 수용액을 사용하여 세척하였다. 유기 층을 건조 및 증발시켰다. 용출을 위해 염화메틸렌 중의 20%(v/v) 아세톤을 사용하여 잔사를 60 g 실리카 겔 상에서 크로마토그래피시켰다. 염화메틸렌/에테르/헥산으로부터 혼합된 투명한 분획을 결정화시켜 용점 (mp)이 178-180°C인 1.6 g Ac-F(pCN)-Chg-OMe를 무색 결정으로서 수득하였다.

<238> b) 실온에서 24시간 동안 질소 하에서 1.93 g (5 mmol), Ac-F(pCN)-Chg-OMe (상기 실시예 XXVII.a.로부터임), 100 ml 메탄올, 10 ml 물 및 0.75 g 수산화리튬 수화물의 혼합물을 교반시켰다. 2 ml 아세트산을 가한 다음, 용매를 증발시켰고 20% 이소프로판올을 함유하는 염화메틸렌과 1N HCl 사이에서 잔사를 분배시켰다. 유기 층을 건조 및 증발시켰고 염화메틸렌/에테르/헥산으로부터 잔사를 결정화하여 용점이 216-218°C인 1.6 g Ac-F(pCN)-Chg-OH를 무색 결정으로서 수득하였다.

<239> c) 실온에서 20시간 동안 150 mg (0.4 mmol) Ac-F(pCN)-Chg-OH (상기), 65 mg (0.6 mmol) 4-아미노메틸피리딘, 124 mg (0.6 mmol) DCC, 60 mg (0.44 mmol) HOBt 및 5 ml DMF의 혼합물을 교반시켰다. 여과에 의해 우레아를 제거시켰고 여액을 증발시켰다. 메탄올을 사용하여 잔사를 슬러리화시켰고 여과에 의해 불용성 생성물을 수집하여 140 mg 무색 Ac-F(pCN)-Chg-NHCH₂(4-피리딜)를 수득하였다. 아세톤:염화메틸렌:메탄올 (4:5:1)을 사용하여 실리카 겔 상에서 크로마토그래피에 의해 분석용 시료를 수득하였다. 결정성 고체의 용점은 >250°C이다.

<240> 실시예 XXVIII

<241> Ac-f(4-아미디노)-Chg-NHCH₂(4-메틸피리디늄)

<242> 150 mg Ac-f(pCN)-Chg-NHCH₂(4-피리딜) (상기 참조)을 황화수소와 반응시킨 다음 요오드화메틸 및 암모늄 아세테이트와 반응시킴으로써 본 화합물을 제조하였다. 생성물을 HPLC에 의해 균질한 물질로서 단리하였다. MS 분석: (M+H)⁺ 실측치 493.3, 계산치 493.29.

<243> 하기와 같이 출발 물질을 제조하였다:

<244> a) 실온에서 2일 동안 2.8g Ac-f(pCN), (L)-시클로헥실글리신 메틸 에스테르, 940 mg, HOBt, 1.57g DCC 및 30 ml DMF의 혼합물을 교반시켰다. 여과에 의해 우레아를 제거시켰고 여액을 증발시켰다. 염화메틸렌 중에서 잔사를 용해시켰고 1N HCl 및 10% 수성 탄산나트륨을 사용하여 용액을 세척시켰다. 유기 상을 건조 및 증발시켰다. 염화메틸렌/에테르/헥산으로부터 잔사를 결정화시킴으로써 용점이 181-183°C인 2.05 g 무색 Ac-f(pCN)-Chg-OMe를 수득하였다.

<245> b) 1.93g Ac-f(pCN)-Chg-OMe (상기)의 100 ml 메탄올 및 10 ml 물 중의 0.75g 수산화리튬 일수화물에 의해 가수분해를, L,L-이성체에 대해 상기 실시예 XXVIII에서 기술한 바와 같이 처리하였고, 염화메틸렌/에테르로부터 결정화시켜 용점이 180-182°C인 1.65g Ac-f(pCN)-Chg-OH를 제조하였다.

<246> c) 실온에서 주말 동안 225 mg Ac-f(pCN)-Chg-OH (상기), 100 mg 4-아미노메틸피리딘, 90 mg HOBt, 180 mg DCC 및 6 ml DMF의 혼합물을 교반시켰다. 우레아를 여과시켰고 여액을 증발시켰다. 메탄올을 사용하여 잔사를 교반시켰고 여과에 의해 고체를 제거시켜 용점이 >250°C인 190 mg 결정성 Ac-f(pCN)-Chg-NHCH₂(4-피리딜)을 수득하였다.

<247> 실시예 XXIX

<248> Ac-pAph-Chg-NHCH₂CH₂(3-메틸피리디늄)

<249> 125 mg Ac-F(pCN)-Chg-NHCH₂CH₂(3-피리딜), 2 ml DMSO, 10 ml 피리딘 및 5 ml 트리에틸아민의 혼합물을 빙/수 중에서 냉각시키면서 황화수소를 사용하여 포화시켰다. 실온에서 밤새 밀봉된 바이알에서 교반시킨 후, 용매를 증발시켰고 아세톤/에테르를 사용하여 잔사를 수집하였고 건조시켜 125 mg 티오아미드를 수득하였다. 이 물질을 2 ml DMSO, 5 ml 아세톤 및 0.75 ml 요오드화메틸과 혼합시켰고 실온에서 밤새 밀봉된 바이알에서 혼합물을 교반시켰다. 톨루엔에 의한 희석 후에, 용매를 증발시켰고 에테르와 함께 잔사를 교반시켰다. 에테르를 기울여 따라내고 신선한 에테르에 의해 대체시켰고 수지성 물질이 고화될 때까지 계속 교반시킨 다음, 잔류 에테르를 여과시켰고 잔사를 건조시켰다.

<250> 수득한 잔사를 20 ml 메탄올 중에서 용해시켰고 0.3 ml 아세트산 및 0.4 g 암모늄 아세테이트를 사용하여 처리하였다. 2.5시간 동안 55-60°C가 되도록 혼합물을 가열시킨 다음 용매를 증발시켰다. 물/ACN/TFA 중에서 잔사를 용해시켰고 동결 건조시켰다. HPLC에 의해 조 생성물을 정제시켰다. MS 분석: (M+H)⁺ 실측치 507.3, 계산치 507.31.

<251> 하기와 같이 출발 물질을 수득하였다:

<252> a) 실온에서 24시간 동안 150 mg (0.4 mmol) Ac-F(pCN)-Chg-OH, 120 mg (0.6 mmol) 2-(3-피리딜)메틸아민 디히드로클로리드, 125 mg DCC, 60 mg HOBt, 0.5 ml 디이소프로필에틸아민 및 10 ml DMF의 혼합물을 교반시켰다. 용매의 증발 후에, 메탄올을 사용하여 잔사를 교반시켰고 여과에 의해 불용성 생성

물을 수집하였고 메탄올 및 에테르를 사용하여 세척시켜 110 mg 무색 결정을 수득하였다. 여액을 증발시켰고 염화메틸렌/이소프로판올 중에서 잔사를 용해시켰다. 이 용액을 10% 수성 탄산나트륨을 사용하여 세척시켰고, 건조 및 증발시켰다. 염화메틸렌:아세톤:메탄올 (5:4:1)을 사용하여 14 g 실리카 겔 상에서 잔사를 크로마토그래피시켜 용점이 265-268°C인 40 mg Ac-F(pCN)-Chg-NHCH₂CH₂(3-피리딜)을 수득하였다.

<253>

b) 하기와 같이 2-(3-피리딜)에틸아민 디히드로클로리드를 제조하였다. 파르 (Parr) 수소화기를 사용하여 20시간 동안 35 psi로 1.3g 3-피리딜아세토니트릴, 약 3g 라니 (Raney) 니켈 및 10 체적% 암모니아를 함유하는 30 ml 메탄올의 혼합물을 수소화시켰다. 셀라이트 상에서 촉매를 여과시켰고 여액을 증발시켰다. 염화메틸렌 중에서 잔사를 용해시켰고, 황산마그네슘을 사용하여 건조시켰고, 여과 및 증발시켰다. 디옥산 중의 염화수소를 사용하여 생성물을 디히드로클로리드가 되도록 전환시켰다. 메탄올/에테르로부터 결정화시켜 용점이 145-148°C인 1.4 g 무색 결정을 수득하였다.

<254>

실시에 XXX

<255>

Ac-pAph-Chg-NHCH₂CH₂(4-메틸피리디늄)

<256>

상기 기술한 방법을 이용하여, Ac-F(pCN)-Chg-NHCH₂CH₂(4-피리딜)을 황화수소와 반응시킨 다음 요오드화메틸에 의한 메틸화 및 암모늄 아세테이트와의 반응에 의해 본 화합물을 제조하였다. HPLC에 의해 조 생성물을 정제시켰다. MS 분석: (M+H)⁺ 실측치 507.3, 계산치 507.31.

<257>

상기 실시에 XXIX에 기술한 바와 같이 Ac-F(pCN)-Chg-OH를 2-(4-피리딜)에틸아민 디히드로클로리드를 사용하여 커플링시킴으로써 출발 물질을 수득하였다.

<258>

암모니아의 존재 하에 라니 니켈 상에서 피리딜-4-아세토니트릴의 수소화에 의해 2-(3-피리딜)에틸아민 디히드로클로리드 (상기)에 대해 기술한 바와 같이 2-(4-피리딜)에틸아민 디히드로클로리드를 제조하였다. 디히드로클로리드의 용점은 220°C였다.

<259>

실시에 XXXI

<260>

Ac-pAph-Chg-NHCH₂(4-아미디노페닐)

<261>

상기 기술한 바와 유사한 방법을 이용하여 DMSO 중의 황화수소, 피리딘 및 트리에틸아민을 사용하여 Ac-F(pCN)-Chg-NHCH₂(4-시아노페닐)을 처리시킴으로써 본 화합물을 제조하였다. 수득한 비스-티오아미드를 DMSO/아세톤 중의 요오드화 메틸을 사용하여 메틸화시킨 다음, 상기 기술한 바와 같은 암모늄 아세테이트와 반응시켰다. HPLC에 의해 조 생성물을 정제시켰다. MS 분석: (M+H)⁺ 실측치 520.3, 계산치 520.30.

<262>

하기와 같이 출발 물질을 수득하였다: 실온에서 24시간 동안 75 mg (0.2 mmol) Ac-F(pCN)-Chg-OH, 50 mg (0.3 mmol) (4-시아노페닐)메틸아민 히드로클로리드, 62 mg DCC, 30 mg HOBt, 0.2 ml DIEA 및 2 ml DMF의 혼합물을 교반시켰다. 여과 후에, 용매를 증발시켰고 20% 이소프로판올을 함유하는 염화메틸렌 중에서 잔사를 용해시켰다. 1N HCl 및 10% 수성 탄산나트륨을 사용하여 용액을 세척시킨 다음, 건조 및 증발시켰다. 소량 메탄올/물과 함께 잔사를 교반시켰고 분리된 고체를 수집하였고 건조시켜 80 mg Ac-F(pCN)-Chg-NHCH₂(4-시아노페닐)을 수득하였다.

<263>

하기와 같이 (4-시아노페닐)메틸아민 히드로클로리드를 제조하였다: 2 g (10 mmol) 알파-브로모-p-톨루이트릴, 2 g (10.8 mmol) 칼륨 프탈이미드 및 30 ml DMF의 혼합물을 1분 동안 환류 가열시켰다. 냉각 후에, 아세트산을 사용하여 혼합물을 산성화시켰고 물을 사용하여 희석시켜 생성물을 결정화시켰다. 결정을 여과시켰고 물을 사용하여 세척시켰고 건조시켜 용점이 182-184°C인 2.24 g 무색 N-(4-시아노페닐)메틸프탈이미드를 수득하였다.

<264>

50 ml 비등 메탄올 중에 1.5g N-(4-시아노페닐)-메틸프탈이미드를 현탁시켰고 1 ml 수화히드라진을 사용하여 처리하였다. 5분 후에 투명한 용액을 수득하였다. 메탄올을 증발시켰고 2N HCl을 사용하여 잔사를 처리하였다. 현탁액을 비등할 때까지 가열시킨 다음 빙 상에서 냉각시켰다. 고체를 여과시켰고 여액을 증발시켰다. 잔사를 물 중에서 용해시켰다. 용액을 비등할 때까지 다시 가열시켰고 냉각 및 여과시켰다. 수산화나트륨을 사용하여 여액을 알칼리성이 되도록 하였고 이소프로판올을 함유하는 염화메틸렌을 사용하여 추출시켰다. 유기 상을 건조 및 증발시켰고 잔사를 히드로클로리드 염이 되도록 전환시켰고 이소프로판올/에테르로부터 결정화시켰고 용점이 >260°C인 0.43g 무색 결정을 수득하였다.

<265>

알파-브로모-m-톨루이트릴을 칼륨 프탈이미드와 반응시켜 용점이 147-148°C인 N-(3-시아노페닐)메틸프탈이미드를 수득함으로써 (3-시아노페닐)메틸아민 히드로클로리드를 제조하였다. 이 물질의 수화히드라진과의 반응 및 상기에서와 같은 히드로클로리드로의 전환에 의해 용점이 223-226°C인 (3-시아노페닐)메틸아민을 수득하였다.

<266>

실시에 XXXII

<267>

Ac-pAph-Chg-NHCH₂(3-아미디노페닐)

<268>

상기 기술한 바와 같은 방법을 이용하여 본 화합물을 제조하였다. DMSO중의 황화수소, 피리딘 및 트리에틸아민을 사용하여 Ac-F(pCN)-Chg-NHCH₂(3-시아노페닐)를 처리하였다. 수득한 비스-티오아미드를 DMSO/아세톤 중의 요오드화 메틸을 사용하여 메틸화시킨 다음, 상기 기술한 바와 같이 암모늄 아세테이트와 반응시켰다. HPLC에 의해 조 생성물을 정제시켰다. MS 분석: (M+S)⁺ 실측치 520.3, 계산치 520.30.

<269>

하기와 같이 출발 물질을 수득하였다: 실온에서 24시간 동안 300 mg (0.8 mmol) Ac-F(pCN)-Chg-OH, 200 mg (1.2 mmol) (3-시아노페닐)메틸아민 히드로클로리드, 250 mg DCC, 120 mg HOBt, 0.8 ml DIEA 및 10 ml 및 DMF의 혼합물을 교반시켰다. 여과 후에, 용매를 증발시켰고 20% 이소프로판올을 함유하는 다

량의 염화메틸렌 중에서 잔사를 용해시켰다. 1N HCl 및 10% 수성 탄산나트륨을 사용하여 용액을 세척시켰고, 건조 및 증발시켰다. 이소프로판올/에테르를 사용하여 잔사를 교반시켰고 분리된 고체를 수집하였고 건조시켜 400 mg Ac-F(pCN)-Chg-NHCH₂(3-시아노페닐)를 수득하였다.

<270> 실시에 XXXIII

<271> Ac-pAph-Chg-NHCH(Me)(4-메틸피리디늄)

<272> 2종의 부분 입체 이성체 Ac-F(pCN)-Chg-NHCH(Me) (4-피리딜)의 혼합물을 황화수소 및 이어서 MeI 및 암모늄 아세테이트와 반응시킴으로써 표제 화합물의 부분 입체 이성체 혼합물을 제조하였다. HPLC에 의해 부분 입체 이성체를 분리하였다. MS 분석 : (M+H)⁺ 실측치 507.3, 계산치 507.31.

<273> 하기와 같이 출발 물질을 제조하였다: 실온에서 24시간 동안 150 mg (0.4 mmol) Ac-F(pCN)-Chg-OH, 120 mg (0.6 mmol) 라세미 1-(4-피리딜)에틸아민 디히드로클로리드, 125 mg DCC, 60 mg, HOBt, 0.5 ml DIEA 및 10 ml DMF의 혼합물을 교반시켰다. 여과 후에, 용매를 증발시켰고 20% 이소프로판올을 함유하는 다량의 염화메틸렌 중에 잔사를 용해시켰다. 10% 수성 탄산나트륨을 사용하여 용액을 세척시켰고, 건조 및 증발시켰다. 이소프로판올/에테르를 사용하여 잔사를 교반시켰고 분리된 고체를 수집하였고 건조시켜 125 mg Ac-F(pCN)-Chg-NHCH(Me)(4-피리딜)을 2종의 부분 입체 이성체 혼합물로서 수득하였다.

<274> 하기와 같이 라세미 1-(4-피리딜)에틸아민 디히드로클로리드를 제조하였다: 1 g 4-아세틸피리딘-N-산화물, 2 g 라니 니켈 및 20% 암모니아(v/v)를 함유하는 30 ml 메탄올의 혼합물을 24시간 동안 30psi로 수소화시켰다. 셀라이트 상에서 여과에 의해 촉매를 제거하였고 여액을 증발시켰다. 염화메틸렌 중에서 잔사를 용해시켰고, 여과 및 증발시켰다. 이소프로판올 중에서 잔사를 용해시켰고, 에테르 중의 염화수소를 사용하여 처리하였다. 침전된 결정을 수집하였고 건조시켜 융점이 198-200 °C인 0.9 g 물질을 제조하였다.

<275> 실시에 XXXIV

<276> DIPA(m)pAph-Chg-Arg-Leu-Pro-NH₂의 합성

<277> a. (p-시아노벤질)말론산 (DIPA(m)Phe(pCN))-OH의 N,N-디이소프로필 아마이드 합성

<278> 변형 방법 (본 명세서에서 참조로서 인용하는 문헌 (참조: Pinori 등, 미국 특허 공보 제 5,061,911호 (1991. 10)를 참조한다)에 의해 2-(p-시아노벤질)말론산의 합성을 달성하였다. 2.3g p-시아노벤즈알데히드(Aldrich)를 25ml DMF 중의 1.12g NaCNBH₃ (Aldrich) 및 3.8g 2,2-디메틸-1,3-디옥산-4,6-디온 (Meldrum의 산; Aldrich)의 용액에 가하였고 실온에서 2시간 동안 혼합물을 교반시켰다. 400ml 물을 반응 혼합물에 가하였고 빙욕 중에서 용액을 냉각시켰고 20%HCl 수용액의 적가에 의해 pH를 3.8-4로 조정시켰다. 중앙에 위치한 (centered) 유리 부크너(Buchner) 깔때기에서 백색 침전물을 수집하였고 냉각수를 사용하여 세척하였다. 수집된 침전물을 진공 중에서 CaCl₂ 상에서 24시간 동안 건조시켰다. CDCl₃ 중의 수집된 고체의 NMR은 융점이 135-142 °C이고 Rf 0.45 (CHCl₃:MeOH: 아세트산; 95:4:1)를 갖는 화합물 2,2-디메틸-5-(p-시아노) 벤질-1,3-디옥산-4,6-디온(DCBD)을 나타내었다.

<279> 3ml N,0-비스(트리메틸실릴)아세트아미드(BSA)를 45ml DCM 중의 1.5ml 디이소프로필아민에 가하였고 자석 교반기 및 CaCl₂ 관에 연결된 콘덴서가 설치된 반응 플라스크에서 용액을 7시간 동안 환류시켰다. 용액을 실온까지 냉각시킨 후, 0.8g DCBD를 가하였고 반응 혼합물을 3시간 동안 환류시켰다 (TLC에 의해 표시된 바와 같은 생성물의 전환이 완결될 때까지). 반응 혼합물의 냉각 후에, 5-8ml 20% HCl 수용액을 조심스럽게 가하였다. 층의 분리 후에, 물을 사용하여 유기 층을 세척하였고, 건조 (MgSO₄) 및 증발시켜 건조시켜 투명한 생성물을 수득하였고, 이것을 추가의 정제 없이 이후의 단계에서 사용하였다. CDCl₃ 중의 NMR 및 MS에 의해 화합물의 확인을 달성하였다.

<280> b. DIPA(m)pAph-Chg-Arg-Leu-Pro-NH₂의 합성

<281> 실시에 I에 기술한 방법에 의해 펩티드 수지 DIPA(m)Phe(pCN)-Chg-Arg(PMC)-Leu-Pro-링크를 합성하였다. 수득한 펩티드 수지를 실시에 XXV에 기술한 바와 같이 히드록실아민 히드로클로리드를 사용하여 처리하여 DIPA(m)Phe(pC(NOH)NH₂)-Chg-Arg(PMC)-Leu-Pro-링크를 수득하였다. 수지로부터 펩티드를 절단시키고, 동결 건조시킨 후, MeOH 중의 10ml 포화 NH₃ 용액 및 80ml MeOH 중에서 용해시켰다. 반응 혼합물에 0.25ml 라니 니켈 현탁액(Aldrich)을 가하였고 혼합물을 24시간 동안 45psi로 수소화시켰다. 결정을 여과시켰고 용매를 증발시켜 건조시켰고 0.1% TFA 수용액 및 ACN의 1:1 용액으로부터 잔사를 동결 건조시켰다. HPLC에 의해 조 펩티드를 정제시켰고 MS에 의해 화합물을 확인하였다. (M+H)⁺ 실측치 824.2, 계산치 824.5.

<282> 실시에 XXXV

<283>

합성되었고 인자 Xa의 강력한 억제제로 밝혀진 다치환된 화합물

번호	화합물	계산치 (실측치)
1.	Ac-(2-CF ₃ Bzl)-Y-I-R-L-P-NH ₂	860.5 (860.3)
2.	Ac-(CH ₃ CH ₂ CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂)-Y-I-R-L-P-NH ₂	786.5 (786.5)
3.	CH ₃ OCO-Y-I-R-L-P-NH ₂	742.4 (742.4)
4.	Ac-Y-Chg-R-NH ₂	518.2 (518.2)
5.	Nal(2)-Cha-R-D(O-알릴)-NH ₂	679.4 (679.4)
6.	γ-Tle-R-Nle-P-NH ₂	660.4 (660.4)
7.	Phe(pF)-I-R-L-P-NH ₂	662.3 (662.3)
8.	Ac-(D)Tic(OH)-I-R-L-P-NH ₂	714.4 (714.4)
9.	Ac-Phe(pCN)-I-R-L-P-NH ₂	711.4 (711.4)
10.	Ac-Phe(pCONH ₂)-Chg-R-L-P-NH ₂	755.4 (755.4)
11.	γ-Chg-R-NH ₂	476.2 (476.2)
12.	Ac-W-Chg-R-L-P-NH ₂	751.3 (751.3)
13.	Ac-Y-I-R-NH-CH(CH ₃)-(CH ₂) ₂ -CH ₃	562.3 (562.3)
14.	Ac-Y-Pgl-R-L-P-NH ₂	722.2 (722.2)
15.	Ac-Y-Chg-R-Ina-NH ₂	629.4 (629.4)
16.	Ac-Tza-Chg-R-NH ₂	509.3 (509.3)
17.	Ac-Y-Chg-R-Pip-NH ₂	629.4 (629.4)
18.	Ac-Phe(pNH ₂)-Chg-R-NH ₂	517.2 (517.2)
19.	Ac-(Bzl)G-(Chx)Gly-(3-쿠아니디노프로필)G-NH ₂	502.3 (502.3)
20.	Ac-Y-Chg-R-올. 아세테이트	547.3 (547.3)
21.	Ac-Y-Chg-R-OCH ₃	533.3 (533.3)
22.	Ac-Y-Chg-R-OH	519.3 (519.3)
23.	Bz-Y-Chg-R-NH ₂	532.2 (532.2)

<285> 실시예 XXXVI

<286> 개별적으로는 활성이 증진할 수 없는 화학적 변화의 병용이 활성을 증진시킬 수 있다.

<287> 인자 Xa 활성의 억제를 측정하였다. 그러나, 응고, 생체내 성능, 생체내 반감기, 경구용 생물학적 이용 가능성, 경구용 성능 또는 반감기에 대한 본 발명의 YIR 펩티드의 효과와 같은 생물학적 활성에 관한 관련 측정은 본 발명의 펩티드의 활성의 측정으로서 결정될 수 있다.

<288> 다수의 특이적 변화를 서술한다. 예로서, 2가지 변화를 병용하여, 원래의 단일 변화가 활성을 유의하게 증진시키지 않은 경우에서조차 변화의 병용에 의해 추가의 활성 증진을 수득하였음을 나타내었다. 단일 화학적 변화시켜 모 화합물 Y-I-R-L-P(K_i=5.3 μM)와 비교하여, K_i가 0.49 μM인 Ac-Y-I-R-L-P 및 K_i가 2.6 μM인 (iBu)Y-I-R-L-P를 제조하였다. 이들 2가지 변화를 병용함으로써 K_i가 0.04 μM인 Ac-(iBu)Y-I-R-L-P-NH₂를 제조하였다. 따라서, 이들 결과는 (iBu)Y-I-R-L-P-NH₂와 같은 하나의 모 화합물이 모 Y-I-R-L-P-NH₂와 비교하여 활성이 유의하게 증진하지 않은 경우에서조차, 2가지 화학 변화의 병용하는 본 발명의 펩티드가 상응하는 단일 변화 동족체와 비교하여 인자 Xa 억제 활성이 실질적으로 증진할 수 있음을 나타낸다.<289> 표 3은 특이적 화학적 개질이 인자 Xa 억제에 대한 K_i 값이 100 μM - 1pM인 화합물을 결과함을 예시한다.

$K_i < 100 \mu\text{M}$ 의 인자 Xa 억제제

화학식	MS [*]	AA [*]
(2,2-DiMe-프로필)Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
(2-CF ₃ -Bzl)Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
(2-Et-nBu)Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
(2-Me-Bzl)Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
(2-Me-nBu)Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
(2-Me-n펜틸)Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
(3,3-DiMe-nBu)Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
3-페녹시프로프리오닐 -Y-Chg-R-NH ₂	OK	OK
5-Bzim-CO-Chg-R-L-P-NH ₂	OK	OK
5-Bzim-CO-F(pNH ₂)-Chg-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Y(3,5-Br)-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Y(3,5-I)-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
(Chx-CH ₂)Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
(iBu)Y-I-R-OH	OK	OK
(iBu)Y-I-R-L-A-NH ₂	OK	OK
(iBu)Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
(Me)y-I-R-L-A-NH ₂	OK	OK
(Me)Y-I-R-L-A-NH ₂	OK	OK
(Me)y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
(Me)Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
5-Hic-Chg-R-NH ₂	OK	OK
Ac-(1,2,3,6-4H-Bzl)Y(SO ₃ H)-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-(1,2,3,6-4H-Bzl)Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-(2,3-DiMe-n펜틸)Y(SO ₃ H)-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-(2,3-DiMe-n펜틸)Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-(2-CF ₃ -Bzl)Y(SO ₃ H)-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-(2-CF ₃ -Bzl)Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-(2Et-nBu)Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-(2-Me-Bzl)Y(SO ₃ H)-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-(2-Me-Bzl)Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK

Ac-(2-Me-nBu)Y(SO ₃ H)-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-(2-Me-nBu)Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-(2-Me-n펜틸)Y(SO ₃ H)-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-(2-Me-n펜틸)Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-(3,3-DiMe-nBu)Y(SO ₃ H)-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-(3,3-DiMe-nBu)Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-(3,3-DiMe-n펜틸)Y(SO ₃ H)-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-(3,5,5-Me-3-n헥실)Y-I-R-NH ₂	OK	OK
Ac-(3,5,5-Me-3-n헥실)Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-(4-피리딜-CH ₂ -)Y-I-R-NH ₂	OK	OK
Ac-(4-MeO-Bzl)Y-I-R-NH ₂	OK	OK
Ac-(Bzl)Y-I-R-NH ₂	OK	OK
Ac-(Chx-CH ₂)Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-(시클로프로필-CH ₂)Y(SO ₃ H)-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-(시클로프로필-CH ₂)Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-(Et-CH=C(CH ₃)-CH ₂)Y(SO ₃ H)-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-(Et-CH=C(CH ₃)-CH ₂)Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-(iBu)F(pNH ₂)-Chg-R-NH ₂	OK	OK
Ac-(iBu)F(pNH ₂)-Chg-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-(iBu)Nal(2)-Chg-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-(iBu)Y-Chg-R-NH ₂	OK	OK
Ac-(iBu)Y-Chg-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-(iBu)Y-I-Dab(N ¹ -C ₃ H ₇ N)-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-(iBu)Y-I-Orn(N ⁴ -C ₃ H ₇ N)-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-(iBu)Y-I-R-NH ₂	OK	OK
Ac-(iBu)Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-(Me)Y-Chg-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-(Me)Y-I-R-L-A-NH ₂	OK	OK
Ac-(Me)Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-(nBu)Y-I-R-NH ₂	OK	OK
Ac-(트랜스-CH ₃ -CH=C(CH ₃)-CH ₂)Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-Tyr(3,5-NO ₂)-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-(Bzl)G-(Chx)Gly-(3-구아니도프로필)G-NH ₂	OK	OK
Ac-βAla-Y-I-R-G-NH ₂	OK	OK
Ac-E-Y-I-R-L-K-NH ₂	OK	OK

Ac-E-Y-I-R-L-P-K-NH ₂	OK	OK
-Ac-F(pCONH ₂)-Chg-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-F(pCONH ₂)-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-F(pF)-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-f(pF)-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-F(pCN)-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-F(pNH ₂)-Chg-R-NH ₂	OK	OK
Ac-F(pNH ₂)-Chg-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-F(pNH ₂)-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-F(pNH ₂)-Chg-R-(Bzl)G-G-OH	OK	OK
Ac-F(pNH ₂)-Chg-R-(Chx)G-G-OH	OK	OK
Ac-F(pNH ₂)-Chg-R-(CH ₂ CH ₂ CH ₂ (CH ₃))G-G-OH	OK	OK
Ac-G-G-Y-I-R-G-NH ₂	OK	OK
Ac-G-Y-Nle-R-L-NH ₂	OK	OK
Ac-G-y-Nle-R-L-NH ₂	OK	OK
Ac-G-Y-I-R-G-NH ₂	OK	OK
Ac-G-Y-I-R-L-NH ₂	OK	OK
Ac-Nal(1)-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-Nal(2)-Cha-R-D(O-알릴)-NH ₂	OK	OK
Ac-Nal(2)-Cha-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-Nal(2)-Chg-R-NH ₂	OK	OK
Ac-Nal(2)-Chg-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-Nal(2)-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-Pgl(OH)-I-R-L-NH ₂	OK	OK
Ac-pAph-Chg-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-pAph-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-Phe(pGua)-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-S-Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-W-Chg-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-W-L-R-L-A-NH ₂	OK	OK
Ac-Y(Me)-I-R-L-A-NH ₂	OK	OK
Ac-Y(Me)-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-Y-(알로-I)-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-Y-Cha-R-L-P-NH ₂	OK	OK

Ac-Y-Chg-R-NH ₂	OK	OK
Ac-Y-Chg-R-NH-CH ₂ CH ₂ -N(CH ₃) ₄	OK	OK
Ac-Y-Chg-R-NH-Bzl-4-OMe	OK	OK
Ac-Y-Chg-R-NH-CH ₂ -Chx	OK	OK
Ac-Y-Chg-R-NH-CH ₂ CH ₂ -N(CH ₃) ₂	OK	OK
Ac-Y-Chg-R-NH-CH ₂ CH ₂ -O-CH ₃	OK	OK
Ac-Y-Chg-R-NH-CH ₂ CH ₂ -COOH	OK	OK
Ac-Y-Chg-R-NH-Chx	OK	OK
Ac-Y-Chg-R-NH-CH ₂ (2-(1-Et) 피롤리딘)	OK	OK
Ac-Y-Chg-R-NH-CH ₂ (2-(6-EtO) 벤질티아졸릴)	OK	OK
Ac-Y-Chg-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-Y-Chg-R(NO ₂)-{Ψ(CH ₂ NH)}-L-NH ₂	OK	OK
Ac-Y-Nva-R-NH ₂	OK	OK
Ac-Y-Pen(Me)-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-Y-Pgl-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-Y-{Ψ(CH ₂ N(Ac))}-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-Y-{Ψ(CH ₂ NH)}-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-Y-I-R-{Ψ(COCH ₂)}-G-P-NH ₂	OK	OK
Ac-Y-I-Dab(N ⁺ -C ₂ H ₅ N)-L-A-NH ₂	OK	OK
Ac-Y-I-hR-L-A-NH ₂	OK	OK
Ac-Y-I-nR-L-A-NH ₂	OK	OK
Ac-Y-I-PalMe(3)-NH ₂	OK	OK
Ac-Y-I-PalMe(3)-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-Y-I-{Ψ(CH ₂ NH)}-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-y-I-R-NH ₂	OK	OK
Ac-Y-I-R-NH ₂	OK	OK
Ac-Y-I-R-N(Me)O-CH ₃	OK	OK
Ac-Y-I-R-NH-CH ₂ -4- 피리딜	OK	OK
Ac-Y-I-R-NH-CH ₂ CH ₂ -N(CH ₃) ₂	OK	OK
Ac-Y-I-R-NH-4- 모르폴리딘	OK	OK
Ac-Y-I-R-NH-OCH ₃	OK	OK
Ac-Y-I-R-Nle-Hyp	OK	OK
Ac-Y-I-R-Nle-Δ ² P	OK	OK
Ac-Y-I-R- 피페리딜	OK	OK
Ac-Y-I-R-I	OK	OK

Ac-Y-I-R-I-P	OK	OK
Ac-Y-I-R-L	OK	OK
Ac-y-I-R-L-A	OK	OK
Ac-Y-I-R-L-A	OK	OK
Ac-Y-I-R-L-A-A-F-T-NH ₂	OK	OK
Ac-y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-Y-I-R-L-P-Dab(Ac-Y-I-R-L-P(G-A) ₃)-OH	OK	OK
Ac-Y-I-R-L-P-Dab(Ac-Y-I-R-L-P(G-A) ₄)-OH	OK	OK
Ac-Y-I-R-L-P-Dab(Ac-Y-I-R-L-P)-OH	OK	OK
Ac-Y-I-R-P-NH ₂	OK	OK
Ac-Y-K-R-L-E-NH ₂	OK	OK
Ac-Y-N-R-L-NH ₂	OK	OK
Ac-Y-N-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Ac-Y-T(Me)-R-L-P-NH ₂	OK	OK
<u>βAla-Y-I-R-G</u>	OK	OK
βAla-Y-I-R-G-NH ₂	OK	OK
Caff-I-R-NH ₂	OK	OK
Cbz-I-R-L-NH ₂	OK	OK
Cbz-Y-I-R-NH ₂	OK	OK
CClF ₂ -CO-Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
CF ₂ H-CO-Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
CF ₃ -CF ₂ CO-Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
CH ₃ -CHCl ⁴ CO-Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
CH ₃ -O-CO-Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
CH ₃ -SO ₂ -Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
CH ₂ CH ₂ -O-CO-Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Cl ₂ CHCO-Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
ClCH ₂ CO-Y-I-R-NH ₂	OK	OK
<u>C-Y-I-R-L-C-NH₂</u>	OK	OK
D-Tic-I-R-L-A-A-F-T-NH ₂	OK	OK
Et(Et)Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
<u>E-Y-I-R-K-NH₂</u>	OK	OK
<u>E-Y-I-R-L-K-NH₂</u>	OK	OK
<u>E-Y-I-R-L-P-K-NH₂</u>	OK	OK

F(pCl)-I-R-I-Sar-NH ₂	OK	OK
F(pF)-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
f(pF)-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
F(pNH ₂)-I-R-L-A-NH ₂	OK	OK
F(pNO ₂)-I-R-L-A-NH ₂	OK	OK
f-I-R-F-P-NH ₂	OK	OK
f-I-R-I-P-NH ₂	OK	OK
F-I-R-L-NH ₂	OK	OK
F-I-R-L-P-H-Y-G-NH ₂	OK	OK
F-I-R-L-Y-V-W-N-NH ₂	OK	OK
For-y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
For-Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
G-G-Y-I-R-G-NH ₂	OK	OK
G-Y-I-R-D-NH ₂	OK	OK
G-Y-I-R-F-NH ₂	OK	OK
G-Y-I-R-G-NH ₂	OK	OK
<u>G-Y-I-R-G</u>	OK	OK
G-Y-I-R-H-NH ₂	OK	OK
G-Y-I-R-I-NH ₂	OK	OK
G-Y-I-R-K-NH ₂	OK	OK
G-Y-I-R-L-NH ₂	OK	OK
G-Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
G-Y-I-R-L-P-A-M-NH ₂	OK	OK
G-Y-I-R-L-P-P-V-NH ₂	OK	OK
G-Y-I-R-L-P-Q-T-NH ₂	OK	OK
G-Y-I-R-L-P-S-Q-NH ₂	OK	OK
G-Y-I-R-S-NH ₂	OK	OK
G-Y-I-R-T-NH ₂	OK	OK
G-Y-I-R-V-NH ₂	OK	OK
G-Y-I-R-W-NH ₂	OK	OK
G-Y-I-R-Y-NH ₂	OK	OK
(pOH)C ₆ H ₄ -CH ₂ CH ₂ (OH)-CO-I-R-L-Sar-NH ₂	OK	OK
(pOH)C ₆ H ₄ -CH ₂ CH ₂ CO-I-R-L-A-NH ₂	OK	OK
(pOH)C ₆ H ₄ -CH ₂ CH ₂ CO-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
(pOH)C ₆ H ₄ -CH ₂ CHOH-CO-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK

(pOH)C ₆ H ₄ -OCH(CH ₃)CO-I-R-L-P-NH ₂ ,	OK	OK
(pOH)C ₆ H ₄ -OCH ₂ CO-I-R-L-P-NH ₂ ,	OK	OK
I-H-L-W-Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
I-H-L-W-y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
I-Q-L-G-Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
4-MeO-C ₆ H ₄ -CO-I-R-L-A-NH ₂	OK	OK
N- 모르폴리닐 -CO-F-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Nal(2)-Cha-R-D(O- 알릴)-NH ₂	OK	OK
Nal(2)-Cha-R-D(O- 알릴)-Sar-NH ₂	OK	OK
Nal(2)-Chg-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Nal(2)-I-R-C(Me)-P-NH ₂	OK	OK
N-G-Y-I-R-L-I-H-NH ₂	OK	OK
pal-C(SBut)-R-L-P-NH ₂	OK	OK
pal-I-R-C(SBut)-Hyp-NH ₂	OK	OK
pal-I-R-C(SBut)-P-NH ₂	OK	OK
Pgl(OH)-I-R-L-NH ₂	OK	OK
Ph-C(NOCH ₂ Ph)-CO-I-R-NH ₂	OK	OK
Ph-CH=CH-CO-I-R-L-A-NH ₂	OK	OK
Ph-CH ₂ CH ₂ CH ₂ -CO-I-R-L-A-NH ₂	OK	OK
Ph-CH ₂ CH ₂ CO-I-R-L-A-NH ₂	OK	OK
Pth-Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
S-Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Tfa-(iBu)F(pNH ₂)-Chg-R-NH ₂	OK	OK
Tfa-(iBu)F ₂ (pNH ₂)-Chg-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Tfa-(iBu)Nal(2)-Chg-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Tfa-(iBu)Y-Chg-R-NH ₂	OK	OK
Tfa-(iBu)Y-Chg-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Tfa-(iBu)Y-I-Dab(N ⁺ -C ₆ H ₅ ,N)-L-P-NH ₂	OK	OK
Tfa-(iBu)Y-I-Orn(N ⁺ -C ₆ H ₅ ,N)-L-P-NH ₂	OK	OK
Tfa-(iBu)Y-I-PalMe(3)-NH ₂	OK	OK
Tfa-(iBu)Y-I-R-NH ₂	OK	OK
Tfa-(iBu)Y-I-R-OH	OK	OK
Tfa-(iBu)Y-I-R-G-NH ₂	OK	OK
Tfa-(iBu)Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Tfa-(Me)Y-I-R-L-A-NH ₂	OK	OK

Tfa-Y(Me)-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Tfa-Y-Chg-R-NH ₂	OK	OK
Tfa-Y-Chg-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Tfa-y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Tfa-Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
T-F-G-Y-I-R-K-A-NH ₂	OK	OK
Tos-Y-I-R-NH ₂	OK	OK
Tos-G-I-R-V-Sar-NH ₂	OK	OK
Tyr(Me)-I-R-L-A-NH ₂	OK	OK
W-F-R-E-M-G-G-G-G-NH ₂	OK	OK
W-I-R-E-K-NH ₂	OK	OK
W-I-R-N-P-NH ₂	OK	OK
W-I-R-T-P-NH ₂	OK	OK
W-L-R-L-A-NH ₂	OK	OK
W-L-R-L-A-NH ₂	OK	OK
W-L-R-L-A-G-G-G-G-NH ₂	OK	OK
W-L-R-V-A-NH ₂	OK	OK
w-L-R-V-A-NH ₂	OK	OK
W-L-R-V-A-G-G-G-G-NH ₂	OK	OK
γ(Me)-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
y-Chg-R-NH ₂	OK	OK
y-Chg-R-L-NH ₂	OK	OK
y-Chg-R-L-P-NH ₂	OK	OK
y-Tle-R-Nle-P-NH ₂	OK	OK
y-Tle-R-Nle-Δ ² P-NH ₂	OK	OK
Y-I-(nR)-L-A-NH ₂	OK	OK
y-I-R(COCH ₂)-G-P-NH ₂	OK	OK
y-I-R-NH ₂	OK	OK
Y-I-R-NH ₂	OK	OK
Y-I-R-E-F-S-D-Y-NH ₂	OK	OK
Y-I-R-G-A-NH ₂	OK	OK
Y-I-R-I-NH ₂	OK	OK
Y-I-R-I-Y-NH ₂	OK	OK
Y-I-R-I-Y-E-R-E-NH ₂	OK	OK
Y-I-R-L-NH ₂	OK	OK

Y-I-R-L-A-NH ₂	OK	OK
Y-I-R-L-a-NH ₂	OK	OK
Y-I-R-L-A-NH ₂	OK	OK
Y-I-R-L-A-A-NH ₂	OK	OK
Y-I-R-L-A-A-F-NH ₂	OK	OK
Y-I-R-L-A-A-F-T-NH ₂	OK	OK
Y-I-R-L-M-E-M-T-NH ₂	OK	OK
Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Y-I-R-L-P-NH ₂	OK	OK
Y-I-R-L-P-G-L-L-NH ₂	OK	OK
Y-I-R-L-T-K-M-W-NH ₂	OK	OK
Y-I-R-V-A-Q-L-Y-NH ₂	OK	OK
Y-I-R-V-M-N-H-R-NH ₂	OK	OK
Y-I-R-Y-R-N-P-I-NH ₂	OK	OK
Y-R-Y-P-R-D-R-N-NH ₂	OK	OK
Y-L-R-F-P-NH ₂	OK	OK

<300> * MS, 질량 분광술: AA, 아미노산 분석.

<301> ** -은 펩티드의 고리화된 부분을 나타낸다.

<302> 실시에 XXXVII

<303> 선택된 정제시킨 응고 효소 및 기타 세린 프로테아제의 시험관내 억제

<304> 인자 Xa, 트롬빈, 플라스민, 엘라스타제 및 트립신을 억제시킬 수 있는 본 발명의 화합물의 능력은 효소 활성을 50 %까지 억제하는 YIR 펩티드의 농도(IC₅₀)를 측정함으로써 평가하였다. 정제된 효소를 색원체 분석에서 사용하였다. 억제 상수를 결정하기 위하여, 하기 등식을 이용하여 기질과의 경쟁에 대한 IC₅₀ 값을 보정하였다 (본 명세서에서 참조로서 인용하는 문헌 (참조: Chen 및 Prusoff, Biochem Pharmacol. 22: 3099-3018 (1973)):

<305> $K_i = IC_{50} \times (1 / \{1 + ((\text{기질 농도}) / \text{기질 } K_m)\})$

<306> a. 인자 Xa 분석

<307> 본 분석을 위해 TBS-P 완충액 (50 mM 트리스-Cl, pH 7.8, 200 mM NaCl, 0.05%(w/v) PEG-8000, 0.02% (w/v) NaN₃)을 사용하였다. IC₅₀은 코스타 (Costar) 절반 영역 (half-area) 미량역가 플레이트의 적절한 웰에서 TBS-P중의 25 μl 인간 인자 Xa (Enzyme Research Laboratories, Inc.; South Bend IN); TBS-P 중의 40 μl 10%(v/v) DMSO(억제되지 않은 대조군) 또는 TBS-P 중의 10% (v/v) DMSO 중의 희석된 시험하려는 여러 농도의 펩티드; 및 TBS-P 중의 기질 S-2765 (Nα-벤질옥시카르보닐-D-Arg-Gly-L-Arg-p-니트로아닐리드; Kabi Pharmacia, Inc.; Franklin OH)를 혼합시킴으로써 결정하였다.

<308> 분석은 펩티드 억제제 및 효소를 10분 동안 예비인큐베이션시킨 다음, 기질을 가하여 최종 용량 100 μl를 수득함으로써 분석을 개시하였다. 색원체 기질 가수분해의 초기 속도는 시간 경과와 선형 부분 (동상 기질의 첨가 후 1-5분) 동안 25°C에서 비오-텍 기구 운동판 판독기 (Bio-tek Instruments kinetic plate reader: Ceres UV900HDi)를 사용하여 405 nm에서 흡광도 변화에 의해 측정하였다. 기질 가수분해율의 50% 저하를 초래하는 억제제 농도는 (억제되지 않은 대조군과 비교하여) 가수분해의 비교율 대 농도의 로그값을 기입한 후 선형 회귀에 의해 예측되었다. 효소 농도는 0.5nM이었고 기질 농도는 140 μM이었다.

<309> b. 트롬빈 분석

<310> 본 분석을 위해 TBS-P 완충액을 사용하였다. IC₅₀은 기질이 S-2366(L-피로Glu-L-Fro-L-Arg-p-니트로아닐리드; Kabi)이고 효소가 인간 트롬빈 (Enzyme Research Laboratories, Inc.; South Bend IN)이었음을 제외하고는, 실시에 XXXVII.a.에 기술한 바와 같이 측정하였다. 효소 농도는 1nM이었고 기질 농도는 175 μM이었다.

<311> c. 플라스민 분석

<312> 본 분석을 위하여 TBS-P 완충액을 사용하였다. IC₅₀은 기질이 S-2251 ((D)-Val-L-Leu-L-Lys-p-니트로아닐리드; Kabi)이었고 효소가 인간 플라스민(Kabi)이었음을 제외하고는, 실시에 XXXVII.a.에 기술한 바와 같이 측정하였다. 효소 농도는 5nM이었고 기질 농도는 300 μM이었다.

<313> d. 트립신 분석

<314> 본 분석을 위하여 10mM CaCl₂를 함유하는 TBS-P 완충액을 사용하였다. IC₅₀ 결정은 기질이 BAPNA (벤조일-L-Arg-p-니트로아닐리드; Sigma Chemical Co., St. Louis MO)이었고 효소가 소의 췌장 트립신 (TPCK 처리된 타입 XIII; Sigma)이었음을 제외하고는, 실시에 XXXVII.a.에 기술한 바와 같이 측정하였다.

효소 농도는 50nM이었고 기질 농도는 300 μ M이었다.

<315>

e. 엘라스타제 분석

<316>

본 분석을 위하여 트리스-Cl, pH 7.4, 300 mM NaCl, 2% (v/v) N-메틸-피롤리돈, 0.01%(w/v) NaN_3 완충액을 사용하였다. IC_{50} 은 기질이 속시닐-Ala-Ala-Ala-p-니트로아닐리드 (Calbiochem-Nova Biochem Corp.; San Diego CA)이었고 효소가 인간 호중구 엘라스타제 (Athens Research and Technology, Inc.; Athens GA)이었음을 제외하고는, 실시예XXXVII.a.에 기술한 바와 같이 측정하였다. 효소 농도는 75 nM이었고 기질 농도는 600 μ M이었다.

<317>

가역성 인자 Xa 억제제 (참조: 각각이 본 명세서에서 참조로서 인용하는 문헌(참조: Sturzebecher 등, Thromb. Res. 54: 245-252 (1989)))인 대조 화합물 "TENSTOP" (N-알파-토실-Gly-p-아미 디노페닐알라닌 메틸 에스테르; American Diagnostica, Inc.; Greenwich CT)과 비교하여 선택된 시험 화합물의 K_i 값은 상기 표2에 나타났다. 결과는 본 발명의 Y1R 펩티드가 인자 Xa의 활성을 억제시킬 수 있지만 혈액 응고 및 섬유소 용해의 과정에 관여하는 트롬빈 및 플라시민을 포함하는 기타 각종 세린 프로테 아제의 활성은 실질적으로 억제시키지 않음을 나타내었다.

<318>

실시예 XXXVIII

<319>

응고의 억제를 측정하기 위한 분석

<320>

본 발명의 화합물을 인자 Xa의 활성을 억제시킬 수 있는 이들의 능력에 대해 분석하였다. 각종 화합물의 효능은 풀링된 (pooled) 인간 공급체 혈장을 사용하여 시험관내 프로트롬빈 시간 (PT) 분석에 의해 평가하였다. 생체의 분석은 또한 화합물을 래트에게 또는 토끼에게 정맥내 (iv) 투여한 후 또는 래 트에게 십이지장내 투여한 후 여러 시간에서 수집한 혈장을 이용하였고 PT 분석을 이용하여 혈장 반감기 를 측정하여 분석하였다. PT분석은 이하 기술한 바와 같은 "묶은 PT 분석"으로 언급된 연장되고 고도로 재생산 가능한 응고 단점 (endpoint)을 수득하기 위해 선택된 트롬보플라스틴 희석물로 개시하였다. 각종 화합물의 효능은 또한 혈전증의 생체내 래트 동정맥 선트 (shunt) 모델을 사용하여 측정하였다.

<321>

a. 시험관내 묶은 프로트롬빈 시간 분석

<322>

100 μ l 미리 가온시킨 (37°C) 풀링된 인간 혈소판 결핍 혈장 (PPP)을 피브로미터 컵 (fibrmmeter cup) (Baxter Diagnostics., Inc.; McGaw Park IL.)에 가하였다. 칼슘을 함유하는 TBS-BSA (50mM 트리스-Cl, 100mM NaCl, 0.1% (w/v) 소의 혈청 알부민, 20 mM CaCl_2) 중의 여러 농도의 시험 화합물 50 μ l를 가하였다. 대조시험에서, 억제되지 않은 응고 시간의 측정을 위해, 칼슘을 함유하지만 시험 화합물은 함유하 지 않는 TBS-BSA를 가하였다. 칼슘을 함유하는 묶은 미리 가온된 토끼 트롬보플라스틴 (Baxter) 150 μ l를 피브로미터 컵에 가하였고 피브로미터 타이머를 시동시켰다. 토끼 트롬보플라스틴 희석 곡선은 화합물의 시험 이전에 수득하였고 이를 이용하여, 억제되지 않은 대조군에 대해 약 30초 PT 시간을 허용하는 트롬 보 플라스틴 희석을 선택했다. 시험 화합물에 의해 50% 응고 억제를 제공하는 실험농도 (EC50)는 희석 곡 선 시간으로부터 계산하였다.

<323>

별법으로, 묶은 프로트롬빈 시간 분석은 "연구" 양태를 이용하여, 인스트루멘테이션 래보레이토 리스 (IL) ACL3000- 및 자동화된 응고 기구 (IL, Milan, Italy) 상에서 수행하였다. 트롬보플라스틴을 혈 액 응고 시간 30-35초가 달성되었을 때까지 희석시켰다. 이 혈액 응고 시간은 100%활성으로서 취하였다. 보정을 위한 표준 곡선은 묶은 트롬보플라스틴 시약 (토끼 뇌 IL-품명 트롬보플라스틴)의 계단식 2배 희 석에 의해 설정되었다. 분석 동안에, 50 μ l 시료 (원심 분리에 의해 분리된 혈장)를 100 μ l 트롬보플라스 틴 시약과 혼합시켰고 비탁계 판독은 169초에 걸쳐 수행하였다. 응고 시간은 기구에 의해 계산된 광 산란 의 최대 변화율로부터 결정하였다. 억제는 보정 곡선과 비교하여 결정된 바와 같은 활성(%)으로 표현된다.

<324>

b. 생체외 묶은 프로트롬빈 시간 분석

<325>

승인된 프로토콜에 따라 시험 화합물은 꼬리 정맥 (래트) 또는 귀 정맥(토끼)중 하나를 통해 정 맥내 투여하였다. 시험 화합물을 투여한 후 일정한 시간 간격마다 캐놀라를 삽입한 경동맥 (래트) 또는 심방 동맥 (토끼)으로부터 1 ml씩의 혈액 시료를 취하였다. 원심 분리하여 PPP를 수득한 후, 혈장을 즉시 얼음 상에 저장시키거나 동결시켰다.

<326>

묶은 프로트롬빈 시간 결정을 위해, 혈장은 상기 기술한 바와 같이 미리 가온 및 분석하였다. 억 제율(%)은 일련의 시료 각각을 사용하여 측정된 트롬보플라스틴 희석 곡선으로부터 계산하였고, 이를 이 용하여 약 50%의 초기 항응고 활성이 혈장 내에 잔류하는 시간($T_{1/2}$)을 결정하였다. 본 실험의 결과는 본 발명의 Y1R 펩티드가 시험관 내에서 및 생체내 투여 후에 혈액 응고를 억제시킬 수 있음을 나타낸다 (참조: 표 4).

표 4

선택된 억제제의 활성 및 반감기

화학식	EC ₅₀ 폴링된 인간 시험관내	T _{1/2}	
		랫 생체의	토끼 생체의
Ac-Y-Chg-R-NH ₂	2.5 μM	5분	5분
Ac-Y-Chg-R-L-P-NH ₂	225 nM	5분	5분
Ac-Nal(2)-Chg-R-L-P-NH ₂	140 nM	6분	5분
Tfa-(iBu)Y-Chg-R-L-P-NH ₂	300 nM	15분	10분

<328>

또한, 각종 화합물을 사용하여 래트에서 각종 투여량의 정맥내 농축과 투여를 수반하는 생체의 묶은 프로트롬빈 시간 분석법을 이용하여 항응고 활성에 대해 시험하였다. 표 5에 기재된 화합물은 나타낸 화합물 ≤2 mg/kg의 투여 후 10분에 30 % 이상이 억제를 나타내었다. 이들 결과는 본 발명의 각종 YIR 펩티드 각각이 실질적 항응고 활성을 가짐을 나타낸다. 표 5에 기재된 모든 화합물의 화학식은 MS 및 AA에 의해 확인하였다.

 ㉚ 5

1. Ac-pAph-Chg-PalMe(3)-NH-CH₂-Chx
 2. Ac-pAph-Chg-PalMe(3)-NH-2CMT
 3. Ac-pAph-Chg-PalMe(3)-NH-Chx
 4. Ac-F(pNH₂)-Chg-Dab(N⁷-C₂NH₂)-L-P-NH₂
 5. Bz-F(pNH₂)-Chg-R-L-P-NH₂
 6. Tos-F(pNH₂)-Chg-R-L-P-NH₂
 7. Ac-Y(3-I)-Chg-R-L-P-NH₂
 8. Ac-pAph-Chg-AMP(4)
 9. γ-Chg-R-L-NH₂
 10. Ac-F(pNH₂)-Chg-R-ol
 11. 시클로펜틸 -CO-pAph-Chg-PalMe(3)-NH₂
 12. 3-Igc-pAph-Chg-PalMe(3)-NH₂
 13. Bzf-pAph-Chg-PalMe(3)-NH₂
 14. 3-Igc-F(pNH₂)-Chg-R-L-P-NH₂
 15. Ac-F(pNH₂)-Chg-R-티아졸릴
 16. 2-푸로일 -pAph-Chg-PalMe(3)-NH₂
 17. 5-Me-티에닐 -CO-pAph-Chg-PalMe(3)-NH₂
 18. Ac-Nal(2)-Chg-R-티아졸릴
 19. 2-Bzf-f(pNH₂)-Chg-R-L-P-NH₂
 20. Ac-pAph-Chg-Dab(N⁷-C₂NH₂)-L-P-NH₂
 21. Ac-Orn-Nal(2)-Chg-PalMe(3)-Sar-E-NH₂
 22. Ac-Phe(3-I, 4-NH₂)-Chg-R-L-P-NH₂
 23. Ac-(iBu)pAph-Chg-R-L-P-NH₂
 24. Ac-pAph-Chg-R-Gla-P-NH₂
 25. Ac-pAph-Chg-R-Pen(CH₂COOH)-P-NH₂
 26. Ac-pAph-Chg-R-L-P-NH₂
 27. Ac-F(pNH₂)-Chg-R-(Me)L-P-NH₂
 28. Ac-F(pNH₂)-Chg-R-OEt
 29. Ac-F(pNH₂)-Chg-Orn(N⁶-C₂H₇N)-L-P-NH₂
 30. Ac-F(pNH₂)-Chg-R-L-P-NH₂

 31. Ac-Nal(2)-Chg-R-L-P-NH₂
 32. Ac-pAph-Chg-Dab(N⁷-C₂H₇N)
 33. Ac-pAph-Chg-PalMe(3)-NH₂
 34. Ac-pAph-Chg-PalMe(3)-L-P-NH₂
 35. Ac-pAph-Chg-R-NH₂
 36. Ac-pAph-Chg-R-OH
 37. Ac-Y-Chg-R-NH-Nip-NH₂
 38. Ac-K-Nal(2)-Chg-R-HVP-E-NH₂
 39. DIPA-pAph-Chg-R-L-P-NH₂
 40. DIPA-mF(pNH₂)-Chg-R-L-P-NH₂
 41. Isn-F(pNH₂)-Chg-R-L-P-NH₂
 42. Pza-F(pNH₂)-Chg-R-L-P-NH₂
 43. Tfa-(iBu)F(pNH₂)-Chg-R-L-P-NH₂
 44. Tfa-(iBu)Y-Chg-R-L-P-NH₂
 45. Tfa-(iBu)Y-I-Orn(N⁶-C₂H₇N)-L-P-NH₂
-

<331>

* -은 화합물의 고리 부분을 나타낸다.

<332>

몇몇 실험에서, 시험 화합물은 심이지장내 투여 프로토콜을 사용하여 래트에게 투여하였다. 약 300 g 중량의 스프라그-다울리 (Sprague-Dawley) 래트 수컷은 승인된 프로토콜에 따른 케타민/크실라진 혼합물을 사용하여 피하로 마취시켰다. 우측 경동맥에는 혈액 시료 채취를 위해 캐놀라를 삽입했다. 개복술을 수행하였고 심이지장에는 볼팁 (ball-tip) 바늘을 사용하여 캐놀라를 삽입하였고 삽입점에서 먼곳에서 봉합되도록 묶었다. 삽입점과 인접한 곳을 추가로 묶어서 위의 내용물 누출을 방지시켰다. 화합물이 삽입 부위에 도달하지 않도록 방지하는 봉합 효과를 실험 각각의 종결 무렵에 압력 시험을 수행하여 시험하였다. 삽입점은 심이지장-위 연결부로부터 약 4 cm에 위치하였다. 화합물을 1 ml 통상의 염수 중에서 투여하였다. 0.7 ml 혈액 시료를 시험 화합물의 투여 전 및 투여 후 15분, 30분, 60분, 90분 및 120분에 취하였다. 혈장은 원심 분리에 의해 분리하였고 묽은 프로트롬빈 시간 분석을 이용하여 응고 억제에 대해 분석하였다.

<333>

하기 화합물은 ≤ 50 mg/kg 화합물을 심이지장내 투여했을 때의 묽은 프로트롬빈 시간 분석에서 30 % 이상의 억제를 나타내었다: Ac-pAph-Chg-PalMe(3)-NH-CH₂-Chx; Ac-pAph-Chg-PalMe(3)-NH-Chx; Bzf-pAph-Chg-PalMe(3)-NH₂; Ac-F(pNH₂)-Chg-R-L-P-NH₂; Ac-pAph-Chg-PalMe(3)-L-P-NH₂; Ac-pAph-Chg-PalMe(3)-NH₂; Ac-Aph-Chg-AMP(4); 시클로펜틸-CO-pAph-Chg-palMe(3)-NH₂; 3-lqc-pAph-Chg-PalMe(3)-NH₂; 2-푸로일-pAph-Chg-PalMe(3)-NH₂; 5-Me-티에닐-CO-pAph-Chg-PalMe(3)-NH₂, Ac-Y(3-1)-Chg-R-L-P-NH₂, Ac-F(pNH₂)-Chg-R-을 및 Ac-pAph-Chg-PalMe(3)-올.

<334>

c. 혈전증의 래트 동맥 정맥 션트 모델

<335>

본 발명의 각종 화합물의 항 혈전 효능은 래트 체외 동맥 정맥(AV) 션트를 이용하여 평가하였다. AV 션트 회로는 우측 경동맥에 삽입된 20 cm 길이의 폴리에틸렌 (PE) 60 관, 6.5 cm 길이의 광택 가공된 (mercerized) 면사 (5 cm는 혈류에 노출됨)를 포함하는 6 cm 길이의 PE 160 관, 및 좌측 경정맥으로 회로가 완결하는 제2 길이의 PE 60 관 (20 cm)으로 이루어졌다. 전체 회로에는 삽입 전에 통상의 염수를 충전했다.

<336>

시험 화합물은 주사기 펌프 및 나비형 카테터 (butterfly catheter)를 사용하여 꼬리 정맥으로 연속 주입 (주입 용량 1.02 ml/시)에 의해 투여하였다. 화합물을 30분 동안 투여한 다음 션트를 열어 혈액이 15분 동안 흐르도록 하였다 (총 45분 주입). 15분 기간이 끝나갈 무렵에 션트를 잠그고 실을 조심스럽게 제거하였고 분석용 저울 상에서 칭량하였다. 혈전 형성의 억제율(%)은 염수를 주입했던 대조군 래트로부터 수득한 혈전 중량을 이용하여 계산하였다.

<337>

하기 화합물은 ≤ 33 μ g/kg/분으로 주입했을 때 약 30 % 이상까지 혈전 성장을 억제시켰다: Ac-pAph-Chg-PalMe(3)-NH-CH₂-Chx; Ac-pAph-Chg-PalMe(3)-NH-Chx; Bzf-pAph-Chg-PalMe(3)-NH₂; Ac-pAph-Chg-PalMe(3)-L-P-NH₂; Ac-pAph-Chg-PalMe(3)-NH₂; Ac-pAph-Chg-AMP(4); 시클로펜틸CO-pAph-Chg-PalMe(3)-NH₂; 3-lqc-oAph-Chg-PalMe(3)-NH₂; 2-푸로일-pAph-Chg-PalMe(3)-NH₂; 5-Me-티에닐-CO-pAph-Chg-PalMe(3)-NH₂, Ar-pAph-Chg-PalMe(3)-올 및 Tos-F(pNH₂)-Chg-R-L-P-NH₂.

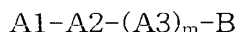
<338>

본 발명을 기재한 실시 양태와 관련하여 기술하였지만, 당업자라면 설명된 특정 실험이 단지 본 발명을 예시하기 위한 것임을 쉽게 이해할 것이다. 본 발명의 사상에서 벗어나지 않고도 여러가지 변형이 가능함을 이해해야 한다. 따라서, 본 발명은 단지 하기하는 청구의 범위에 의해서만 제한된다.

(57) 청구의 범위

청구항 1

인자 Xa의 활성을 특이적으로 억제하는 하기 화학식의 화합물:



상기 식에서,

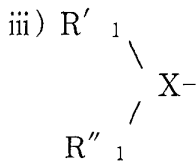
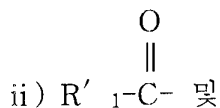
m은 0 또는 1이고;

A1은 R₁-R₂-R₃이고;

A2는 R₄-R₅-R₆이고;

A3은 R₇-R₈-R₉이고; 여기에서

R₁은 i) 1-20개의 아미노산.



로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기에서

X는 N, CH 및 NC=O로 이루어진 군으로부터 선택되고,

R'₁ 및 R''₁은 각각 H, 알킬, 아실, 아릴, 아릴알킬 및 아미노 보호기로 이루어진 군으로부터 선택되고,

R₁은 치환체에 의해 치환될 수 있고,

R₂는 -CR₉₉R₁₀₀-이고, 여기에서 R₉₉ 및 R₁₀₀은 각각 H, 알킬, 아릴알킬, 헤테로

아릴알킬 및 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기에서 R₉₉ 및 R₁₀₀은 각각 치환체에 의해 치환될 수 있고;

R₃은 -C(O)-, -CH₂-, -CHR₉₉-C(O)- 및 -C(O)-NR₃₅-CH₂-C(O)-로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기에서 R₃₅는 가교기 -C(O)-CR₅₅-의 CHR₅₅기이고;

R₄는 -CH₂- 및 -NR₅₀-으로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기에서 R₅₀은 H, 알킬, 아릴알킬 및 헤테로시클릭으로 이루어진 군으로부터 선택되고;

R₅는 -CR₂₀₁R₂₀₂-이고, 여기에서 R₂₀₁ 및 R₂₀₂는 각각 H, 알킬, 아릴 및 아릴알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기에서 R₂₀₁ 및 R₂₀₂는 각각 치환체에 의해 치환될 수 있고;

R₆은 -C(O)-, -CH₂- 및 -CHR₉₉-C(O)-로 이루어진 군으로부터 선택되고;

R₇은 -CH₂- 및 -NR₅₁- (여기에서, R₅₁은 H, 알킬, 아릴알킬, 헤테로알킬 및 헤테로아릴알킬이다), 및 Q 및 -(CH₂)_n-Q (여기에서, n은 1-5이고 Q는 치환체에 의해 치환될 수 있는 아미노, 아미디노, 이미다졸 및 구아니디노기로 이루어진 군으로부터 선택된다) 및 이들의 약제학적으로 허용가능한 염, 이소우레이드 또는 이소티오우레이드의 모노-, 디-, 트리- 또는 테트라-알킬암모늄으로 이루어진 군으로부터 선택된 치환체에 의해 치환된 이들 부분 중 임의의 것으로 이루어진 군으로부터 선택되고;

R₈은 -CR₂₁₀R₂₁₁- (여기에서, R₂₁₀ 및 R₂₁₁은 각각 H, 알킬, 알킬아릴 및 헤테로시클릭으로 이루어진 군으로부터 선택된다) 및 Q 및 -(CH₂)_n-Q (여기에서, n은 1-5이고 Q는 치환체에 의해 치환될 수 있는 아미노, 아미디노, 이미다졸 및 구아니디노기로 이루어진 군으로부터 선택된다) 및 이들의 약제학적으로 허용가능한 염, 이소우레이드 또는 이소티오우레이드의 모노-, 디-, 트리- 또는 테트라-알킬암모늄으로 이루어진 군으로부터 선택된 치환체에 의해 치환된 이들 부분 중 임의의 것으로 이루어진 군으로부터 선택되고;

R₉는 -C(O)-, -CH₂- 및 -CHR₉₉-C(O)-로 이루어진 군으로부터 선택되고;

m이 1인 경우, B는 1-20개의 아미노산, -NHR₅₂, -NR₆₀R₆₁, -OR₇₀ 및 -CHR₆₀R₆₁로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기에서 R₅₂는 H, 알킬, 아릴알킬, 헤테로아릴알킬 및 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택되고, R₆₀ 및 R₆₁은 각각 H, 알킬, 아릴알킬, 아릴, 헤테로아릴알킬 및 헤테로아릴로 이루어진 군으로부터 선택되고, R₇₀은 H, 아실, 알킬, 아릴알킬 및 헤테로아릴알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고;

m이 0인 경우, B는 아마이드 결합 또는 에스테르 결합에 의해 R₆과 결합된 1-20개의 아미노산, -OR₇₀, -NHR₅₂ 및 -NR₆₀R₆₁로 이루어진 군으로부터 선택되고;

B는 치환체에 의해 치환될 수 있고,

단, R₃이 -CH₂- 또는 -CHR₉₉-C(O)-인 경우, R₄는 NR₅₀ 이고;

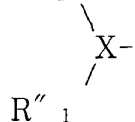
R₄가 -CH₂-인 경우, R₃은 -C(O)- 또는 -CHR₉₉-C(O)-이고;

R₄가 -CH₂-인 경우, R₃은 -C(O)- 또는 -CHR₉₉-C(O)-이고;

R₆이 -CH₂-인 경우, R₇은 -NHR₅₁-이고;

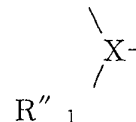
R₇이 CH₂인 경우, R₆은 -C(O)- 또는 -CHR₉₉-C(O)-이고;

R₄가 -NR₅₀-이고 R₁이 R' ₁ 인 경우, R₅₀ 및 R' ₁은 함께 화학식



C(O)-CHR₅₅-의 가교기를 형성하고, 여기에서 CHR₅₅는 R₅₀를 나타내고 카르보닐기는 R' ₁을 나타내고, R'' ₁ 및 R₅₅는 각각 H, C₁₋₆ 알킬 또는 아릴알킬이고;

R₃이 -C(O)-NR₃₅-CH₂-C(O)-인 경우, R₄는 -NR₅₀-이고, R₁은 R' ₁ 이고,



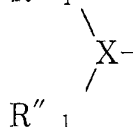
R₃₅ 및 R' ₁은 함께 화학식 -C(O)CHR₅₅-의 가교기를 형성하고, 여기에서 C(O)는 R' ₁을 나타내고 CHR₅₅는 R₃₅를 나타내고, R'' ₁ 및 R₅₅는 각각 H 또는 C₁₋₆ 알킬이다.

청구항 2

제1항에 있어서,

R₄는 -NR₅₀-이고,

R₁은 R' ₁ 이고,



R₅₀ 및 R' ₁은 함께 화학식 -C(O)-CHR₅₅의 가교기를 형성하고, 여기에서 R₅₅는 H이고;

R₁은 H 또는 메틸이고;

R₉₉ 및 R₁₀₀은 각각 H, 아릴알킬, 알킬 및 헤테로알킬로 이루어진 군으로부터 선택되거나 C₁₋₃이고, 여기에서 R₉₉ 및 R₁₀₀은 페닐, 티에닐, 티아졸릴, 피리딜, 나프

틸, 티오나프틸, 인돌릴 또는 포화 알킬, 알콕시, 모노알킬아미노, 디알킬아미노, 테트라알킬암모늄, 아릴알킬아미노, 아미노알킬아릴, 카르복시, 할로, 히드록시, 아미노, 아미도, 아미디노, 구아니디노, 트리 아졸릴 및 술폰닐로 이루어진 군으로부터 선택된 부분과 추가로 연결될 수 있고;

R₃은 -C(O)- 및 -C(O)-NR₃₅-CH₂-C(O)-로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 화합물.

청구항 3

제1항에 있어서, R₁₀과 R₁, R₉와 R₁, R₈과 R₁, R₅와 R₁, R₅와 R₂, R₅와 R₈ 및 R₅와 R₉로 이루어진 군 으로부터 선택된 2종의 잔기 사이에서 형성된 가교를 추가로 함유하고, 여기에서

상기 가교 구조물이 화학식 -CR₄₀₀R₄₁₀(X-Y)-R₅₀₀R₅₁₀C-로 이루어지며, 여기에서 R₄₀₀, R₄₁₀, R₅₀₀ 및 R₅₁₀은 H, 알킬, 시클로알킬, 아릴알킬 및 아릴로 이루어진 군으로부터 선택되고,

X 및 Y는 각각 탄소, 질소, 산소, 황, -CO-NH-, -CH₂-O-CH₂ 및 이들의 기능적 등가물로 이루어진 군 으로부터 선택되고; 여기에서

R₄₀₀, R₄₁₀, R₅₀₀ 및 R₅₁₀은 알킬기 및 헤테로 원자로 이루어진 군 으로부터 선택된 부분에 의해 치환 될 수 있는 것인 화합물.

청구항 4

제1항에 있어서, R' ₁ 및 R'' ₁은 각각 C₁₋₆ 알킬, -OCH₂-, -SCH₂-, >N-CH₂-, >N-C(O)-, -CO- 및 NY-CO-NZ로 이루어진 군 으로부터 선택된 치환체에 의해 치환되고, 여기에서

Y 및 Z는 각각 H, C₁₋₈ 알킬, C₅₋₁₂ 아릴알킬 및 헤테로아릴알킬로 이루어진 군 으로부터 선택된 것 인 화합물.

청구항 5

제1항에 있어서, R₂가 페닐, 티에닐, 티아졸릴, 피리딜, 나프틸, 티오나프틸, 인돌릴, 알킬, 알

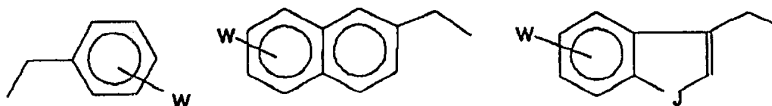
콕시, 모노알킬아민, 디알킬아민, 테트라알킬암모늄, 아릴알킬아미노, 아미노알킬아릴 및 카르복시로 이루어진 군으로부터 선택된 치환체에 의해 치환된 것인 화합물.

청구항 6

제5항에 있어서, R_2 가 알킬, 알콕시, 모노알킬아미노, 디알킬아미노, 테트라알킬암모늄, 아릴알킬아미노, 아미노알킬아릴, 카르복시, 할로겐, 히드록시, 아미노, 아미도, 아미디노, 구아니디노, 트리azole 및 술폰일로 이루어진 군으로부터 선택된 1-5개의 치환체에 의해 치환된 것인 화합물.

청구항 7

제1항에 있어서, R_{100} 이 H이고 R_{99} 는 화학식



로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기에서

W는 아민, 아마이드, 히드록실, 카르복실 및 아미디노에 의해 임의로 치환된 H, 아미노 및 저급 알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고;

J는 산소, 황, NH 및 NR로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기에서 R은 C_{1-6} 알킬, C_{5-12} 아릴알킬, C_{1-6} 알카노일 및 C_{5-12} 아릴로일로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 화합물.

청구항 8

제1항에 있어서, R_{50} 이 N-, O- 및 S-함유 부분으로 이루어진 군으로부터 선택된 치환체에 의해 치환된 것인 화합물.

청구항 9

제1항에 있어서, R_{50} 이 H, 알킬, 아릴알킬 및 헤테로아릴알킬로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 화합물.

청구항 10

제1항에 있어서, R_{201} 및 R_{202} 가 N-, O- 및 S-함유 부분으로 이루어진 군으로부터 선택된 치환체에 의해 추가로 치환된 것인 화합물.

청구항 11

제1항에 있어서, R_{202} 가 H이고 R_{201} 은 $\begin{matrix} \text{XR} \\ | \\ \text{C}_n \end{matrix}$ 및 $\begin{matrix} \text{XR} \\ | \\ \text{C}_n \end{matrix}$ (여기에서, X

는 C, N 또는 S이고, R은 헤테로 원자에 의해 치환될 수 있는 알킬 및 H로 이루어진 군으로부터 선택되고, n 은 1-5임)로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 화합물.

청구항 12

제1항에 있어서, R_{51} 이 N-, O- 및 S-함유 부분으로 이루어진 군으로부터 선택된 치환체에 의해 치환된 것인 화합물.

청구항 13

제1항에 있어서, R_{210} 또는 R_{211} 이 Q 및 $-(CH_2)_n-Q$ (여기에서 n 은 1-5임)로 이루어진 군으로부터 선택된 치환체에 의해 치환된 것인 화합물.

청구항 14

제1항에 있어서, R_{52} 가 N-, O- 및 S-함유 부분으로 이루어진 군으로부터 선택된 치환체에 의해 치환된 것인 화합물.

청구항 15

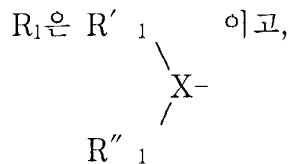
제1항에 있어서, R_{60} 및 R_{61} 이 각각 알킬에 의해 치환된 것인 화합물.

청구항 16

제1항에 있어서, R_{70} 이 알킬에 의해 치환된 것인 화합물.

청구항 17

제1항에 있어서,



R'_1 은 치환될 수 있는 1-6개의 아미노산, H, $-\text{CO}-R_a$, $-\text{SO}_2-R_a$ 및 아미노 보호기로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기에서 상기 1-6개의 아미노산의 N-말단은 H, $-\text{CO}-R_a$, $-\text{SO}_2-R_a$ 및 아미노 보호기로 이루어진 군으로부터 선택된 치환체에 의해 치환되고, 여기에서

R_a 는 알킬, 아릴 및 헤테로알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고;

R''_1 은 H, 아실 및 알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고;

X는 N이고;

R_2 는 $-\text{CHR}_{99}$ -이고, 여기에서 R_{99} 는 1-6개의 플루오로, 클로로, 브로모, 요오도, 아미노, 니트로, 아미디노, 아미도, 카르복시, 에스테르, 에테르 및 히드록시기로 이루어진 군으로부터 선택된 치환체에 의해 치환될 수 있는 헤테로아릴, 알킬, 아릴, 아릴알킬 및 헤테로알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고;

R_3 은 $-\text{C}(O)$ -이고;

R_4 는 $-\text{NH}$ -이고;

R_5 는 $-\text{CHR}_{201}$ -이고, 여기에서 R_{201} 은 알킬이고;

R_6 은 $-\text{C}(O)$ -이고;

R_7 은 $-\text{NH}$ -이고;

R_8 은 $-\text{CHR}_{210}$ -이고, 여기에서 R_{210} 은 정식 양전하 1개 이상을 갖는 헤테로알킬이고, 여기에서 헤테로 원자는 N이고;

R_9 는 $-\text{C}(O)$ -이고;

B는 $-\text{OR}_b$ 및 $-\text{N}-R_cR_d$ 로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기에서

R_b 는 H, 알킬 및 카르복시 보호기로 이루어진 군으로부터 선택되고,

R_c 는 H 및 알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고,

R_d 는 치환체에 의해 치환될 수 있는, 알킬, 헤테로알킬 및 1-20개의 아미노산으로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기에서

상기 화합물의 C-말단이 R_1 의 아미노기와 함께 형성된 2급 또는 3급 아마이드기로서 카르복시 보호기, 1급 아마이드기 또는 시클릭 펩티드의 일부에 의해 개질될 수 있는 것인 화합물.

청구항 18

제17항에 있어서, A1이 Tyr, F(pNH₂), mAph, pAph 및 NaI(2)로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 화합물.

청구항 19

제17항에 있어서, 화합물이 아미노 보호기를 함유하는 것인 화합물.

청구항 20

제17항에 있어서, A2가 Ile 및 Chg로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 화합물.

청구항 21

제17항에 있어서, A3이 Arg, PaIMe(3), Dab(N⁺-C₃H₇N), Dap(N^β-C₃H₇N) 및 Orn(N^δ-C₃H₇N)으로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 화합물.

청구항 22

제17항에 있어서,

A1은 아미노 보호기를 0 또는 1개 함유하는 NaI(2), Tyr, F(pNH₂), mAph 및 pAph로 이루어진 군으로부터 선택되고;

A2는 Ile 및 Chg로 이루어진 군으로부터 선택되고;

A3은 Arg, PalMe(3), Dab(N^ε-C₃H₇N), Dap(N^β-C₃H₇N) 및 Orn(N^δ-C₃H₇N)으로 이루어진 군으로부터 선택되고;

B는 -H, -OH, -NH₂, 1-5개의 아미노산 또는 이들의 기능적 등가물 및 카르복시 보호기로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 화합물.

청구항 23

제22항에 있어서, 화합물이

Ac-pAph-Chg-PalMe(3)-NH-CH₂-Chx;

Ac-pAph-Chg-PalMe(3)-NH-2CMT;

Ac-pAph-Chg-PalMe(3)-NH-Chx;

Ac-F(pNH₂)-Chg-Dab(N^γ-C₃NH₇)-L-P-NH₂;

Bz-F(pNH₂)-Chg-R-L-P-NH₂;

Tos-F(pNH₂)-Chg-R-L-P-NH₂;

Ac-Y(3-I)-Chg-R-L-P-NH₂;

y-Chg-R-L-NH₂;

Ac-F(pNH₂)-Chg-R-올;

시클로 펜틸-CO-pAph-Chg-PalMe(3)-NH₂;

3-Iqc-pAph-Chg-PalMe(3)-NH₂;

Bzf-pAph-Chg-PalMe(3)-NH₂;

3-Iqc-F(pNH₂)-Chg-R-L-P-NH₂;

Ac-F(pNH₂)-Chg-R-NH-2-티아졸릴;

2-푸로일-pAph-Chg-PalMe(3)-NH₂;

5-Me-2-티에닐-CO-pAph-Chg-PalMe(3)-NH₂;

Ac-Nal(2)-Chg-R-NH-2-티아졸릴;

2-Bzf-F(pNH₂)-Chg-R-L-P-NH₂;
 Ac-pAph-Chg-Dab(N^γ-C₃H₇N)-L-P-NH₂;
 Ac-(iBu)pApH-Chg-R-L-P-NH₂;
 Ac-pApH-Chg-R-Gla-P-NH₂;
 Ac-pAph-Chg-R-Pen(CH₂COOH)-P-NH₂;
 Ac-pAph-Chg-R-L-P-NH₂;
 Ac-F(pNH₂)-Chg-R-(Me)L-P-NH₂;
 Ac-F(pNH₂)-Chg-R-OEt;
 Ac-F(pNH₂)-Chg-Orn(N^δ-C₃H₇N)-L-P-NH₂;
 Ac-F(pNH₂)-Chg-R-L-P-NH₂;
 Ac-Nal(2)-Chg-R-L-P-NH₂;
 Ac-pAph-Chg-Dab(N^γ-C₃H₇N)-NH₂;
 Ac-pAph-Chg-PalMe(3)-NH₂;
 Ac-pAph-Chg-PalMe(3)-L-P-NH₂;
 Ac-pAph-Chg-R-NH₂;
 Ac-pAph-Chg-R-OH;
 Ac-pAph-Chg-R-올;
 DIPA-(m)pAph-Chg-R-L-P-NH₂;
 DIPA-(m)F(pNH₂)-Chg-R-L-P-NH₂;
 Isn-F(pNH₂)-Chg-R-L-P-NH₂;
 Pza-F(pNH₂)-Chg-R-L-P-NH₂;
 Tfa-(iBu)-Y-Chg-R-L-P-NH₂; 및
 Tfa-(iBu)Y-I-Orn(N^δ-C₃H₇N)-L-P-NH₂
 로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 화합물.

청구항 24

제22항에 있어서, 화합물이
 Ac-pAph-Chg-PalMe(3)-NH-CH₂-Chx;
 Ac-pAph-Chg-PalMe(3)-NH-Chx;

Bzf-pAph-Chg-PaIMe(3)-NH₂;
 Ac-pAph-Chg-PaIMe(3)-L-P-NH₂;
 Ac-pAph-Chg-PaIMe(3)-NH₂;
 시클로펜틸-CO-pAph-Chg-PaIMe(3)-NH₂;
 3-Iqc-pAph-Chg-PaIMe(3)-NH₂;
 2-푸로일-pAph-Chg-PaIMe(3)-NH₂;
 5-Me-티에닐-CO-pAph-Chg-PaIMe(3)-NH₂; 및
 Ac-pAph-Chg-PaIMe(3)-을
 로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 화합물.

청구항 25

제1항에 있어서, m이 0인 것인 화합물.

청구항 26

제25항에 있어서, B가 헤테로아릴알킬인 것인 화합물.

청구항 27

제26항에 있어서, 상기 헤테로아릴알킬이
 (4-(N-메틸피리디늄))메틸;
 2-(3-(N-메틸피리디늄))에트-1-일;
 1-(4-(N-메틸피리디늄))에트-1-일;
 (p-아미디노)벤질;
 2-(4-(N-메틸피리디늄))프로프-2-일; 및
 2-(4-(N-메틸피리디늄))에트-1-일
 로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 화합물.

청구항 28

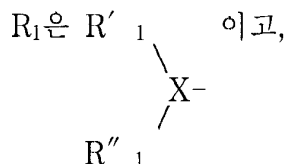
제26항에 있어서, 화합물이
 Ac-pAph-Chg-AMP(4) 및
 Ac-pAph-Chg-AEMP(4)
 로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 화합물.

청구항 29

인자 X_a를 제1항의 화합물과 접촉시킴을 포함하여, 인자 X_a의 활성을 특이적으로 억제하는 방법.

청구항 30

제29항에 있어서, 상기 화합물이



R'₁은 치환될 수 있는 1-6개의 아미노산, H, -CO-R_a, -SO₂-R_a 및 아미노 보호기로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기에서 상기 1-6개의 아미노산의 N-말단은 H, -C(O)-R_a, -SO₂-R_a 및 아미노 보호기로 이루어진 군으로부터 선택된 치환체에 의해 치환되고; 여기에서

R_a는 알킬, 아릴 및 헤테로알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고;

R''₁은 H, 아실 및 알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고;

X는 N이고;

R₂는 -CHR₉₉-이고, 여기에서 R₉₉는 1-6개의 플루오로, 클로로, 브로모, 요오도, 아미노, 니트로, 아미디노, 아미도, 카르복시, 에스테르, 에테르 및 히드록시기로 이루어진 군으로부터 선택된 치환체에

의해 치환될 수 있는 헤테로아릴, 알킬, 아릴, 아릴알킬 및 헤테로알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고;

R₃은 -C(O)-이고;

R₄는 -NH-이고;

R₅는 -CHR₂₀₁-이고, 여기에서 R₂₀₁은 알킬이고;

R₆는 -C(O)-이고;

R₇는 -NH-이고;

R₈는 -CHR₂₁₀-이고, 여기에서 R₂₁₀은 정식 양전하 1개 이상을 갖는 헤테로알킬이고, 여기에서 헤테로 원자는 1-6개의 질소 원자이고;

R₉는 -C(O)-이고;

B는 -OR_b 및 -N-R_cR_d로 이루어진 군으로부터 선택되고, 여기에서

R_b는 H, 알킬 및 카르복시 보호기로 이루어진 군으로부터 선택되고,

R_c는 H 및 알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고,

R_d는 치환체에 의해 치환될 수 있는 1-20개의 아미노산, 알킬 및 헤테로알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고,

상기 화합물의 C-말단이 R₁의 아미노기와 함께 형성된 2급 또는 3급 아미드기로서 카르복시 보호기, 1급 아미드기 또는 시클릭 펩티드의 일부에 의해 또는 알콜로의 환원 반응에 의해 개질될 수 있는 것인 방법.

청구항 31

제30항에 있어서, 상기 화합물이

A1은 아미노 보호기를 0 또는 1개 함유하는 Nal(2), Tyr, F(pNH₂), mAph 및 pAph로 이루어진 군으로부터 선택되고,

A2는 Ile 및 Chg로 이루어진 군으로부터 선택되고;

A3은 Arg, PalMe(3), Dab(N⁺-C₃H₇N), Dap(N^β-C₃H₇N) 및 Orn(N^δ-C₃H₇N)으로 이루어진 군으로부터 선택되고;

B는 -H, -OH, -NH₂, 1-5개의 아미노산 또는 이들의 기능적 등가물 및 C-말단 보호기로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 방법.

청구항 32

제31항에 있어서, 상기 화합물이

Ac-pAph-Chg-PalMe(3)-NH-CH₂-Chx;

Ac-pAph-Chg-PalMe(3)-NH-Chx;

Bzf-pAph-Chg-PalMe(3)-NH₂;

Ac-pAph-Chg-PalMe(3)-L-P-NH₂;

Ac-pAph-Chg-PalMe(3)-NH₂;

시클로펜틸-CO-pAph-Chg-PalMe(3)-NH₂;

3-Iqc-pAph-Chg-PalMe(3)-NH₂;

2-푸로일-pAph-Chg-PalMe(3)-NH₂;

5-Me-2-티에닐-CO-pAph-Chg-PalMe(3)-NH₂; 및

Ac-pAph-Chg-PalMe(3)-올

로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 방법.

청구항 33

제31항에 있어서, 상기 화합물이

Ac-Y-I-R-L-A-NH₂,

Ac-Y-I-R-L-P-NH₂,

Ac-(iBu)Y-I-R-L-P-NH₂,
 Ac-Y-I-R-N(CH₃)O(CH₃),
 Ac-Y-{ψ(CH₂NH)}-I-R-L-P-NH₂,
 Ac-Y-I-R-NH-CH₂(4-피리딜),
 Ac-Y-I-{ψ(CH₂NH)}-R-L-P-NH₂,
 Ac-Y-Chg-R(NO₂)-{ψ(CH₂NH)}-L-NH₂,
 Ac-Y-I-R-{ψ(COCH₂)}-G-P-NH₂,
 Ac-Y-I-Dab(N^Y-C₃H₇N)-L-A-NH₂,
 Ac-V-I-PaIMe(3)-NH₂,
 Y-I-R-NH₂,
 D-Y-I-R-L-P-NH₂,
 Ac-(Bzl)Gly-(Chx)Gly-(3-구아니도프로필)Gly-NH₂,
 시클로(G-Y-I-R-G),
 Tfa-(iBu)Y-Chg-R-L-P-NH₂,
 Ac-pAph-Chg-R-L-P-NH₂,
 Ac-Nal(2)-Chg-R-L-P-NH₂, 및

이들의 약제학적으로 허용가능한 염, 아마이드, 에스테르, 알콜 및 알데히드로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 방법.

청구항 34

제1항의 화합물을 포함하는, 혈병 억제제를 위한 제약 조성물.

청구항 35

시료를 제1항의 화합물과 접촉시키고 결합량을 검출함을 포함하는, 시료 내의 인자 Xa 수준의 인지 방법.

청구항 36

시료를 제1항의 화합물과 접촉시키고 인자 Xa의 효소 활성량을 검출함을 포함하는, 시료 내의 활성 인자 Xa 수준의 인지 방법.

요약

본 발명은 본 화합물의 화학식이 X₁-YIR-X₂이며, 여기에서 X₁은 H, 아실, 알킬 아실알킬, 아릴알킬, 또는 아미노산 1개 이상이고, X₂는 개질된 C-말단기, 카르복시 보호기 1개 이상, 아미노산 1개 이상, 또는 기타 치환체이고, Y, T 및 R을 각각 티로신, 이소루이신 및 아르기닌, 또는 각각 티로신, 이소루이신 및 아르기닌과 동일한 기능 활성을 갖는 펩티드 유사물 또는 유기 구조물이다. 또한, 본 발명은 화학식이 A1-A2-(A3)_m-B인 화합물을 제공하고, 여기에서 m은 0 또는 1이다. 본 발명의 화합물은 선형 또는 환형일 수 있고 길이가 약 2-43개의 잔기일 수 있다. 본 발명의 화합물은 그것이 인자 Xa 활성의 특이적 억제제를 K_i ≤ 100 μM, 바람직하게는 K_i ≤ 2nM으로 나타내고, 응고 캐스케이드에 포함된 기타 프로테아제의 활성을 실질적으로는 억제하지 않음을 부분적인 특징으로 한다. 본 발명은 또한 인자 Xa의 활성을 특이하게 억제하는 방법 및 시험관 내 및 개체에서의 혈병 억제 방법 및 인자 Xa 수준 또는 활성의 검출 방법도 제공한다.