(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) Int. Cl.[7]
C07D 487/04

(11) 공개번호 10-2001-0020416
(43) 공개일자 2001년03월15일

(21) 출원번호 10-1999-7010040
(22) 출원일자 1999년10월29일
번역문제출일자 1999년10월29일
(86) 국제출원번호 PCT/US 98/08542
(87) 국제공개번호 WO 98/49168
(86) 국제출원출원일자 1998년04월28일
(87) 국제공개일자 1998년11월05일
(81) 지정국 EP 유럽특허 : 오스트리아 벨기에 스위스 사이프러스 독일 덴마크 스페인 핀랜드 프랑스 영국 그리스 아일랜드 이탈리아 룩셈부르크 모나코 네덜란드 포르투칼 스웨덴

국내특허 : 오스트레일리아 캐나다 일본 대한민국
(30) 우선권주장 8/846,432 1997년04월30일 미국(US)
(71) 출원인 몰레큐메틱스 리미티드
미국 워싱톤주 98005 벨러뷰 노쓰 이스트 120번 애비뉴 2023 슈트 400
(72) 발명자 칸마이클에스.
미국워싱턴주98034커클랜드노쓰이스트80번플레이스10916
에구치마사카쓰
미국워싱턴주98005벨뷰노쓰이스트129번플레이스636
김화옥
미국워싱턴주98052레드몬드노쓰이스트154번애브뉴5606
(74) 대리인 이병호

심사청구 : 없음

(54) 리버스-턴 유사체 및 이와 관련된 방법

요약

리버스-턴 영역의 생물학적 활성 펩타이드 및 단백질의 2차 구조와 유사한 구조적으로 한정된 화합물이 기재되어 있다. 이러한 리버스-턴 유사체들은 진단약제 및 치료약제를 포함하여 다양한 분야에서의 유용성을 갖는다. 본 발명의 리버스-턴 유사체들을 함유하는 라이브러리들이 또한 기재되어 있을 뿐만 아니라 이를 선별하여 생물학적 활성 구성원들을 확인하는 방법도 기재되어 있다.

색인어

리버스-턴 유사체, 라이브러리, 진단약제, 예방약제, 치료약제

명세서

기술분야

본 발명은 일반적으로 리버스-턴 유사체(reverse-turn mimetics) 및 리버스-턴 유사체의 화학 라이브러리(chemical library)에 관한 것이다.

배경기술

치료제로서 가능한 활성에 대한 분자의 무작위 선별이 다년간 수행되어 다수의 중요한 약물을 발견하였다. 분자 생물학 및 컴퓨터 화학에서의 진보로 인해 "시성 약물 디자인(rational drug design)"이라 명명되었던 분야에 관심이 증가되었지만, 이러한 기술은 처음에 예상되었던 것만큼 빠르거나 신뢰할 만한 것으로 입증되지 못했다. 따라서, 최근 수년간 무작위 약물 선별에 대한 관심이 재개되었고 무작위 약물 선별로 복귀되었다. 최근까지 새로운 기술에서의 특별한 진보는 순열 화학 라이브러리의 개발 및 생물학적 활성 구성원(member)에 대한 조사에 있어서의 이러한 라이브러리의 선별에 근거한다.

일반적으로, 순열 화학 라이브러리들은 단순히 분자들의 집합이다. 이러한 라이브러리들은 라이브러리 내의 화학 종에 의해서 달라질 뿐만 아니라 라이브러리 구성원들을 생성시키는 것과 구성원들이 중요한 생물학적 표적들과 상호작용하는 것을 확인하는 것 둘 다에 사용되는 방법들에 의해서 달라진다. 당해 분야는 여전히 초창기이지만, 라이브러리들을 생성시키고 선별하는 방법은 이미 상당히 다양하고 정교하게 되었다. 예를 들면, 최근에 각종 순열 화학 라이브러리들에 대한 재검토로 표시된 라이브러리 구성원들과 표시되지 않은 라이브러리 구성원들 둘 다의 사용을 포함하여 다수의 이러한 기술들이 확인되었다[참조: Janda, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:10779-10785, 1994].

지금까지 순열 화학 라이브러리들은 일반적으로 펩타이드 또는 뉴클레오타이드 기원의 구성원들로 제한되었다. 최근까지, 호프텐(Houghten) 등의 기술은 분할 합성 기술을 통해 가용성 순열 펩타이드 라이브러리들을 수집하는 "이중 한정된 반복(dual-defined iteractive)" 방법이라고 하는 방법의 한 예를 예시하고 있다[참조: Nature (London) 354:84-86, 1991; Biotechniques 13:412-421, 1992; Bioorg. Med. Chem. Lett. 3:405-412, 1993]. 이 기술에 의해 수백만개의 구성원들 수십개를 함유하는 가용성 펩타이드 라이브러리들이 수득된다. 이러한 라이브러리들은 메티오닌- 및 류신-엔케팔린과 같은 오피오이드 펩타이드(opioid peptide)의 확인에 효과적인 것으로 밝혀졌고[참조: Dooley and Houghten, Life Sci. 52, 1509-1517, 1993], N-아실화된 펩타이드 라이브러리는 강력한 오피오이드 길항제인 아세탈린을 확인하는 데 사용된다[참조: Dooley et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:10811-10815, 1993]. 보다 최근에, 모든 D-아미노산 오피오이드 펩타이드 라이브러리가 뮤("μ") 오피오이드 수용체에 대한 진통 활성용으로 구성되고 선별되었다[참조: Dooley et al., Science 266:2019-2022, 1994].

펩타이드 및 뉴클레오타이드 기원 구성원들을 함유하는 순열 라이브러리들이 상당히 중요하지만, 당해 분야에서는 다른 기원의 구성원들을 함유하는 라이브러리들에 대한 요구가 여전히 존재한다. 예를 들면, 전통적인 펩타이드 라이브러리들 대부분은 라이브러리 구성원들을 생성시키는 아미노산 서열을 변화시킬 뿐이다. 펩타이드의 2차 구조가 생물학적 활성에 중요하다는 것은 잘 인지되고 있지만, 이러한 펩타이드 라이브러리들은 라이브러리 구성원들에 대해 한정된 2차 구조를 부여하지는 못한다.

최근까지 몇몇 연구원들은 보다 한정된 2차 구조를 제공하려는 시도로 디설파이드 브릿지를 사용하여 펩타이드를 폐환시켰다[참조: Tumelty et al., J. Chem. Soc. 1067-68, 1994; Eichler et al., Peptide Res. 7:300-306, 1994]. 그러나, 이러한 폐환 펩타이드는 일반적으로 여전히 상당히 가변적이고 생체이용성이 불량하고, 따라서 제한적으로만 성공적이다.

보다 최근에, 생물학적 활성 단백질 또는 펩타이드로 밝혀진 리버스-턴 2차 구조와 보다 근접하게 유사한, 비펩타이드 화합물이 개발되었다. 예를 들면, 칸(Kahn)에게 허여된 미국 특허 제5,440,013호 및 국제 공개 공보 제WO94/03494호 둘 다에는 리버스-턴 3차원 구조와 유사한, 구조적으로 한정된 비펩타이드 화합물이 기재되어 있다.

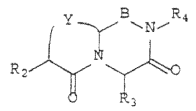
구조적으로 한정된 리버스-턴 유사체의 합성 및 확인 기술이 상당히 진보되었지만, 당해 분야에서는 펩타이드의 2차 구조와 유사한 작은 분자가 여전히 요구되고 있다. 또한, 당해 분야에서는 이러한 구성원들을 함유하는 라이브러리 뿐만 아니라 중요한 표적, 특히 생물학적 표적에 대한 라이브러리 구성원들을 합성하고 선별하여 생활성 라이브러리 구성원들을 확인하는 기술이 요구되고 있다. 본 발명은 이들 요구사항을 충족시키고 이와 관련된 추가의 잇점을 제공한다.

발명의 개요

요컨데, 본 발명은 리버스-턴 영역에서의 생물학적 활성 펩타이드 및 단백질의 2차 구조와 유사한 구조적으로 한정된 화합물에 관한 것이다. 본 발명은 또한 이러한 화합물을 함유하는 라이브러리 뿐만 아니라 이의 합성 및 선별에 대해서도 기재한다.

본 발명의 화합물은 화학식 I의 화합물이다:

화학식 I



위의 화학식 I에서,

Y는 $-CH(R_5)-A-N(R_1)-$, $-A-N(R_1)-CH(R')-$, $-A-N(R_1)-C(=O)-$, $-A-C(=O)-N(R_1)-$, $-A-CH(R_1)-O-$ 및 $-A-CH(R_1)-N(R')-$이고,

A는 $-(CHR')_n-$이고,

B는 $-(CHR")_m-$이고,

n은 0, 1 또는 2이고,

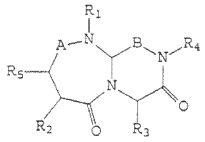
m은 1, 2 또는 3이고,

비사이클릭 환 위의 2개의 인접하는 CH 그룹들 또는 인접하는 NH 그룹과 CH 그룹은 임의로 이중 결합을 형성할 수 있고,

R', R", R_1, R_2, R_3, R_4 및 R_5는 다음 상세한 설명에서 정의되는 바와 같다.

Y가 -CH(R_5)-A-N(R_1)-인 양태에 있어서, 본 발명의 화합물은 화학식 I-1의 화합물이다:

화학식 I-1



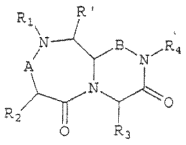
위의 화학식 I-1에서,

A 및 B는 위에서 정의한 바와 같고,

R_1, R_2, R_3, R_4 및 R_5는 다음 상세한 설명에서 정의하는 바와 같다.

Y가 -A-N(R_1)-CH(R')-인 양태에 있어서, 본 발명의 화합물은 화학식 I-2의 화합물이다:

화학식 I-2



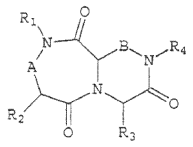
위의 화학식 I-2에서,

A 및 B는 위에서 정의한 바와 같고,

R', R_1, R_2, R_3 및 R_4는 다음 상세한 설명에서 정의하는 바와 같다.

Y가 -A-N(R_1)-C(=O)-인 양태에 있어서, 본 발명의 화합물은 화학식 I-3의 화합물이다:

화학식 I-3



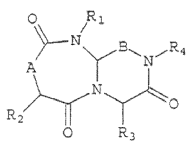
위의 화학식 I-3에서,

A 및 B는 위에서 정의한 바와 같고,

R_1, R_2, R_3 및 R_4는 다음 상세한 설명에서 정의하는 바와 같다.

Y가 -A-C(=O)-N(R_1)-인 양태에 있어서, 본 발명의 화합물은 화학식 I-4의 화합물이다:

화학식 I-4



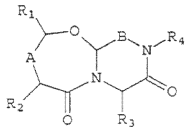
위의 화학식 I-4에서,

A 및 B는 위에서 정의한 바와 같고,

R_1, R_2, R_3 및 R_4는 다음 상세한 설명에서 정의하는 바와 같다.

Y가 -A-CH(R_1)-O-인 양태에 있어서, 본 발명의 화합물은 다음 화학식 I-6의 화합물이다:

화학식 I-5



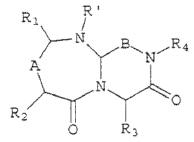
위의 화학식 I-5에서,

A 및 B는 위에서 정의한 바와 같고,

R_1, R_2, R_3 및 R_4는 다음 상세한 설명에서 정의하는 바와 같다.

Y가 -A-CH(R_1)-N(R')-인 양태에 있어서, 본 발명의 화합물은 화학식 I-6의 화합물이다:

화학식 I-6



위의 화학식 I-6에서,

A 및 B는 위에서 정의한 바와 같고,

R', R_1, R_2, R_3 및 R_4는 다음 상세한 설명에서 정의하는 바와 같다.

본 발명은 또한 위의 화학식 I의 화합물을 함유하는 라이브러리 뿐만 아니라 이러한 라이브러리를 합성하는 방법 및 생물학적 활성 화합물을 확인하기 위해 이를 선별하는 방법에 관한 것이다. 약제학적으로 허용되는 담체 또는 희석제와 함께 본 발명의 화합물을 함유하는 조성물이 또한 기재된다.

본 발명의 상기 양태 및 또 다른 양태는 첨부된 도면 및 다음 상세한 설명을 참조함으로써 분명해질 것이다. 최근까지, 특정 과정, 화합물 및/또는 조성물을 보다 상세히 기재하는 각종 참고문헌이 본원에 제시되어 있고 전 내용이 참고로 인용되어 있다.

도면의 간단한 설명

도 1은 본 발명의 대표적인 리버스-턴 유사체의 δ 및 μ 오피트 수용체에 대한 방사선리간드 결합 억제율을 농도 함수로서 나타내고 있다.

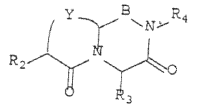
도 2 내지 도 8은 본 발명의 리버스-턴 유사체의 합성을 위한 대표적인 반응식을 나타내고 있다.

발명의 상세한 설명

본 발명은 리버스-턴 유사체 및 이를 함유하는 화학 라이브러리에 관한 것이다. 본 발명의 리버스-턴 유사체는 진단약제, 예방약제 및/또는 치료약제로서의 용도(이에 제한되지 않음)를 포함하여 생활성제로서 유용하다. 본 발명의 리버스-턴 유사체 라이브러리는 이러한 생활성제의 확인에 유용하다. 본 발명의 수행에 있어서, 라이브러리는 개별 리버스-턴 유사체(본원에서는 "구성원"이라고도 함) 수십개 내지 수백개 내지 수천개(또는 그 이상)를 함유할 수 있다.

본 발명의 하나의 양태에 있어서, 리버스-턴 유사체는 화학식 I의 구조를 갖는다:

화학식 I



위의 화학식 I에서,

Y는 $-CH(R_5)-A-N(R_1)-$, $-A-N(R_1)-CH(R')-$, $-A-N(R_1)-C(=O)-$, $-A-C(=O)-N(R_1)-$, $-A-CH(R_1)-O-$ 및 $-A-CH(R_1)-N(R')-$이고,

A는 $-(CHR')_n-$이고,

B는 $-(CHR")_m-$이고,

n은 0, 1 또는 2이고,

m은 1, 2 또는 3이고,

비사이클릭 환 위의 2개의 인접하는 CH 그룹들 또는 인접하는 NH 그룹과 CH 그룹은 임의로 이중 결합을 형성할 수 있고,

R', R", R_1, R_2, R_3, R_4 및 R_5는 다음에 정의되는 바와 같다.

위의 화학식 I-1 내지 화학식 I-6에서, 각종 R 그룹의 융합된 비사이클릭 환 위의 탄소원자에 대한 결합을 나타내는 직선은 이들 R 그룹이 해당 면의 평면 위 또는 아래에 위치할 수 있음을 나타낸다. 본 발명의 리버스-턴 유사체가 천연 아미노산(즉, "L-아미노산")의 리버스-턴과 유사해지고자 한다면, R 그룹은 일반적으로 화학식 I에서 해당 면의 평면 아래(즉,"R")에 위치할 것이다. 그러나, 본 발명의 리버스-턴 유사체가 하나 이상의 D-아미노산을 함유하는 리버스-턴과 유사해지고자 한다면, 상응하는 R 그룹 또는 그룹들은 화학식 I에서 해당면의 평면의 위(즉, "R")에 위치할 것이다.

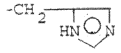
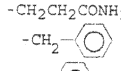
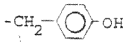
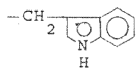
하나의 양태에 있어서, R_1 및 R_4는 동일하거나 상이하고 화합물의 잔여부분을 나타내고, R', R", R_2, R_3 및 R_5는 동일하거나 상이하고 독립적으로 아미노산 측쇄 잔기들 및 이의 유도체들로부터 선택된다. R' 및 R"에 대하여, R' 및 R"는 각각 독립적으로 아미노산 측쇄 잔기들 및 이의 유도체들로부터 선택되는 것으로 이해되어야 한다. 예를 들면, m이 2인 경우, B는 -CHR"CHR"- 잔기이다. 이러한 경우, R"는 둘 다 독립적으로 선택되고 동일하거나 상이할 수 있다. 따라서, R"가 하나는 수소이고 또 다른 하나는 메틸인 경우, B는 $-CH_2CH(CH_3)-$일 것이다.

본 명세서에 사용되는 용어 "화합물의 잔여부분"은 리버스-턴 유사체의 R_1 및/또는 R_4 위치에 공유적으로 결합하는 모든 잔기, 제제, 화합물, 서포트(support), 분자, 링커(linker), 아미노산, 펩타이드 또는 단백질을 의미한다. 이 용어는 아미노산 측쇄 잔기 및 이의 유도체도 포함한다.

본 명세서에 사용되는 용어 "아미노산 측쇄 잔기"는 표 1에 기재한 천연 아미노산 측쇄 잔기(이에 제한되지 않음)를 포함하는 천연 단백질에 존재하는 모든 아미노산 측쇄 잔기를 나타낸다. 본 발명의 다른 천연 아미노산 측쇄 잔기는 3,5-디브로모티로신, 3,5-디요오도티로신, 하이드록시리신, γ-카복시글루타메이트, 포스포티로신 및 포스포세린의 측쇄 잔기(이에 제한되지 않음)를 포함한다. 또한, 글리코실화 트레오닌, 세린 및 아스파라긴(이에 제한되지 않음)을 포함하여 글리코실화된 아미노산 측쇄가 또한 본 발명의 수행에 사용될 수 있다.

[표 1]

아미노산 측쇄 잔기

아미노산 측쇄 잔기	아미노산
-H	글리신
$-CH_3$	알라닌
$-CH(CH_3)_2$	발린
$-CH_2CH(CH_3)_2$	류신
$-CH(CH_3)CH_2CH_3$	이소류신
$-(CH_2)_4NH_3^+$	리신
$-(CH_2)_3NHC(NH_2)NH_2^+$	아르기닌
	히스티딘
$-CH_2COO^-$	아스파르트산
$-CH_2CH_2COO^-$	글루탐산
$-CH_2CONH_2$	아스파라긴
$-CH_2CH_2CONH_2$	글루타민
	페닐알라닌
	티로신
	트립토판
$-CH_2SH$	시스테인
$-CH_2CH_2SCH_3$	메티오인
$-CH_2OH$	세린
$-CH(OH)CH_3$	트레오닌
	프롤린
	하이드록시프롤린

천연 아미노산 측쇄 잔기 이외에, 본 발명의 아미노산 측쇄 잔기는 아미노산 측쇄 잔기의 각종 유도체도 포함한다. 본 명세서에 사용되는 아미노산 측쇄 잔기의 "유도체"는 천연 아미노산 측쇄 잔기에 대한 변화 및/또는 변형을 포함한다. 예를 들면, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신 및 페닐알라닌의 아미노산 측쇄 잔기는 일반적으로 저급 알킬, 아릴 또는 아르알킬 잔기로 분류될 수 있다. 아미노산 측쇄 잔기의 유도체는 다른 직쇄 또는 측쇄, 환식 또는 비환식, 치환되거나 치환되지 않고, 포화되거나 포화되지 않은 저급 알킬, 아릴 또는 아르알킬 잔기를 포함한다.

본 명세서에 사용되는 "저급 알킬 잔기"는 탄소원자를 1 내지 12개 함유하고 "저급 아릴 잔기"는 탄소원자를 6 내지 12개 함유하고 "저급 아르알킬 잔기"는 탄소원자를 7 내지 12개 함유한다. 따라서, 하나의 양태에 있어서, 아미노산 측쇄 잔기의 유도체는 C_{1-12} 알킬, C_{6-12} 아릴 및 C_{7-12} 아르알킬로부터 선택되고, 보다 바람직한 양태에 있어서는 C_{1-7} 알킬, C_{6-10} 아릴 및 C_{7-11} 아르알킬로부터 선택된다.

본 발명의 아미노산 측쇄 잔기의 유도체는 저급 알킬, 아릴 및 아르알킬 잔기의 치환된 유도체도 포함하는데, 여기서, 치환체는 하나 이상의 다음 잔기들(이들로 제한되지 않음)로부터 선택된다: -OH, -OR, -COOH, -COOR, $-CONH_2$, $-NH_2$, -NHR, -NRR, -SH, -SR, $-SO_2R$, $-SO_2H$, -SOR(여기서, R은 각각 독립적으로 직쇄 또는 측쇄, 환식 또는 비환식, 치환되거나 치환되지 않고, 포화되거나 포화되지 않은 저급 알킬, 아릴 및 아르알킬 잔기로부터 선택된다) 및 할로겐(F, Cl, Br 및 I 포함). 또한, 본 발명의 환식 저급 알킬, 아릴 및 아르알킬 잔기는 나프탈렌 뿐만 아니라 티오펜, 피롤, 푸란, 이미다졸, 옥사졸, 티아졸, 피라졸, 3-피롤린, 피롤리딘, 피리딘, 피리미딘, 푸린, 퀴놀린, 이소퀴놀린 및 카바졸과 같은 복소환식 화합물을 포함한다. 아미노산 측쇄 잔기의 유도체는 또한 알킬 및 아르알킬 포스포네이트 및 실란(이들로 제한되지 않음)을 포함하여 저급 알킬 및 아르알킬 잔기의 알킬 부분의 헤테로알킬 유도체를 포함한다.

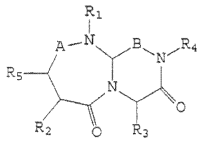
대표적인 R_1 및 R_4 잔기는 구체적으로 -OH, -OR, -COR, -COOR, $-CONH_2$, -CONR, -CONRR, $-NH_2$, -NHR, -NRR, $-SO_2R$ 및 -COSR(여기서, R은 각각 위에서 정의한 바와 같다)을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다.

또 다른 양태에 있어서, R_1, R_2, R_3, R_4 또는 R_5는 아미노산 측쇄 잔기 또는 이의 유도체(또는 R_1 및 R_4인 경우의 화합물의 잔여부분)인 이외에, 당해 화합물의 또 다른 잔기 또는 화합물에 대한 결합을 용이하게 하는 링커일 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 화합물은 진단 또는 선별 분석에 사용하기 위해 비오틴과 같은 하나 이상의 공지된 화합물에 결합시킬 수 있다. 또한, R_1, R_2, R_3, R_4 또는 R_5는 솔리드 서포트(예: 고체 상 펩타이드 합성에 사용되는 서포트)에 화합물을 결합시키는 링커일 수 있거나, 서포트 자체일 수 있다. 이러한 양태에서, R_1 또는 R_4 위치에서 또 다른 잔기

또는 화합물에 또는 솔리드 서포트에 결합하는 것이 바람직하고, R_4 위치에서 결합하는 것이 보다 바람직하다.

Y가 $-CH(R_5)-A-N(R_1)-$인 양태에 있어서, 리버스-턴 유사체는 화학식 I-1의 화합물이다:

화학식 I-1



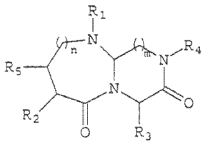
위의 화학식 I-1에서,

A, B, R_1, R_2, R_3, R_4 및 R_5는 위에서 정의한 바와 같다.

바람직한 양태에 있어서, R_1 및 R_4는 화합물의 잔여부분을 나타내고, R_2, R_3 및 R_5는 개별적으로 아미노산 측쇄 잔기로부터 선택된다.

화학식 I-1의 보다 구체적인 양태에 있어서, A가 $-(CH_2)_n-$이고 B가 $-(CH_2)_m-$이고 리버스-턴 유사체는 화학식 Ia-1의 화합물이다.

화학식 Ia-1

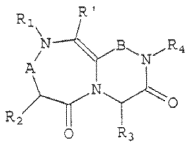


위의 화학식 Ia-1에서,

n, m, R_1, R_2, R_3, R_4 및 R_5는 위에서 정의한 바와 같다.

Y가 $-A-N(R_1)-CH(R')-$이고 비사이클릭 환 위의 2개의 인접하는 CH 그룹들이 이중 결합을 형성하는 양태에 있어서, 본 발명의 리버스-턴 유사체는 화학식 Ia-2의 화합물을 포함한다:

화학식 Ia-2



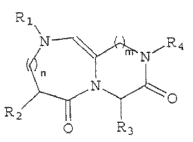
위의 화학식 Ia-2에서,

A, B, R_1, R_2, R_3, R_4 및 R'는 위에서 정의한 바와 같다.

바람직한 양태에 있어서, R_1 및 R_4는 화합물의 잔여부분을 나타내고, R_2 및 R_3은 독립적으로 아미노산 측쇄 잔기로부터 선택되며 R'는 수소이다.

화학식 Ia-2의 화합물의 보다 구체적인 양태에 있어서, A는 $-(CH_2)_n-$이고 B는 $-(CH_2)_m-$이며 R'는 수소이고 리버스-턴 유사체는 화학식 Ib-2의 화합물이다:

화학식 Ib-2

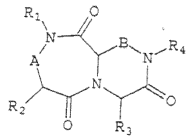


위의 화학식 Ib-2에서,

n, m, R_1, R_2, R_3 및 R_4는 위에서 정의한 바와 같다.

Y가 -A-N(R_1)-C(=O)-인 양태에 있어서, 리버스-턴 유사체는 화학식 I-3의 화합물이다:

화학식 I-3



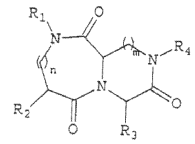
위의 화학식 I-3에서,

A, B, R_1, R_2, R_3 및 R_4는 위에서 정의한 바와 같다.

바람직한 양태에 있어서, R_1 및 R_4는 화합물의 잔여부분을 나타내고, R_2 및 R_3은 독립적으로 아미노산 측쇄 잔기로부터 선택된다.

화학식 I-3의 화합물의 보다 구체적인 양태에 있어서, A는 -$(CH_2)_n$-이고 B는 -$(CH_2)_m$-이며 리버스-턴 유사체는 화학식 Ia-3의 화합물이다:

화학식 Ia-3

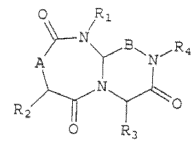


위의 화학식 Ia-3에서,

n, m, R_1, R_2, R_3 및 R_4는 위에서 정의한 바와 같다.

Y가 -A-C(=O)-N(R_1)-인 양태에 있어서, 리버스-턴 유사체는 화학식 I-4의 화합물이다.

화학식 I-4



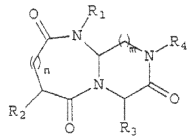
위의 화학식 I-4에서,

R_1, R_2, R_3 및 R_4는 위에서 정의한 바와 같다.

바람직한 양태에 있어서, R_1 및 R_4는 화합물의 잔여부분을 나타내고 R_2 및 R_3은 독립적으로 아미노산 측쇄 잔기로부터 선택된다.

화학식 I-4의 화합물의 보다 구체적인 양태에 있어서, A는 -$(CH_2)_n$-이고 B는 -$(CH_2)_m$-이며 리버스-턴 유사체는 화학식 Ia-4의 화합물이다:

화학식 Ia-4

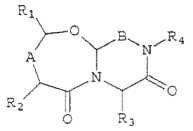


위의 화학식 Ia-4에서,

n, m, R_1, R_2, R_3 및 R_4는 위에서 정의한 바와 같다.

Y가 -A-CH(R_1)-O-인 양태에 있어서, 리버스-턴 유사체는 화학식 I-5의 화합물이다:

화학식 I-5



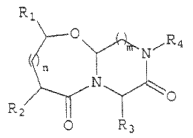
위의 화학식 I-5에서,

R_1, R_2, R_3 및 R_4는 위에서 정의한 바와 같다.

바람직한 양태에 있어서, R_1 및 R_4는 화합물의 잔여부분을 나타내고, R_2 및 R_3은 독립적으로 아미노산 측쇄 잔기로부터 선택된다.

화학식 I-5의 화합물의 보다 구체적인 양태에 있어서, A는 $-(CH_2)_n-$이고 B는 $-(CH_2)_m-$이고, 리버스-턴 유사체는 화학식 Ia-5의 화합물이다:

화학식 Ia-5

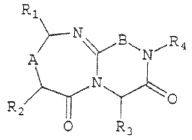


위의 화학식 Ia-5에서,

n, m, R_1, R_2, R_3 및 R_4는 위에서 정의한 바와 같다.

Y가 $-A-CH(R_1)-N(R')-$이고 비사이클릭 환 위의 인접하는 NH 및 CH 그룹이 이중 결합을 형성하는 양태에 있어서, 본 발명의 리버스-턴 유사체는 화학식 Ia-6의 화합물을 포함한다:

화학식 Ia-6



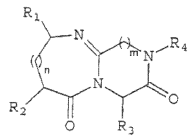
위의 화학식 Ia-6에서,

A, B, R_1, R_2, R_3 및 R_4는 위에서 정의한 바와 같다.

바람직한 양태에 있어서, R_1 및 R_4는 화합물의 잔여부분을 나타내고 R_2 및 R_3은 독립적으로 아미노산 측쇄 잔기로부터 선택된다.

화학식 Ia-6의 화합물의 보다 구체적인 양태에 있어서, A는 $-(CH_2)_n-$이고 B는 $-(CH_2)_m-$이며 리버스-턴 유사체는 화학식 Ib-6의 화합물이다:

화학식 Ib-6



위의 화학식 Ib-6에서,

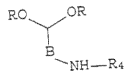
n, m, R_1, R_2, R_3 및 R_4는 위에서 정의한 바와 같다.

본 발명의 리버스-턴 유사체는 적합한 출발 성분 분자(이후 "성분 단편"이라고 한다)를 사용하여 제조할 수 있다. 요컨데, 화학식 I-1의 리버스-턴 유사체의 합성에 있어서, 제1 성분 단편과 제2 성분 단편을 커플링시켜 합해진 제1-제2 중간체를 형성시키고, 제3 성분 단편과 제4 성분 단편을 커플링시켜 합해진 제3-제4 중간체를 형성시키고(또는, 시판되는 경우, 단일 제3 중간체를 사용할

수 있다), 이어서, 합해진 제1-제2 중간체와 제3-제4 중간체(또는 제3 중간체)를 커플링시켜 제1-제2-제3-제4 중간체(또는 제1-제2-제3 중간체)를 수득하고, 이를 폐환시켜 본 발명의 리버스-턴 유사체를 수득한다. 또는, 개별 성분 단편들을 용액으로 단계적으로 또는 고체 상 펩타이드 합성 시 통상적으로 수행되는 고체 상 합성에 의해 순차적으로 커플링시켜 화학식 I-1의 리버스-턴 유사체를 제조할 수 있다.

본 명세서에서, "제1 성분 단편"은 화학식 1의 구조를 갖는다:

화학식 1



위의 화학식 1에서,

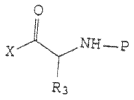
R_4 및 B는 위에서 정의한 바와 같고,

R은 펩타이드 합성시 사용하기에 적합한 보호 그룹이다.

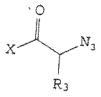
적합한 R 그룹은 알킬 그룹을 포함하고, 바람직한 양태에 있어서, R은 메틸 그룹이다. 이러한 제1 성분 단편은 $CH(OR)_2-(CH_2)_m-CHO$와 H_2N-R_4를 반응시키는 환원성 아민화 또는 $CH(OR)_2-(CH_2)_m-Br$로부터의 치환에 의해 쉽게 합성될 수 있다.

본 발명의 "제2 성분 단편"은 화학식 2a와 화학식 2b의 구조를 갖는다:

화학식 2a



화학식 2b



위의 화학식 2a와 화학식 2b에서,

R_3은 위에서 정의한 바와 같고,

P는 펩타이드 합성시 사용하기에 적합한 아미노 보호 그룹이고,

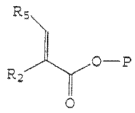
X는 활성화된 카복실산 그룹의 이탈 그룹이다.

바람직한 보호 그룹은 3급-부틸 디메틸실릴(TBDMS), BOC, FMOC 및 Alloc(알릴옥시카보닐)이다. N-보호된 아미노산은 시판되고 있다. 예를 들면, FMOC 아미노산은 여러 공급원으로부터 시판되고 있다. 이들 화합물의 본 발명의 제2 성분 단편으로의 전환은, N-보호된 아미노산의 카복실산 그룹의 활성화로 쉽게 달성될 수 있다. 적합한 활성화된 카복실산 그룹은 X가 클로라이드 또는 브로마이드와 같은 할라이드인 산 할라이드, X가 아세틸과 같은 아실 그룹인 산 무수물 및 N-하이드록시석신이미드 에스테르 및 펜타플루오로페닐 에스테르와 같은 반응성 에스테르, 및 디사이클로헥실카보디이미드(DCC)와 같은 카보디이미드를 사용하는 커플링 반응으로 형성시킨 활성 중간체와 같은 다른 활성화된 중간체이다.

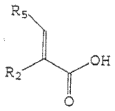
제2 성분 단편으로서 작용하는 아미노산의 아지도 유도체의 경우, 이러한 화합물은 잘룸(Zaloom) 등에 의해 기재된 반응[참조: J. Org. Chem. 46:5173-76, 1981]에 의해 상응하는 아미노산으로부터 제조될 수 있다.

본 발명의 "제3 성분 단편"은 화학식 3a와 화학식 3b의 구조를 갖는다:

화학식 3a



화학식 3b



위의 화학식 3a와 화학식 3b에서,

R_2 및 R_5는 위에서 정의한 바와 같고,

P는 메틸 또는 3급-부틸 그룹과 같은 카복실산 보호 그룹이다.

본 발명의 "제4 성분 단편"은 화학식 4의 구조를 갖는다:

화학식 4

$$R_1\text{-}NH_2$$

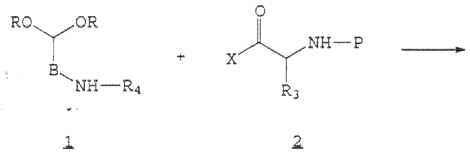
위의 화학식 4에서,

R_1은 위에서 정의한 바와 같다.

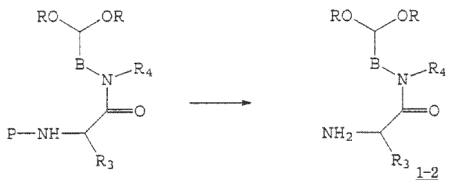
적합한 제4 성분 단편은 여러 공급원으로부터 시판되고 있다. 또한, 제4 성분 단편은 1급 아민의 합성에 통상적으로 이용되는 표준 유기 합성 기술에 의해 쉽게 제조될 수 있다.

보다 구체적으로, 제1 성분 단편을 제2 성분 단편과 반응시켜 합해진 제1-제2 중간체를 수득한 다음, 합해진 제1-제2 중간체를 제3 성분 단편과 제4 성분 단편과 순차적으로 반응시키거나 합해진 제3-제4 중간체와 반응시켜 합해진 제1-제2-제3-제4 중간체를 수득한 후, 수득한 중간체를 폐환시켜 리버스-턴 유사체를 수득함으로써 본 발명의 화학식 I-1의 리버스-턴 유사체를 합성한다.

화학식 I-1의 리버스-턴 유사체는 일반적으로 다음 기술로 합성할 수 있다. 다음에 도시한 바와 같이, 제1 성분 단편(1)을 제2 성분 단편(2)에 커플링시키고, N-탈보호화한 후, 합해진 제1-제2 중간체(1-2)를 수득한다:



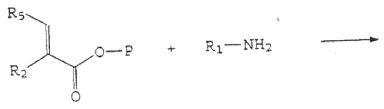
1 2



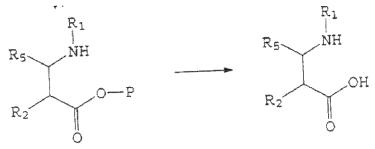
1-2

리버스-턴 유사체의 합성은 유사할 수 있는데, 이 경우, 다음에 도시한 바와 같이 제3 성분 단편(3)과 제4 성분 단편(4)을 커플링시키고 O-탈보호화한 후, 합해진 제3-제4 중간체(3-4)를 수

득함으로써 합해진 제3-제4 중간체(3-4)를 제조한다.



3 4



3-4

화학식 I에서 n이 1 또는 2인 경우, 다음 중간체(3-4')는 다음과 같이 제조될 수 있다:



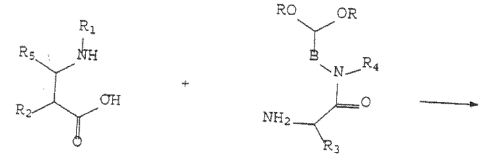
3-4'

위의 반응식에서,

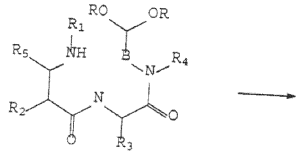
A는 $-(CHR')_n-$이다.

중간체(3-4')를 다음 반응에서 중간체(3-4) 대신에 사용하여 본 발명의 화학식 I-1의 리버스-턴 유사체를 수득한다.

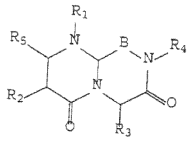
다음에 도시한 바와 같이, 합해진 중간체(1-2)와 중간체(3-4)의 커플링으로 중간체(1-2-3-4)가 형성되고, 이를 폐환시 리버스-턴 유사체(I')가 수득된다:



3-4 1-2



1-2-3-4



(I')(여기서, n은 0이다)

본 발명의 대표적인 성분 단편의 합성법은 화학식 1에 기재되어 있다. 대표적인 합해진 제1-제2 중간체와 제3-제4 중간체의 합성법은 실시예 2와 실시예 3에 각각 기재되어 있다. 이들 중간체들을 커플링시켜 대표적인 합해진 제1-제2-제3-제4 중간체를 형성시키는 방법은 실시예 4에 기재되어 있다. 이 중간체를 폐환시켜 대표적인 리버스-턴 유사체를 형성시키는 방법은 실시예 5에 기재되어 있다.

바람직한 양태에 있어서, 화학식 Ia-1의 리버스-턴 유사체는 도 2에 도시되어 있는 반응식에 따라서 제조될 수 있다.

화학식 I-2 내지 화학식 I-6의 리버스-턴 유사체는 위에서 기술한 단위 성분 합성법과 유사한 기술로 제조할 수 있는데, 단 성분 단편에 따라서 적당히 변형될 수 있다. 보다 구체적으로, 화학식 I-2 내지 화학식 I-6의 리버스-턴 유사체는 도 3 내지 도 7에 도시되어 있는 반응식에 따라 제조될 수 있다. 특히, 화학식 Ib-2, 화학식 Ia-3, 화학식 Ia-4, 화학식 Ia-5 및 화학식 Ib-6의 리버스-턴 유사체는 도 3, 도 4, 도 5, 도 6 및 도 7에 각각 도시되어 있는 대표적인 반응식으로 제조될 수 있다.

위에서 언급한 바와 같이 본 발명의 리버스-턴 유사체는 진단약제, 예방약제 및 치료약제와 같은 생활성제로서 유용하다. 대표적인 리버스-턴 유사체의 오피트 수용체 결합 활성은 실시예 9에 제시되어 있다. 당해 실시예에서, 본 발명의 리버스-턴 유사체는 방사선 표지된 엔케팔린 유도체의 δ 및 μ 오피트 수용체에 대한 결합을 효과적으로 억제하는 것으로 밝혀졌다. 데이타는 이들 리버스-턴 유사체의 수용체 길항제로서 및 강력한 진통제로서의 유용성을 입증한다.

본 발명의 또 다른 양태에 있어서, 본 발명의 리버스-턴 유사체들을 함유하는 라이브러리들이 기재되어 있다. 본 발명의 라이브러리들은 일단 조합되면 생활성을 갖는 개별 구성원을 확인하기 위해 선별될 수 있다. 생활성 구성원을 위한 라이브러리들의 선별은, 예를 들면, 라이브러리의 구성원들의 결합 활성을 평가하거나 작용성 분석시 라이브러리 구성원들이 갖는 효과를 평가하는 것을 포함한다. 선별은 라이브러리 구성원들(또는 라이브러리 구성원들의 아그룹)을, 예를 들면, 항체, 효소, 수용체 또는 세포 라인과 같은 중요한 표적과 접촉시킴으로써 정상적으로 수행된다. 중요한 표적과 상호작용할 수 있는 라이브러리 구성원들을 본 명세서에서는 "생활성 라이브러리 구성원" 또는 "생활성 유사체"라고 한다. 예를 들면, 생활성 유사체는 항체 또는 수용체에 결합할 수 있거나 효소를 억제할 수 있거나, 예를 들면 세포 라인과 관련된 작용성 반응을 유도하거나 길항 작용을 할 수 있는 라이브러리 구성원일 수 있다. 한편, 본 발명의 라이브러리의 선별은 어떠한 라이브러리 구성원들이 하나 이상의 중요한 생물학적 표적과 상호작용할 수 있는지를 결정한다. 또한, 상호작용이 일어나는 경우, 생활성 유사체(또는 유사체들)는 라이브러리 구성원들로부터 확인될 수 있다. 라이브러리로부터의 단일(또는 제한된 수의) 생활성 유사체(들)의 확인으로 그 자체가 생물학적으로 활성이어서 진단약제, 예방약제 또는 치료약제로서 유용하고 당해 분야에서 선도 화합물의 확인을 상당히 진보시키는 데 또한 사용될 수 있는 리버스-턴 유사체를 수득한다.

본 발명의 라이브러리의 펩타이드 유사체의 합성은 본 발명의 제1, 제2 및 제3 성분 단편과 함께 공지된 펩타이드 합성 기술을 사용하여 수행될 수 있다. 보다 구체적으로, 특정 아미노산 서열이 구조적으로 한정된 리버스-턴 유사체의 N-말단 및/또는 C-말단에 첨가될 수 있다. 최근까지, 유사체들은 공지된 기술에 의해 솔리드 서포트(예: PAM 수지)[참조: John M. Stewart and Janis D. Young, Solid Phase Peptide Synthesis, 1984, Pierce Chemical Comp., Rockford, Illinois] 또는 알콜 부착에 의해 실릴 결합된 수지[참조: Randolph et al., J. Am Chem. Soc. 117:5712-14, 1995] 위에서 합성될 수 있다.

또한, 용액 및 고체 상 합성 기술 둘 모두를 조합한 기술을 사용하여 본 발명의 펩타이드 유사체를 합성할 수 있다. 예를 들면, 솔리드 서포트를 사용하여 구조적으로 한정된 리버스-턴이 서열에 첨가되는 지점까지 선형 펩타이드 서열을 합성할 수 있다. 용액 합성 기술에 의해 이미 합성된 적합한 구조적으로 한정된 리버스-턴 유사체를 고체 상 합성 다음 "아미노산"으로서 첨가할 수 있다(즉, N-말단과 C-말단 둘 모두를 갖는 구조적으로 한정된 리버스-턴 유사체를 선형 펩타이드에 첨가될 다음 아미노산으로서 사용할 수 있다). 구조적으로 한정된 리버스-턴 유사체를 서열에 혼입시키는 경우, 추가의 아미노산을 첨가하여 솔리드 서포트에 결합된 펩타이드를 완성시킬 수 있다. 또한, 선형 N-말단 및 C-말단 보호된 펩타이드 서열을 솔리드 서포트 위에서 합성하고 서포트로부터 제거한 다음, 용액 속에서 공지된 용액 커플링 기술을 사용하여 구조적으로 한정된 리버스-턴 유사체에 커플링시킬 수 있다.

본 발명의 또 다른 양태에 있어서, 라이브러리를 구성하는 방법이 기재되어 있다. 전통적인 순열 화학 기술[참조: Gallop et al., J. Med. Chem. 37:1233-1251, 1994]은 다수의 화합물이 기본적인 분자 골격에 시약들의 순차적인 배합에 의해 신속하게 제조되도록 한다. 순열 기술은 천연 아미노산으로부터 유도된 펩타이드 라이브러리를 구성하는 데 사용된다. 예를 들면, 20개의 적합하게 보호된 상이한 아미노산으로 이루어진 20개 혼합물을 취하고 각각을 20개의 아미노산 중의 하나와 커플링시킴으로써 400개(즉, 20^2)의 디펩타이드로 이루어진 라이브러리가 생성된다. 이 과정을 7회 반복함으로써 약 26억개(즉 20^8)의 옥타펩타이드로 이루어진 펩타이드 라이브러리를 제조한다.

본 발명의 또 다른 양태에 있어서, 생활성을 위한 라이브러리를 선별하고 생활성 라이브러리 구성원들을 분리하는 방법이 기재되어 있다. 본 발명의 라이브러리들은 각종 기술 및 방법에 의해 생활성을 위해서 선별될 수 있다. 일반적으로, 선별 분석은 (1) 라이브러리를 수용체와 같은 중요한 생물학적 표적과 접촉시키고 라이브러리의 유사체와 표적간에 결합이 일어나도록 하고, (2) 비색 분석법[참조: Lam et al., Nature 354:82-84, 1991 or Griminski et al., Biotechnology 12:1008-1011, 1994; 둘 모두 본원에 참고로 인용되어 있다]과 같은 적합한 분석법으로 결합한 경우를 검출함으로써 수행될 수 있다. 바람직한 양태에 있어서, 라이브러리 구성원들은 용액 속에 존재하고 표적은 고체 상으로 부동화되어 있다. 라이브러리도 고체 상으로 부동화될 수 있으며 용액 속에서 표적과 이를 접촉시킴으로써 조사될 수 있다.

다음 실시예는 비제한적으로 예시를 위해서 제공된다.

실시예

실시예 1

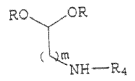
성분 단편의 합성

본 실시예에서는 합해져서 본 발명의 리버스-턴 유사체를 형성할 수 있는 대표적인 성분 단편이 기재되어 있다.

A. 대표적인 제1 성분 단편

다음 화학식 1의 제1 성분 단편을 사용한다:

화학식 1



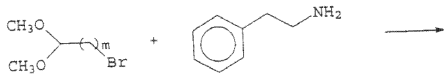
위의 화학식 1에서,

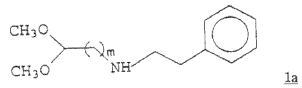
R_4는 위에서 정의한 바와 같고,

R은 펩타이드 합성시 사용하기에 적합한 보호 그룹이다.

적합한 R 그룹은 알킬 그룹을 포함하고, 바람직한 양태에 있어서, R은 메틸 그룹이다.

일반적으로, 제1 성분 단편은 2-할로에탄알의 디알킬아세탈을 사용한 아민의 n-알킬화에 의해 제조된다. 펜에틸아민과 2-브로모에탄알의 디메틸아세탈로부터의 대표적인 제1 성분 단편의 합성을 다음에 도식적으로 나타낸다





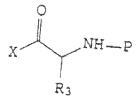
1a

이 과정에서, 브로마이드 24ml(3.43ml, 20.3mmol)와 펜에틸아민 2.8ml(2.71g, 22.3mmol)를 환류 냉각기가 장착된 150ml 아르곤 충전된 환저 플라스크 속의 새로 증류된 THF 40ml에 가한다. 반응물을 24시간 동안 온화하게 환류하면서 가열한 후, 휘발성 성분을 감압하에 제거하고 잔류물을 디클로로메탄 200ml에 용해시킨다. 유기층을 2x100ml 포화 수성 중탄산나트륨과 포화 수성 염화나트륨으로 세척하고 무수 황산나트륨으로 건조시킨다. 휘발성 물질을 감압하에 제거하고 잔류물을 고진공하에 3시간 동안 건조시켜 제1 성분 단편(1a)(m=1)을 연한 갈색 오일로서 3.5g(83%) 수득하고, 이를 추가로 정제시키지 않고 사용한다.

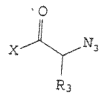
B. 대표적인 제2 성분 단편

본 발명의 대표적인 제2 성분 단편은 다음 화학식 2a와 화학식 2b로 나타낸 바와 같이 활성화된 카복실산 그룹을 갖는 반응성 N-보호된 아미노산 또는 아미노산의 아지도 유도체이다:

화학식 2a



화학식 2b



위의 화학식 2a와 화학식 2b에서,

R_3은 위에서 정의한 바와 같고,

P는 펩타이드 합성시 사용하기에 적합한 아미노 보호 그룹이고,

X는 활성화된 카복실산 그룹의 이탈 그룹이다.

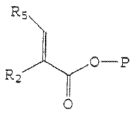
바람직한 보호 그룹은 3급-부틸 디메틸실릴(TBDMS), BOC, FMOC 및 Alloc(알릴옥시카보닐)이다. N-보호된 아미노산은 시판되고 있다. 예를 들면, FMOC 아미노산은 여러 공급원으로부터 시판되고 있다. 이들 화합물의 본 발명의 제2 성분 단편으로의 전환은 N-보호된 아미노산의 카복실산 그룹의 활성화로 쉽게 달성될 수 있다. 적합한 활성화된 카복실산 그룹은 X가 클로라이드 또는 브로마이드와 같은 할라이드인 산 할라이드, X가 아세틸과 같은 아실 그룹인 산 무수물, N-하이드록시석신이미드 에스테르 및 p-니트로페닐 에스테르와 같은 반응성 에스테르, 및 디사이클로헥실카보디이미드(DCC)와 같은 카보디이미드를 사용한 커플링 반응으로 형성된 활성 중간체와 같은 기타 활성화된 중간체이다. 유사하게, 상응하는 아지도 유도체는 공지된 기술로 제조될 수 있다. 바람직한 양태에 있어서, X는 HATU (O-(7-아자벤조트리아놀-1-일)-1,1,3,3-테트라메틸우로늄 헥사플

루오로포스페이트) 커플링시에는 하이드록실이고 규소 매개된 커플링시에는 불소이다.

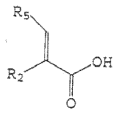
C. 대표적인 제3 성분 단편

본 발명의 대표적인 제3 성분 단편은 화학식 3a와 화학식 3b의 α,β-불포화 카복실산 또는 이의 유도체이다:

화학식 3a



화학식 3b

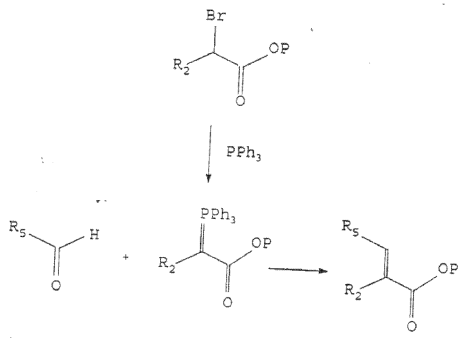


위의 화학식 3a와 화학식 3b에서,

R_2와 R_5는 위에서 정의한 바와 같고,

P는 메틸 또는 3급-부틸 그룹과 같은 카복실산 보호 그룹이다.

이러한 제3 성분 단편은 시판되고 있거나, 시판되고 있는 알데히드와 적합한 포스포루실라이드로부터 다음 반응식에 따라서 합성될 수 있다:



[참조: Wadsworth and Emmons, Org. Syn. 45:44, 1965]

D. 대표적인 제4 성분 단편

본 발명의 대표적인 제4 성분 단편은 다음 화학식 4의 1급 아민이다:

화학식 4

R_1-NH_2

위의 화학식 4에서,

R_1은 위에서 정의한 바와 같다.

적합한 제4 성분 단편은 여러 공급원으로부터 시판되고 있다. 또한, 제4 성분 단편은 1급 아민의 합성에 통상적으로 사용되는 표준 유기 합성 기술로 쉽게 제조될 수 있다.

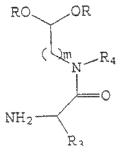
실시예 2

합해진 제1-제2 중간체: 제1 성분 단편과 제2 성분 단편의 커플링

본 발명의 리버스-턴 유사체를 제조하기 위한 성분 단편들의 커플링은 일반적으로 아미드 결합의 형성을 포함한다. 단편들을 결합시키는 아미드 결합은 표준 합성 펩타이드 기술에 의해 형성될 수 있고 액상 또는 고체 상 합성에 의해 수행될 수 있다.

제1 성분 단편과 제2 성분 단편의 커플링은 탈보호 후 화학식 1-2의 합해진 제1-제2 중간체를 형성시킨다:

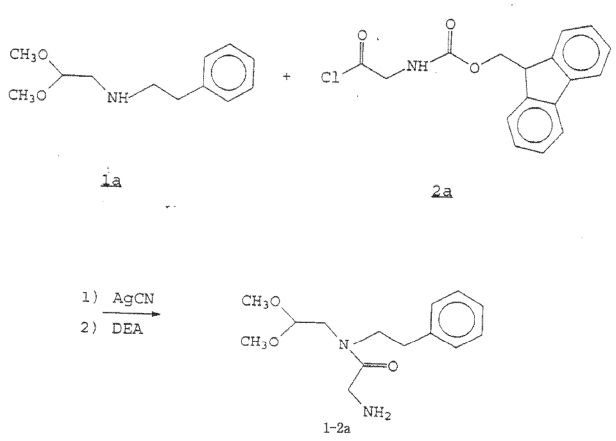
화학식 1-2



위의 화학식 1-2에서,

R, R_3 및 R_4는 위에서 정의한 바와 같다(본 실시예에서, 화학식 I-1에서 R"는 수소이다).

합해진 제1-제2 중간체는 제1 성분 단편(1)의 아민과 제2 성분 단편(2)의 활성화된 카복실산 그룹 간의 아미드 결합 형성 후 N-탈보호에 의해 제조된다. 대표적인 합해진 제1-제2 중간체의 합성을 다음에 도식적으로 나타낸다.



이 과정에서, 25ml 아르곤 충전된 환저 플라스크 속의 새로 증류된 벤젠 10ml 속의 실시예 1A에서 기술된 바와 같이 제조된 제1 성분 단편(1a) 650mg(3.17mmol)과 FMOC-글리신 클로라이드(2a) 1g(3.17mmol)에 시안화은(AgCN) 937mg(7mmol)을 가하고 생성된 반응 혼합물을 48시간 동안 격렬하게 교반한다. 반응물을 25ml w/에틸 아세테이트로 희석시키고 셀라이트 플럭(plug)을 통해 여과한다. 휘발성 물질을 감압하에 제거하고 잔류물을 섬광 등급 실리카 겔 상에서 20:80 에틸 아세테이트:헥산을 이동상으로서 사용하여 크로마토그래피하여 무정형 고체를 1.1g(71%) 수득한다.

아세토니트릴 5ml 속의 무정형 고체 400mg(0.82mmol)에 디에틸아민(DEA) 1ml를 적가하고 생성된 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반한다. 휘발성 물질을 감압하에 제거하고 잔류물을 섬광 등급 실리카 겔 상에서 암모니아로 포화된 5% 메탄올과 95% 디클로로메탄을 이동상으로서 사용하여 크로마토그래피하여 합해진 제1-제2 중간체(1-2a) 207mg(95%)을 진한 무색 오일로서 수득한다.

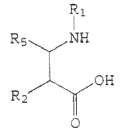
실시예 3

합해진 제3-제4 중간체: 제3 성분 단편과 제4 성분 단편의 커플링

제3 성분 단편과 제4 성분 단편을 커플링시켜 합해진 제3-제4 중간체를 형성시킨다. 합해진 제3-제4 성분 단편은 제3 성분 단편(3)의 α,β- 불포화 카보닐 그룹에 제4 성분 단편(4)의 아민 그룹의 공액 첨가로 인한 아민 결합 형성에 의해 생성된다.

제3 성분 단편과 제4 성분 단편의 커플링은 탈보호 후 다음 화학식 3-4의 합해진 제3-제4 중간체를 제공한다:

화학식 3-4

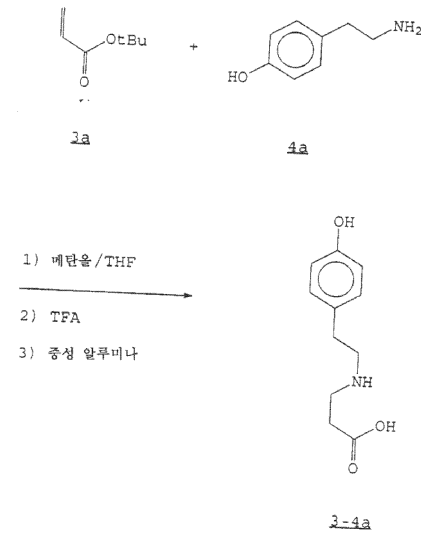


위의 화학식 3-4에서,

R_1, R_2 및 R_5는 위에서 정의한 바와 같다(본 실시예에서, 화학식 I-1에서 n은 0이다).

합해진 제3-제4 중간체는 제4 성분 단편(4)의 1급 아미노 그룹과 제3 성분 단편(3)의 α,β-불포화 카보닐 그룹 간의 아민 결합 형성 후 O-탈보호에 의해 제조된다. 대표적인 합해진 제3-제4 중

간체의 합성법을 다음에 도식적으로 나타낸다.



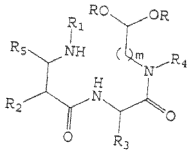
이 과정에서, 아르곤 충전된 250ml 환저 플라스크 속의 새로 증류된 테트라하이드로푸란(THF) 40ml 속의 현탁된 티라민 5g에 현탁액을 용해시키기에 충분한 메탄올을 가한다. 5분에 걸쳐 생성된 용액에 3급-부틸아크릴레이트 5.3ml(4.67g, 36.4mmol)를 적가하고 생성된 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반한다. 추가의 3급-부틸아크릴레이트 2ml를 가하여 잔여 출발 물질을 소모시키고 반응물을 추가로 4시간 동안 교반한다. 휘발성 물질을 감압하에 제거하고 잔류물을 섬광 등급 실리카 겔 상에서 95:5 디클로로메탄:암모니아 포화된 메탄올:NH_3/MeOH를 이동상으로서 사용하여 크로마토그래피하여 무색 오일로서 에스테르를 6.6g(68%) 수득하고, 이는 밤새 냉장시 고화된다. 20ml 디클로로메탄 속의 에스테르 1g(3.77mmol) 용액에 0℃에서 차가운 트리플루오로아세트산(TFA) 80ml를 가하고 생성된 반응 혼합물을 실온으로 가온하면서 24시간 동안 교반한다. 휘발성 물질을 감압하에 제거하여 투명한 오일을 950mg 수득한다. 최종 생성물을 95:5 디클로로메탄:메탄올에 용해시키고 중성 알루미나 패드를 통해서 서서히 여과한다. 휘발성 물질을 여과물로부터 제거하여 무정형 고체로서 화학식 3-4a의 중간체를 750mg 수득한다.

실시예 4

합해진 제1-제2-제3-제4 중간체: 합해진 제1-제2 중간체와 제3-제4 중간체의 커플링

합해진 제1-제2 중간체와 합해진 제3-제4 중간체를 커플링시켜 합해진 제1-제2-제3-제4 중간체를 제공한다. 합해진 제1-제2-제3-제4 중간체는 합해진 제1-제2 중간체(1-2)의 아민 그룹과 합해진 제3-제4 중간체(3-4)의 카복실산 그룹과의 커플링에 의한 아미드 결합 형성에 의해 생성된다. 합해진 제1-제2-제3-제4 중간체는 화학식 1-2-3-4의 구조를 갖는다:

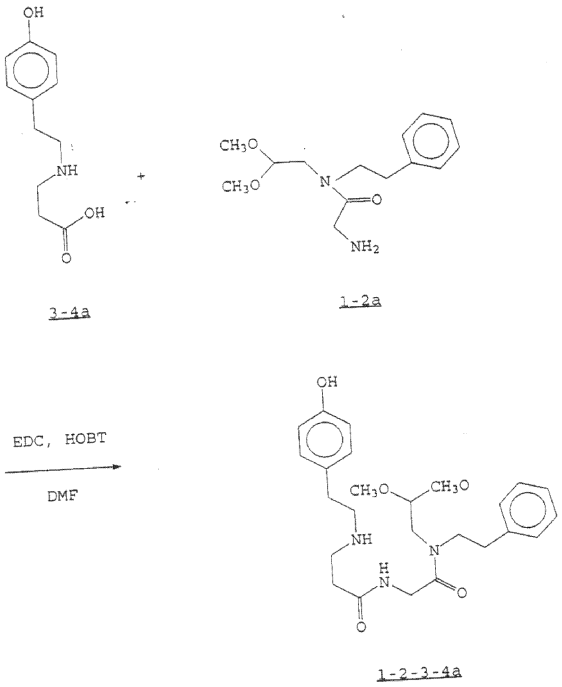
화학식 1-2-3-4



위의 화학식 1-2-3-4에서,

R, R_1, R_2, R_3, R_4 및 R_5는 위에서 정의한 바와 같다.

대표적인 합해진 제1-제2-제3-제4 중간체의 합성법은 다음에 도식적으로 나타낸다.



3-4a 1-2a

1-2-3-4a

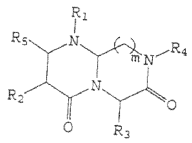
이 과정에서, 화학식 3-4a의 화합물 212mg(1.0mmol), 화학식 1-2a의 화합물 270mg(1.01mmol) 및 1-하이드록시벤조트리아졸 수화물(HOBT) 136mg(1.01mmol)을 디메틸포름아미드(DMF) 10ml에 용해시키고 0℃로 냉각시킨다. 이 용액에 1-(3-디메틸아미노프로필)-3-에틸카보디이미드(EDC) 290mg(1.52mmol, 1.5eq)을 가하고 생성된 반응 혼합물을 실온에서 24시간에 걸쳐 교반하고 가온한다. DMF를 감압하에 제거하고, 잔류물을 에틸 아세테이트 200ml에 재용해시킨다. 에틸 아세테이트 층을 포화 수성 중탄산나트륨과 물로 세척하고 무수 황산나트륨으로 건조시킨다. 휘발성 물질을 감압하에 제거하고 잔류물을 섬광 등급 실리카 겔 상에서 95:5 디클로로메탄:암모니아 포화된 메탄올을 용출제로서 사용하여 크로마토그래피하여 진한 무색 오일로서 중간체(1-2-3-4a)를 310mg(0.68mmol, 67%) 수득한다.

실시예 5

대표적인 리버스-턴 유사체의 합성: 합해진 제1-제2-제3-제4 중간체의 폐환

합해진 제1-제2-제3-제4 중간체를 폐환시켜 본 발명의 리버스-턴 유사체를 제공한다. 캄포르설폰산(CSA) 또는, 바람직한 양태에 있어서, TMSOTF(0℃에서)로 처리함으로써 합해진 제1-제2-제3-제4 중간체(1-2-3-4)를 폐환시켜 화학식 Ia의 리버스-턴 유사체를 제공한다:

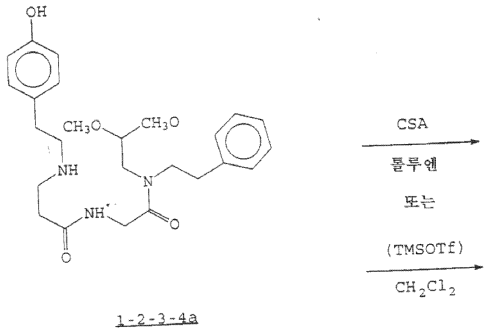
화학식 Ia



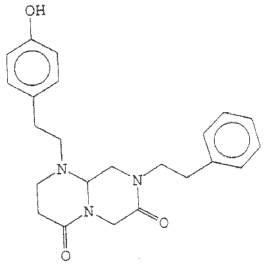
위의 화학식 Ia에서,

R_1, R_2, R_3, R_4 및 R_5는 위에서 정의한 바와 같다.

대표적인 본 발명의 리버스-턴 유사체의 합성법을 다음에 도식적으로 나타낸다.



1-2-3-4a



Ia

이 과정에서, 환류 냉각기가 장착된 100ml 환저 플라스크 속에서 캄포르설폰산(CSA) 0.5g(2.4mmol)을 새로 증류된 톨루엔 3 내지 15ml와 공비시키고 3시간 동안 40℃에서 진공하에 건조시킨다. 이어서, 새로 증류된 톨루엔 20ml를 가하고 CSA 용액을 가열하여 활발하게 환류시킨다. 이렇게 환류시키고 있는 CSA 용액에 새로 증류된 톨루엔 20ml 속의 중간체(1-2-3-4a) 50mg(0.11mmol) 용액을 시린지 펌프를 사용하여 1시간에 걸쳐 가한다. 생성된 반응 혼합물을 12시간 동안 환류시키고 실온으로 냉각시킨 후, 에틸 아세테이트 200ml로 희석시킨다. 유기 층을 포화 수성 중탄산나트륨 2 내지 75ml와 포화 수성 염화나트륨 75ml로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조시킨다. 휘발성 물질을 감압하에 제거하여 글라신 고체로서 화합물(Ia)을 22mg 수득한다. 조 생성물을 50/50 디이소프로필 에테르:헥산으로 연마하여 비극성 불순물을 제거한다. 이어서, 고체를 디클로로메탄에 용해시키고 극성 불순물을 여과하여 제거한다. 증발시 잔류물을 진공하에 24시간 동안 건조시킨다.

실시예 6

대표적인 리버스-턴 유사체 염의 합성

본 발명의 리버스-턴 유사체는 질소 염기이고, 따라서, 각종 산으로 처리함으로써 상응하는 염으로 전환시킬 수 있다. 본 실시예에서는 대표적인 리버스-턴 유사체의 염의 제조방법을 기재한다.

실시예 5에 기술되어 있는 바와 같이 제조한 리버스-턴 유사체(Ia)의 2,4-디니트로벤조산 염은 리버스-턴 유사체를 수성 메탄올 속의 산으로 처리함으로써 수득된다. 이 과정에서, 화합물(Ia) 5mg(12.7μmol)을 80/20 메탄올:물 3㎖에 용해시키고 0℃로 냉각시킨다. 이 용액에 2,4-디니트로벤조산 2.70mg(12.7μmol, 1.0eq)을 가하고 생성된 용액을 균질해질 때까지 교반한다. 휘발성 물질을 감압하에 제거하고 잔류물을 진공하에 24시간 동안 건조시킨다. 잔류물을 온수에 용해시키고 여과하여 불용성 불순물을 제거한다. 염을 동결건조시킨다.

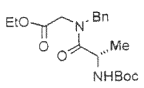
실시예 7

대표적인 리버스-턴 유사체의 합성

본 실시예는 본 발명의 또 다른 대표적인 리버스-턴 유사체를 예시한다.

화학식 x1의 화합물의 합성

화학식 x1

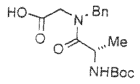


실온에서 THF(50ml) 속의 N-벤질글리신 에틸 에스테르(1.93g, 10mmol)의 교반된 용액에 Boc-Ala-OH(1.9g, 10mmol)을 가한 후, HOBt(1.62g, 12mmol)와 EDCI(2.3g, 12mmol)를 가한다. 생성된 용액을 실온에서 5시간 동안 교반한다. EtOAc(100ml)로 희석시킨 후, 용액을 1N HCl(50ml), 포화

$NaHCO_3$(50ml) 및 염수(50ml)로 세척하고 건조시키고($MgSO_4$), SiO_2의 짧은 패드를 통과시킨 후, 농축시켜 정량적인 수율의 오일을 수득한다. TLC는 생성물의 순도가 다음 반응에 추가의 정제없이 사용되기에 충분함을 나타낸다. TLC R_f 0.6(헥산:EtOAc = 5:5); ^{1}H NMR($CDCl_3$){스펙트럼은 로테이머들의 2:1 혼합물로서 주어진다} δ 1.24(two t, 3H, J=6.5Hz), 1.35 및 1.36(two d, 3H, J=6.5Hz), 1.42 및 1.43(two s, 9H), 3.80(dd, 1H, J=18Hz), 4.15(q, 2H, J=6.5Hz), 4.40(dd, 1H), 4.65(ABq, 2H, J=16.5Hz), 4.80(m, 1H), 5.40(two d, 1H, J=8Hz, NH), 7.1-7.3(m, 5H, 페닐); MS ES+ 365.1($M+H^+$).

화학식 x2의 화합물의 합성

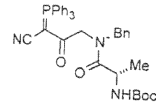
화학식 x2



THF/H_2O(50/50ml) 속의 조 에틸 에스테르(x1) 3.8g의 교반된 용액에 $LiOH \cdot H_2O$(1g)를 실온에서 가한다. 실온에서 30분 동안 교반한 후, 용액을 Et_2O(50ml)로 세척하고 수성 상을 6N HCl(pH 2)로 산성화하고, EtOAc(3x100ml)로 추 출한다. 합해진 유기 추출물을 건조시키고($MgSO_4$), SiO_2의 짧은 패드를 통과시키고 농축시켜 정량적인 수율의 기포를 수득한다. 생성물은 추가의 정제없이 다음 반응에 사용한다. ^{1}H NMR($CDCl_3$){로테이머들의 혼합물} δ 1.33(two d, 3H, J=7Hz), 1.41(two s, 9H), 3.8-4.8(set of m, 5H), 5.70(two d, 1H, J=8Hz, NH), 7.2-7.6(m, 5H, 페닐).

화학식 x3의 화합물의 합성

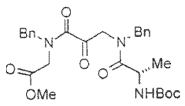
화학식 x3



디클로로메탄(100ml) 속의 산(x2) 3.4g과 시아노메틸렌 트리페닐포스포란(4.1g, 12mmol)의 교반된 용액에 DIEA(5ml, 30mmol), DMAP(250mg, 2mmol) 및 EDCI(2.9g, 15mmol)를 실온에서 순차적으로 가한다. 12시간 동안 교반한 후, 용액을 농축시키고 생성된 잔류물을 1N HCl(100ml)에 용해시켜 EtOAc(3x100ml)로 추출한다. 합해진 추출물을 포화 $NaHCO_3$(100ml)로 세척하고 건조시키고($MgSO_4$), SiO_2의 짧은 패드를 통과시켜 농축시킨다. 조 생성물을 섬광 크로마토그래피(헥산:EtOAc=50:50 내지 30:70 내지 20:80)로 정제하여 기포성 고체(4.40g, 71%)를 수득한다. TLC R_f 0.5(EtOAc); ^{1}H NMR($CDCl_3$){로테이머들의 혼합물} δ 1.28(two d, 3H, J=6.5Hz), 1.44(two s, 9H), 4.2-4.7(set of m, 5H), 5.5(two d, 1H, J=8Hz, NH), 7.2(m, 5H), 7.5-7.8(m, 15H); MS ES+ m/z 520.3, 620.3(M+H+).

화학식 x4의 화합물의 합성

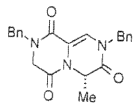
화학식 x4



디클로로메탄(5ml) 속의 포스포란(x3)(310mg, 0.5mmol)의 교반된 용액에 O_3로 78℃에서 15분 동안 용액이 녹색을 띤 청색이 될 때까지 버블링시킨다; TLC는 출발 물질이 완전히 소모되었음을 나타낸다. Ar로 버블링시켜 과량의 오존을 본 용액으로부터 제거하고 N-벤질글리신 에틸 에스테르(100ml)를 가하고 용액을 -78℃에서 30분 동안 교반한다. 농축시킨 후, 잔류물을 EtOAc(50ml)에 용해시키고, 1N HCl(20ml), 포화 $NaHCO_3$(20ml) 및 염수(20ml)로 세척하고 건조시키고($MgSO_4$) 재농축시킨다. 조 생성물을 섬광 크로마토그래피(헥산:EtOAc = 90:10 내지 80:20 내지 70:30 내지 60:40)로 정제하여 오일(105mg, 39%)을 수득한다. TLC R_f 0.42(헥산:EtOAc = 60:40); ^{1}H NMR($CDCl_3$){스펙트럼은 로테이머들의 1:1 혼합물로서 주어진다} δ 1.25(two t, 3H, J=7Hz), 1.31 및 1.38(two d, 3H, J=7Hz), 1.41 및 1.43(two s, 9H), 3.8-4.8(set of m, 11H), 5.5(two d, 1H, NH), 7.2-7.4(m, 5H). MS ES+ m/z 440.3, 540.3(M+H+).

화학식 x5의 화합물의 합성:

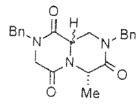
화학식 x5



디클로로메탄 0.5ml 속의 케토아미드(x4)(0.18mmol) 100mg 용액을 TFA 0.5ml로 실온에서 30분 동안 처리한다. 농축시킨 후, 잔류물을 MeOH(2ml)에 용해시키고 $ZnCl_2$(6mg)와 $NaBH_3CN$(15mg)으로 실온에서 밤새(13시간) 처리한다. 농축시킨 후, 잔류물을 포화 $NaHCO_3$(20ml)에 용해시키고 EtOAc(2x20ml)로 추출한다. 합한 추출물을 건조시키고($MgSO_4$), 오일로 농축시키고 예비 TLC(헥산:EtOAc = 60:40)로 정제하여 유리질 고체(52mg, 77%)를 수득한다. (엔아민은 본 발명의 방법에 의해 환원되지 않음을 입증한다.) TLC R_f 0.58(EtOAc); ^1H NMR($CDCl_3$) δ 1.41(d, 3H, J=6.5Hz, $CHCH_3$), 3.93(ABq, 2H, J=18Hz, Gly 속의 CH_2), 4.46 및 4.75(ABq, 1H 각각, J=14.5Hz, CH_2Ph), 4.76(ABq, 2H, J=14Hz, CH_2Ph), 5.22(q, 1H, J=7Hz, $CHCH_3$), 6.83(s, 1H, =CH), 7.33(m, 10H, 페닐); ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ 16.63, 49.59, 49.66, 49.84, 50.98, 111.92, 119.16, 128.07, 128.22, 128.29, 128.52, 128.94, 128.97, 134.78, 134.43, 157.96, 160.67, 165.33. MS ES+ m/z 376.3 (M+H+).

화학식 x6의 화합물의 합성:

화학식 x6



MeOH(2ml) 속의 화학식 x6의 화합물 25mg(0.066mmol)과 PtO_2(5mg) 용액을 H_2 대기(20atm)하에 10일 동안 교반한다. 농축시킨 후, 잔류물을 예비 TLC(헥산:EtOAc=60:40 내지 50:50)로 정제하여 출발 물질(10mg)과 함께 담황색 오일(14mg, 56%)을 수득한다. TLC R_f 0.49(EtOAc); ^1H NMR($CDCl_3$) δ 1.14(d, 1.5H, J=7Hz, $CHCH_3$), 1.52(d, 1.5H, J=7Hz, $CHCH_3$), 3.2-4.8(set of m, 10H), 7.33(m, 10H, 페닐); MS ES+ m/z 378(M+H). RP-HPLC 분석 : C-18; A: 0.1% TFA(aq); B 0.1% TFA(CH_3CN); 구배: 0-90%/40'; 254nm tR 24.1' 및 24.7'은 2:1 비를 나타낸다.

실시예 8

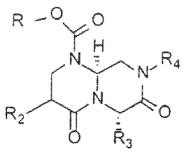
대표적인 리버스-턴 유사체의 합성

본 실시예는 본 발명의 리버스-턴 유사체의 합성방법을 추가로 예시한다. 구체적으로, [4.4.0] 비사이클릭 리버스-턴 유사체의 제조는 용액상(방법 A) 및 고체상(방법 B)으로 수행된다. 당해 리버스-턴 유사체의 고체상 합성은 이들 구성원들을 함유하는 라이브러리들이 쉽게 제조될 수 있음을 입증한다.

방법 B의 고체상 합성법을 도 8에 도시하였다. 도면을 참고하면, 시판되는 아미노메틸 수지를 DMF 속의 과량의 4-브로모-2-부텐산과 DIC(디이소프로필카브디이미드)와 반응시킨다. 브로모 그룹을 DMSO중의 1급 아민으로 치환시킴으로써 상응하는 4-알킬아미노-2-부텐아미드 수지를 수득한다. 표준 펩타이드 커플링 과정을 고체 상으로 수행하여 N-알킬옥시카보닐-a-알킬-b-알라닐-a-알킬글리실-N'-알킬아미노-2-부텐아미드 수지를 수득한다. 수지의 오스뮴 테트라옥사이드 촉매된 퍼요오데이트 산화 후, 생성된 모노사이클릭 생성물을 디클로로메탄 속에서 촉매량의 TFA로 처리하여 리버스-턴 유사체를 수득한다. 조 생성물은 역상 HPLC 분석에서 하나의 주요 피크를 나타낸다.

방법 A 용액상 합성은 고체상 합성과 유사하고 도 2에 도시된 바와 거의 동일하게 수행된다. ^1H NMR은 용액상으로 합성된 이들 유사체의 정제된 생성물에 대해서 수행되고 스펙트럼은 COSY와 ROESY 실험을 조합하여 제공된다. 모든 스펙트럼은 다음에 제시하는 구조와 일치하며 유형 I 또

는 유형 II의 b턴 구조와 유사한 구조를 나타낸다.



	R	R2	R3	R4	방법	MS (M+1)
1.	Bn	H	Me	Me	A 및 B	332
2.	$(CH_2)_2$pMeOPh	H	H	Bn	A	438
3.	$(CH_2)_2$pMeOPh	H	H	$(CH_2)_2$Ph	A	452
4.	$(CH_2)_2$pHOPh	H	H	$(CH_2)_2$Ph	A	438
5.	$(CH_2)_2$pHOPh	H	Bn	$CH_3(CH_2)_4$	A	494
6.	iBu	H	$(CH_2)_2CO_2H$	iBu	A	398
7.	iBu	H	CH_2CO_2H	iBu	A	384
8.	Bn	Bn	Bn	$CH_3(CH_2)_4$	A	554
9.	Bn	H	Me	Bn	B	408
10.	Bn	H	Bn	Bn	B	484
11.	Bn	H	Me	nBu	B	374
12.	Bn	H	Bn	nBu	B	449
13.	Bn	H	Me	iAmyl	B	388
14.	Bn	H	Bn	iAmyl	B	464

실시예 9

대표적인 리버스-턴 유사체의 오피오이드 수용체 결합에 있어서의 활성

본 실시예에서는 대표적인 리버스-턴 유사체의 델타(δ) 및 뮤(μ) 오피오이드 수용체에 대한 결합 활성을 기술한다. 당해 방법에서, 화학식 Ia의 리버스-턴 유사체의 2,4-디니트로벤조산 염(실시예 6에 기술한 바와 같이 제조됨)과 리버스-턴 유사체(5)(실시예 8에서 기술한 바와 같이 제조됨)의 결합이 경쟁적인 방사선리간드 결합 분석으로 평가된다.

A. 오피트 (δ) 결합 활성

본 방법에서, 수컷 기니아 피그의 전뇌로부터 막을 준비하고 2nM [^{3}H]DPDPE(D-펜^3, D-펜^5) 엔케팔린으로 1시간 동안 4℃에서 평형시킨 후, 시험 물질을 가하고 4시간 동안 25℃에서 항온처리한다. 0.3μM 날트린돌의 존재하에 비 특이성 결합을 측정한다. 결합된 ^{3}[H]DPDPE를 유리 섬유 필터맷(filtermat)을 통한 신속한 여과로 유리 방사선리간드로부터 분리시킨 후, 3회 세척한다. 필터맷을 LKB 베타플레이트에서 계수하여 특이적으로 결합된 [^{3}H]DPDPE를 결정한다. [참조: Mosberg et al., "Structural Requirements for δ Opiate Receptor Binding," Molec. Pharmacol. 31:599-602, 1987].

[표 2]

참조 화합물의 결합된 [^{3}H]DPDPE(2nM)에 대한 효과

화합물	IC_{50}(nM)	Ki(nM)	힐 계수
DAMGO	4,800	1,200	1.08
DPDPE	5.5	1.3	0.86
날트린돌	0.63	0.20	0.53
U-50488	53,000	16,000	0.73

당해 분석에서, 방사선리간드 [^{3}H]DPDPE는 B_{max}가 12.6fmol/mg 단백질인 경우 K_d가 0.65nM이고 60%의 특이성 결합을 갖는 것으로 측정된다. 10μM 농도에서, 리버스-턴 유사체(Ia)의 2,4-디니트로벤조산 염은 방사선리간드 결합을 60% 억제하는 것으로 밝혀졌고 K_i는 1.7±0.3μM이고 IC_{50}은 6.9±1.2μM이다. 이러한 결과는 방사선리간드 결합의 억제율(%)을 리버스-턴 유사체(Ia)의 농도 함수로 나타낸 도 1(○)에 도시되어 있다. 또한, 10μM 농도의 리버스-턴 유사체(5)는 방사선리간드 결합을 92% 억제하는 것으로 밝혀졌다. 이들 결과는, 특히 리버스-턴 유사체(Ia 및 5) 및 본 발명의 리버스-턴 유사체들이 일반적으로 δ 오피트 수용체에 대한 결합을 효과적으로 억제하고 진통 활성을 가짐을 입증한다.

B. 오피트 (μ) 결합 활성

이 방법에서는 수컷 기니아 피그의 전뇌로부터 막을 준비하고 2nM [^{3}H]DAMGO(D-Ala^2, N-메틸-phe^4,

gly-ol^5)-엔케팔린과 함께 2시간 동안 25℃에서 항온처리한다. 0.5μM DAMGO의 존재하에 비 특이성 결합을 측정한다. 결합된 [^{3}H]DAMGO를 유리 섬유 필터맷을 통한 신속한 여과로 유리 방사선리간드로부터 분리한 후, 3회 세척한다. 이어서, 필터맷을 LKB 베타플레이트에서 계수하여 특이적으로 결합된 [^{3}H]DAMGO를 결정한다. [참조: Patricia et al., "Pharmacological profiles of fentanyl analogs at μ, δ and κ opiate receptors," Eur. J. Pharmacol. 213:219-225, 1992.]

[표 3]

참조 화합물의 결합된 [^{3}H]DAMGO(2nM)에 대한 효과

화합물	IC_{50}(nM)	Ki(nM)	힐 계수
DAMGO	6.5	0.59	0.92
DPDPE	4.0	0.37	1.32
펜타닐	14	1.2	0.99
날록손	9.3	0.76	1.09
날트린돌	27	2.5	0.98
노르비날토르피민	280	26	1.13
U-50488	6.1	0.59	0.70

당해 분석에서, 방사선리간드 [^{3}H]DAMGO는 B_{max}가 8.7pmol/mg 단백질인 경우 K_d가 0.27nM이고 70%의 특이성 결합을 갖는 것으로 측정된다. 10μM 농도의, 리버스-턴 유사체(Ia)의 2,4-디니트로벤조산 염은 방사선리간드 결합을 64% 억제하는 것으로 밝혀졌고 K_i는 0.64±0.08μM이고 IC_{50}은 5.4±0.7μM이다. 이러한 결과는 방사선리간드 결합 억제율(%)을 리버스-턴 유사체(Ia)의 농도 함수로 나타낸 도 1(●)에 도시되어 있다. 또한, 10μM 농도의 리버스-턴 유사체(5)는 방사선리간드 결합을 98% 억제하는 것으로 밝혀졌다. 이들 결과는, 특히 리버스-턴 유사체(Ia 및 5) 및 본 발명의 리버스-턴 유사체들이 일반적으로 μ 오피트 수용체에 대한 결합을 효과적으로 억제하고 진통 활성을 가짐을 입증한다.

실시예 10

대표적인 리버스-턴 유사체의 진통 활성에 대한 생체내 활성

당해 실시예에서는 대표적인 리버스-턴 유사체의 진통제로서의 생체내 활성을 보여준다. 실시예 6에서 기술한 바와 같이 제조한 화학식 Ia의 리버스-턴 유사체의 2,4-디니트로벤조산 염(이후 "시험 화합물"이라고 한다)을 마우스 꼬리 플리크(flick) 분석[참조: PanLabs, Pharmascreen Test No. 10402A]에 사용한다. 당해 분석에서 마우스 그룹에 대해 방사열 통증 자극에 대한 꼬리 플리크 반응을 유도하는 데 걸리는 시간을 통증 한계 반응으로서 측정한다.

각각 체중이 22(±2)g인 수컷 ICR 마우스의 5개 그룹(3개의 시험 그룹 + 1개의 염수 대조 그룹 + 1개의 모르핀 양성 대조 그룹)을 사용한다. 이들 동물들을 각각 미리 선택하고, 방사열의 집속빔을 동물의 꼬리의 중간 후면에 집중시킨 후 6 내지 7.5초 이내에 꼬리 플리크 반응을 유도한다. 특정량의 시험 화합물(즉, 10, 30 및 100μg)을 6% DMSA를 함유하는 염수 5μl에 용해시키고 각각의 동물에게 대뇌내(ICV) 투여한다. 염수만으로 이루어진 용액을 음성 대조군으로서 사용하고 모르핀을 동물당 10μg/5μl의 양으로 ICV 주사하는 것은 양성 대조군으로 작용한다.

ICV 주사한 지 1분 후, 마우스 그룹들을 꼬리 플리크 반응에 대해 측정하는데, 최대 정지 시간은 15초이다. 각각의 처리 그룹에 대한 평균 반응 시간을 전처리(("0시간") 및 1분 후처리("1분")를 비교하기 위해 계산한다. 50%를 초과하는 연장 1분 후처리("연장율(%)")는 상당히 활성인 것으로 생각된다. 이 실험의 결과를 표 4에 나타내며 이는 시험 화합물이 상당한 진통 활성(즉, 모르핀 효능의 대략 10% 내지 15%)을 가짐을 입증한다.

[표 4]

생체내 꼬리 플리크 분석

화합물	투여량/5㎕	0	1분	연장율(%)
염수	0	6.9	6.7	--
		6.9	7.5	--
		6.1	6.2	--
		6.5	6.3	--
		평균 = 6.6	평균 = 6.7	2%
모르핀	10㎍	7.5	> 15	--
		6.3	> 15	--
		7.2	> 15	--
		6.8	> 15	--

		평균 = 7.0	평균 > 15	100%
시험 화합물	100㎍	6.5	> 15	--
		6.3	> 15	--
		6.5	> 15	--
		6.8	> 15	--
		평균 = 6.5	평균 > 15	100%
	30㎍	6.5	> 15	--
		6.7	7.2	--
		7.2	6.3	--
		6.3	> 15	--
		평균 = 6.7	평균 > 15	63%
	10㎍	6.5	7.5	--
		7.2	7.5	--
		6.9	6.7	--
		6.2	6.8	--
		평균 = 6.7	평균 7.1	6%

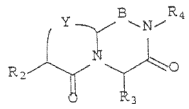
본 명세서에서는 예시를 목적으로 본 발명의 특정 양태를 기술하였지만 본 발명의 정신 및 범위를 벗어남이 없이 다양하게 변화시킬 수 있음은 명백하다. 따라서, 본 발명은 첨부된 청구의 범위를 제외하고는 제한되지 않는다.

(57) 청구의 범위

청구항 1

화학식 I의 화합물.

화학식 I



위의 화학식 I에서,

Y는 -A-N(R_1)-CH(R')-, -A-N(R_1)-C(=O)-, -A-C(=O)-N(R_1)-, -A-CH(R_1)-O- 및 -A-CH(R_1)-N-(R')-이고,

A는 -(CHR')$_n$-(여기서, n은 0, 1 또는 2이다)이고,

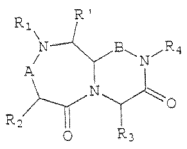
B는 -(CHR")$_m$-(여기서, m은 1, 2 또는 3이다)이고,

R', R", R_2, R_3 및 R_5는 동일하거나 상이하고 독립적으로 아미노산 측쇄 잔기 또는 이의 유도체, 링커(linker) 및 솔리드 서포트(solid support)로부터 선택되고,

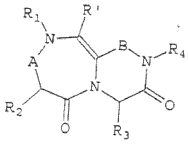
R_1 및 R_4는 화합물의 잔여부분을 나타내며,

비사이클릭 융합 환 위의 2개의 인접하는 CH 그룹들 또는 인접하는 NH 그룹과 CH 그룹은 임의로 이중 결합을 형성할 수 있다.

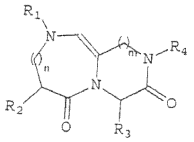
청구항 2

제1항에 있어서, 화학식  의 화합물.

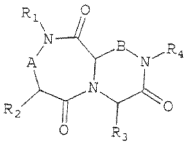
청구항 3

제2항에 있어서, 화학식  의 화합물.

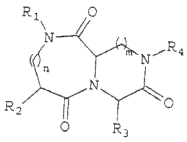
청구항 4

제3항에 있어서, 화학식  의 화합물.

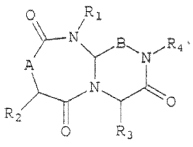
청구항 5


제1항에 있어서, 화학식 의 화합물.

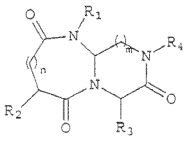
청구항 6


제5항에 있어서, 화학식 의 화합물.

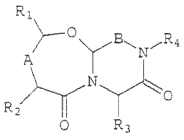
청구항 7


제1항에 있어서, 화학식 의 화합물.

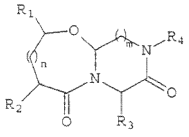
청구항 8


제7항에 있어서, 화학식 의 화합물.

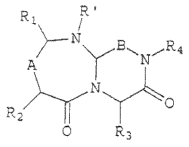
청구항 9


제1항에 있어서, 화학식 의 화합물.

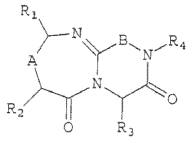
청구항 10


제9항에 있어서, 화학식 의 화합물.

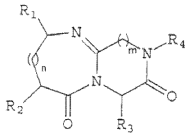
청구항 11


제1항에 있어서, 화학식 의 화합물.

청구항 12

제11항에 있어서, 화학식  의 화합물.

청구항 13

제12항에 있어서, 화학식  의 화합물.

청구항 14

제1항에 따르는 화합물을 약제학적으로 허용되는 담체 또는 희석제와 함께 포함하는 조성물.

청구항 15

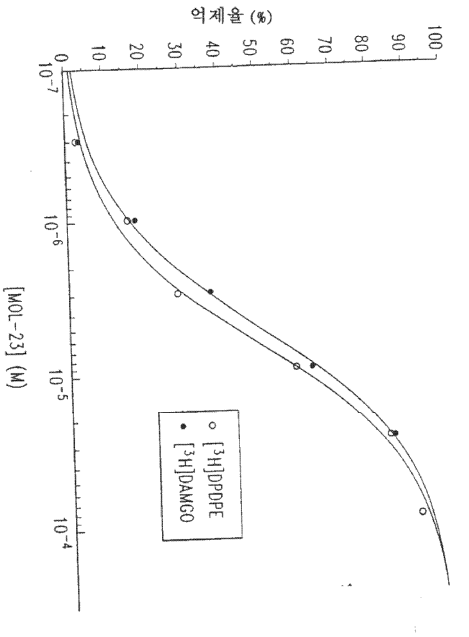
제1항에 따르는 화합물을 포함하는 화합물들의 라이브러리(library).

청구항 16

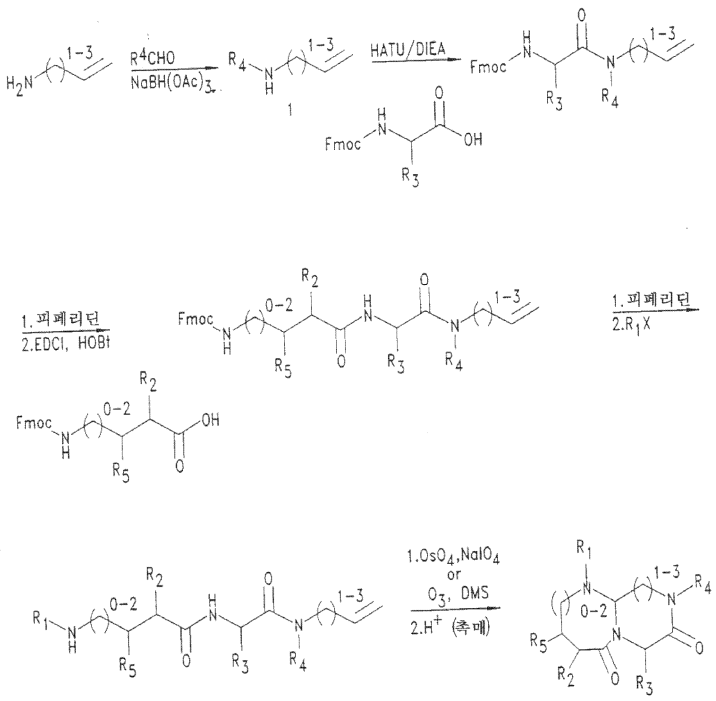
제15항에 따르는 라이브러리를 선별하여 생물학적 활성 화합물을 확인함을 포함하여, 생물학적 활성 화합물을 확인하는 방법.

도면

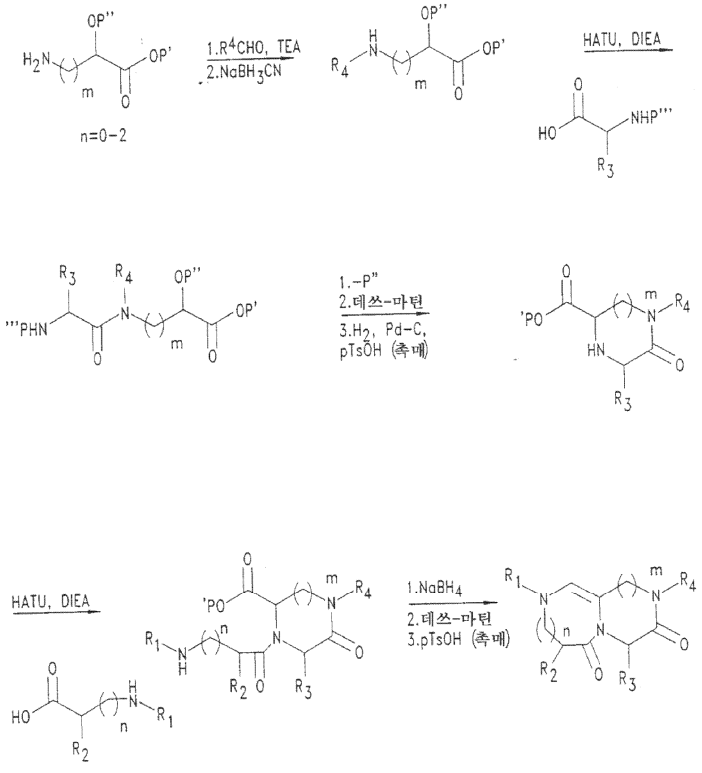
도면1



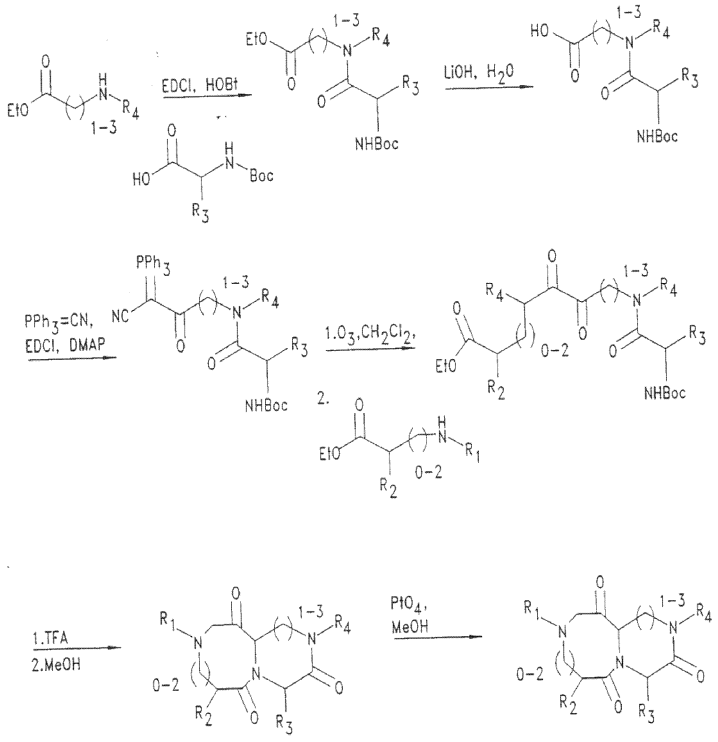
도면2



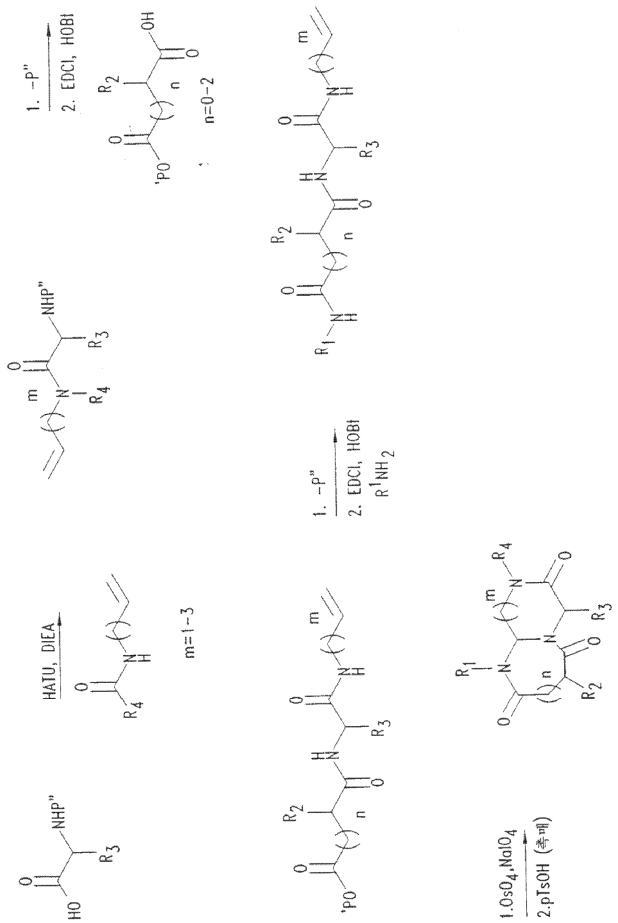
도면3



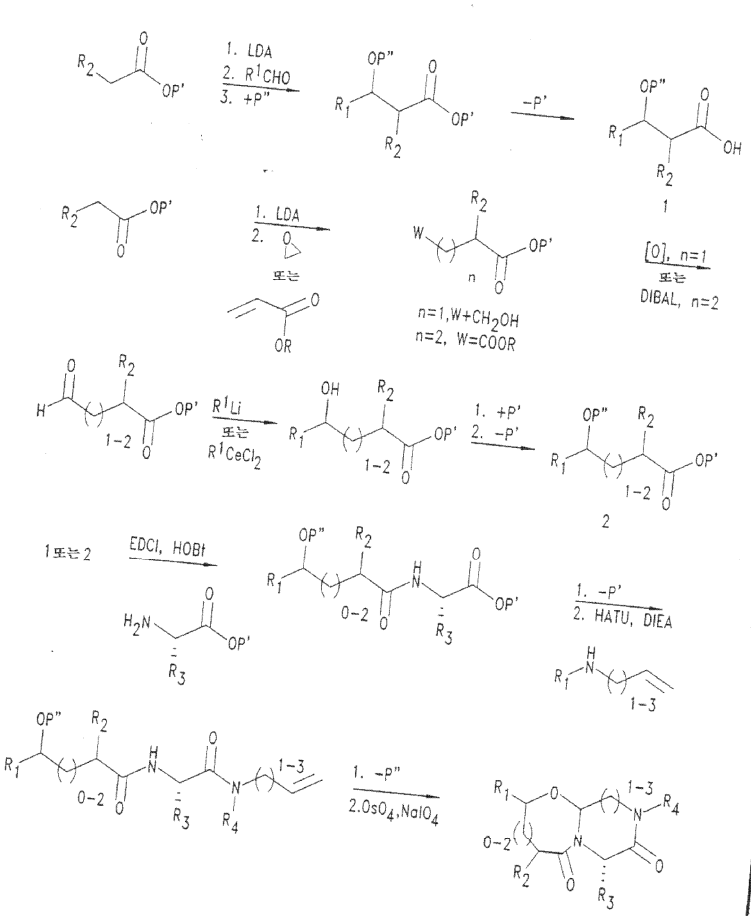
도면4



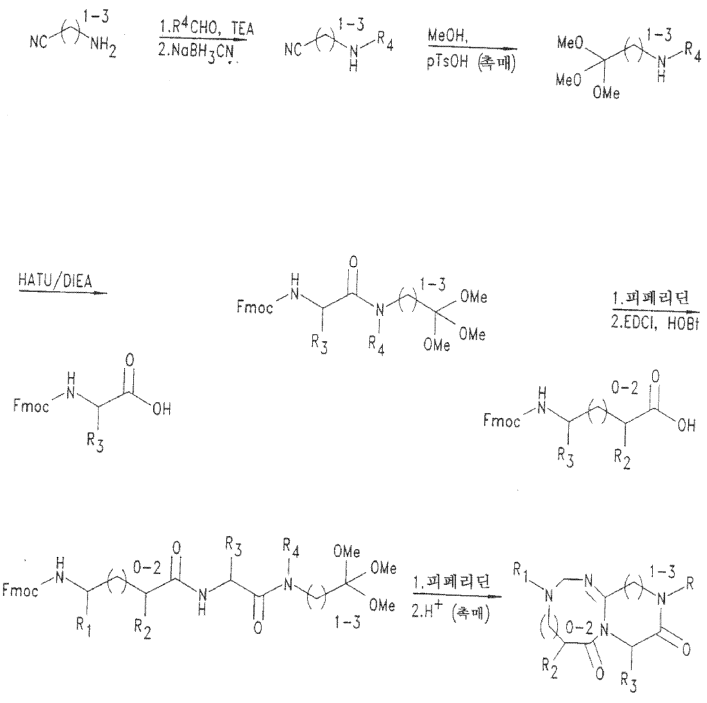
도면5



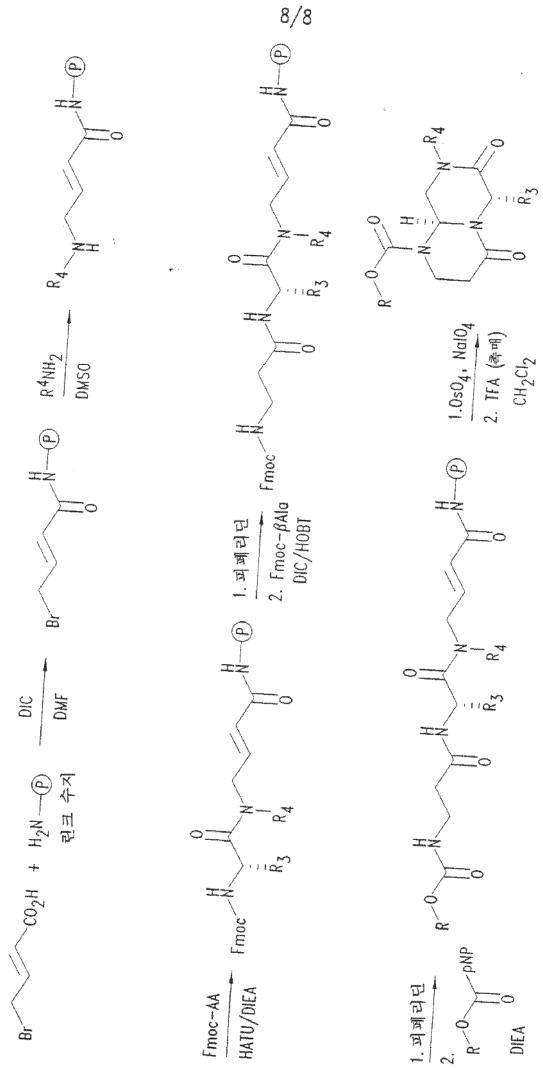
도면6



도면7



도면8


8/8
DIC
DMF
링크 수지
DMSO
1. 피페리딘
2. Fmoc-βAla
DIC/HOBT
Fmoc-AA
HATU/DIEA
1. 피페리딘
DIEA
1. OsO_4, $NaIO_4$
2. TFA (촉매)
CH_2Cl_2