(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0084156
(43) 공개일자 2025년06월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
*C07K 7/64* (2006.01) *C07K 1/02* (2006.01)
(52) CPC특허분류
*C07K 7/64* (2013.01)
*C07K 1/02* (2013.01)
(21) 출원번호 10-2025-7013990
(22) 출원일자(국제) 2023년10월12일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2025년04월28일
(86) 국제출원번호 PCT/JP2023/037071
(87) 국제공개번호 WO 2024/080333
국제공개일자 2024년04월18일
(30) 우선권주장
JP-P-2022-164961 2022년10월13일 일본(JP)

(71) 출원인
**추가이 세이야쿠 가부시키가이샤**
일본국 도쿄도 기타쿠 우키마 5쵸메 5반 1고
(72) 발명자
**호시노 유키**
일본 도쿄도 기타쿠 우키마 5초메 5반 1고 추가이 세이야쿠 가부시키가이샤 내
**세리자와 히로키**
일본 도쿄도 기타쿠 우키마 5초메 5반 1고 추가이 세이야쿠 가부시키가이샤 내
*(뒷면에 계속)*
(74) 대리인
**제일특허법인(유)**

전체 청구항 수 : 총 18 항

(54) 발명의 명칭 **N-치환 아미노산 잔기-함유 고리형 펩티드 화합물의 생성 방법**

## (57) 요 약

본 발명자들은 아세토니트릴, 디메틸 카보네이트, 2-MeTHF 및 아니솔로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상을 함유하는 용매 중에서, N-말단 아미노산 잔기 및 C-말단 아미노산 잔기 중 적어도 하나가 고리형 아미노산 잔기인 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기를 C-말단 아미노산 잔기와 연결함으로써, 에피머화를 방지하고 다량체 형성을 감소하면서 표적 고리형 펩티드 화합물을 효율적으로 생성할 수 있음을 발견하였다.

(72) 발명자

**노기 게이스케**

일본 도쿄도 기타쿠 우키마 5초메 5반 1고 추가이 세이야쿠 가부시키가이샤 내

**마쓰다 마사아키**

일본 도쿄도 기타쿠 우키마 5초메 5반 1고 추가이 세이야쿠 가부시키가이샤 내

**다무라 미호**

일본 도쿄도 기타쿠 우키마 5초메 5반 1고 추가이 세이야쿠 가부시키가이샤 내

# 명 세 서

## 청구범위

### 청구항 1

고리형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 생성 방법으로서,

용매 중에서 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기를 펩티드 화합물의 C-말단 아미노산 잔기와 연결시키는 단계를 포함하고, 여기서

N-말단 아미노산 잔기 및 C-말단 아미노산 잔기 중 적어도 하나는 고리형 아미노산 잔기이고,

용매는 아세토니트릴, 디메틸 카보네이트, 2-MeTHF, 및 아니솔로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는, 방법.

### 청구항 2

고리형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 생성 방법으로서,

용매 중에서 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기를 펩티드 화합물의 C-말단 아미노산 잔기와 연결시키는 단계를 포함하고, 여기서

펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기 및 C-말단 아미노산 잔기는 하기의 a) 내지 e) 중 임의의 것인, 방법:

a) N-말단 아미노산 잔기는 N-치환 페닐알라닌 잔기 또는 N-치환 페닐알라닌 유도체 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기;

b) N-말단 아미노산 잔기는 α,α-이치환 아미노산 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기;

c) N-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 호모페닐알라닌 잔기 또는 호모페닐알라닌 유도체 잔기;

d) N-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 N-치환 Ala 잔기; 및

e) N-말단 아미노산 잔기는 N-치환 Gly 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 N-치환 페닐알라닌 잔기 또는 N-치환 페닐알라닌 유도체 잔기.

### 청구항 3

제2항에 있어서,

용매는 아세토니트릴, 디메틸 카보네이트, 2-MeTHF, 및 아니솔로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는, 방법.

### 청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기를 펩티드 화합물의 C-말단 아미노산 잔기와 연결시키는 것은 N-말단 아미노산 잔기의 아미노기를 C-말단 아미노산 잔기의 카르복실기와 연결하는 것인, 방법.

### 청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 연결시키는 단계는 축합 시약의 존재하에 실시되는, 방법.

### 청구항 6

제5항에 있어서,

축합 시약은 HATU, COMU, DMT-MM, PyOxim, PyBOP, 및 PyClop으로 구성된 군에서 선택되는 하나인, 방법.

**청구항 7**

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 연결시키는 단계는 액상 방법에 의해 실시되는, 방법.

**청구항 8**

제1항 및 제3항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서,

펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기이고 C-말단 아미노산 잔기는 비천연 아미노산 잔기이거나, 또는 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기는 비천연 아미노산 잔기이고 C-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기인, 방법.

**청구항 9**

제2항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서,

펩티드 화합물 내에 함유된 N-말단 아미노산 잔기 및 C-말단 아미노산 잔기는 하기의 a') 내지 e') 중에서 선택되는 하나인, 방법:

a') N-말단 아미노산 잔기는 EtPhe(4-Me) 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 Aze(2) 잔기;

b') N-말단 아미노산 잔기는 cLeu 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 Pro 잔기;

c') N-말단 아미노산 잔기는 Pro 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 Hph(3,5-diF-4-$CF_3$) 잔기;

d') N-말단 아미노산 잔기는 MeGly 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 EtPhe(4-Me) 잔기; 및

e') N-말단 아미노산 잔기는 Aze(2) 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 MeAla 잔기.

**청구항 10**

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서,

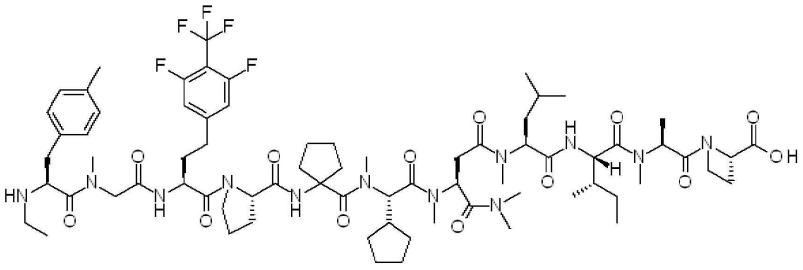
고리형 펩티드 화합물의 아미노산 잔기의 수는 9 내지 15인, 방법.

**청구항 11**

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서,

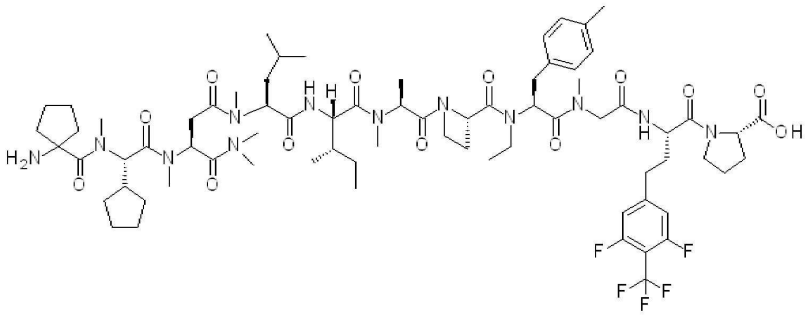
펩티드 화합물은 하기로 구성된 군에서 선택되는 선형 펩티드 화합물:

[화학식 1]



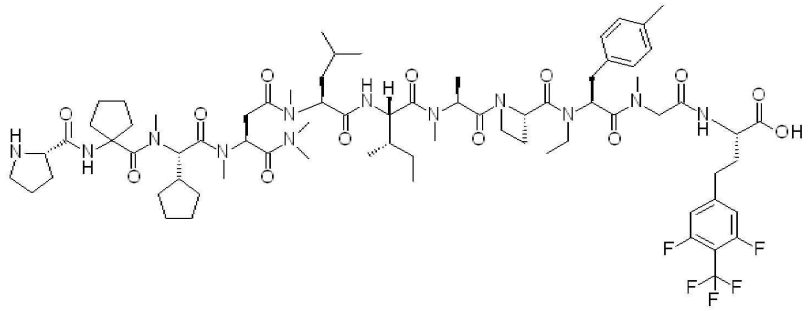
,

[화학식 2]



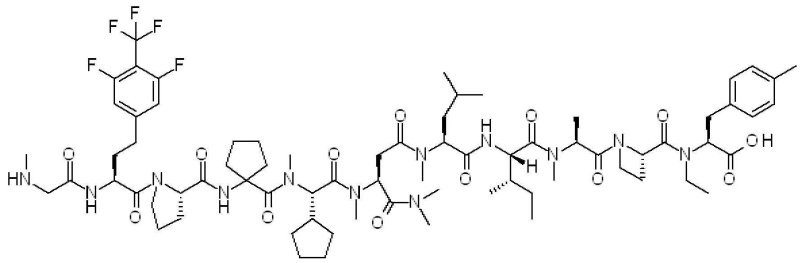
,

[화학식 3]



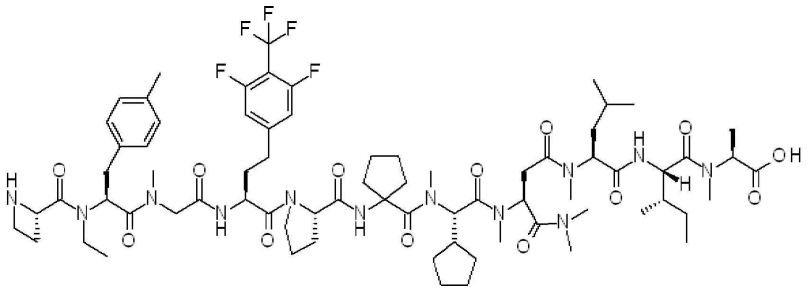
,

[화학식 4]



, 및

[화학식 5]



또는 이의 염 또는 이의 용매화물인, 방법.

**청구항 12**

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서,

고리형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물은 고리형 펩티드 화합물의 용매화물인, 방법.

**청구항 13**

제12항에 있어서,

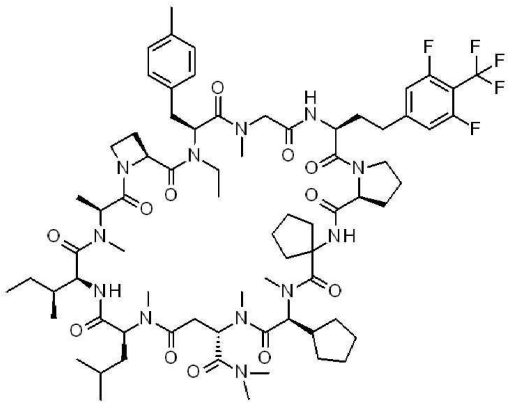
고리형 펩티드 화합물의 용매화물은 고리형 펩티드 화합물의 수화물인, 방법.

**청구항 14**

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서,

고리형 펩티드 화합물은 하기의 화학식 (2)로 표시되는, 방법:

[화학식 6]



(2)

.

**청구항 15**

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서,

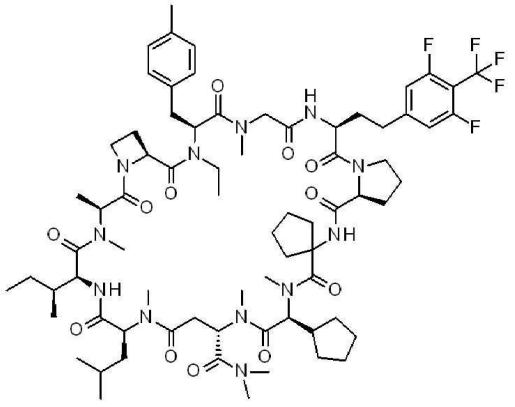
고리형 펩티드 화합물을 결정화에 의해 분리 및/또는 정제하여 고리형 펩티드 화합물의 결정을 수득하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

**청구항 16**

제15항에 있어서,

고리형 펩티드 화합물의 결정은 하기의 화학식 (2)로 표시되는 고리형 펩티드 화합물의 비용매화물 결정 또는 용매화물 결정인, 방법:

[화학식 7]



(2)

.

**청구항 17**

제16항에 있어서,

고리형 펩티드 화합물의 결정은 용매화물 결정인, 방법.

**청구항 18**

제17항에 있어서,

고리형 펩티드 화합물의 용매화물 결정은 수화물 결정인, 방법.

## 발명의 설명

### 기 술 분 야

[0001] 본 발명은 고리형 펩티드 화합물의 생성 방법에 관한 것으로서, α-탄소 상에 측쇄를 갖는 C-말단 아미노산 잔기를 포함하고 N-말단 아미노산 잔기 및 C-말단 아미노산 잔기 중의 하나 또는 둘 모두에 N-치환 아미노산 잔기를 갖는 펩티드 화합물의 고리화 단계를 포함하는, 고리형 펩티드 화합물의 생성 방법에 관한 것이다.

### 배 경 기 술

[0002] 펩티드는 많은 수의 아미노산이 연결된 분자이다. 펩티드는 유기체의 생명 활성에 필수적인 역할을 한다. 이들 펩티드는 C-말단 카르복실기가 활성화된 아미노산 또는 펩티드를 펩티드의 아미노산 또는 아미노기와 반응시켜 아미드 결합을 형성함으로써 원하는 펩티드 서열로 확장될 수 있다. 하지만, N-메틸기의 입체장애(steric hindrance), 위치 α의 아미노산 잔기의 에피머화(epimerization) 등에 의한 축합반응의 낮은 반응성으로 인하여, 서열 내에 비천연 아미노산을 포함하는 펩티드, 특히 N-메틸아미노산을 포함하는 펩티드의 생성으로 인해 표적 물질의 수율이 저하되는 문제가 있었다(비특허문헌 1).

[0003] 에피머화와 같은 부반응에 의해 생성된 부산물을 제거하는 것은 전형적으로 정제 단계를 필요로 한다. 하지만, 산업적 규모의 펩티드 합성에 있어서, 펩티드 정제 단계는 생산 시간이 길어지고 이의 비용이 상승하는 문제점이 있다. 따라서, 부산물을 최소화하면서 컬럼 크로마토그래피 또는 번거로운 정제 단계에 의한 정제 없이 관심의 펩티드를 합성할 수 있는 방법이 필요하다.

[0004] 선형 펩티드의 N-말단 아미노산 잔기와 선형 펩티드의 C-말단 아미노산 잔기를 연결하여 고리형 펩티드를 합성하는 경우에도 에피머화의 문제가 발생할 수 있다. 따라서, 선형 펩티드의 고리화 반응은 또한 아미노산 또는 펩티드의 신장 반응에서와 같이 위치 α에서 C-말단 아미노산 잔기의 에피머화를 피할 것을 요구한다.

[0005] 이러한 위치 α에서 펩티드의 C-말단 아미노산 잔기의 에피머화를 방지하기 위하여, C-말단의 카르복실기를 활성화시켜 다른 아미노산 또는 펩티드에 결합시키고, 여기서 C-말단 아미노산 잔기는 α-탄소 상에 측쇄를 갖지 않거나 또는 이치환체(α,α-이치환)를 갖지 않는 방법이 사용될 수 있다(비특허 문헌 2).

[0006] 한편, C-말단 아미노산 잔기의 α-탄소 상에 측쇄를 갖는 선형 펩티드의 카르복실기를 활성화시키고 고리화시키는 반응에 있어서, 반응점의 아미노산 잔기 중 적어도 하나가 N-치환 아미노산 잔기인 경우, 고리화 반응에 의한 고리형 펩티드의 합성에서 실제로 에피머화가 발생하는 것으로 공지되어 있다(비특허문헌 3). 하지만 쉽게 입수가능하고 저렴한 시약과 반응성 아미노산 잔기를 사용하여 에피머화를 억제할 수 있는 반응 조건은 밝혀지지 않았다.

[0007] 또한, 고리화 반응 동안 분자간 반응도 경쟁적으로 진행되어 펩티드의 이량체 및 삼량체와 같은 올리고머가 형성될 수 있다(비특허문헌 4). 이러한 올리고머 형성의 경우, 쉽게 입수가능하고 저렴한 시약 및 용매와 반응성 아미노산 잔기를 사용하여 올리고머 형성을 억제할 수 있는 반응 조건은 밝혀지지 않았다. 또한, 이러한 에피머화된 펩티드 및 펩티드의 올리고머는 부산물이므로 관심의 고리형 펩티드로부터 분리 및 제거가 필요하다. 이러한 부산물이 대량으로 생성되는 경우, 컬럼 크로마토그래피와 같은 다량의 용매를 사용하는 번거로운 정제 단계를 생산 공정에 도입해야 하므로, 생산 공정이 복잡하고 비용이 증가하게 된다. 따라서, 부산물의 형성을 억제할 수 있는 방법이 요구된다.

[0008] 고리형 펩티드의 합성 효율을 개선시키기 위해서는 고리화 반응 후 후처리 단계에서 액체 분리가 용이한 용매로 고리화 반응을 실시하는 것이 바람직할 것으로 생각된다. 하지만, 고리화 반응에 종종 사용되는 반응 용매는 환경적 부담이 큰 할로겐화 탄화수소 용매(디클로로메탄 등) 및 아미드 용매(DMF 등)이기 때문에, 이 시점부터 대체 용매를 찾는 것이 또한 필요하다(비특허문헌 5).

[0009] 따라서, 비용, 환경적 부담, 생산 용이성 및 생산 방법의 산업적 적용 가능성 등의 관점에서, C-말단 아미노산 잔기의 α-탄소 상에 측쇄를 갖는 펩티드의 카르복실기를 활성화시켜 고리화 반응을 실시할 때 에피머 및 올리

고머와 같은 부산물 형성을 억제할 수 있는 반응점의 역할을 하는 아미노산 잔기와 반응 후 액체 분리를 용이하게 하는 용매의 조합, 반응 용매 및 시약을 찾는 것이 중요하다.

## 선행기술문헌

### 비특허문헌

[0010] (비특허문헌 0001) J. Peptide Res., 2005, 65, 153-166.

(비특허문헌 0002) Org. Lett. 2013, 15, 1155-1157.

(비특허문헌 0003) (비특허 문헌 3) Org. Lett. 2012, 14, 612-615.

(비특허문헌 0004) (비특허 문헌 4) Chem. Rev. 1997, 6, 2243-2266.

(비특허문헌 0005) (비특허 문헌 5) Green Chem. Lett. Rev., 2021, 14, 153-164.

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0011] 본 발명은 이러한 상황을 감안하여 안출된 것으로, 본 발명의 목적은 α-탄소 상의 측쇄를 갖는 C-말단 아미노산 잔기를 포함하며, N-말단 아미노산 잔기와 C-말단 아미노산 잔기 중의 어느 하나 또는 둘 모두에 N-치환 아미노산 잔기를 갖는 펩티이드 화합물로부터 고리형 펩티드 화합물을 합성함에 있어서, 비용, 환경적 부담, 제조의 용이성 측면에서, 에피머화의 억제 및 올리고머 형성의 감소를 통해 효율적으로 관심의 고리형 펩티드 화합물을 제조하는 방법을 제공하는 것이다. 구체적으로, 본 발명의 목적은 에피머화를 억제하고 올리고머 형성을 감소시킬 수 있는, 소정의 N-말단 및 C-말단 아미노산 잔기를 갖는 펩티드 화합물을 고리화하는 방법을 제공하는 것이다.

### 과제의 해결 수단

[0012] 본 발명자들은 상기와 같은 문제점을 해결하기 위하여 예의 연구한 결과, α-탄소 상의 측쇄를 갖는 C-말단 아미노산 잔기를 포함하고, N-말단 아미노산 잔기 및 C-말단 아미노산 잔기 중 적어도 하나 또는 둘 모두에 N-치환 아미노산 잔기를 갖는 펩티드 화합물로부터 고리형 펩티드 화합물을 합성함에 있어서, 에피머화를 억제하고 올리고머의 형성을 감소시켜 관심의 고리형 펩티드 화합물을 효율적으로 생성할 수 있음을 발견하였다.

[0013] 비제한적인 구체적인 일 양태에서, 본 발명은 다음을 포함한다.

[0014] [1] 고리형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 생성 방법으로서,

[0015] 용매 중에서 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기를 펩티드 화합물의 C-말단 아미노산 잔기와 연결시키는 단계를 포함하고, 여기서

[0016] N-말단 아미노산 잔기 및 C-말단 아미노산 잔기 중 적어도 하나는 고리형 아미노산 잔기이고,

[0017] 용매는 아세토니트릴, 디메틸 카보네이트, 2-MeTHF, 및 아니솔로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는, 방법.

[0018] [2] 고리형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 생성 방법으로서,

[0019] 용매 중에서 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기를 펩티드 화합물의 C-말단 아미노산 잔기와 연결시키는 단계를 포함하고, 여기서

[0020] 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기 및 C-말단 아미노산 잔기는 하기의 a) 내지 e) 중에서 선택되는 하나인, 방법:

[0021] a) N-말단 아미노산 잔기는 N-치환 페닐알라닌 잔기 또는 N-치환 페닐알라닌 유도체 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기;

[0022] b) N-말단 아미노산 잔기는 α,α-이치환 아미노산 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기;

[0023] c) N-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 호모페닐알라닌 잔기 또는 호모페닐알라닌 유도체 잔기;

[0024] d) N-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 N-치환 Ala 잔기; 및

[0025] e) N-말단 아미노산 잔기는 N-치환 Gly 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 N-치환 페닐알라닌 잔기 또는 N-치환 페닐알라닌 유도체 잔기.

[0026] [3] [2]에 있어서,

[0027] 용매는 아세토니트릴, 디메틸 카보네이트, 2-MeTHF, 및 아니솔로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는, 방법.

[0028] [4] [1] 또는 [2]에 있어서,

[0029] 용매는 아세토니트릴, 디메틸 카보네이트, 2-MeTHF, 및 아니솔로 구성된 군에서 선택되는 하나인, 방법.

[0030] [5] [1] 또는 [2]에 있어서,

[0031] 용매는 아세토니트릴 및 디메틸 카보네이트로 구성된 군에서 선택되는 하나인, 방법.

[0032] [6] [1] 또는 [2]에 있어서,

[0033] 용매는 아세토니트릴인, 방법.

[0034] [7] [1] 또는 [2]에 있어서,

[0035] 용매는 디메틸 카보네이트인, 방법.

[0036] [8] [1] 내지 [7] 중 임의의 것에 있어서,

[0037] 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기를 펩티드 화합물의 C-말단 아미노산 잔기와 연결시키는 것은 N-말단 아미노산 잔기의 아미노기를 C-말단 아미노산 잔기의 카르복실기와 연결하는 것인, 방법.

[0038] [9] [1] 내지 [7] 중 임의의 것에 있어서,

[0039] 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기를 펩티드 화합물의 C-말단 아미노산 잔기와 연결시키는 것은 N-말단 아미노산 잔기의 아미노기를 C-말단 아미노산 잔기의 카르복실기와 아미드 결합에 의해 연결하는 것인, 방법.

[0040] [10] [1] 내지 [9] 중 임의의 것에 있어서,

[0041] 상기 연결시키는 단계는 축합 시약의 존재하에 실시되는, 방법.

[0042] [11] [10]에 있어서,

[0043] 축합 시약은 HATU, COMU, DMT-MM, PyOxim, PyBOP, 및 PyClop로 구성된 군에서 선택되는 하나인, 방법.

[0044] [12] [10]에 있어서,

[0045] 축합 시약은 HATU 및 COMU로 구성된 군에서 선택되는 하나인, 방법.

[0046] [13] [10]에 있어서,

[0047] 축합 시약은 HATU인, 방법.

[0048] [14] [10]에 있어서,

[0049] 축합 시약은 COMU인, 방법.

[0050] [15] [10]에 있어서,

[0051] 축합 시약은 HATU이고, 용매는 디메틸 카보네이트인, 방법.

[0052] [16] [10]에 있어서,

[0053] 축합 시약은 HATU이고, 용매는 아세토니트릴인, 방법.

[0054] [17] [10]에 있어서,

[0055] 축합 시약은 COMU이고, 용매는 디메틸 카보네이트인, 방법.

[0056] [18] [10]에 있어서,

[0057] 축합 시약은 COMU이고, 용매는 아세토니트릴인, 방법.

[0058] [19] [1] 내지 [18] 중 임의의 것에 있어서,

[0059] 상기 연결시키는 단계는 염기의 존재하에 실시되는, 방법.

[0060] [20] [19]에 있어서,

[0061] 염기는 유기 염기인, 방법.

[0062] [21] [19]에 있어서,

[0063] 염기는 삼차 아민을 포함하는 유기 염기인, 방법.

[0064] [22] [19]에 있어서,

[0065] 염기는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA), 1,8-디아자비시클로[5.4.0]-7-운데센(DBU), 2,3,6,7-테트라히드로-1H,5H-9-아자벤조[ij]퀴놀리진, 1,4-디아자비시클로[2.2.2]옥탄(DABCO), 1,5-디아자비시클로[4.3.0]-5-노넨(DBN), 7-메틸-1,5,7-트리아자비시클로[4.4.0]데크-5-엔, 1,1,3,3-테트라메틸구아니딘(TMG), 1,8-비스(테트라메틸구아니디노)나프탈렌(TMGN), 2-tert-부틸-1,1,3,3-테트라메틸구아니딘(BTMG), 트리에틸아민(TEA), 트리메틸아민, 1-메틸피페리딘, N,N'-디메틸피페라진, N-메틸모르폴린, N-에틸모르폴린, 및 p-디메틸아미노피리딘(DMAP)으로 구성된 군에서 선택되는 하나인, 방법.

[0066] [23] [19]에 있어서,

[0067] 염기는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)인, 방법.

[0068] [24] [19]에 있어서,

[0069] 축합 시약은 HATU이고, 용매는 디메틸 카보네이트이며, 염기는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)인, 방법.

[0070] [25] [19]에 있어서,

[0071] 축합 시약은 HATU이고, 용매는 아세토니트릴이며, 염기는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)인, 방법.

[0072] [26] [19]에 있어서,

[0073] 축합 시약은 COMU이고, 용매는 디메틸 카보네이트이며, 염기는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)인, 방법.

[0074] [27] [19]에 있어서,

[0075] 축합 시약은 COMU이고, 용매는 아세토니트릴이며, 염기는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)인, 방법.

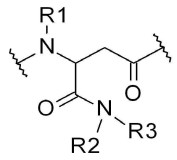
[0076] [28] [1] 내지 [27] 중 임의의 것에 있어서,

[0077] 펩티드 화합물에 함유된 C-말단의 아미노산 잔기는 카르복실기의 α-탄소 상에 측쇄를 갖는 아미노산 잔기인, 방법.

[0078] [29] [1] 내지 [27] 중 임의의 것에 있어서,

[0079] 펩티드 화합물은 N-말단 아미노산 잔기 및 C-말단 아미노산 잔기 이외의 아미노산 잔기들 중 어느 하나에서 화학식 (1)의 아미노산 잔기를 포함하고:

[0080] [화학식 1]

[0081] 

(1)

[0082] 여기서

[0083] $R^1$은 수소 또는 $C_1$-$C_6$ 알킬이고,

[0084] $R^2$ 및 $R^3$은 각각 독립적으로 수소 또는 $C_1$-$C_6$ 알킬이거나, 또는 $R^2$ 및 $R^3$은 이들이 부착된 질소 원자와 함께 4원 내지 7원 포화 헤테로사이클을 형성하는, 방법.

[0085] [30] [29]에 있어서,

[0086] $R^1$은 $C_1$-$C_6$ 알킬인, 방법.

[0087] [31] [29]에 있어서,

[0088] $R^1$은 메틸인, 방법.

[0089] [32] [29] 내지 [31] 중 임의의 것에 있어서,

[0090] $R^2$ 및 $R^3$은 각각 독립적으로 $C_1$-$C_6$ 알킬인, 방법.

[0091] [33] [29] 내지 [31] 중 임의의 것에 있어서,

[0092] $R^2$ 및 $R^3$은 각각 메틸인, 방법.

[0093] [34] [29]에 있어서,

[0094] $R^1$은 $C_1$-$C_6$ 알킬이고, $R^2$ 및 $R^3$은 각각 독립적으로 $C_1$-$C_6$ 알킬이거나, 또는 $R^2$ 및 $R^3$은 이들이 부착된 질소 원자와 함께 4원 내지 7원 포화 헤테로사이클을 형성하는, 방법.

[0095] [35] [29]에 있어서,

[0096] $R^1$은 메틸이고, $R^2$ 및 $R^3$은 각각 메틸인, 방법.

[0097] [36] [1] 내지 [35] 중 임의의 것에 있어서,

[0098] 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기이거나, 또는 펩티드 화합물의 C-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기인, 방법.

[0099] [37] [1] 내지 [35] 중 임의의 것에 있어서,

[0100] 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기이고 C-말단 아미노산 잔기는 비천연 아미노산 잔기이거나, 또는 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기는 비천연 아미노산 잔기이며, C-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기인, 방법.

[0101] [38] [1] 내지 [35] 중 임의의 것에 있어서,

[0102] 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기이고 C-말단 아미노산 잔기는 호모페닐알라닌 잔기, 호모페닐알라닌 유도체 잔기, 또는 N-치환 Ala 잔기이거나, 또는 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기는 N-치환 페닐알라닌 잔기, N-치환 페닐알라닌 유도체 잔기, 또는 α,α-이치환 아미노산 잔기이고 C-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기인, 방법.

[0103] [38-1] [1] 내지 [35] 중 임의의 것에 있어서,

[0104] 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기이고 C-말단 아미노산 잔기는 호모페닐알라닌 유도체 잔기, 또는 N-치환 Ala 잔기이거나, 또는 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기는 N-치환 페닐알라닌 유도체 잔기, 또는 α,α-이치환 아미노산 잔기이며, C-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기인, 방법.

[0105] [39] [1] 내지 [35] 중 임의의 것에 있어서,

[0106] 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기는 N-치환 페닐알라닌 잔기 또는 N-치환 페닐알라닌 유도체 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기인, 방법.

[0107] [39-1] [1] 내지 [35] 중 임의의 것에 있어서,

[0108] 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기는 N-치환 페닐알라닌 유도체 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기인, 방법.

[0109] [40] [1] 내지 [35] 중 임의의 것에 있어서,

[0110] 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기는 α,α-이치환 아미노산 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기인, 방법.

[0111] [41] [1] 내지 [35] 중 임의의 것에 있어서,

[0112] 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 호모페닐알라닌 잔기 또는 호모페닐알라닌 유도체 잔기인, 방법.

[0113] [41-1] [1] 내지 [35] 중 임의의 것에 있어서,

[0114] 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 호모페닐알라닌 유도체 잔기인, 방법.

[0115] [42] [1] 내지 [35] 중 임의의 것에 있어서,

[0116] 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 N-치환 Ala 잔기인, 방법.

[0117] [43] [2] 내지 [35] 중 임의의 것에 있어서,

[0118] 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기는 N-치환 Gly 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 N-치환 페닐알라닌 잔기 또는 N-치환 페닐알라닌 유도체 잔기인, 방법.

[0119] [43-1] [2] 내지 [35] 중 임의의 것에 있어서,

[0120] 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기는 N-치환 Gly 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 N-치환 페닐알라닌 유도체 잔기인, 방법.

[0121] [44] [1] 내지 [42] 중 임의의 것에 있어서,

[0122] 고리형 아미노산 잔기는 Pro 잔기, 프롤린 유도체 잔기 및 Aze(2) 잔기 중에서 선택되는 하나인, 방법.

[0123] [45] [1] 내지 [42] 중 임의의 것에 있어서,

[0124] 고리형 아미노산 잔기는 Pro 잔기 및 Aze(2) 잔기 중에서 선택되는 하나인, 방법.

[0125] [46] [1] 내지 [42] 중 임의의 것에 있어서,

[0126] 고리형 아미노산 잔기는 Pro 잔기인, 방법.

[0127] [47] [1] 내지 [42] 중 임의의 것에 있어서,

[0128] 고리형 아미노산 잔기는 Aze(2) 잔기인, 방법.

[0129] [48] [2] 내지 [39] 및 [43] 중 임의의 것에 있어서,

[0130] N-치환 페닐알라닌 유도체 잔기는 N-알킬페닐알라닌 유도체 잔기인, 방법.

[0131] [49] [48]에 있어서,

[0132] N-알킬페닐알라닌 유도체 잔기는 EtPhe 유도체 잔기인, 방법.

[0133] [50] [49]에 있어서,

[0134] EtPhe 유도체 잔기는 EtPhe(4-Me) 잔기인, 방법.

[0135] [51] [2] 내지 [38] 및 [41] 중 임의의 것에 있어서,

[0136] 호모페닐알라닌 유도체 잔기는 Hph(3,5-diF-4-$CF_3$) 잔기인, 방법.

[0137] [52] [2] 내지 [38] 및 [40] 중 임의의 것에 있어서,

[0138] α,α-이치환 아미노산 잔기는 cLeu 잔기인, 방법.

[0139] [53] [2] 내지 [38] 및 [42] 중 임의의 것에 있어서,

[0140] N-치환 Ala 잔기는 N-알킬 Ala 잔기인, 방법.

[0141] [54] [53]에 있어서,

[0142] N-알킬 Ala 잔기는 MeAla 잔기인, 방법.

[0143] [55] [2] 내지 [37] 및 [43] 중 임의의 것에 있어서,

[0144] N-치환 Gly 잔기는 N-알킬 Gly 잔기인, 방법.

[0145] [56] [55]에 있어서,

[0146] N-알킬 Gly 잔기는 MeGly 잔기인, 방법.

[0147] [57] [2] 내지 [37] 중 임의의 것에 있어서,

[0148] 펩티드 화합물 내에 함유된 N-말단 아미노산 잔기 및 C-말단 아미노산 잔기는 하기의 a') 내지 e') 중에서 선택되는 하나인, 방법:

[0149] a') N-말단 아미노산 잔기는 EtPhe(4-Me) 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 Aze(2) 잔기;

[0150] b') N-말단 아미노산 잔기는 cLeu 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 Pro 잔기;

[0151] c') N-말단 아미노산 잔기는 Pro 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 Hph(3,5-diF-4-CF3) 잔기;

[0152] d') N-말단 아미노산 잔기는 MeGly 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 EtPhe(4-Me) 잔기; 및

[0153] e') N-말단 아미노산 잔기는 Aze(2) 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 MeAla 잔기.

[0154] [58] [1] 내지 [57] 중 임의의 것에 있어서,

[0155] 고리형 펩티드 화합물의 아미노산 잔기의 수는 9 내지 15인, 방법.

[0156] [59] [1] 내지 [57] 중 임의의 것에 있어서,

[0157] 고리형 펩티드 화합물의 아미노산 잔기의 수는 11인, 방법.

[0158] [60] [1] 내지 [59] 중 임의의 것에 있어서,

[0159] 펩티드 화합물은 선형 펩티드 화합물인, 방법.

[0160] [61] [60]에 있어서,

[0161] 선형 펩티드 화합물의 아미노산 잔기의 수는 9 내지 15인, 방법.

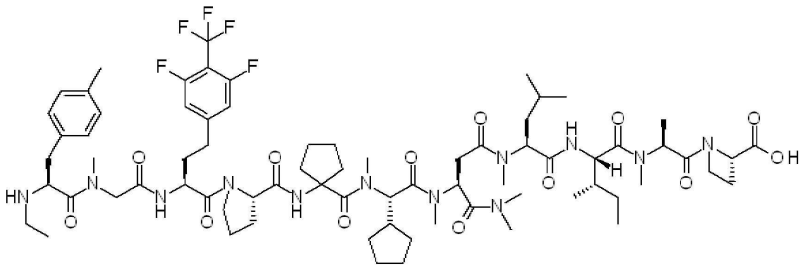
[0162] [62] [60]에 있어서,

[0163] 선형 펩티드 화합물의 아미노산 잔기의 수는 11인, 방법.

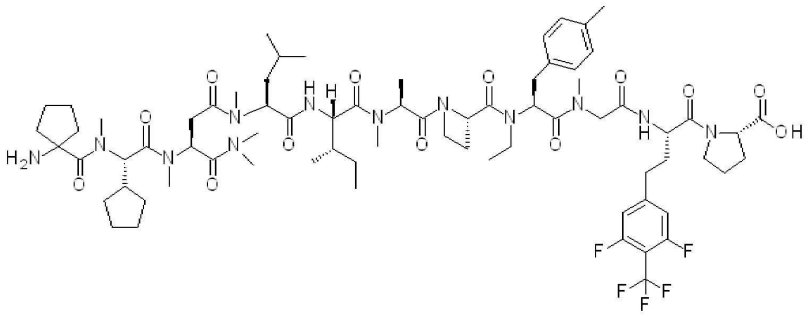
[0164] [63] [1] 내지 [57] 중 임의의 것에 있어서,

[0165] 펩티드 화합물은 하기로 구성된 군에서 선택되는 선형 펩티드 화합물:

[0166] [화학식 2]

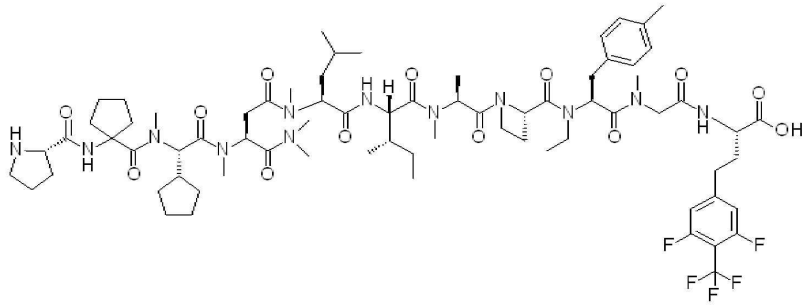
[0167] 
,

[0168] [화학식 3]



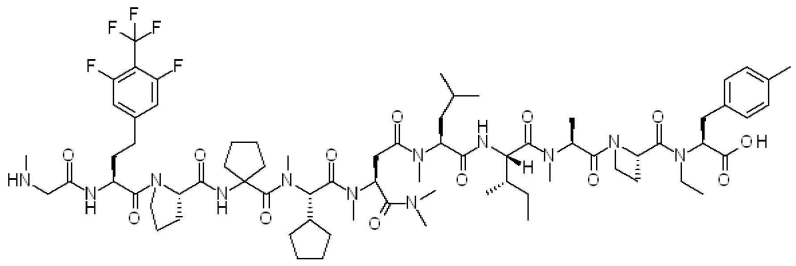
[0169] ,

[0170] [화학식 4]



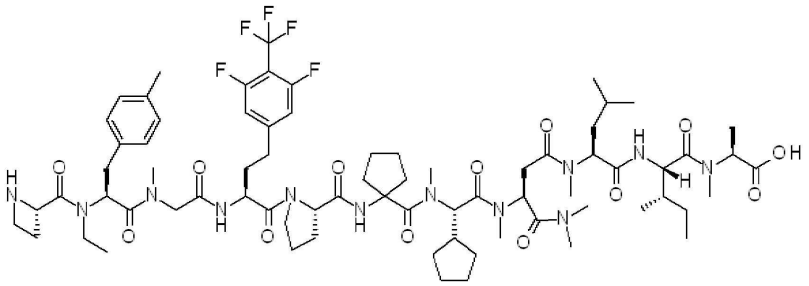
[0171] ,

[0172] [화학식 5]



[0173] , 및

[0174] [화학식 6]



[0175]

[0176] 또는 이의 염 또는 이의 용매화물인, 방법.

[0177] [64] [1] 내지 [63] 중 임의의 것에 있어서,

[0178] 고리형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물은 고리형 펩티드 화합물의 용매화물인, 방법.

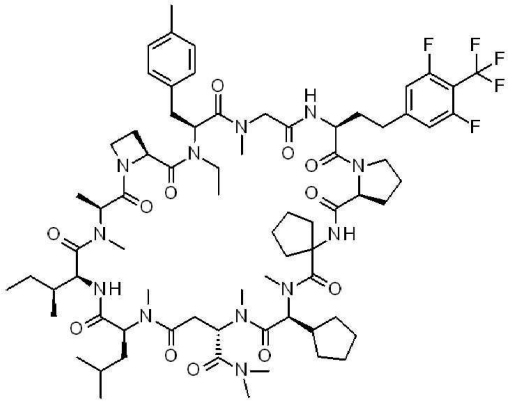
[0179] [65] [64]에 있어서,

[0180] 고리형 펩티드 화합물의 용매화물은 고리형 펩티드 화합물의 수화물인, 방법.

[0181] [66] [1] 내지 [65] 중 임의의 것에 있어서,

[0182] 고리형 펩티드 화합물은 하기의 화학식 (2)로 표시되는, 방법:

[0183] [화학식 7]



[0184] (2)

[0185] .

[0186] [66-1] [1] 내지 [66] 중 임의의 것에 있어서,

[0187] 컬럼 크로마토그래피는 고리형 펩티드 화합물의 분리 및/또는 정제에 사용되지 않는, 방법.

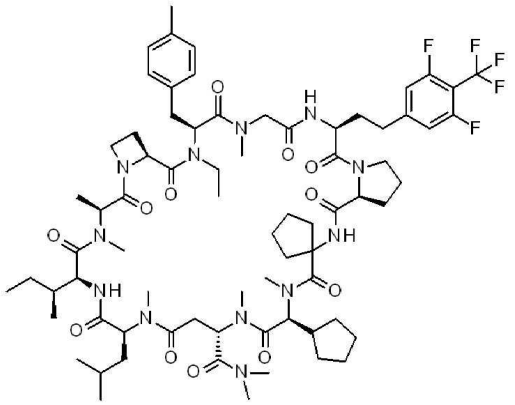
[0188] [66-2] [1] 내지 [66-1] 중 임의의 것에 있어서,

[0189] 고리형 펩티드 화합물을 결정화에 의해 분리 및/또는 정제하여 고리형 펩티드 화합물의 결정을 수득하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

[0190] [66-3] [66-2]에 있어서,

[0191] 고리형 펩티드 화합물의 결정은 하기의 화학식 (2)로 표시되는 고리형 펩티드 화합물의 비용매화물 결정 또는 용매화물 결정인, 방법:

[0192] [화학식 8]



[0193] (2)

[0194] .

[0195] [66-4] [66-3]에 있어서,

[0196] 고리형 펩티드 화합물의 결정은 용매화물 결정인, 방법.

[0197] [66-5] [66-4]에 있어서,

[0198] 고리형 펩티드 화합물의 용매화물 결정은 수화물 결정인, 방법.

[0199] [67] [1] 내지 [66] 중 임의의 것에 있어서,

[0200] 펩티드 화합물을 제공하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

[0201] [68] [1] 내지 [67] 중 임의의 것에 있어서,

[0202] 상기 연결시키는 단계는 액상 방법에 의해 실시되는, 방법.

[0203] [69] [1] 내지 [68] 중 임의의 것에 있어서,

[0204] 상기 연결시키는 단계에서, 펩티드 화합물 및 염기는 용매와 축합 시약을 혼합하여 수득한 혼합 용액 내에서 혼합되는, 방법.

[0205] [70] [1] 내지 [69] 중 임의의 것에 있어서,

[0206] 상기 연결시키는 단계에서 형성된 총 부산물의 함량은, 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 20% 미만, 15% 미만, 10% 미만, 5% 미만, 또는 3% 미만인, 방법.

[0207] [71] [1] 내지 [69] 중 임의의 것에 있어서,

[0208] 상기 연결시키는 단계에서 형성된 부산물 각각의 함량은, 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 15% 미만, 10% 미만, 5% 미만, 3% 미만, 1% 미만, 또는 검출 불가능한 양인, 방법.

[0209] [72] [1] 내지 [69] 중 임의의 것에 있어서,

[0210] 상기 연결시키는 단계에서 형성된 부산물 각각의 함량은, 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 15% 미만, 10% 미만, 5% 미만, 3% 미만, 1% 미만, 또는 검출 불가능한 양이고, 부산물은 에피머, 이량체 및 삼량체인, 방법.

[0211] [73] [1] 내지 [69] 중 임의의 것에 있어서,

[0212] 상기 연결시키는 단계에서 형성된 부산물은 고리형 펩티드 화합물의 에피머를 포함하고, 에피머의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 10% 미만, 7.5% 미만, 5% 미만, 2.5% 미만, 또는 1% 미만인, 방법.

[0213] [74] [1] 내지 [69] 중 임의의 것에 있어서,

[0214] 상기 연결시키는 단계에서 형성된 부산물은 이량체를 포함하고, 이량체의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 15% 미만, 10% 미만, 5% 미만, 2.5% 미만, 또는 1% 미만인, 방법.

[0215] [75] [1] 내지 [69] 중 임의의 것에 있어서,

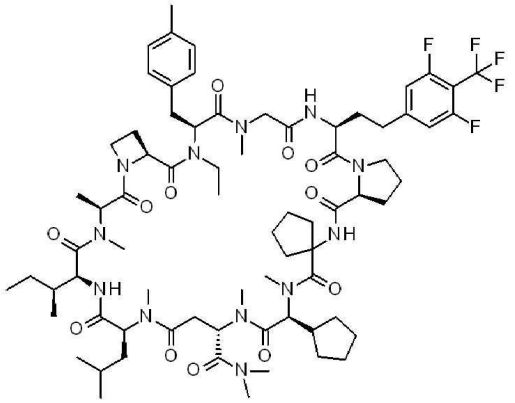
[0216] 상기 연결시키는 단계에서 형성된 부산물은 삼량체를 포함하고, 삼량체의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 5% 미만, 2.5% 미만, 1% 미만, 또는 검출 불가능한 양인, 방법.

[0217] [76] [1] 내지 [69] 중 임의의 것에 있어서,

[0218] 상기 연결시키는 단계에서 형성된 부산물은 이량체 및 삼량체를 포함하고, 이량체 및 삼량체의 총 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 15% 미만, 10% 미만, 5% 미만, 2.5% 미만, 또는 1% 미만인, 방법.

[0219] [77] 하기의 화학식 (2)로 표시되는 고리형 펩티드 화합물:

[0220] [화학식 10]

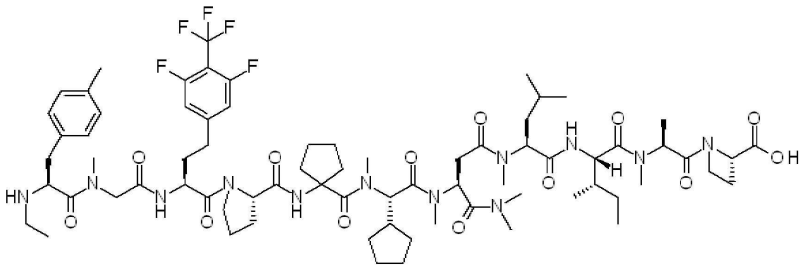


[0221] (2)

[0222] 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 생성 방법으로서:

[0223] (1) 하기의 화학식으로 표시되는 선형 펩티드 화합물:

[0224] [화학식 9]



[0225]

[0226] 또는 이의 염 또는 이의 용매화물을 제공하는 단계; 및

[0227] (2) 상기 선형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 N-말단 아미노산 잔기와 상기 선형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 C-말단 아미노산 잔기를 연결시키는 단계를 포함하는, 방법.

[0228] [77-1] [77]에 있어서,

[0229] 컬럼 크로마토그래피는 고리형 펩티드 화합물의 분리 및/또는 정제에 사용되지 않는, 방법.

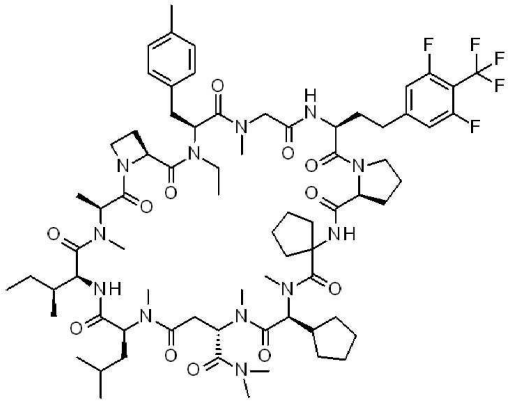
[0230] [77-2] [77] 내지 [77-1] 중 임의의 것에 있어서,

[0231] 고리형 펩티드 화합물을 결정화에 의해 분리 및/또는 정제하여 고리형 펩티드 화합물의 결정을 수득하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

[0232] [77-3] [77-2]에 있어서,

[0233] 고리형 펩티드 화합물의 결정은 하기의 화학식 (2)로 표시되는 고리형 펩티드 화합물의 비용매화물 결정 또는 용매화물 결정인, 방법:

[0234] [화학식 11]

[0235]  (2)

[0236] .

[0237] [77-4] [77-3]에 있어서,

[0238] 고리형 펩티드 화합물의 결정은 용매화물 결정인, 방법.

[0239] [77-5] [77-4]에 있어서,

[0240] 고리형 펩티드 화합물의 용매화물 결정은 수화물 결정인, 방법.

[0241] [77-6] [77]에 있어서,

[0242] 상기 연결시키는 단계는 액상 방법에 의해 실시되는, 방법.

[0243] [78] [77]에 있어서,

[0244] 단계 (2)는 용매의 존재하에 실시되는 방법.

[0245] [79] [78]에 있어서,

[0246] 용매는 아세토니트릴, 디메틸 카보네이트, 및 2-MeTHF로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는, 방법.

[0247] [80] [78]에 있어서,

[0248] 용매는 아세토니트릴, 디메틸 카보네이트, 및 2-MeTHF로 구성된 군에서 선택되는 하나인, 방법.

[0249] [81] [78]에 있어서,

[0250] 용매는 아세토니트릴 및 디메틸 카보네이트로 구성된 군에서 선택되는 하나인, 방법.

[0251] [82] [77] 내지 [81] 중 임의의 것에 있어서,

[0252] 단계 (2)는 축합 시약의 존재하에 실시되는, 방법.

[0253] [83] [82]에 있어서,

[0254] 축합 시약은 COMU, HATU, PyBOP, PyOxim, PyClop, DMT-MM, DEPBT, FDPP, T3P, 및 BEP-BF4로 구성된 군에서 선택되는 하나인, 방법.

[0255] [84] [82]에 있어서,

[0256] 축합 시약은 COMU 및 HATU로 구성된 군에서 선택되는 하나인, 방법.

[0257] [85] [82]에 있어서,

[0258] 축합 시약은 COMU 및 HATU로 구성된 군에서 선택되는 하나이고, 용매는 아세토니트릴, 디메틸 카보네이트, 및 2-MeTHF로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는, 방법.

[0259] [86] [82]에 있어서,

[0260] 축합 시약은 COMU 및 HATU로 구성된 군에서 선택되는 하나이고, 용매는 아세토니트릴 및 디메틸 카보네이트로 구성된 군에서 선택되는 하나인, 방법.

[0261] [87] [77] 내지 [86] 중 임의의 것에 있어서,

[0262] 상기 연결시키는 단계는 염기의 존재하에 실시되는, 방법.

[0263] [88] [87]에 있어서,

[0264] 염기는 유기 염기인, 방법.

[0265] [89] [87]에 있어서,

[0266] 염기는 삼차 아민을 포함하는 유기 염기인, 방법.

[0267] [90] [87]에 있어서,

[0268] 염기는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA), 1,8-디아자비시클로[5.4.0]-7-운데센(DBU), 2,3,6,7-테트라히드로-1H,5H-9-아자벤조[ij]퀴놀리진, 1,4-디아자비시클로[2.2.2]옥탄(DABCO), 1,5-디아자비시클로[4.3.0]-5-노넨(DBN), 7-메틸-1,5,7-트리아자비시클로[4.4.0]데크-5-엔, 1,1,3,3-테트라메틸구아니딘(TMG), 1,8-비스(테트라메틸구아니디노)나프탈렌(TMGN), 2-tert-부틸-1,1,3,3-테트라메틸구아니딘(BTMG), 트리에틸아민(TEA), 트리메틸아민, 1-메틸피페리딘, N,N'-디메틸피페라진, N-메틸모르폴린, N-에틸모르폴린, 및 p-디메틸아미노피리딘(DMAP)으로 구성된 군에서 선택되는 하나인, 방법.

[0269] [91] [87]에 있어서,

[0270] 염기는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)인, 방법.

[0271] [92] [87]에 있어서,

[0272] 축합 시약은 COMU, HATU, PyBOP, PyOxim, PyClop, DMT-MM, DEPBT, FDPP, T3P, and BEP-BF4로 구성된 군에서 선택되는 하나이고, 용매는 아세토니트릴, 디메틸 카보네이트, 및 2-MeTHF로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하며, 염기는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)인, 방법.

[0273] [93] [87]에 있어서,

[0274] 축합 시약은 COMU 및 HATU로 구성된 군에서 선택되는 하나이고, 용매는 아세토니트릴, 디메틸 카보네이트, 및 2-MeTHF로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하며, 염기는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)인, 방법.

[0275] [94] [87]에 있어서,

[0276] 축합 시약은 COMU 및 HATU로 구성된 군에서 선택되는 하나이고, 용매는 아세토니트릴 및 디메틸 카보네이트로 구성된 군에서 선택되는 하나이며, 염기는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)인, 방법.

[0277] [95] [77] 내지 [94] 중 임의의 것에 있어서,

[0278] 단계 (2)에서, 선형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물 및 염기는 용매와 축합 시약을 혼합하여 수득한 혼합 용액 내에서 혼합되는, 방법.

[0279] [96] [77] 내지 [95] 중 임의의 것에 있어서,

[0280] 상기 단계에서 형성된 총 부산물의 함량은, 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 10% 미만, 7.5% 미만, 5% 미만, 3% 미만, 또는 1% 미만인, 방법.

[0281] [97] [77] 내지 [95] 중 임의의 것에 있어서,

[0282] 상기 단계에서 형성된 부산물 각각의 함량은, 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 10% 미만, 7.5% 미만, 5% 미만, 3% 미만, 1% 미만, 또는 검출 불가능한 양인, 방법.

[0283] [98] [77] 내지 [95] 중 임의의 것에 있어서,

[0284] 상기 단계에서 형성된 부산물 각각의 함량은, 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 10% 미만, 7.5% 미만, 5% 미만, 3% 미만, 1% 미만, 또는 검출 불가능한 양이고, 부산물은 에피머, 이량체 및 삼량체인, 방법.

[0285] [99] [77] 내지 [95] 중 임의의 것에 있어서,

[0286] 상기 단계에서 형성된 부산물은 고리형 펩티드 화합물의 에피머를 포함하고, 에피머의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 3% 미만, 1% 미만, 또는 검출 불가능한 값인, 방법.

[0287] [100] [77] 내지 [95] 중 임의의 것에 있어서,

[0288] 상기 단계에서 형성된 부산물은 이량체를 포함하고, 이량체의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 5% 미만, 3% 미만, 또는 1% 미만인, 방법.

[0289] [101] [77] 내지 [95] 중 임의의 것에 있어서,

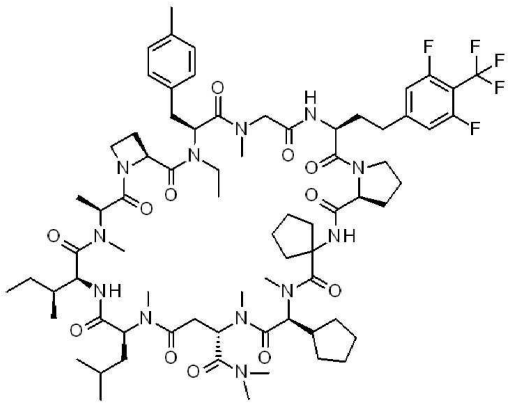
[0290] 상기 단계에서 형성된 부산물은 삼량체를 포함하고, 삼량체의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 3% 미만, 1% 미만, 또는 검출 불가능한 양인, 방법.

[0291] [102] [77] 내지 [95] 중 임의의 것에 있어서,

[0292] 상기 단계에서 형성된 부산물은 이량체 및 삼량체를 포함하고, 이량체 및 삼량체의 총 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 5% 미만, 3% 미만, 또는 1% 미만인, 방법.

[0293] [103] 하기의 화학식 (2)로 표시되는 고리형 펩티드 화합물:

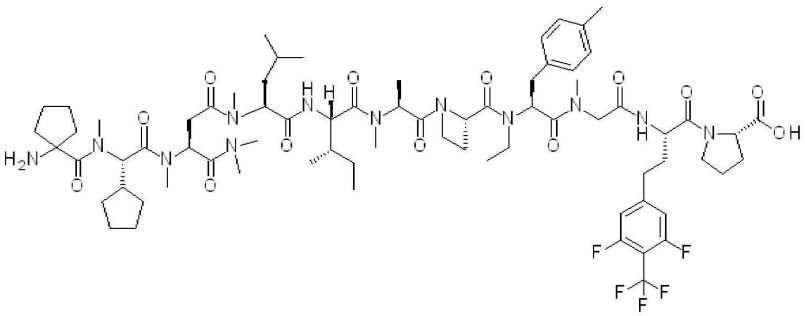
[0294] [화학식 13]

[0295]  (2)

[0296] 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 생성 방법으로서:

[0297] (1) 하기의 화학식으로 표시되는 선형 펩티드 화합물:

[0298] [화학식 12]

[0299] 

[0300] 또는 이의 염 또는 이의 용매화물을 제공하는 단계; 및

[0301] (2) 상기 선형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 N-말단 아미노산 잔기와 상기 선형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 C-말단 아미노산 잔기를 연결시키는 단계를 포함하는, 방법.

[0302] [103-1] [103]에 있어서,

[0303] 컬럼 크로마토그래피는 고리형 펩티드 화합물의 분리 및/또는 정제에 사용되지 않는, 방법.

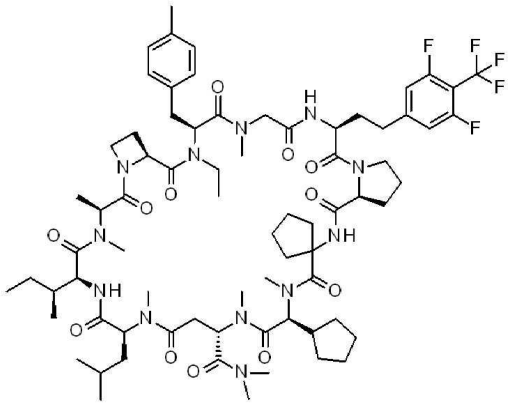
[0304] [103-2] [103] 내지 [103-1] 중 임의의 것에 있어서,

[0305] 고리형 펩티드 화합물을 결정화에 의해 분리 및/또는 정제하여 고리형 펩티드 화합물의 결정을 수득하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

[0306] [103-3] [103-2]에 있어서,

[0307] 고리형 펩티드 화합물의 결정은 하기의 화학식 (2)로 표시되는 고리형 펩티드 화합물의 비용매화물 결정 또는 용매화물 결정인, 방법:

[0308] [화학식 14]



[0309] (2)

[0310] .

[0311] [103-4] [103-3]에 있어서,

[0312] 고리형 펩티드 화합물의 결정은 용매화물 결정인, 방법.

[0313] [103-5] [103-4]에 있어서,

[0314] 고리형 펩티드 화합물의 용매화물 결정은 수화물 결정인, 방법.

[0315] [103-6] [103]에 있어서,

[0316] 상기 연결시키는 단계는 액상 방법에 의해 실시되는, 방법.

[0317] [104] [103]에 있어서,

[0318] 단계 (2)는 용매의 존재하에 실시되는 방법.

[0319] [105] [104]에 있어서,

[0320] 용매는 아세토니트릴, 디메틸 카보네이트, 2-MeTHF, 및 아니솔로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는, 방법.

[0321] [106] [104]에 있어서,

[0322] 용매는 아세토니트릴, 디메틸 카보네이트, 2-MeTHF, 및 아니솔로 구성된 군에서 선택되는 하나인, 방법.

[0323] [107] [104]에 있어서,

[0324] 용매는 디메틸 카보네이트인, 방법.

[0325] [108] [103] 내지 [107] 중 임의의 것에 있어서,

[0326] 단계 (2)는 축합 시약의 존재하에 실시되는, 방법.

[0327] [109] [108]에 있어서,

[0328] 축합 시약은 COMU, HATU, PyBOP, PyOxim, PyClop, 및 DMT-MM으로 구성된 군에서 선택되는 하나인, 방법.

[0329] [110] [108]에 있어서,

[0330] 축합 시약은 COMU 및 HATU로 구성된 군에서 선택되는 하나인, 방법.

[0331] [111] [108]에 있어서,

[0332] 축합 시약은 COMU인, 방법.

[0333] [112] [108]에 있어서,

[0334] 축합 시약은 COMU, HATU, PyBOP, PyOxim, PyClop, 및 DMT-MM으로 구성된 군에서 선택되는 하나이고, 용매는 아세토니트릴, 디메틸 카보네이트, 2-MeTHF 및 아니솔로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는, 방법.

[0335] [113] [108]에 있어서,

[0336] 축합 시약은 COMU이고, 용매는 아세토니트릴 및 디메틸 카보네이트로 구성된 군에서 선택되는 하나인, 방법.

[0337] [114] [108]에 있어서,

[0338] 축합 시약은 COMU이고, 용매는 디메틸 카보네이트인, 방법.

[0339] [115] [103] 내지 [114] 중 임의의 것에 있어서,

[0340] 상기 연결시키는 단계는 염기의 존재하에 실시되는, 방법.

[0341] [116] [115]에 있어서,

[0342] 염기는 유기 염기인, 방법.

[0343] [117] [115]에 있어서,

[0344] 염기는 삼차 아민을 포함하는 유기 염기인, 방법.

[0345] [118] [115]에 있어서,

[0346] 염기는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA), 1,8-디아자비시클로[5.4.0]-7-운데센(DBU), 2,3,6,7-테트라히드로-1H,5H-9-아자벤조[ij]퀴놀리진, 1,4-디아자비시클로[2.2.2]옥탄(DABCO), 1,5-디아자비시클로[4.3.0]-5-노넨(DBN), 7-메틸-1,5,7-트리아자비시클로[4.4.0]데크-5-엔, 1,1,3,3-테트라메틸구아니딘(TMG), 1,8-비스(테트라메틸구아니디노)나프탈렌(TMGN), 2-tert-부틸-1,1,3,3-테트라메틸구아니딘(BTMG), 트리에틸아민(TEA), 트리메틸아민, 1-메틸피페리딘, N,N'-디메틸피페라진, N-메틸모르폴린, N-에틸모르폴린, 및 p-디메틸아미노피리딘(DMAP)으로 구성된 군에서 선택되는 하나인, 방법.

[0347] [119] [115]에 있어서,

[0348] 염기는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)인, 방법.

[0349] [120] [115]에 있어서,

[0350] 축합 시약은 COMU이고, 용매는 아세토니트릴 및 디메틸 카보네이트로 구성된 군에서 선택되는 하나이며, 염기는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)인, 방법.

[0351] [121] [115]에 있어서,

[0352] 축합 시약은 COMU이고, 용매는 디메틸 카보네이트이며, 염기는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)인, 방법.

[0353] [122] [103] 내지 [121] 중 임의의 것에 있어서,

[0354] 단계 (2)에서, 선형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물 및 염기는 용매와 축합 시약을 혼합하여 수득한 혼합 용액 내에서 혼합되는, 방법.

[0355] [123] [103] 내지 [122] 중 임의의 것에 있어서,

[0356] 상기 단계에서 형성된 총 부산물의 함량은, 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 20% 미만, 15% 미만, 10% 미만, 5% 미만, 또는 3% 미만인, 방법.

[0357] [124] [103] 내지 [122] 중 임의의 것에 있어서,

[0358] 상기 단계에서 형성된 부산물 각각의 함량은, 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 15% 미만, 10% 미만, 7.5% 미만, 5% 미만, 2.5% 미만, 또는 1% 미만인, 방법.

[0359] [125] [103] 내지 [122] 중 임의의 것에 있어서,

[0360] 상기 단계에서 형성된 부산물 각각의 함량은, 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 15% 미만, 10% 미만, 7.5% 미만, 5% 미만, 2.5% 미만, 또는 1% 미만이며, 부산물은 에피머, 이량체 및 삼량체인, 방법.

[0361] [126] [103] 내지 [122] 중 임의의 것에 있어서,

[0362] 상기 단계에서 형성된 부산물은 고리형 펩티드 화합물의 에피머를 포함하고, 에피머의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 3% 미만, 1% 미만, 또는 검출 불가능한 값인, 방법.

[0363] [127] [103] 내지 [122] 중 임의의 것에 있어서,

[0364] 상기 단계에서 형성된 부산물은 이량체를 포함하고, 이량체의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 15% 미만, 10% 미만, 또는 5% 미만인, 방법.

[0365] [128] [103] 내지 [122] 중 임의의 것에 있어서,

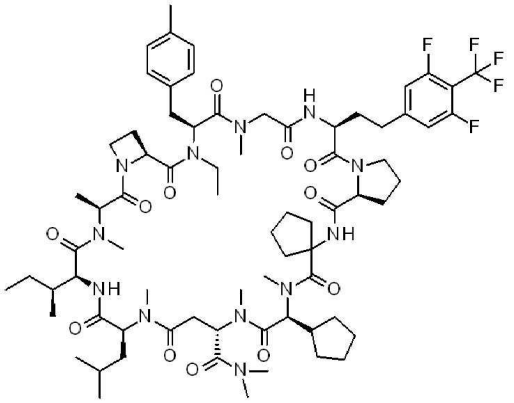
[0366] 상기 단계에서 형성된 부산물은 삼량체를 포함하고, 삼량체의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 5% 미만, 3% 미만, 또는 1% 미만인, 방법.

[0367] [129] [103] 내지 [122] 중 임의의 것에 있어서,

[0368] 상기 단계에서 형성된 부산물은 이량체 및 삼량체를 포함하고, 이량체 및 삼량체의 총 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 20% 미만, 15% 미만, 10% 미만, 5% 미만, 또는 3% 미만인, 방법.

[0369] [130] 하기의 화학식 (2)로 표시되는 고리형 펩티드 화합물:

[0370] [화학식 16]

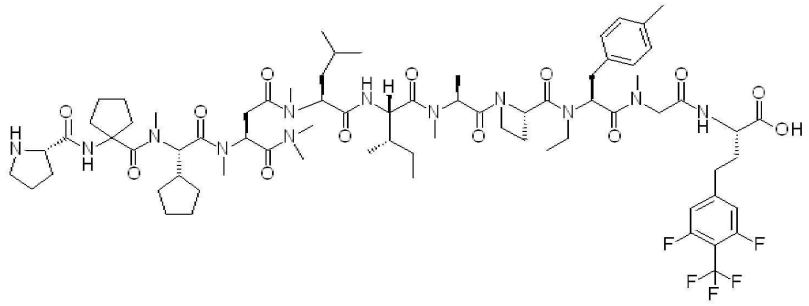
[0371] 

(2)

[0372] 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 생성 방법으로서:

[0373] (1) 하기의 화학식으로 표시되는 선형 펩티드 화합물:

[0374] [화학식 15]



[0375]

[0376] 또는 이의 염 또는 이의 용매화물을 제공하는 단계; 및

[0377] (2) 상기 선형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 N-말단 아미노산 잔기와 상기 선형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 C-말단 아미노산 잔기를 연결시키는 단계를 포함하는, 방법.

[0378] [130-1] [130]에 있어서,

[0379] 컬럼 크로마토그래피는 고리형 펩티드 화합물의 분리 및/또는 정제에 사용되지 않는, 방법.

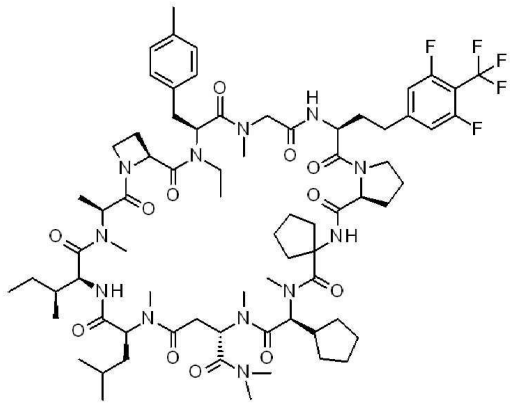
[0380] [130-2] [130] 내지 [130-1] 중 임의의 것에 있어서,

[0381] 고리형 펩티드 화합물을 결정화에 의해 분리 및/또는 정제하여 고리형 펩티드 화합물의 결정을 수득하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

[0382] [130-3] [130-2]에 있어서,

[0383] 고리형 펩티드 화합물의 결정은 하기의 화학식 (2)로 표시되는 고리형 펩티드 화합물의 비용매화물 결정 또는 용매화물 결정인, 방법:

[0384] [화학식 17]



[0385] (2)

[0386] .

[0387] [130-4] [130-3]에 있어서,

[0388] 고리형 펩티드 화합물의 결정은 용매화물 결정인, 방법.

[0389] [130-5] [130-4]에 있어서,

[0390] 고리형 펩티드 화합물의 용매화물 결정은 수화물 결정인, 방법.

[0391] [130-6] [130]에 있어서,

[0392] 상기 연결시키는 단계는 액상 방법에 의해 실시되는, 방법.

[0393] [131] [130]에 있어서,

[0394] 단계 (2)는 용매의 존재하에 실시되는 방법.

[0395] [132] [131]에 있어서,

[0396] 용매는 아세토니트릴, 디메틸 카보네이트, 2-MeTHF, 및 아니솔로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는, 방법.

[0397] [133] [131]에 있어서,

[0398] 용매는 아세토니트릴, 디메틸 카보네이트, 2-MeTHF, 및 아니솔로 구성된 군에서 선택되는 하나인, 방법.

[0399] [134] [131]에 있어서,

[0400] 용매는 디메틸 카보네이트인, 방법.

[0401] [135] [130] 내지 [134] 중 임의의 것에 있어서,

[0402] 단계 (2)는 축합 시약의 존재하에 실시되는, 방법.

[0403] [136] [135]에 있어서,

[0404] 축합 시약은 COMU, HATU, PyBOP, PyOxim, PyClop, 및 DMT-MM으로 구성된 군에서 선택되는 하나인, 방법.

[0405] [137] [135]에 있어서,

[0406] 축합 시약은 COMU 및 HATU로 구성된 군에서 선택되는 하나인, 방법.

[0407] [138] [135]에 있어서,

[0408] 축합 시약은 COMU인, 방법.

[0409] [139] [135]에 있어서,

[0410] 축합 시약은 COMU, HATU, PyBOP, PyOxim, PyClop, 및 DMT-MM으로 구성된 군에서 선택되는 하나이고, 용매는 아세토니트릴, 디메틸 카보네이트, 2-MeTHF 및 아니솔로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는, 방법.

[0411] [140] [135]에 있어서,

[0412] 축합 시약은 COMU 및 HATU로 구성된 군에서 선택되는 하나이고, 용매는 아세토니트릴 및 디메틸 카보네이트로 구성된 군에서 선택되는 하나인, 방법.

[0413] [141] [135]에 있어서,

[0414] 축합 시약은 COMU이고, 용매는 디메틸 카보네이트인, 방법.

[0415] [142] [130] 내지 [141] 중 임의의 것에 있어서,

[0416] 상기 연결시키는 단계는 염기의 존재하에 실시되는, 방법.

[0417] [143] [142]에 있어서,

[0418] 염기는 유기 염기인, 방법.

[0419] [144] [142]에 있어서,

[0420] 염기는 삼차 아민을 포함하는 유기 염기인, 방법.

[0421] [145] [142]에 있어서,

[0422] 염기는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA), 1,8-디아자비시클로[5.4.0]-7-운데센(DBU), 2,3,6,7-테트라히드로-1H,5H-9-아자벤조[ij]퀴놀리진, 1,4-디아자비시클로[2.2.2]옥탄(DABCO), 1,5-디아자비시클로[4.3.0]-5-노넨(DBN), 7-메틸-1,5,7-트리아자비시클로[4.4.0]데크-5-엔, 1,1,3,3-테트라메틸구아니딘(TMG), 1,8-비스(테트라메틸구아니디노)나프탈렌(TMGN), 2-tert-부틸-1,1,3,3-테트라메틸구아니딘(BTMG), 트리에틸아민(TEA), 트리메틸아민, 1-메틸피페리딘, N,N'-디메틸피페라진, N-메틸모르폴린, N-에틸모르폴린, 및 p-디메틸아미노피리딘(DMAP)으로 구성된 군에서 선택되는 하나인, 방법.

[0423] [146] [142]에 있어서,

[0424] 염기는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)인, 방법.

[0425] [147] [142]에 있어서,

[0426] 축합 시약은 COMU 및 HATU로 구성된 군에서 선택되는 하나이고, 용매는 아세토니트릴 및 디메틸 카보네이트로 구성된 군에서 선택되는 하나이며, 염기는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)인, 방법.

[0427] [148] [142]에 있어서,

[0428] 축합 시약은 COMU이고, 용매는 디메틸 카보네이트이며, 염기는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)인, 방법.

[0429] [149] [130] 내지 [148] 중 임의의 것에 있어서,

[0430] 단계 (2)에서, 선형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물 및 염기는 용매와 축합 시약을 혼합하여 수득한 혼합 용액 내에서 혼합되는, 방법.

[0431] [150] [130] 내지 [149] 중 임의의 것에 있어서,

[0432] 상기 단계에서 형성된 총 부산물의 함량은, 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 10% 미만, 7.5% 미만, 5% 미만, 또는 2.5% 미만인, 방법.

[0433] [151] [130] 내지 [149] 중 임의의 것에 있어서,

[0434] 상기 단계에서 형성된 부산물 각각의 함량은, 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 10% 미만, 7.5% 미만, 5% 미만, 3% 미만, 1% 미만, 또는 검출 불가능한 양인, 방법.

[0435] [152] [130] 내지 [149] 중 임의의 것에 있어서,

[0436] 상기 단계에서 형성된 부산물 각각의 함량은, 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 10% 미만, 7.5% 미만, 5% 미만, 3% 미만, 1% 미만, 또는 검출 불가능한 양이고, 부산물은 에피머, 이량체 및 삼량체인, 방법.

[0437] [153] [130] 내지 [149] 중 임의의 것에 있어서,

[0438] 상기 단계에서 형성된 부산물은 고리형 펩티드 화합물의 에피머를 포함하고, 에피머의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 7.5% 미만, 5% 미만, 3% 미만, 또는 1% 미만인, 방법.

[0439] [154] [130] 내지 [149] 중 임의의 것에 있어서,

[0440] 상기 단계에서 형성된 부산물은 이량체를 포함하고, 이량체의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 10% 미만, 7.5% 미만, 5% 미만, 2.5% 미만, 또는 1% 미만인, 방법.

[0441] [155] [130] 내지 [149] 중 임의의 것에 있어서,

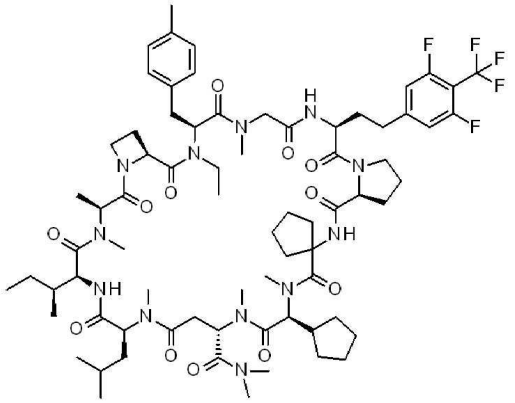
[0442] 상기 단계에서 형성된 부산물은 삼량체를 포함하고, 삼량체의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 3% 미만, 1% 미만, 또는 검출 불가능한 양인, 방법.

[0443] [156] [130] 내지 [149] 중 임의의 것에 있어서,

[0444] 상기 단계에서 형성된 부산물은 이량체 및 삼량체를 포함하고, 이량체 및 삼량체의 총 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 10% 미만, 7.5% 미만, 5% 미만, 2.5% 미만, 또는 1% 미만인, 방법.

[0445] [157] 하기의 화학식 (2)로 표시되는 고리형 펩티드 화합물:

[0446] [화학식 19]

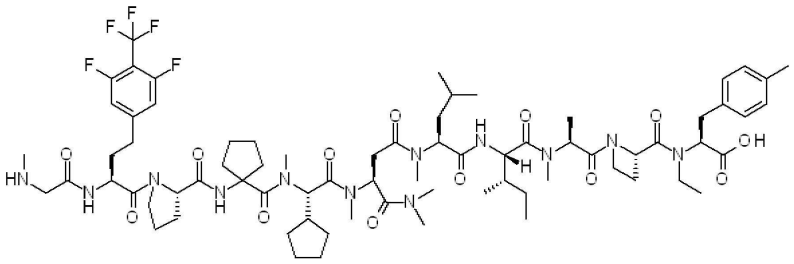


[0447] (2)

[0448] 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 생성 방법으로서:

[0449] (1) 하기의 화학식으로 표시되는 선형 펩티드 화합물:

[0450] [화학식 18]



[0451]

[0452] 또는 이의 염 또는 이의 용매화물을 제공하는 단계; 및

[0453] (2) 상기 선형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 N-말단 아미노산 잔기와 상기 선형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 C-말단 아미노산 잔기를 연결시키는 단계를 포함하는, 방법.

[0454] [157-1] [157]에 있어서,

[0455] 컬럼 크로마토그래피는 고리형 펩티드 화합물의 분리 및/또는 정제에 사용되지 않는, 방법.

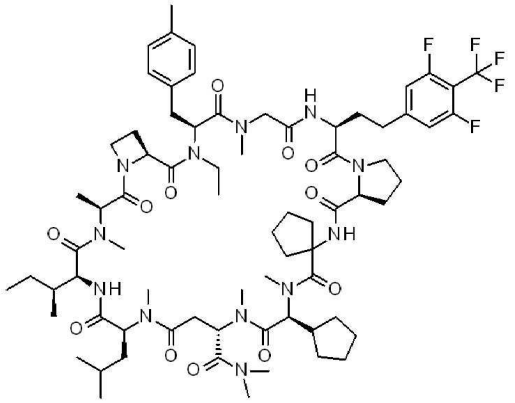
[0456] [157-2] [157] 내지 [157-1] 중 임의의 것에 있어서,

[0457] 고리형 펩티드 화합물을 결정화에 의해 분리 및/또는 정제하여 고리형 펩티드 화합물의 결정을 수득하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

[0458] [157-3] [157-2]에 있어서,

[0459] 고리형 펩티드 화합물의 결정은 하기의 화학식 (2)로 표시되는 고리형 펩티드 화합물의 비용매화물 결정 또는 용매화물 결정인, 방법:

[0460] [화학식 20]

[0461]  (2)

[0462] .

[0463] [157-4] [157-3]에 있어서,

[0464] 고리형 펩티드 화합물의 결정은 용매화물 결정인, 방법.

[0465] [157-5] [157-4]에 있어서,

[0466] 고리형 펩티드 화합물의 용매화물 결정은 수화물 결정인, 방법.

[0467] [157-6] [157]에 있어서,

[0468] 상기 연결시키는 단계는 액상 방법에 의해 실시되는, 방법.

[0469] [158] [157]에 있어서,

[0470] 단계 (2)는 용매의 존재하에 실시되는 방법.

[0471] [159] [158]에 있어서,

[0472] 용매는 아세토니트릴 및 디메틸 카보네이트로 선택되는 하나 또는 둘을 포함하는, 방법.

[0473] [160] [158]에 있어서,

[0474] 용매는 디메틸 카보네이트인, 방법.

[0475] [161] [157] 내지 [160] 중 임의의 것에 있어서,

[0476] 단계 (2)는 축합 시약의 존재하에 실시되는, 방법.

[0477] [162] [161]에 있어서,

[0478] 축합 시약은 COMU, HATU, PyBOP, PyOxim, PyClop, DMT-MM, 및 DEPBT로 구성된 군에서 선택되는 하나인, 방법.

[0479] [163] [161]에 있어서,

[0480] 축합 시약은 COMU 및 HATU로 구성된 군에서 선택되는 하나인, 방법.

[0481] [164] [161]에 있어서,

[0482] 축합 시약은 HATU인, 방법.

[0483] [165] [161]에 있어서,

[0484] 축합 시약은 COMU, HATU, PyBOP, PyOxim, PyClop, DMT-MM, 및 DEPBT로 구성된 군에서 선택되는 하나이고, 용매는 아세토니트릴 및 디메틸 카보네이트로 구성된 군에서 선택되는 하나 또는 둘을 포함하는, 방법.

[0485] [165-1] [161]에 있어서,

[0486] 축합 시약은 COMU 및 HATU로 구성된 군에서 선택되는 하나이고, 용매는 아세토니트릴 및 디메틸 카보네이트로 구성된 군에서 선택되는 하나인, 방법.

[0487] [166] [161]에 있어서,

[0488] 축합 시약은 COMU 및 HATU로 구성된 군에서 선택되는 하나이고 용매는 디메틸 카보네이트인, 방법.

[0489] [167] [161]에 있어서,

[0490] 축합 시약은 HATU이고, 용매는 디메틸 카보네이트인, 방법.

[0491] [168] [157] 내지 [167] 중 임의의 것에 있어서,

[0492] 상기 연결시키는 단계는 염기의 존재하에 실시되는, 방법.

[0493] [169] [168]에 있어서,

[0494] 염기는 유기 염기인, 방법.

[0495] [170] [168]에 있어서,

[0496] 염기는 삼차 아민을 포함하는 유기 염기인, 방법.

[0497] [171] [168]에 있어서,

[0498] 염기는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA), 1,8-디아자비시클로[5.4.0]-7-운데센(DBU), 2,3,6,7-테트라히드로-1H,5H-9-아자벤조[ij]퀴놀리진, 1,4-디아자비시클로[2.2.2]옥탄(DABCO), 1,5-디아자비시클로[4.3.0]-5-노넨(DBN), 7-메틸-1,5,7-트리아자비시클로[4.4.0]데크-5-엔, 1,1,3,3-테트라메틸구아니딘(TMG), 1,8-비스(테트라메틸구아니디노)나프탈렌(TMGN), 2-tert-부틸-1,1,3,3-테트라메틸구아니딘(BTMG), 트리에틸아민(TEA), 트리메틸아민, 1-메틸피페리딘, N,N'-디메틸피페라진, N-메틸모르폴린, N-에틸모르폴린, 및 p-디메틸아미노피리딘(DMAP)으로 구성된 군에서 선택되는 하나인, 방법.

[0499] [172] [168]에 있어서,

[0500] 염기는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)인, 방법.

[0501] [172-1] [168]에 있어서,

[0502] 축합 시약은 COMU 및 HATU로 구성된 군에서 선택되는 하나이고, 용매는 아세토니트릴 및 디메틸 카보네이트로 구성된 군에서 선택되는 하나이며, 염기는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)인, 방법.

[0503] [173] [168]에 있어서,

[0504] 축합 시약은 COMU 및 HATU로 구성된 군에서 선택되는 하나이고, 용매는 디메틸 카보네이트이며, 염기는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)인, 방법.

[0505] [174] [168]에 있어서,

[0506] 축합 시약은 HATU이고, 용매는 디메틸 카보네이트이며, 염기는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)인, 방법.

[0507] [175] [157] 내지 [174] 중 임의의 것에 있어서,

[0508] 단계 (2)에서, 선형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물 및 염기는 용매와 축합 시약을 혼합하여 수득한 혼합 용액 내에서 혼합되는, 방법.

[0509] [176] [157] 내지 [175] 중 임의의 것에 있어서,

[0510] 상기 단계에서 형성된 총 부산물의 함량은, 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 10% 미만, 7.5% 미만, 5% 미만, 또는 2.5% 미만인, 방법.

[0511] [177] [157] 내지 [175] 중 임의의 것에 있어서,

[0512] 상기 단계에서 형성된 부산물 각각의 함량은, 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 10% 미만, 7.5% 미만, 5% 미만, 3% 미만, 1% 미만, 또는 검출 불가능한 양인, 방법.

[0513] [178] [157] 내지 [175] 중 임의의 것에 있어서,

[0514] 상기 단계에서 형성된 부산물 각각의 함량은, 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 10% 미만, 7.5% 미만, 5% 미만, 3% 미만, 1% 미만, 또는 검출 불가능한 양이고,

부산물은 에피머, 이량체 및 삼량체인, 방법.

[0515] [179] [157] 내지 [175] 중 임의의 것에 있어서,

[0516] 상기 단계에서 형성된 부산물은 고리형 펩티드 화합물의 에피머를 포함하고, 에피머의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 7.5% 미만, 5% 미만, 3% 미만, 또는 1% 미만인, 방법.

[0517] [180] [157] 내지 [175] 중 임의의 것에 있어서,

[0518] 상기 단계에서 형성된 부산물은 이량체를 포함하고, 이량체의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 10% 미만, 7.5% 미만, 5% 미만, 2.5% 미만, 또는 1% 미만인, 방법.

[0519] [181] [157] 내지 [175] 중 임의의 것에 있어서,

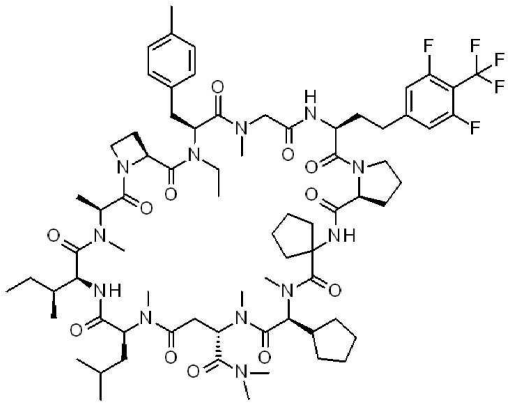
[0520] 상기 단계에서 형성된 부산물은 삼량체를 포함하고, 삼량체의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 3% 미만, 1% 미만, 또는 검출 불가능한 양인, 방법.

[0521] [182] [157] 내지 [175] 중 임의의 것에 있어서,

[0522] 상기 단계에서 형성된 부산물은 이량체 및 삼량체를 포함하고, 이량체 및 삼량체의 총 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 10% 미만, 7.5% 미만, 5% 미만, 2.5% 미만, 또는 1% 미만인, 방법.

[0523] [183] 하기의 화학식 (2)로 표시되는 고리형 펩티드 화합물:

[0524] [화학식 22]

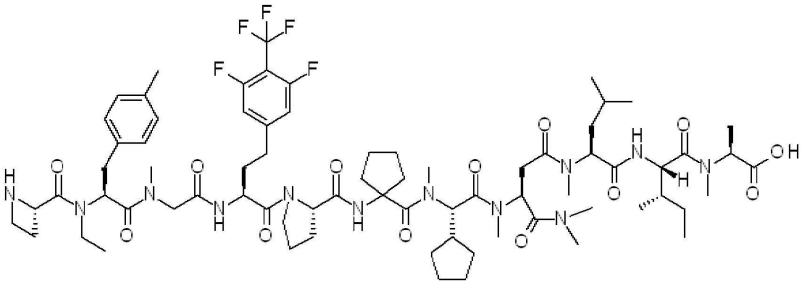
[0525] 

(2)

[0526] 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 생성 방법으로서:

[0527] (1) 하기의 화학식으로 표시되는 선형 펩티드 화합물:

[0528] [화학식 21]

[0529] 

[0530] 또는 이의 염 또는 이의 용매화물을 제공하는 단계; 및

[0531] (2) 상기 선형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 N-말단 아미노산 잔기와 상기 선형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 C-말단 아미노산 잔기를 연결시키는 단계를 포함하는, 방법.

[0532] [183-1] [182]에 있어서,

[0533] 컬럼 크로마토그래피는 고리형 펩티드 화합물의 분리 및/또는 정제에 사용되지 않는, 방법.

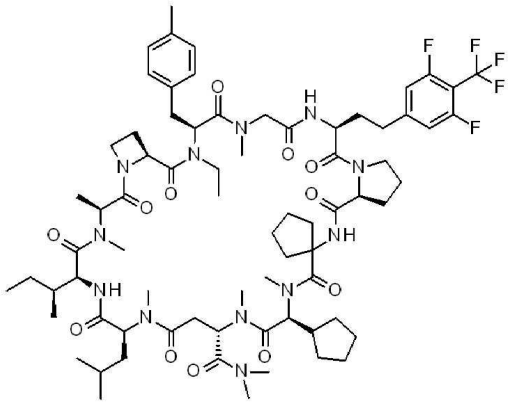
[0534] [183-2] [183] 내지 [183-1] 중 임의의 것에 있어서,

[0535] 고리형 펩티드 화합물을 결정화에 의해 분리 및/또는 정제하여 고리형 펩티드 화합물의 결정을 수득하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

[0536] [183-3] [183-2]에 있어서,

[0537] 고리형 펩티드 화합물의 결정은 하기의 화학식 (2)로 표시되는 고리형 펩티드 화합물의 비용매화물 결정 또는 용매화물 결정인, 방법:

[0538] [화학식 23]

[0539]  (2)

[0540] .

[0541] [183-4] [183-3]에 있어서,

[0542] 고리형 펩티드 화합물의 결정은 용매화물 결정인, 방법.

[0543] [183-5] [183-4]에 있어서,

[0544] 고리형 펩티드 화합물의 용매화물 결정은 수화물 결정인, 방법.

[0545] [183-6] [183]에 있어서,

[0546] 상기 연결시키는 단계는 액상 방법에 의해 실시되는, 방법.

[0547] [184] [183]에 있어서,

[0548] 단계 (2)는 용매의 존재하에 실시되는 방법.

[0549] [185] [184]에 있어서,

[0550] 용매는 아세토니트릴 및 디메틸 카보네이트로 구성된 군에서 선택되는 하나 또는 둘을 포함하는, 방법.

[0551] [186] [184]에 있어서,

[0552] 용매는 아세토니트릴인, 방법.

[0553] [187] [183] 내지 [186] 중 임의의 것에 있어서,

[0554] 단계 (2)는 축합 시약의 존재하에 실시되는, 방법.

[0555] [188] [187]에 있어서,

[0556] 축합 시약은 COMU, HATU, PyBOP, PyOxim, PyClop, 및 DMT-MM으로 구성된 군에서 선택되는 하나인, 방법.

[0557] [189] [187]에 있어서,

[0558] 축합 시약은 COMU, HATU, 및 PyOxim으로 구성된 군에서 선택되는 하나인, 방법.

[0559] [190] [187]에 있어서,

[0560] 축합 시약은 COMU인, 방법.

[0561] [191] [187]에 있어서,

[0562] 축합 시약은 COMU, HATU, PyBOP, PyOxim, PyClop, 및 DMT-MM으로 구성된 군에서 선택되는 하나이고, 용매는 아세토니트릴 및 디메틸 카보네이트로 구성된 군에서 선택되는 하나 또는 둘을 포함하는, 방법.

[0563] [192] [187]에 있어서,

[0564] 축합 시약은 COMU, HATU, 및 PyOxim으로 구성된 군에서 선택되는 하나이고, 용매는 아세토니트릴 및 디메틸 카보네이트로 구성된 군에서 선택되는 하나인, 방법.

[0565] [193] [187]에 있어서,

[0566] 축합 시약은 COMU이고, 용매는 아세토니트릴 및 디메틸 카보네이트로 구성된 군에서 선택되는 하나인, 방법.

[0567] [193-1] [187]에 있어서,

[0568] 축합 시약은 COMU이고, 용매는 아세토니트릴인, 방법.

[0569] [193-2] [187]에 있어서,

[0570] 축합 시약은 HATU이고, 용매는 디메틸 카보네이트인, 방법.

[0571] [194] [187]에 있어서,

[0572] 축합 시약은 PyOxim이고, 용매는 디메틸 카보네이트인, 방법.

[0573] [195] [183] 내지 [194] 중 임의의 것에 있어서,

[0574] 상기 연결시키는 단계는 염기의 존재하에 실시되는, 방법.

[0575] [196] [195]에 있어서,

[0576] 염기는 유기 염기인, 방법.

[0577] [197] [195]에 있어서,

[0578] 염기는 삼차 아민을 포함하는 유기 염기인, 방법.

[0579] [198] [195]에 있어서,

[0580] 염기는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA), 1,8-디아자비시클로[5.4.0]-7-운데센(DBU), 2,3,6,7-테트라히드로-1H,5H-9-아자벤조[ij]퀴놀리진, 1,4-디아자비시클로[2.2.2]옥탄(DABCO), 1,5-디아자비시클로[4.3.0]-5-노넨(DBN), 7-메틸-1,5,7-트리아자비시클로[4.4.0]데크-5-엔, 1,1,3,3-테트라메틸구아니딘(TMG), 1,8-비스(테트라메틸구아니디노)나프탈렌(TMGN), 2-tert-부틸-1,1,3,3-테트라메틸구아니딘(BTMG), 트리에틸아민(TEA), 트리메틸아민, 1-메틸피페리딘, N,N'-디메틸피페라진, N-메틸모르폴린, N-에틸모르폴린, 및 p-디메틸아미노피리딘(DMAP)으로 구성된 군에서 선택되는 하나인, 방법.

[0581] [199] [195]에 있어서,

[0582] 염기는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)인, 방법.

[0583] [200] [195]에 있어서,

[0584] 축합 시약은 COMU, HATU, 및 PyOxim으로 구성된 군에서 선택되는 하나이고, 용매는 아세토니트릴 및 디메틸 카보네이트로 구성된 군에서 선택되는 하나이며, 염기는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)인, 방법.

[0585] [201] [195]에 있어서,

[0586] 축합 시약은 COMU이고, 용매는 아세토니트릴 및 디메틸 카보네이트로 구성된 군에서 선택되는 하나이며, 염기는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)인, 방법.

[0587] [201-1] [195]에 있어서,

[0588] 축합 시약은 COMU이고, 용매는 아세토니트릴이며, 염기는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)인, 방법.

[0589] [201-2] [195]에 있어서,

[0590] 축합 시약은 HATU이고, 용매는 디메틸 카보네이트이며, 염기는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)인, 방법.

[0591] [202] [195]에 있어서,

[0592] 축합 시약은 PyOxim이고, 용매는 디메틸 카보네이트이며, 염기는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)인, 방법.

[0593] [203] [183] 내지 [202] 중 임의의 것에 있어서,

[0594] 단계 (2)에서, 선형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물 및 염기는 용매와 축합 시약을 혼합하여 수득한 혼합 용액 내에서 혼합되는, 방법.

[0595] [204] [183] 내지 [203] 중 임의의 것에 있어서,

[0596] 상기 단계에서 형성된 총 부산물의 함량은, 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 15% 미만, 10% 미만, 7.5% 미만, 또는 5% 미만인, 방법.

[0597] [205] [183] 내지 [203] 중 임의의 것에 있어서,

[0598] 상기 단계에서 형성된 부산물 각각의 함량은, 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 10% 미만, 7.5% 미만, 5% 미만, 3% 미만, 1% 미만, 또는 검출 불가능한 양인, 방법.

[0599] [206] [183] 내지 [203] 중 임의의 것에 있어서,

[0600] 상기 단계에서 형성된 부산물 각각의 함량은, 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 10% 미만, 7.5% 미만, 5% 미만, 3% 미만, 1% 미만, 또는 검출 불가능한 양이고, 부산물은 에피머, 이량체 및 삼량체인, 방법.

[0601] [207] [183] 내지 [203] 중 임의의 것에 있어서,

[0602] 상기 단계에서 형성된 부산물은 고리형 펩티드 화합물의 에피머를 포함하고, 에피머의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 5% 미만, 3% 미만, 또는 1% 미만인, 방법.

[0603] [208] [183] 내지 [203] 중 임의의 것에 있어서,

[0604] 상기 단계에서 형성된 부산물은 이량체를 포함하고, 이량체의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석으로 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 10% 미만, 7.5% 미만, 또는 5% 미만인, 방법.

[0605] [209] [183] 내지 [203] 중 임의의 것에 있어서,

[0606] 상기 단계에서 형성된 부산물은 삼량체를 포함하고, 삼량체의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석으로 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 3% 미만, 1% 미만, 또는 검출 불가능한 양인, 방법.

[0607] [210] [183] 내지 [203] 중 임의의 것에 있어서,

[0608] 상기 단계에서 형성된 부산물은 이량체 및 삼량체를 포함하고, 이량체 및 삼량체의 총 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석으로 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 10% 미만, 7.5% 미만, 또는 5% 미만인, 방법.

[0609] [211] 고리형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 생성 시 고리형 펩티드 화합물의 에피머화를 억제하는 방법으로서,

[0610] 용매 중에서 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기를 펩티드 화합물의 C-말단 아미노산 잔기와 연결시키는 단계를 포함하고, 여기서

[0611] N-말단 아미노산 잔기 및 C-말단 아미노산 잔기 중 적어도 하나는 고리형 아미노산 잔기이고,

[0612] 용매는 아세토니트릴, 디메틸 카보네이트, 2-MeTHF, 및 아니솔로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는, 방법.

[0613] [212] 고리형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 생성 시 고리형 펩티드 화합물의 에피머화를 억제하는 방법으로서,

[0614] 용매 중에서 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기를 펩티드 화합물의 C-말단 아미노산 잔기와 연결시키는 단계를 포함하고, 여기서

[0615] 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기 및 C-말단 아미노산 잔기는 하기의 a) 내지 e) 중 임의의 것인, 방법:

[0616] a) N-말단 아미노산 잔기는 N-치환 페닐알라닌 잔기 또는 N-치환 페닐알라닌 유도체 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기;

[0617] b) N-말단 아미노산 잔기는 α,α-이치환 아미노산 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기;

[0618] c) N-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 호모페닐알라닌 잔기 또는 호모페닐알라닌 유도체 잔기;

[0619] d) N-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 N-치환 Ala 잔기; 및

[0620] e) N-말단 아미노산 잔기는 N-치환 Gly 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 N-치환 페닐알라닌 잔기 또는 N-치환 페닐알라닌 유도체 잔기.

[0621] [213] 고리형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 생성 시 고리형 펩티드 화합물의 에피머화를 억제하는 방법으로서,

[0622] [1] 내지 [210] 중 임의의 것에 따른 방법을 포함하는, 방법.

[0623] [214] [211] 내지 [213] 중 임의의 것에 있어서,

[0624] 상기 단계에서 형성된 에피머의 함량은, 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 20% 미만, 15% 미만, 10% 미만, 5% 미만, 또는 3% 미만인, 방법.

[0625] [215] [211] 내지 [213] 중 임의의 것에 있어서,

[0626] 상기 단계에서 형성된 에피머의 함량은, 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 15% 미만, 10% 미만, 5% 미만, 3% 미만, 1% 미만, 또는 검출 불가능한 양인, 방법.

[0627] [216] 고리형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 생성 시 고리형 펩티드 화합물의 올리고머 형성을 억제하는 방법으로서,

[0628] 용매 중에서 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기를 펩티드 화합물의 C-말단 아미노산 잔기와 연결시키는 단계를 포함하고, 여기서

[0629] N-말단 아미노산 잔기 및 C-말단 아미노산 잔기 중 적어도 하나는 고리형 아미노산 잔기이고,

[0630] 용매는 아세토니트릴, 디메틸 카보네이트, 2-MeTHF, 및 아니솔로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는, 방법.

[0631] [217] 고리형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 생성 시 고리형 펩티드 화합물의 올리고머 형성을 억제하는 방법으로서,

[0632] 용매 중에서 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기를 펩티드 화합물의 C-말단 아미노산 잔기와 연결시키는 단계를 포함하고, 여기서

[0633] 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기 및 C-말단 아미노산 잔기는 하기의 a) 내지 e) 중 임의의 것인, 방법:

[0634] a) N-말단 아미노산 잔기는 N-치환 페닐알라닌 잔기 또는 N-치환 페닐알라닌 유도체 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기;

[0635] b) N-말단 아미노산 잔기는 α,α-이치환 아미노산 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기;

[0636] c) N-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 호모페닐알라닌 잔기 또는 호모페닐알라닌 유도체 잔기;

[0637] d) N-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 N-치환 Ala 잔기; 및

[0638] e) N-말단 아미노산 잔기는 N-치환 Gly 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 N-치환 페닐알라닌 잔기 또는 N-치환 페닐알라닌 유도체 잔기.

[0639] [218] 고리형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 생성 시 고리형 펩티드 화합물의 올리고머 형성을 억제하는 방법으로서,

[0640] [1] 내지 [210] 중 임의의 것에 따른 방법을 포함하는, 방법.

[0641] [219] [216] 내지 [218] 중 임의의 것에 있어서,

[0642] 상기 단계에서 형성된 부산물은 이량체를 포함하고, 이량체의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 15% 미만, 10% 미만, 5% 미만, 2.5% 미만, 또는 1% 미만인, 방법.

[0643] [220] [216] 내지 [218] 중 임의의 것에 있어서,

[0644] 상기 단계에서 형성된 부산물은 삼량체를 포함하고, 삼량체의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 5% 미만, 2.5% 미만, 1% 미만, 또는 검출 불가능한 양인, 방법.

[0645] [221] [216] 내지 [218] 중 임의의 것에 있어서,

[0646] 상기 단계에서 형성된 부산물은 이량체 및 삼량체를 포함하고, 이량체 및 삼량체의 총 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 15% 미만, 10% 미만, 5% 미만, 2.5% 미만, 또는 1% 미만인, 방법.

[0647] 상기 번호 매기기에서, 종속 항목에 인용된 번호는 달리 언급되지 않는 한 해당 번호의 분기 번호를 포함한다. 예를 들어, 종속 항목에 인용된 [66]은 [66]뿐만 아니라 그 분기 번호 [66-1] 등도 포함되어 있음을 보여준다. 다른 번호 매기기에도 마찬가지로 적용된다.

## *발명의 효과*

[0648] 본 발명에 따라서, 고리형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물은, 고리형 펩티드 화합물이 복수개의 비천연 아미노산 잔기를 함유하는 아미노산 서열을 갖는 경우에도, 아미노산 잔기의 에피머화 및 올리고머 형성을 억제하면서 효율적으로 제조될 수 있다. 본 발명의 생성 방법은 펩티드 화합물의 생성 시 비용을 절감하고 환경적 부담을 줄일 수 있어서, 펩티드의 대량 합성에 특히 유용하다.

## *발명을 실시하기 위한 구체적인 내용*

[0649] 약어

[0650] 본원에서 사용되는 약어는 하기와 같다.

[0651] 2-MeTHF: 2-메틸테트라히드로푸란

[0652] EtOAc: 에틸 아세테이트

[0653] Alloc: 알릴옥시카르보닐

[0654] BEP: 2-브로모-1-에틸피리디늄 테트라플루오로보레이트

[0655] BHT: 2,6-디-tert-부틸-4-메틸페놀

[0656] Boc: t-부톡시카르보닐

[0657] Cbz: 벤질옥시카르보닐

[0658] COMU: (1-시아노-2-에톡시-2-옥소에틸리덴아미노옥시)디메틸아미노-모르폴리노-카르베늄 헥사플루오로포스페이트

[0659] CPME: 시클로펜틸 메틸 에테르

[0660] CSA: 10-캄포설폰산

[0661] DEPBT: 디에틸 3,4-디히드로-4-옥소-1,2,3-벤조트리아진-3-일 포스페이트

[0662] DIPEA: N,N-디이소프로필에틸아민

[0663] DMA: 디메틸아세트아미드

[0664] DMAP: 4-디메틸아미노피리딘

[0665] DMF: N,N-디메틸포름아마이드

[0666] DMSO: 디메틸설폭사이드

[0667] DMT-MM: 4-(4,6-디메톡시-1,3,5-트리아진-2-일)-4-메틸모폴리늄 염화물

[0668] EDCI: 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카르보디이미드

[0669] FDPP: 펜타플루오로페닐 디페닐 포스피네이트

[0670] Fmoc: 9-플루오레닐메틸옥시카르보닐

[0671] HATU: O-(7-아자벤조트리아졸-1-일)-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스페이트

[0672] HMDS: 1,1,1,3,3,3-헥사메틸디실라잔

[0673] HOAt: 1-히드록시-7-아자벤조트리아졸

[0674] HOBt: 1-히드록시벤조트리아졸

[0675] IPAc: 이소프로필 아세테이트

[0676] MeCN: 아세토니트릴

[0677] MTBE: 메틸 tert-부틸 에테르

[0678] 2-MeTHF: 2-메틸테트라히드로푸란

[0679] MTHP: 4-메틸테트라히드로푸란

[0680] NMM: 4-메틸모르폴린

[0681] NMP: N-메틸피롤리돈

[0682] PyBOP: 1H-벤조트리아졸-1-일옥시트리피롤리디노포스포늄 헥사플루오로포스페이트

[0683] PyClop: 클로로트리피롤리디노 포스포늄 헥사플루오로포스페이트

[0684] PyOxim: (에틸시아노(히드록시이미노)아세테이트-O2)-트리-(1-피롤리디닐)-포스포늄 헥사플루오로포스페이트

[0685] T3P: 프로필포스포닉 무수물

[0686] TBAF: 테트라부틸암모늄 플루오라이드

[0687] Teoc: 2-(트리메틸실릴)에톡시카르보닐

[0688] TFA: 트리플루오로아세트산

[0689] THF: 테트라하이드로퓨란

[0690] TMSOTf: 트리메틸실릴 트리플루오로메탄설포네이트

[0691] Troc: 2,2,2-트리클로로에톡시카르보닐

[0692] 작용기 등의 정의(본원의 모든 용어 및 문구는 당업계에서 통상적으로 이해되는 바와 같이 사용된다. 실시예들이 하기에 제공되지만, 이에 제한정되지는 않는다.)

[0693] 본원에서 사용된 "할로겐 원자"의 예는 F, Cl, Br 및 I를 포함한다.

[0694] 본원에서 사용된 용어 "알킬"은 임의의 하나의 수소 원자를 제거하여 지방족 탄화수소에서 유도된 1가 기이며, 헤테로 원자(탄소 원자 및 수소 원자 이외의 다른 원자) 또는 불포화 탄소-탄소 결합을 포함하지 않고, 백본에 수소 및 탄소 원자를 함유하는 히드로카르빌 또는 탄화수소기 구조의 하위집합을 갖는다. 알킬은 선형 형태뿐만

아니라 분지형 형태도 포함한다. 구체적으로, 알킬은 1 내지 20개의 탄소 원자를 갖는 알킬($C_1$-$C_{20}$), 바람직하게는 $C_1$-$C_{10}$ 알킬, 더 바람직하게는 $C_1$-$C_6$ 알킬이다. 이하, "$C_p$-$C_q$"는 p 내지 q개의 탄소 원자를 갖는 것을 의미한다. 알킬의 구체적인 예는 메틸, 에틸, n-프로필, i-프로필, n-부틸, s-부틸, t-부틸, 이소부틸(2-메틸프로필), n-펜틸, s-펜틸(1-메틸부틸), t-펜틸(1,1-디메틸프로필), 네오펜틸(2,2-디메틸프로필), 이소펜틸(3-메틸부틸), 3-펜틸(1-에틸프로필), 1,2-디메틸프로필, 2-메틸부틸, n-헥실, 1,1,2-트리메틸프로필, 1,2,2-트리메틸프로필, 1,1,2,2-테트라메틸프로필, 1,1-디메틸부틸, 1,2-디메틸부틸, 1,3-디메틸부틸, 2,2-디메틸부틸, 2,3-디메틸부틸, 3,3-디메틸부틸, 1-에틸부틸 및 2-에틸부틸을 포함한다.

[0695] 본원에서 사용된 용어 "알케닐"은 적어도 한 개의 이중 결합(두 개의 인접한 $SP^2$ 탄소 원자)을 갖는 1가 기이다. 이중 결합 및 치환기(존재하는 경우)의 입체형태에 따라, 이중 결합의 기하학적 형태는 엔트게겐(E) 또는 주잠멘(Z) 및 시스 또는 트랜스 입체형태를 취할 수 있다. 알케닐은 선형 형태뿐만 아니라 분지형 형태도 포함한다. 알케닐은 바람직하게는 $C_2$-$C_{10}$ 알케닐, 더 바람직하게는 $C_2$-$C_6$ 알케닐이다. 이의 구체적인 예는 비닐, 알릴, 1-프로페닐, 2-프로페닐, 1-부테닐, 2-부테닐(시스 및 트랜스를 포함함), 3-부테닐, 펜테닐, 3-메틸-2-부테닐, 및 헥세닐을 포함한다.

[0696] 본원에서 사용된 용어 "알키닐"은 적어도 한 개의 삼중 결합(두 개의 인접한 SP 탄소 원자)을 갖는 1가 기이다. 알키닐은 선형 형태뿐만 아니라 분지형 형태도 포함한다. 알키닐은 바람직하게는 $C_2$-$C_{10}$ 알키닐, 더 바람직하게는 $C_2$-$C_6$ 알키닐이다. 이의 구체적인 예는 에티닐, 1-프로피닐, 프로파르길, 3-부티닐, 펜티닐, 헥시닐, 3-페닐-2-프로피닐, 3-(2'-플루오로페닐)-2-프로피닐, 2-히드록시-2-프로피닐, 3-(3-플루오로페닐)-2-프로피닐 및 3-메틸-(5-페닐)-4-펜티닐을 포함한다.

[0697] 본원에서 사용된 용어 "시클로알킬"은 포화 또는 부분적 포화 환형 1가 지방족 탄화수소기를 의미하며 모노시클릭 고리, 비시클로 고리 및 스피로 고리를 포함한다. 시클로알킬은 바람직하게는 $C_3$-$C_8$ 시클로알킬이다. 이의 구체적인 예는 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 시클로헥실, 시클로헵틸, 시클로옥틸, 비시클로[2.2.1]헵틸 및 스피로[3.3]헵틸을 포함한다.

[0698] 본원에서 사용된 용어 "아릴"은 1가 방향족 탄화수소 고리를 의미하고 바람직하게는 $C_6$-$C_{10}$ 아릴이다. 아릴의 구체적인 예는 페닐 및 나프틸(예를 들어 1-나프틸 및 2-나프틸)을 포함한다.

[0699] 본원에서 사용되는 용어 "헤테로시클릴"은 탄소 원자 및 1 내지 5개의 헤테로원자를 함유하는 비방향족 환형 1가 기를 의미한다. 헤테로시클릴은 고리에 이중 및/또는 삼중 결합을 가질 수 있다. 고리 내의 탄소 원자는 산화를 통해 카르보닐을 형성할 수 있으며, 고리는 단환 고리이거나 축합 고리일 수 있다. 원자의 수는 바람직하게는 4 내지 10(4- 내지 10-원 헤테로시클릴), 더 바람직하게는 4 내지 7(4- 내지 7-원 헤테로시클릴)이다. 헤테로시클릴의 구체적인 예는 아제티디닐, 옥시라닐, 옥세타닐, 아제티디닐, 디히드로푸릴, 테트라히드로푸릴, 디히드로피라닐, 테트라히드로피라닐, 테트라히드로피리딜, 테트라히드로피리미딜, 모르폴리닐, 티오모르폴리닐, 피롤리디닐, 피페리디닐, 피페라지닐, 피라졸리디닐, 이미다졸리닐, 이미다졸리디닐, 옥사졸리디닐, 이소옥사졸리디닐, 티아졸리디닐, 이소티아졸리디닐, 1,2-티아지난, 티아디아졸리디닐, 아제티디닐, 옥사졸리돈, 벤조디옥사닐, 벤조옥사졸릴, 디옥솔라닐, 디옥사닐, 테트라히드로피롤로[1,2-c]이미다졸, 티에타닐, 3,6-디아자비시클로[3.1.1]헵타닐, 2,5-디아자비시클로[2.2.1]헵타닐, 3-옥사-8-아자비시클로[3.2.1]옥타닐, 술탐 및 2-옥사스피로[3.3]헵틸을 포함한다.

[0700] 본원에서 사용하는 용어 "헤테로아릴"은 탄소 원자 및 1 내지 5개의 헤테로원자를 함유하는 방향족 환형 1가 기를 의미한다. 고리는 단환 고리이거나 또 다른 고리와 축합된 고리일 수 있으며 부분적으로 포화될 수 있다. 고리를 형성하는 원자의 수는 바람직하게는 5 내지 10(5 내지 10원 헤테로아릴), 더 바람직하게는 5 내지 7(5 내지 7원 헤테로아릴)이다. 헤테로아릴의 구체적인 예는 푸릴, 티에닐, 피롤릴, 이미다졸릴, 피라졸릴, 티아졸릴, 이소티아졸릴, 옥사졸릴, 이소옥사졸릴, 옥사디아졸릴, 티아디아졸릴, 트리아졸릴, 테트라졸릴, 피리딜, 피리미딜, 피리다지닐, 피라지닐, 트리아지닐, 벤조푸라닐, 벤조티에닐, 벤조티아디아졸릴, 벤조티아졸릴, 벤즈옥사졸릴, 벤즈옥사디아졸릴, 벤즈이미다졸릴, 인돌릴, 이소인돌릴, 인다졸릴, 퀴놀릴, 이소퀴놀릴, 신놀리닐, 퀴나졸리닐, 퀴녹살리닐, 벤조디옥솔릴, 인돌리지닐, 및 이미다조피리딜을 포함한다.

[0701] 본원에서 사용하는 용어 "알콕시"는 상기 정의된 "알킬"에 결합된 옥시기를 의미하며 바람직하게는 $C_1$-$C_6$ 알콕시이다. 알콕시의 구체적인 예는 메톡시, 에톡시, 1-프로폭시, 2-프로폭시, n-부톡시, i-부톡시, s-부톡시, t-부

톡시, 펜틸옥시, 및 3-메틸부톡시를 포함한다.

[0702] 본원에서 사용하는 용어 "알케닐옥시"는 상기 정의된 "알케닐"에 결합된 옥시기를 의미하며 바람직하게는 $C_2$-$C_6$ 알케닐옥시이다. 알케닐옥시의 구체적인 예는 비닐옥시, 알릴옥시, 1-프로페닐옥시, 2-프로페닐옥시, 1-부테닐옥시, 2-부테닐옥시(시스 및 트랜스를 포함함), 3-부테닐옥시, 펜테닐옥시, 및 헥세닐옥시를 포함한다.

[0703] 본원에서 사용하는 용어 "시클로알콕시"는 상기 정의된 "시클로알킬"에 결합된 옥시기를 의미하며 바람직하게는 $C_3$-$C_8$ 시클로알콕시이다. 시클로알콕시의 구체적인 예는 시클로프로폭시, 시클로부톡시, 및 시클로펜틸옥시를 포함한다.

[0704] 본원에서 사용하는 용어 "아릴옥시"는 상기 정의된 "아릴"에 결합된 옥시기를 의미하며 바람직하게는 $C_6$-$C_{10}$ 아릴옥시이다. 아릴옥시의 구체적인 예는 페녹시, 1-나프틸옥시, 및 2-나프틸옥시를 포함한다.

[0705] 본원에서 사용하는 용어 "아미노"는 협의에서 $-NH_2$를 의미하고 광의에서 -NRR'을 의미한다. 이러한 맥락에서, R 및 R'은 수소, 알킬, 알케닐, 알키닐, 시클로알킬, 헤테로시클릴, 아릴 및 헤테로아릴 중에서 각각 독립적으로 선택되거나, 또는 R 및 R'은 이들이 부착된 질소 원자와 함께 고리를 형성한다. 아미노의 바람직한 예는 $-NH_2$, 모노-$C_1$-$C_6$ 알킬아미노, 디-$C_1$-$C_6$ 알킬아미노, 및 4 내지 8원 고리형 아미노를 포함한다.

[0706] 본원에서 사용된 용어 "모노알킬아미노"는 R이 수소이고, R'이 상기 정의된 "알킬"인 상기 정의된 "아미노"의 기를 의미하며, 바람직하게는 모노-$C_1$-$C_6$ 알킬아미노이다. 모노알킬아미노의 구체적인 예는 메틸아미노, 에틸아미노, n-프로필아미노, i-프로필아미노, n-부틸아미노, s-부틸아미노, 및 t-부틸아미노를 포함한다.

[0707] 본원에서 사용된 용어 "디알킬아미노"는 R 및 R'이 각각 독립적으로 상기 정의된 "알킬"인 상기 정의된 "아미노"의 기를 의미하며, 바람직하게는 디-$C_1$-$C_6$ 알킬아미노이다. 디알킬아미노의 구체적인 예는 디메틸아미노 및 디에틸아미노를 포함한다.

[0708] 본원에서 사용된 용어 "고리형 아미노"는 R 및 R'이 이에 결합된 질소 원자와 함께 고리를 형성하는 상기 정의된 "아미노"의 기를 의미하며, 바람직하게는 4 내지 8원 고리형 아미노이다. 고리형 아미노의 구체적인 예는 1-아제티딜, 1-피롤리딜, 1-피페리딜, 1-피페라질, 4-모르폴리닐, 3-옥사졸리딜, 1,1-디옥시도티오모르폴리닐-4-일, 및 3-옥사-8-아자비시클로[3.2.1]옥탄-8-일을 포함한다.

[0709] 본원에서 사용되는 "보호된 아미노"는 선택적인 보호기로 보호된 아미노기를 의미한다. 보호된 아미노의 구체적인 예는 Boc, Fmoc, Cbz, Troc, Alloc, Teoc 또는 트리플루오로아세틸과 같은 보호기로 보호된 아미노를 포함한다.

[0710] 본원에서 사용되는 용어 "아미노카르보닐"은 상기 정의된 "아미노"에 결합된 카르보닐기를 의미하며, 바람직하게는 $-CONH_2$, 모노-$C_1$-$C_6$ 알킬아미노카르보닐, 디-$C_1$-$C_6$ 알킬아미노카르보닐, 또는 4 내지 8원 고리형 아미노카르보닐이다. 아미노카르보닐의 구체적인 예는 $-CONH_2$, 디메틸아미노카르보닐, 1-아제티디닐카르보닐, 1-피롤리디닐카르보닐, 1-피페리디닐카르보닐, 1-피페라지닐카르보닐, 4-모르폴리닐카르보닐, 3-옥사졸리디닐카르보닐, 1,1-디옥시도티오모르폴리닐-4-일카르보닐, 및 3-옥사-8-아자비시클로[3.2.1]옥탄-8-일카르보닐을 포함한다.

[0711] 본원에서 사용하는 용어 "알케닐옥시카르보닐"은 상기 정의된 "알케닐옥시"에 결합된 카르보닐기를 의미하며 바람직하게는 $C_2$-$C_6$ 알케닐옥시카르보닐이다. 알케닐옥시카르보닐의 구체적인 예는 비닐옥시카르보닐, 알릴옥시카르보닐, 1-프로페닐옥시카르보닐, 2-프로페닐옥시카르보닐, 1-부테닐옥시카르보닐, 2-부테닐옥시카르보닐(시스 및 트랜스를 포함), 3-부테닐옥시카르보닐, 펜테닐옥시카르보닐, 및 헥세닐옥시카르보닐을 포함한다.

[0712] 본원에서 사용하는 용어 "알킬설포닐"은 상기 정의된 "알킬"에 결합된 설포닐기를 의미하며 바람직하게는 $C_1$-$C_6$ 알킬설포닐이다. 알킬설포닐의 구체적인 예는 메틸설포닐을 포함한다.

[0713] 본원에서 사용되는 용어 "히드록시알킬"은 상기 정의된 "알킬"의 하나 이상의 수소가 히드록시기로 치환된 기를 의미하며, 바람직하게는 $C_1$-$C_6$ 히드록시알킬이다. 히드록시알킬의 구체적인 예는 히드록시메틸, 1-히드록시에틸, 2-히드록시에틸, 2-히드록시-2-메틸프로필, 및 5-히드록시펜틸이 있다.

[0714] 본원에서 사용되는 용어 "할로알킬"은 상기 정의된 "알킬"의 하나 이상의 수소가 할로겐으로 대체된 기를 의미하며, 바람직하게는 $C_1$-$C_6$ 할로알킬, 더 바람직하게는 $C_1$-$C_6$ 플루오로알킬이다. 할로알킬의 구체적인 예는 디플루

오로메틸, 트리플루오로메틸, 2,2-디플루오로에틸, 2,2,2-트리플루오로에틸, 3,3-디플루오로프로필, 4,4-디플루오로부틸, 및 5,5-디플루오로펜틸을 포함한다.

[0715] 본원에서 사용되는 용어 "시아노알킬"은 상기 정의된 "알킬"의 하나 이상의 수소가 시아노로 치환된 기를 의미하며, 바람직하게는 $C_1$-$C_6$ 시아노알킬이다. 시아노알킬의 구체적인 예는 시아노메틸 및 2-시아노에틸을 포함한다.

[0716] 본원에서 사용되는 용어 "아미노알킬"은 상기 정의된 "알킬"의 하나 이상의 수소가 상기 정의된 "아미노"로 치환된 기를 의미하며, 바람직하게는 $C_1$-$C_6$ 아미노알킬이다. 아미노알킬의 구체적인 예는 1-피리딜메틸, 2-(1-피페리딜)에틸, 3-(1-피페리딜)프로필, 및 4-아미노부틸을 포함한다.

[0717] 본원에서 사용되는 용어 "카르복시알킬"은 상기 정의된 "알킬"의 하나 이상의 수소가 카르복시로 치환된 기를 의미하며, 바람직하게는 $C_2$-$C_6$ 카르복시알킬이다. 카르복시알킬의 구체적인 예는 카르복시메틸을 포함한다.

[0718] 본원에서 사용되는 용어 "알케닐옥시카르보닐알킬"은 상기 정의된 "알킬"의 하나 이상의 수소가 상기 정의된 "알케닐옥시카르보닐"로 치환된 기를 의미하며, 바람직하게는 $C_2$-$C_6$ 알케닐옥시카르보닐-$C_1$-$C_6$ 알킬, 더 바람직하게는 $C_2$-$C_6$ 알케닐옥시카르보닐-$C_1$-$C_2$ 알킬이다. 알케닐옥시카르보닐알킬의 구체적인 예는 알릴옥시카르보닐메틸 및 2-(알릴옥시카르보닐)에틸을 포함한다.

[0719] 본원에서 사용되는 용어 "알콕시알킬"은 상기 정의된 "알킬"의 하나 이상의 수소가 상기 정의된 "알콕시"로 치환된 기를 의미하며, 바람직하게는 $C_1$-$C_6$ 알콕시-$C_1$-$C_6$ 알킬, 더 바람직하게는 $C_1$-$C_6$ 알콕시-$C_1$-$C_2$ 알킬이다. 알콕시알킬의 구체적인 예는 메톡시메틸, 에톡시메틸, 1-프로폭시메틸, 2-프로폭시메틸, n-부톡시메틸, i-부톡시메틸, s-부톡시메틸, t-부톡시메틸, 펜틸옥시메틸, 3-메틸부톡시메틸, 1-메톡시에틸, 2-메톡시에틸, 및 2-에톡시에틸을 포함한다.

[0720] 본원에서 사용되는 용어 "시클로알킬알킬"은 상기 정의된 "알킬"의 하나 이상의 수소가 상기 정의된 "시클로알킬"로 치환된 기를 의미하며, 바람직하게는 $C_3$-$C_8$ 시클로알킬-$C_1$-$C_6$ 알킬, 더 바람직하게는 $C_3$-$C_6$ 시클로알킬-$C_1$-$C_2$ 알킬이다. 시클로알킬알킬의 구체적인 예는 시클로프로필메틸, 시클로부틸메틸, 시클로펜틸메틸, 및 시클로헥실메틸을 포함한다.

[0721] 본원에서 사용되는 용어 "시클로알킬알킬"은 상기 정의된 "알킬"의 하나 이상의 수소가 상기 정의된 "시클로알킬"로 치환된 기를 의미하며, 바람직하게는 $C_3$-$C_8$ 시클로알콕시-$C_1$-$C_6$ 알킬, 더 바람직하게는 $C_3$-$C_6$ 시클로알콕시-$C_1$-$C_2$ 알킬이다. 시클로알콕시알킬의 구체적인 예는 시클로프로폭시메틸 및 시클로부톡시메틸을 포함한다.

[0722] 본원에서 사용되는 용어 "헤테로시클릴알킬"은 상기 정의된 "알킬"의 하나 이상의 수소가 상기 정의된 "헤테로시클릴"로 치환된 기를 의미하며, 바람직하게는 4 내지 7원 헤테로시클릴-$C_1$-$C_6$ 알킬, 더 바람직하게는 4 내지 7원 헤테로시클릴-$C_1$-$C_2$ 알킬이다. 헤테로시클릴알킬의 구체적인 예는 2-(테트라히드로-2H-피란-4-일)에틸 및 2-(아제티딘-3-일)에틸기을 포함한다.

[0723] 본원에서 사용되는 용어 "알킬설포닐알킬"은 상기 정의된 "알킬"의 하나 이상의 수소가 상기 정의된 "알킬설포닐알킬"로 치환된 기를 의미하며, 바람직하게는 $C_1$-$C_6$ 알킬설포닐-$C_1$-$C_6$ 알킬, 더 바람직하게는 $C_1$-$C_6$ 알킬설포닐-$C_1$-$C_2$ 알킬이다. 알킬설포닐알킬의 구체적인 예는 메틸설포닐메틸 및 2-(메틸설포닐)에틸을 포함한다.

[0724] 본원에서 사용되는 용어 "아미노카르보닐알킬"은 상기 정의된 "알킬"의 하나 이상의 수소가 상기 정의된 "아미노카르보닐"로 치환된 기를 의미하며, 바람직하게는 아미노카르보닐-$C_1$-$C_6$ 알킬, 더 바람직하게는 아미노카르보닐-$C_1$-$C_4$ 알킬이다. 아미노카르보닐알킬의 구체적인 예는, 메틸아미노카르보닐메틸, 디메틸아미노카르보닐메틸, t-부틸아미노카르보닐메틸, 1-아제티디닐카르보닐메틸, 1-피롤리디닐카르보닐메틸, 1-피페리디닐카르보닐메틸, 4-모르폴리닐카르보닐메틸, 2-(메틸아미노카르보닐)에틸, 2-(디메틸아미노카르보닐)에틸, 2-(1-아제티디닐카르보닐)에틸, 2-(1-피롤리디닐카르보닐)에틸, 2-(4-모르폴리닐카르보닐)에틸, 3-(디메틸아미노카르보닐)프로필, 및 4-(디메틸아미노카르보닐)부틸을 포함한다.

[0725] 본원에서 사용되는 용어 "아릴옥시알킬"은 상기 정의된 "알킬"의 하나 이상의 수소가 상기 정의된 "아릴옥시"로 치환된 기를 의미하며, 바람직하게는 $C_6$-$C_{10}$ 아릴옥시-$C_1$-$C_6$ 알킬, 더 바람직하게는 $C_6$-$C_{10}$ 아릴옥시-$C_1$-$C_2$ 알

킬이다. 아릴옥시알킬의 구체적인 예는 페녹시메틸 및 2-페녹시메틸을 포함한다.

[0726] 본원에서 사용된 용어 "아랄킬(아릴알킬)"은 상기 정의된 "알킬"의 적어도 하나의 수소 원자가 상기 정의된 "아릴"로 치환된 기를 의미하며, 바람직하게는 $C_7$-$C_{14}$ 아랄킬, 더 바람직하게는 $C_7$-$C_{10}$ 아랄킬이다. 아랄킬의 구체적인 예는 벤질, 페네틸 및 3-페닐프로필을 포함한다.

[0727] 본원에서 사용된 용어 "아랄콕시"는 상기 정의된 "아랄킬"에 결합된 옥시기를 의미하며, 바람직하게는 $C_7$-$C_{14}$ 아랄콕시, 더 바람직하게는 $C_7$-$C_{10}$ 아랄콕시이다. 아랄콕시의 구체적인 예는 벤질옥시, 페닐에틸옥시, 및 3-페닐프로폭시를 포함한다.

[0728] 본원에서 사용되는 용어 "아랄콕시알킬"은 상기 정의된 "알킬"의 하나 이상의 수소가 상기 정의된 “아랄콕시”로 치환된 기를 의미하며, 바람직하게는 $C_7$-$C_{14}$ 알콕시-$C_1$-$C_6$ 알킬, 더 바람직하게는 $C_7$-$C_{14}$ 알콕시-$C_1$-$C_2$ 알킬이다. 아랄콕시알킬의 구체적인 예는 벤질옥시메틸 및 1-(벤질옥시)에틸을 포함한다.

[0729] 본원에서 사용되는 용어 "헤테로아릴알킬"은 상기 정의된 "알킬"의 하나 이상의 수소가 상기 정의된 “헤테로아릴”로 치환된 기를 의미하며, 바람직하게는 5 내지 10원 헤테로아릴-$C_1$-$C_6$ 알킬, 더 바람직하게는 5 내지 10원 헤테로아릴-$C_1$-$C_2$ 알킬이다. 헤테로아릴알킬의 구체적인 예는 3-티에닐메틸, 4-티아졸릴메틸, 2-피리딜메틸, 3-피리딜메틸, 4-피리딜메틸, 2-(2-피리딜)에틸, 2-(3-피리딜)에틸, 2-(4-피리딜)에틸, 2-(6-퀴놀릴)에틸, 2-(7-퀴놀릴)에틸, 2-(6-인돌릴)에틸, 2-(5-인돌릴)에틸, 및 2-(5-벤조푸라닐)에틸을 포함한다.

[0730] 본원에서 사용된 용어 "헤테로아릴알콕시"는 상기 정의된 "헤테로아릴알킬"에 결합된 옥시기를 의미하며, 바람직하게는 5 내지 10원 헤테로아릴-$C_1$-$C_6$ 알콕시, 더 바람직하게는 5 내지 10원 헤테로아릴-$C_1$-$C_2$ 알콕시이다. 헤테로아릴알콕시의 구체적인 예는 3-티에닐메톡시 및 3-피리딜메톡시를 포함한다.

[0731] 본원에서 사용되는 용어 "헤테로아릴알콕시알킬"은 상기 정의된 "알킬"의 하나 이상의 수소가 상기 정의된 “헤테로아릴알콕시”로 치환된 기를 의미하며, 바람직하게는 5 내지 10원 헤테로아릴-$C_1$-$C_6$ 알콕시-$C_1$-$C_6$ 알킬, 더 바람직하게는 5 내지 10원 헤테로아릴-$C_1$-$C_2$ 알콕시-$C_1$-$C_2$ 알킬이다. 헤테로아릴알콕시알킬의 구체적인 예는 3-피리딜메톡시메틸을 포함한다.

[0732] 본원에서 사용되는 용어 "헤테로시클로알킬리덴알킬"은 상기 정의된 "알킬"의 하나 이상의 수소가 상기 정의된 “헤테로시클로알킬리덴”으로 치환된 기를 의미하며, 바람직하게는 4 내지 7원 헤테로시클로알킬리덴-$C_1$-$C_6$ 알킬, 더 바람직하게는 4 내지 7원 헤테로시클로알킬리덴-$C_1$-$C_2$ 알킬이다. 헤테로아릴알콕시알킬의 구체적인 예는 테트라히드로-4H-피란-4-일리덴메틸 및 아제티딘-3-일리덴메틸을 포함한다.

[0733] 본원에서 사용되는 용어 "알콕시알케닐"은 상기 정의된 "알케닐"의 하나 이상의 수소가 상기 정의된 “알콕시”로 치환된 기를 의미하며, 바람직하게는 $C_1$-$C_6$ 알콕시 $C_2$-$C_6$ 알케닐이다. 알콕시알케닐의 구체적인 예는 (E)-4-메톡시부트-2-엔-1-일을 포함한다.

[0734] 본원에서 사용되는 용어 "아미노카르보닐알케닐"은 상기 정의된 "알케닐"의 하나 이상의 수소가 상기 정의된 “아미노카르보닐”로 치환된 기를 의미하며, 바람직하게는 아미노카르보닐-$C_2$-$C_6$ 알케닐이다. 아미노카르보닐알케닐의 구체적인 예는 (E)-3-(디메틸아미노카르보닐)-프로프-2-엔-1-일을 포함한다.

[0735] 본원에서 사용되는 용어 "할로알콕시"는 상기 정의된 "알콕시"의 하나 이상의 수소가 할로겐으로 치환된 기를 의미하며, 바람직하게는 $C_1$-$C_6$ 할로알콕시이다. 할로알콕시의 구체적인 예는 디플루오로메톡시, 트리플루오로메톡시, 2,2-디플루오로에톡시, 및 2,2,2-트리플루오로에톡시를 포함한다.

[0736] 본원에서 사용되는 용어 "알킬렌"은 임의의 1개의 수소 원자를 추가로 제거하여 상술한 "알킬"로부터 유래된 2가의 기를 의미하며, 바람직하게는 $C_4$-$C_8$ 알킬렌이다. 알킬렌의 구체적인 예는 $-CH_2-$, $-(CH_2)_2-$, $-(CH_2)_3-$, $-CH(CH_3)CH_2-$, $-C(CH_3)_2-$, $-(CH_2)_4-$, $-CH(CH_3)CH_2CH_2-$, $-C(CH_3)_2CH_2-$, $-CH_2CH(CH_3)CH_2-$, $-CH_2C(CH_3)_2-$, $-CH_2CH_2CH(CH_3)-$, $-(CH_2)_5-$, $-(CH_2)_6-$, $-(CH_2)_7-$, 및 $-(CH_2)_8-$을 포함한다.

[0737] 본원에서 사용된 용어 "지환족 고리"는 비방향족 탄화수소 고리를 의미한다. 지환족 고리는 고리 내에 불포화 결합을 가질 수 있으며, 두 개 이상의 고리를 갖는 다환 고리일 수 있다. 고리를 구성하는 탄소 원자는 산화를

통해 카르보닐을 형성할 수 있다. 지환족 고리는 바람직하게는 3- 내지 8-원 지환족 고리이다. 이의 구체적인 예는 시클로프로판 고리, 시클로부탄 고리, 시클로펜탄 고리, 시클로헥산 고리, 시클로헵탄 고리, 시클로옥탄 고리, 및 비시클로[2.2.1]헵탄 고리를 포함한다.

[0738] 본원에서 사용된 용어 "포화 헤테로시클릭 고리"는 고리 내에 이중 결합 및/또는 삼중 결합을 함유하지 않고 탄소 원자 이외에 1 내지 5개의 헤테로원자를 함유하는 비방향족 헤테로사이클을 의미한다. 포화된 헤테로사이클은 단환 고리일 수도 있고, 다른 고리, 예를 들어, 방향족 고리, 예컨대 벤젠 고리와 축합 고리를 형성할 수 있다. 포화된 헤테로시클릭 고리는 바람직하게는 4 내지 7원 포화 헤테로시클릭 고리이다. 구체적인 예는 아제티딘 고리, 옥세탄 고리, 테트라히드로퓨란 고리, 테트라히드로피란 고리, 모르폴린 고리, 티오모르폴린 고리, 피롤리딘 고리, 4-옥소피롤리딘 고리, 피페리딘 고리, 4-옥소피페리딘 고리, 피페라진 고리, 피라졸리딘 고리, 이미다졸리딘 고리, 옥사졸리딘 고리, 이소옥사졸리딘 고리, 티아졸리딘 고리, 이소티아졸리딘 고리, 티아디아졸리딘 고리, 옥사졸리돈 고리, 디옥솔란 고리, 디옥산 고리, 티에탄 고리, 옥타히드로인돌 고리, 및 인돌 고리를 포함한다.

[0739] 본원에서 사용된 용어 "선택적으로 치환된"은 임의의 치환기로 치환될 수 있는 기를 의미한다.

[0740] 본원에서 사용된 용어 "선택적으로 치환된"은 임의의 보호기로 보호될 수 있는 기를 의미한다.

[0741] 본원에서 사용된 용어 "하나 이상의"는 1 또는 2 또는 더 큰 숫자를 의미한다. 용어 "하나 이상의"가 기의 치환기와 관련된 맥락에서 사용되는 경우, 상기 용어는 1 내지 기에 의해 허용되는 치환기의 최대 수의 수를 의미한다. 용어 "하나 이상의"의 구체적인 예는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 및/또는 더 큰 숫자를 포함한다.

[0742] 본원에서 사용되는 용어 "펩티드 화합물(또는 펩티드)"는 2개 이상의 아미노산이 아미드 결합으로 연결된 화합물을 의미한다. 주쇄의 일부에 에스테르 결합을 갖는 펩티드 화합물, 예컨대 뎁시펩티드(depsipeptide)가 또한 본원에서 용어 펩티드 화합물(또는 펩티드)에 포함된다. 펩티드 화합물 내 아미노산 잔기의 수는 특히 제한되지 않지만, 바람직하게는 5 내지 30개의 잔기, 더 바람직하게는 8 내지 15개의 잔기, 보다 더 바람직하게는 9 내지 13개의 잔기이다. 본 발명에서 합성된 펩티드 화합물은 1개의 펩티드 내에 바람직하게는 적어도 3개의 N-치환 아미노산, 더 바람직하게는 적어도 5개의 N-치환 아미노산을 함유한다. 이러한 N-치환 아미노산은 펩티드 화합물 내에 연속적으로 또는 불연속적으로 존재할 수 있다. 본 발명에 따른 펩티드 화합물은 선형 또는 고리형일 수 있으며, 바람직하게는 고리형 펩티드 화합물이다. 펩티드 화합물에 함유된 잔기의 수는 바람직하게는 5 내지 30개의 잔기, 더 바람직하게는 8 내지 15개의 잔기, 보다 더 바람직하게는 9 내지 13개의 잔기이다. 펩티드 화합물은 1개의 펩티드 화합물 내에 바람직하게는 적어도 3개의 N-치환 아미노산, 더 바람직하게는 적어도 5개의 N-치환 아미노산을 함유한다. 이러한 N-치환 아미노산은 펩티드 화합물 내에 연속적으로 또는 불연속적으로 존재할 수 있다. 본 발명에 따른 펩티드 화합물은 선형 또는 고리형일 수 있으며, 바람직하게는 고리형 펩티드 화합물이다.

[0743] 본원에서 사용된 "선형 펩티드 화합물"은 아미노산이 아미드 결합에 의해 선형으로 연결된 펩티드 화합물을 의미한다. 주쇄의 일부에 에스테르 결합을 갖고 아미노산이 선형으로 연결된 펩티드 화합물, 예컨대 뎁시펩티드가 또한 본원의 선형 펩티드 화합물 내에 포함된다. 선형 펩티드 화합물은 N-말단 아미노산 잔기에 보호기로 보호될 수 있는 아미노기 및 C-말단 아미노산 잔기에 보호기로 보호될 수 있는 카르복실기를 갖는다.

[0744] 본원에서 사용되는 용어 "고리형 펩티드 화합물"은 4개 이상의 아미노산 잔기로 이루어진 고리형 구조를 갖는 펩티드 화합물을 의미한다. 고리형 펩티드 화합물의 고리형 구조는 아미드 결합 이외의 결합, 예를 들어, 에스테르 결합, 에테르 결합, 티오에테르 결합, 또는 탄소-탄소 결합을 함유할 수 있다. 고리형 펩티드 화합물은 고리형 구조 이외에 고리형 구조에 함유되지 않는 아미노산 또는 사슬 펩티드 구조를 가질 수 있다. 이는 아미노산 및 사슬 펩티드 구조 이외의 다른 구조도 가질 수 있다. 이들 중에서도 아미드 결합, 티오에테르 결합 또는 탄소-탄소 결합과 같은 공유 결합이 바람직하고, 아미드 결합이 특히 바람직하다. 고리형 펩티드 화합물의 카르복실기 및 아미노기의 위치는 주쇄 또는 측쇄 상에 있을 수 있다.

[0745] 펩티드 화합물의 용어 "고리화"는 4개 이상의 아미노산 잔기를 함유하는 고리형 부분의 형성을 의미한다. 고리형 펩티드 화합물의 고리형 부분에 함유된 아미노산의 수는 본원에서 특히 제한되지는 않지만, 이의 예는 4-20개 잔기, 5-18개 잔기, 6-17개 잔기, 7-16개 잔기, 9-15개 잔기, 10-15개 잔기, 및 11-14개 잔기를 포함한다. 선형 펩티드 화합물의 시클릭 펩티드 화합물로의 전환은 Comprehensive Organic Transformations, A Guide to Functional Group Preparations, 3rd Edition (by R. C. Larock) 또는 March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, 7th Edition (by M. B. Smith, J. March) 등에 기재된 방

법들에 의해 또는 분자 내 결합 형성 반응을 수행함으로써 실시할 수 있다. 상기 결합 형성 반응 후 작용기 전환 반응이 또한 실시될 수 있다. 결합 형성 반응의 예는 카르복실산 및 아민으로부터 형성된 C(O)-N 결합, 산소 원자를 통한 C-O-C 결합, C(O)-O 결합, 및 C(S)-O 결합, 황 원자를 통한 C(O)-S 결합, C(S)-S 결합, C-S-S-C 결합, C-S-C 결합, C-S(O)-C 결합, 및 C-S(O2)-C 결합, 및 질소 원자를 통한 C-N-C 결합, C=N-C 결합, N-C(O)-N 결합, N-C(S)N 결합, 및 C(S)-N 결합을 포함한다. 이의 추가적인 예는 전이 금속에 의해 촉매되는 C-C 결합 형성 반응, 예컨대 스즈키 반응, 헥크 반응, 및 소노가시라 반응을 포함한다. 상기 결합 형성 반응 후에 추가로 실시되는 작용기 전환 반응의 예는 산화반응 또는 환원반응을 포함한다. 이의 구체적인 예는 황 원자가 산화되어 술폭사이드기 또는 술폰기로 전환되는 반응을 포함한다. 이의 다른 예는 탄소-탄소 결합 중에서 삼중 결합 또는 이중 결합이 환원되어 이중 결합 또는 단일 결합으로 전환되는 환원 반응을 포함한다. 아미노산 주쇄에 2개의 아미노산이 결합함으로써 펩티드 결합에 의해 닫힌 고리 구조를 형성하거나, 또는 2개의 아미노산의 측쇄 사이에 또는 측쇄와 주쇄 사이의 결합을 통해 2개의 아미노산 사이에 공유 결합을 형성할 수 있다.

[0746] 본원에서 사용된 용어 "아미노산"은 천연 아미노산 및 비천연 아미노산을 포함한다. 본원에서 사용된 용어 "아미노산"은 아미노산 잔기를 의미할 수 있다. 본원에서 사용된 용어 "천연 아미노산"은 Gly, Ala, Ser, Thr, Val, Leu, Ile, Phe, Tyr, Trp, His, Glu, Asp, Gln, Asn, Cys, Met, Lys, Arg, 및 Pro를 지칭한다. 비천연 아미노산의 예는 β-아미노산, D-형 아미노산, N-치환 아미노산(Pro 제외), α,α-이치환 아미노산, 천연 아미노산과 상이한 측쇄를 갖는 아미노산, 및 히드록시카르복실산을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 본원에서 사용된 아미노산은 임의의 입체형태를 수용한다. 아미노산의 측쇄에 대한 선택에는 구체적인 제한은 없으나, 측쇄는 수소 원자 이외에, 예를 들어 알킬기, 알케닐기, 알키닐기, 아릴기, 헤테로아릴기, 아랄킬기, 헤테로아랄킬기, 시클로알킬기, 스피로-결합된 시클로알킬기 중에서 자유롭게 선택된다. 측쇄의 각각은 치환기를 가질 수 있다. 치환기는 제한되지 않으며, 예를 들어 할로겐 원자, O 원자, S 원자, N 원자, B 원자, Si 원자 또는 P 원자를 포함하는 임의의 치환기에서 자유롭게 선택되는 하나 또는 둘 이상일 수 있다. 즉, 측쇄의 예는 치환될 수 있는 알킬기, 알콕시기, 알콕시알킬기, 알케닐기, 알키닐기, 아릴기, 헤테로아릴기, 아랄킬기 및 시클로알킬기, 또는 옥소, 아미노카르보닐 및 할로겐 원자를 포함한다.

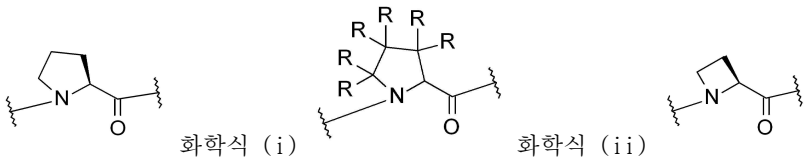
[0747] 본원에서 사용된 바와 같이, 펩티드 화합물을 구성하는 "아미노산 잔기"는 때때로 단순히 "아미노산"으로 지칭된다.

[0748] 본원에서 사용된 용어 "N-말단 아미노산 잔기"는 펩티드의 N-말단에 위치하는 아미노산 잔기를 의미한다. 본원에서 사용된 용어 "C-말단 아미노산 잔기"는 펩티드의 C-말단에 위치하는 아미노산 잔기를 의미한다.

[0749] 본원에서 사용된 "비천연 아미노산 잔기"는 천연 아미노산 잔기와 상이한 구조를 갖는 아미노산 잔기를 의미한다. 비천연 아미노산의 예는 β-아미노산 잔기, D형 아미노산 잔기, N-치환 아미노산 잔기(Pro 제외), α,α-이치환 아미노산 잔기, 천연 아미노산과 상이한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기를 포함한다. 본원에서 사용된 "N-치환 비천연 아미노산 잔기"는 비천연 아미노산 잔기의 주쇄의 아미노기의 질소 상의 수소가 다른 원자 또는 작용기로 치환된 아미노산 잔기를 의미한다. 천연 아미노산의 주쇄에서 아미노기의 질소 상의 수소가 다른 원자 또는 작용기(Pro 제외)로 치환되어 있는 아미노산 잔기, 그리고 측쇄의 천연 아미노산과 상이한 구조를 갖고, 주쇄의 아미노기의 질소 상의 수소가 다른 원자 또는 작용기로 치환되어 있는 아미노산 잔기는 N-치환 비천연 아미노산 잔기에 해당한다. N-치환 비천연 아미노산 잔기의 예는 N-메틸글리신(MeGly) 잔기, N-메틸알라닌(MeAla) 잔기, 및 N-메틸호모페닐알라닌(MeHph) 잔기를 포함한다.

[0750] 본원에서 사용된 용어 “고리형 아미노산 잔기”는 아미노산 잔기의 아미노기의 질소 원자 및 측쇄의 임의의 원자가 함께 고리를 형성하는 고리형 구조를 갖는 아미노산 잔기를 의미한다. 고리형 아미노산 잔기의 예는 Pro 잔기(화학식 (i)), 프롤린 유도체 잔기(화학식 (ii)), 및 Aze(2) 잔기(화학식 (iii))를 포함한다:

[0751] [화학식 24]

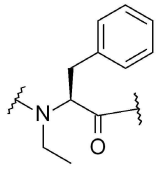
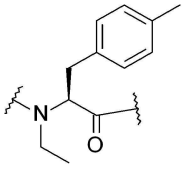
[0752] 

화학식 (i) 화학식 (ii) (화학식 (iii)

[0753] 화학식 (ii)에서, Rs는 각각 독립적으로 임의의 치환기를 나타내며, 예를 들어 알킬, 히드록시, 알콕시, 아미노, 알킬아미노 등일 수 있다.

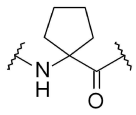
[0754] 본원에서 사용된 "N-치환 페닐알라닌 잔기"는 페닐알라닌 잔기의 아미노기의 질소 상의 수소가 다른 원자 또는 작용기로 치환된 페닐알라닌 잔기를 의미한다. 본원에서 사용된 "N-치환 페닐알라닌 유도체 잔기"는 페닐알라닌 잔기의 아미노기의 질소 상의 수소가 다른 원자 또는 작용기로 치환되고, 페닐알라닌 잔기의 페닐기 상의 수소가 다른 원자 또는 치환기로 치환된 아미노산 잔기를 의미한다. 이러한 치환기의 예는 알킬, 할로겐, 할로겐으로 치환된 알킬, 히드록시, 알콕시, 아미노 및 알킬아미노를 포함한다. N-치환 페닐알라닌 잔기의 예는 N-치환 페닐알라닌 잔기의 아미노기의 질소 상의 치환기가 알킬인 N-알킬페닐알라닌 잔기를 포함한다. N-알킬페닐알라닌 잔기의 예는 EtPhe 잔기(화학식 (v))를 포함한다. N-치환 페닐알라닌 유도체 잔기의 예는 N-치환 페닐알라닌 유도체 잔기의 아미노기의 질소 상의 치환기가 알킬인 N-알킬페닐알라닌 유도체 잔기를 포함한다. N-알킬페닐알라닌 유도체 잔기의 예는 EtPhe 유도체 잔기를 포함하고, EtPhe 유도체 잔기의 예는 EtPhe(4-Me) 잔기(화학식 (vi))를 포함한다.

[0755] [화학식 25]

[0756]  (화학식 (v))  (화학식 (vi))

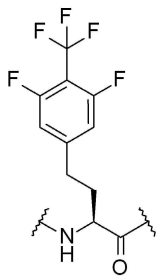
[0757] 본원에서 사용되는 용어 "α,α-이치환 아미노산 잔기"는 α-탄소 상의 2개의 수소가 수소 이외의 다른 원자 및/또는 작용기로 모두 치환된 아미노산 잔기를 의미한다. α,α-이치환 아미노산 잔기의 예는, 위치 α에 존재하는 2개의 기가 연결되어 지환족 고리를 형성하는, α,α-디메틸아미노산 잔기 및 cLeu 잔기(화학식 (vii))와 같은 α,α-디알킬아미노산 잔기를 포함한다.

[0758] [화학식 26]

[0759]  (화학식 (vii))

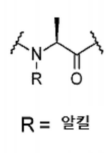
[0760] 본원에서 사용된 용어 "호모페닐알라닌 잔기"는 아미노산이 호모페닐알라닌인 아미노산 잔기를 의미하고, "호모페닐알라닌 유도체 잔기"는 호모페닐알라닌 잔기의 페닐기 상의 수소가 다른 원자 또는 치환기로 치환된 아미노산 잔기를 의미한다. 이러한 치환기의 예는 알킬, 할로겐, 할로겐으로 치환된 알킬, 히드록시, 알콕시, 아미노 및 알킬아미노를 포함한다. 호모페닐알라닌 유도체 잔기의 예는 Hph(3,5-diF-4-$CF_3$) 잔기(화학식 (viii))를 포함한다.

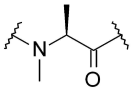
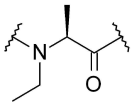
[0761] [화학식 27]

[0762]  (화학식 (viii))

[0763] 본원에서 사용된 "N-치환 Ala 잔기"는 알라닌 잔기의 아미노기의 질소 상의 수소가 다른 원자 또는 작용기로 치환된 알라닌 잔기를 의미한다. N-치환 Ala 잔기의 예는 N-치환 알라닌 잔기의 아미노기의 질소 상의 치환기가 알킬인 N-알킬Ala 잔기(화학식 (ix))를 포함한다. N-알킬Ala 잔기의 예는 바람직하게는 $C_1$-$C_{10}$ 알킬Ala 잔기, 더 바람직하게는 $C_1$-$C_6$ 알킬Ala 잔기, 예컨대 MeAla 잔기 (화학식 (x)) 또는 EtAla 잔기 (화학식 (xi))를 포함한다.

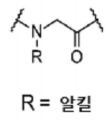
[0764] [화학식 28]

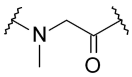
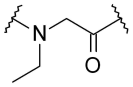
[0765] 

(화학식 (ix))  (화학식 (x))  (화학식 (xi))

[0766] 본원에서 사용된 "N-치환 Gly 잔기"는 글리신 잔기의 아미노기의 질소 상의 수소가 다른 원자 또는 작용기로 치환된 글리신 잔기를 의미한다. N-치환 Gly 잔기의 예는 N-치환 글리신 잔기의 아미노기의 질소 상의 치환기가 알킬인 N-알킬Gly 잔기(화학식 (xii))를 포함한다. N-알킬Gly 잔기의 예는 바람직하게는 $C_1$-$C_{10}$ 알킬Gly 잔기, 더 바람직하게는 $C_1$-$C_6$ 알킬Gly 잔기, 예컨대 MeGly 잔기 (화학식 (xiii)) 또는 EtGly 잔기 (화학식 (xiv))를 포함한다.

[0767] [화학식 29]

[0768] 

(화학식 (xii))  (화학식 (xiii))  (화학식 (xiv))

[0769] 본원에서 사용된 "아미노산의 측쇄"는 α-아미노산인 경우 아미노기와 카르복실기가 결합된 탄소(α-탄소)에 결합된 원자단을 의미한다. 예를 들어, Ala의 메틸기는 아미노산의 측쇄이다. β-아미노산의 경우, α-탄소 및/또는 β-탄소에 부착된 원자기는 아미노산의 측쇄일 수 있고, γ-아미노산의 경우, α-탄소, β-탄소, 및/또는 γ-탄소에 부착된 원자기는 아미노산의 측쇄일 수 있다. α-아미노산, β-아미노산, 및 γ-아미노산에서의 α-탄소는 아미노산의 주쇄에서 카르복실기에 인접한 제1(위치 α) 탄소를 지칭한다는 점에 유의한다. 추가로, α-탄소 옆의 탄소(카르복실기로부터 제2(위치 β에서))를 β-탄소라고 하고, β-탄소 옆의 탄소(카르복실기로부터 제3(위치 γ))를 γ-탄소라고 한다.

[0770] 본원에서 사용하는 용어 아미노산의 주쇄"는, α-아미노산의 경우에는 아미노기, α-탄소 및 카르복실기에 의해 형성되는 분지부,β-아미노산의 경우에는 아미노기, β-탄소, α-탄소 및 카르복실기에 의해 형성되는 분지부, γ-아미노산의 경우에는 아미노기, γ-탄소,β-탄소, α-카본 및 카르복실기에 의해 형성되는 분지부를 의미한다.

[0771] 아미노산의 주쇄의 아미노기는 비치환(-$NH_2$) 또는 치환(즉, -NHR)될 수 있다. R은 선택적으로 치환기를 갖는 알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴, 헤테로아릴, 아르알킬 또는 시클로알킬을 나타내거나, 또는 N 원자에 결합된 탄소 사슬 및 위치 α에서 탄소 원자는 프롤린에서와 같이 고리를 형성할 수 있다. 주쇄 상의 아미노기가 치환된 이러한 아미노산은 때때로 본원에서 "N-치환 아미노산" 또는 "N-치환 아미노산 잔기"로 지칭되기도 한다. 본원에서 사용되는 "N-치환 아미노산" 또는 "N-치환 아미노산 잔기"의 예는 바람직하게는 N-알킬아미노산, N-$C_1$-$C_6$ 알킬아미노산, N-$C_1$-$C_4$ 알킬아미노산, N-메틸아미노산, N-에틸아미노산, N-$C_7$-$C_{14}$ 아랄킬아미노산, N-벤질아미노산, N-페네틸아미노산, 프롤린, 및 Aze(2)를 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0772] 본원에서 사용되는 용어 "아미노산의 수(아미노산 번호)" 또는 "아미노산 잔기의 수(아미노산 잔기 번호)"는 펩티드 화합물을 구성하는 아미노산 잔기(아미노산 단위)의 수를 의미하며, 아미드 결합, 에스테르 결합, 및 아미노산을 연결하는 고리화된 부분의 결합이 절단되면서 생성되는 아미노산 단위의 수를 의미한다.

[0773] 펩티드 화합물을 구성하는 본원에서 사용된 "아미노산"은 각각에 상응하는 모든 동위원소를 포함한다. 해당 "아미노산"의 동위 원소는 적어도 하나의 원자가 원자 번호(양성자 수)는 동일하고 자연적 존재비와 상이한 존재비의 상이한 질량수(양성자와 중성자의 총 수)를 가지는 원자로 치환된 형태이다. 본원의 펩티드 화합물을 형성하는 "아미노산" 내에 포함된 동위원소의 예는 수소 원자, 탄소 원자, 질소 원자, 산소 원자, 인 원자, 황 원자, 플루오린 원자, 염소 원자 등을 포함하고, 이들은 각각 $^{2}H$, $^{3}H$; $^{13}C$, $^{14}C$; $^{15}N$; $^{17}O$, $^{18}O$; $^{31}P$, $^{32}P$; $^{35}S$; $^{18}F$; $^{36}Cl$; 등을 포함한다. 본원에서 사용된 화합물의 경우, 임의의 비율의 방사성 또는 비-방사성 동위원소 원소를 함유하는 모든 화합물이 본 발명의 범위 내에 포함된다.

[0774] 본원에서 할로겐 원자를 함유하는 치환기의 예는 치환기로서 할로겐을 갖는 알킬기, 시클로알킬기, 알케닐기, 알키닐기, 아릴기, 헤테로아릴기 및 아랄킬기를 포함하고, 더 구체적으로 플루오로알킬, 디플루오로알킬 및 트

리플루오로알킬을 포함한다.

[0775] 산소 원자를 함유하는 치환기의 예는 히드록시(-OH), 옥시(-OR), 카르보닐(-C=O-R), 카르복시(-$CO_2H$), 옥시카르보닐(-C=O-OR), 카르보닐옥시(-O-C=O-R), 티오카르보닐(-C=O-SR), 카르보닐티오(-S-C=O-R), 아미노카르보닐(-C=O-NHR), 카르보닐아미노(-NH-C=O-R), 옥시카르보닐아미노(-NH-C=O-OR), 설포닐아미노(-NH-$SO_2$-R), 아미노설포닐(-$SO_2$-NHR), 설파모일아미노(-NH-$SO_2$-NHR), 티오카르복실(-C(=O)-SH) 및 카르복실카르보닐(-C(=O)-$CO_2H$) 기들을 포함한다.

[0776] 옥시(-OR)의 예는 알콕시, 시클로알콕시, 알케닐옥시, 알키닐옥시, 아릴옥시, 헤테로아릴옥시 및 아랄킬옥시를 포함한다. 알콕시는 바람직하게는 $C_1$-$C_4$ 알콕시 또는 $C_1$-$C_2$ 알콕시, 특히 바람직하게는 메톡시 또는 에톡시이다.

[0777] 카르보닐(-C=O-R)의 예는 포르밀(-C=O-H), 알킬카르보닐, 시클로알킬카르보닐, 알케닐카르보닐, 알키닐카르보닐, 아릴카르보닐, 헤테로아릴카르보닐 및 아랄킬카르보닐을 포함한다.

[0778] 옥시카르보닐(-C=O-OR)의 예는 알킬옥시카르보닐, 시클로알킬옥시카르보닐, 알케닐옥시카르보닐, 알키닐옥시카르보닐, 아릴옥시카르보닐, 헤테로아릴옥시카르보닐 및 아랄킬옥시카르보닐을 포함한다.

[0779] 카르보닐옥시(-O-C=O-R)의 예는 알킬카르보닐옥시, 시클로알킬카르보닐옥시, 알케닐카르보닐옥시, 알키닐카르보닐옥시, 아릴카르보닐옥시, 헤테로아릴카르보닐옥시 및 아랄킬카르보닐옥시를 포함한다.

[0780] 티오카르보닐(-C=O-SR)의 예는 알킬티오카르보닐, 시클로알킬티오카르보닐, 알케닐티오카르보닐, 알키닐티오카르보닐, 아릴티오카르보닐, 헤테로아릴티오카르보닐 및 아랄킬티오카르보닐을 포함한다.

[0781] 카르보닐티오(-S-C=O-R)의 예는 알킬카르보닐티오, 시클로알킬카르보닐티오, 알케닐카르보닐티오, 알키닐카르보닐티오, 아릴카르보닐티오, 헤테로아릴카르보닐티오 및 아랄킬카르보닐티오를 포함한다.

[0782] 아미노카르보닐(-C=O-NHR)의 예는 알킬아미노카르보닐(예를 들어 $C_1$-$C_6$ 또는 $C_1$-$C_4$ 알킬아미노카르보닐, 특히 에틸아미노카르보닐 및 메틸아미노카르보닐), 시클로알킬아미노카르보닐, 알케닐아미노카르보닐, 알키닐아미노카르보닐, 아릴아미노카르보닐, 헤테로아릴아미노카르보닐 및 아랄킬아미노카르보닐을 포함한다. 이의 예는 -C=O-NHR에서 N 원자에 결합된 H 원자가 알킬, 시클로알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴, 헤테로아릴 또는 아랄킬로 추가로 치화된 기를 추가로 포함한다.

[0783] 카르보닐아미노(-NH-C=O-R)의 예는 알킬카르보닐아미노, 시클로알킬카르보닐아미노, 알케닐카르보닐아미노, 알키닐카르보닐아미노, 아릴카르보닐아미노, 헤테로아릴카르보닐아미노 및 아랄킬카르보닐아미노를 포함한다. 이의 추가적인 예는 -NH-C=O-R에서 N 원자에 결합된 H 원자가 알킬, 시클로알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴, 헤테로아릴 또는 아랄킬로 추가로 치환된 기를 포함한다.

[0784] 옥시카르보닐아미노(-NH-C=O-OR)의 예는 알콕시카르보닐아미노, 시클로알콕시카르보닐아미노, 알케닐옥시카르보닐아미노, 알키닐옥시카르보닐아미노, 아릴옥시카르보닐아미노, 헤테로아릴옥시카르보닐아미노 및 아랄킬옥시카르보닐아미노를 포함한다. 이의 추가적인 예는 -NH-C=O-OR에서 N 원자에 결합된 H 원자가 알킬, 시클로알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴, 헤테로아릴 또는 아랄킬로 추가로 치환된 기를 포함한다.

[0785] 설포닐아미노(-NH-$SO_2$-R)의 예는 알킬설포닐아미노, 시클로알킬설포닐아미노, 알케닐설포닐아미노, 알키닐설포닐아미노, 아릴설포닐아미노, 헤테로아릴설포닐아미노 및 아랄킬설포닐아미노를 포함한다. 이의 추가적인 예는 -NH-$SO_2$-R에서 N 원자에 결합된 H 원자가 알킬, 시클로알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴, 헤테로아릴 또는 아랄킬로 추가로 치환된 기를 포함한다.

[0786] 아미노설포닐(-$SO_2$-NHR)의 예는 알킬아미노설포닐, 시클로알킬아미노설포닐, 알케닐아미노설포닐, 알키닐아미노설포닐, 아릴아미노설포닐, 헤테로아릴아미노설포닐 및 아랄킬아미노설포닐을 포함한다. 이의 추가적인 예는 -$SO_2$-NHR에서 N 원자에 결합된 H 원자가 알킬, 시클로알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴, 헤테로아릴 또는 아랄킬로 추가로 치환된 기를 포함한다.

[0787] 설파모일아미노(-NH-$SO_2$-NHR)의 예는 알킬설파모일아미노, 시클로알킬설파모일아미노, 알케닐설파모일아미노, 알키닐설파모일아미노, 아릴설파모일아미노, 헤테로아릴설파모일아미노 및 아랄킬설파모일아미노를 포함한다. -NH-$SO_2$-NHR에서 N 원자에 결합된 두 개의 H 원자는 알킬, 시클로알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴, 헤테로아릴 및

아랄킬로 구성된 군에서 각각 독립적으로 선택된 치환기에 의해 치환될 수 있으며, 이들 두 개의 치환기는 고리를 형성할 수 있다.

[0788] S 원자를 함유하는 치환기의 예는 티올(-SH), 티오(-S-R), 설피닐(-S=O-R), 설포닐($-SO_2-R$) 및 설포($-SO_3H$)와 같은 기를 포함한다.

[0789] 선택될 수 있는 티오(-S-R)의 예는 알킬티오, 시클로알킬티오, 알케닐티오, 알키닐티오, 아릴티오, 헤테로아릴티오 및 아랄킬티오를 포함한다.

[0790] 설포닐($-SO_2-R$)의 예는 알킬설포닐, 시클로알킬설포닐, 알케닐설포닐, 알키닐설포닐, 아릴설포닐, 헤테로아릴설포닐 및 아랄킬설포닐을 포함한다.

[0791] N 원자를 함유하는 치환기의 예는 아지드($-N_3$; "아지드기"로도 지칭됨), 시아노(-CN), 1차 아미노($-NH_2$), 2차 아미노(-NH-R; 일치환 아미노로도 지칭됨), 3차 아미노(-NR(R'); 이치환 아미노로도 지칭됨), 아미디노($-C(=NH)-NH_2$), 치환된 아미디노(-C(=NR)-NR'R"), 구아니디노($-NH-C(=NH)-NH_2$), 치환된 구아니디노(-NR-C(=NR''')-NR'R"), 아미노카르보닐아미노(-NR-CO-NR'R"), 피리딜, 피페리디노, 모르폴리노 및 아제티디닐과 같은 기를 포함한다.

[0792] 2차 아미노(-NH-R: 일치환 아미노)의 예는 알킬아미노, 시클로알킬아미노, 알케닐아미노, 알키닐아미노, 아릴아미노, 헤테로아릴아미노 및 아랄킬아미노를 포함한다.

[0793] 3차 아미노(-NR(R'): 이치환 아미노)의 예는 알킬, 시클로알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴, 헤테로아릴 및 아랄킬 중에서 각각 독립적으로 선택된 임의의 두 개의 치환기를 갖는 아미노기, 예를 들어 알킬(아랄킬)아미노를 포함한다. 이들 임의의 두 개의 치환기는 고리를 형성할 수 있다. 이의 구체적인 예는 디알킬아미노, 특히 $C_1-C_6$ 디알킬아미노, $C_1-C_4$ 디알킬아미노, 디메틸아미노 및 디에틸아미노를 포함한다. 본원에서 사용된 용어 "$C_p-C_q$ 디알킬아미노기"는 아미노기가 두 개의 $C_p-C_q$ 알킬기로 치환된 기를 말한다. $C_p-C_q$ 알킬기는 동일하거나 상이할 수 있다.

[0794] 치환된 아미디노(-C(=NR)-NR'R")의 예는 N 원자 상의 세 개의 치환기 R, R' 및 R"이 알킬, 시클로알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴, 헤테로아릴 및 아랄킬 중에서 각각 독립적으로 선택된 기, 예를 들어 알킬(아랄킬)(아릴)아미디노를 포함한다.

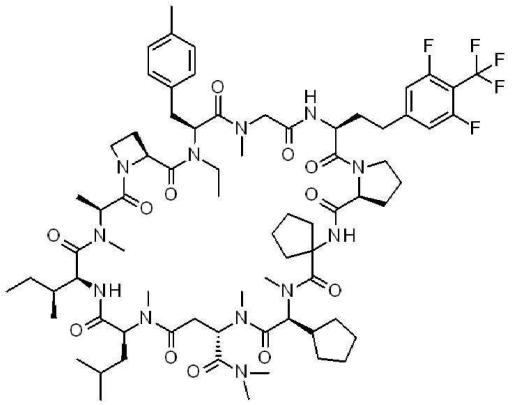
[0795] 치환된 구아니디노(-NR-C(=NR''')-NR'R")의 예는 R, R', R" 및 R'''이 알킬, 시클로알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴, 헤테로아릴 및 아랄킬 중에서 각각 독립적으로 선택된 기 및 이들 치환기가 고리를 형성하는 기를 포함한다.

[0796] 아미노카르보닐아미노(-NR-CO-NR'R")의 예는 R, R' 및 R"이 수소 원자, 알킬, 시클로알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴, 헤테로아릴 및 아랄킬 중에서 각각 독립적으로 선택된 기 및 이들 치환기가 고리를 형성하는 기를 포함한다.

[0797] 본 발명에 따른 화합물은 이의 염일 수 있으며, 바람직하게는 화학적 또는 약학적으로 허용가능한 염일 수 있다. 본 발명에 따른 화합물 또는 이의 염은 이의 용매화물일 수 있으며, 바람직하게는 화학적 또는 약학적으로 허용가능한 용매화물일 수 있다. 본 발명에 따른 화합물의 염의 예는 염산염; 브롬화수소산염; 요오드화수소산염; 인산염; 포스포네이트; 황산염; 메탄설포네이트 및 p-톨루엔설포네이트와 같은 설폰산염; 아세트산염, 구연산염, 사과산염, 타르트레이트, 석신산염 및 살리실산염과 같은 카르복실산염; 나트륨염 및 칼륨염과 같은 알칼리 금속염; 마그네슘염 및 칼슘염과 같은 알칼리 토금속염; 및 암모늄염, 알킬암모늄염, 디알킬암모늄염, 트리알킬암모늄염 및 테트라알킬암모늄염과 같은 암모늄염을 포함한다. 이들 염은, 예를 들어 화합물을 약제의 생산에 사용될 수 있는 산 또는 염기와 접촉시켜 생성된다. 본 발명에서, 화합물의 용매화물은, 상기 화합물이 용매와 함께 형성한 분자기를 의미하고, 약물의 투여와 함께 병용하여 복용하는 것이 허용되는 용매와 함께 형성한 용매화물이면 특별히 제한되지 않는다. 용매가 물인 경우, 용매화물은 수화물로 지칭된다. 본 발명에 따른 화합물의 용매화물의 예는 바람직하게는 수화물이며, 수화물의 구체적인 예는 1 내지 10수화물, 바람직하게는 1 내지 5수화물, 더 바람직하게는 1 내지 3수화물을 포함한다. 본 발명에 따른 화합물의 용매화물은 물, 알코올(예를 들어, 메탄올, 에탄올, 1-프로판올 또는 2-프로판올), 또는 디메틸포름아마이드와 같은 단일 용매를 이용한 용매화물뿐만 아니라, 복수의 용매를 이용한 용매화물도 포함한다.

[0798] 본 발명에 따른 화합물이 유리 형태로서 수득되면, 화합물을 이의 수화물 또는 이의 용매화물의 상태로 통상적으로 변환시킬 수 있다. 본 발명에 따른 화합물이 유리 형태로 수득되는 경우, 상기 화합물에 의해 형성될 수 있는 염, 이의 수화물 또는 이의 용매화물 상태로 통상적으로 변형될 수 있다. 이의 예는 화학식 (2)로 표시되는 화합물 또는 이의 염의 수화물 및 에탄올레이트를 포함한다. 이의 구체적인 예는 화학식 (2)로 표시되는 화합물의 헤미하이드레이트, 모노하이드레이트, 디하이드레이트, 트리하이드레이트, 테트라하이드레이트, 펜타하이드레이트, 헥사하이드레이트, 헵타하이드레이트, 옥타하이드레이트, 노나하이드레이트, 데카하이드레이트, 또는 모노에타놀레이트; 화학식 (2)로 표시되는 화합물의 나트륨염의 헤미하이드레이트, 모노하이드레이트, 디하이드레이트, 트리하이드레이트, 테트라하이드레이트, 펜타하이드레이트, 헥사하이드레이트, 헵타하이드레이트, 옥타하이드레이트, 노나하이드레이트, 데카하이드레이트, 또는 모노에타놀레이트; 또는 화학식 (2)로 표시되는 화합물의 염산염의 하이드레이트 또는 에타놀레이트를 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 상기 수화물 또는 용매화물은 결정질 형태 또는 비결정질 형태로 생성될 수 있다. 결정질 형태인 경우, 상기 수화물 또는 용매화물은 결정질 다형체를 가질 수 있다. 상기 수화물 또는 용매화물의 생성 방법의 경우, 통상의 방법에 의해, 예를 들어 화학식 (2)로 표시되는 화합물 또는 본원에 기재된 펩티드 화합물에 에탄올 및/또는 물과 같은 용매를 첨가한 후, 교반, 냉각, 농축 및/또는 건조함으로써 수득할 수 있다.

[0799] [화학식 30]



[0800] (2)

[0801] 본 발명에 따른 화합물이 화합물의 염, 수화물 또는 용매화물로서 수득되는 경우, 상기 화합물은 통상적으로 이의 유리 형태로 변형될 수 있다.

[0802] 본원에서 사용된 용어 "및/또는"의 의미는 "및" 그리고 "또는"이 적절하게 조합된 임의의 조합을 포함한다. 구체적으로, 예를 들어, 용어 "A, B 및/또는 C"는 다음의 일곱 가지 변형을 포함한다:

[0803] (i) A, (ii) B, (iii) C, (iv) A 및 B, (v) A 및 C, (vi) B 및 C, 및 (vii) A, B 및 C.

[0804] 본원에서 사용된 용어 "고리형 펩티드 화합물의 에피머"는 고리형 펩티드 화합물을 구성하는 아미노산 잔기의 α-탄소에 부착된 측쇄의 구성이 입체적으로 역위된(에피머) 화합물을 의미한다. “고리형 펩티드 화합물의 에피머” 는 선형 펩티드 화합물을 고리화시켜 고리형 펩티드 화합물을 생성할 때, 선형 펩티드 화합물의 C-말단 아미노산 잔기의 α-탄소가 입체적으로 역위된 고리형 펩티드 화합물을 포함한다. 본 발명의 방법에 의해 생성된 고리형 펩티드 화합물을 포함하는 전체 생성물 중 고리형 펩티드 화합물의 에피머는, 예를 들어 HPLC 분석에 의해 210 nm 또는 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정될 수 있다.

[0805] 본원에서 사용되는 용어 "에피머화"는 분자 내에 존재하는 복수의 비대칭 탄소 내의 적어도 하나의 비대칭 탄소에 대한 입체 배위를 역위시키는 것을 지칭한다.

[0806] 본원에서 사용된 용어 "올리고머"는 고리형 펩티드 화합물의 출발물질인 2 이상의 펩티드 화합물이 함께 결합된 화합물을 의미한다. 특히 두 개의 펩티드 화합물이 결합되어 형성된 화합물을 '이량체'라 하고, 세 개의 펩티드 화합물이 결합되어 형성된 화합물을 '삼량체'라 한다. 상기 이량체는 펩티드 화합물들이 선형으로 서로 결합된 화합물이거나, 또는 펩티드 화합물들이 선형으로 결합된 후 다시 고리화된 고리형 이량체 펩티드 화합물("고리형 이량체"라고도 함)일 수 있다. 상기 삼량체는 펩티드 화합물들이 선형으로 서로 결합된 화합물이거나, 또는 펩티드 화합물들이 선형으로 결합된 후 고리화된 고리형 삼량체 펩티드 화합물("고리형 삼량체"라고도 함)일 수 있다. 상기 올리고머는 펩티드 화합물들이 선형으로 서로 결합된 화합물이거나, 또는 펩티드 화합물이 선형으로 결합된 후 추가로 고리화된 고리형 올리고머 펩티드 화합물일 수 있다. 본 발명의 방법에 의해 생성된 고리형

펩티드 화합물을 포함하는 전체 생성물 중 올리고머(바람직하게는 이량체, 삼량체, 더 바람직하게는 고리형 이량체, 고리형 삼량체)는, 예를 들어 HPLC 분석에 의해 210 nm 또는 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정될 수 있다.

[0807] 고리형 펩티드 화합물의 생성 방법

[0808] 한 양태에서, 본 발명은 고리형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 생성 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 용매 중에서 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기를 펩티드 화합물의 C-말단 아미노산 잔기와 연결시키는 단계를 포함하고, 여기서 상기 N-말단 아미노산 잔기 및 C-말단 아미노산 잔기 중 적어도 하나는 고리형 아미노산 잔기이고, 상기 용매는 아세토니트릴, 디메틸 카보네이트, 2-MeTHF 및 아니솔로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상을 포함한다. 이하, 이러한 양태는 '양태 1'이라고도 한다.

[0809] 양태 1에서, 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기이거나, 또는 펩티드 화합물의 C-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기인 것이 바람직하다.

[0810] 양태 1에서, 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기이고 C-말단 아미노산 잔기는 비천연 아미노산 잔기이거나, 또는 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기는 비천연 아미노산 잔기이며, C-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기인 것이 바람직하다.

[0811] 양태 1에서, 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기이고 C-말단 아미노산 잔기는 호모페닐알라닌 잔기, 호모페닐알라닌 유도체 잔기, 또는 N-치환 Ala 잔기이거나, 또는 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기는 N-치환 페닐알라닌 잔기, N-치환 페닐알라닌 유도체 잔기, 또는 α,α-이치환 아미노산 잔기이며, C-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기인 것이 바람직하다.

[0812] 양태 1에서, 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기는 N-치환 페닐알라닌 유도체 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기인 것이 더 바람직하다.

[0813] 양태 1에서, 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기는 α,α-이치환 아미노산 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기인 것이 더 바람직하다.

[0814] 양태 1에서, 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 호모페닐알라닌 유도체 잔기인 것이 더 바람직하다.

[0815] 양태 1에서, 더 바람직하게는, 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 N-치환 Ala 잔기이다.

[0816] 한 양태에서, 본 발명은 고리형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 생성 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 용매 중에서 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기를 펩티드 화합물의 C-말단 아미노산 잔기와 연결시키는 단계를 포함하고, 여기서 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기 및 C-말단 아미노산 잔기는 하기의 a) 내지 e) 중에서 선택된다:

[0817] a) N-말단 아미노산 잔기는 N-치환 페닐알라닌 잔기 또는 N-치환 페닐알라닌 유도체 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기;

[0818] b) N-말단 아미노산 잔기는 α,α-이치환 아미노산 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기;

[0819] c) N-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 호모페닐알라닌 잔기 또는 호모페닐알라닌 유도체 잔기;

[0820] d) N-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 N-치환 Ala 잔기; 및

[0821] e) N-말단 아미노산 잔기는 N-치환 Gly 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 N-치환 페닐알라닌 잔기 또는 N-치환 페닐알라닌 유도체 잔기. 이하, 이러한 양태는 '양태 2'이라고도 한다.

[0822] 한 양태에서, 고리형 아미노산 잔기는 Pro 잔기, 프롤린 유도체 잔기 및 Aze(2) 잔기 중에서 선택되고, 바람직하게는 Pro 잔기 및 Aze(2) 잔기 중에서 선택되며, 더 바람직하게는 Pro 잔기 또는 Aze(2) 잔기이다.

[0823] 한 양태에서, N-치환 페닐알라닌 유도체 잔기는 N-알킬페닐알라닌 유도체 잔기, 바람직하게는 EtPhe 유도체 잔기, 더 바람직하게는 EtPhe(4-Me) 잔기이다.

[0824] 한 양태에서, 호모페닐알라닌 유도체 잔기는 Hph(3,5-diF-4-$CF_3$) 잔기이다.

[0825] 한 양태에서, α,α-이치환 아미노산 잔기는 cLeu 잔기이다.

[0826] 한 양태에서, N-치환 Ala 잔기는 N-알킬Ala 잔기, 바람직하게는 MeAla 잔기이다.

[0827] 한 양태에서, N-치환 Gly 잔기는 N-알킬Gly 잔기, 바람직하게는 MeGly 잔기이다.

[0828] 양태 2에서, 펩티드 화합물 내에 함유된 N-말단 아미노산 잔기 및 C-말단 아미노산 잔기는 하기의 a') 내지 e') 중에서 선택된다:

[0829] a') N-말단 아미노산 잔기는 EtPhe(4-Me) 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 Aze(2) 잔기;

[0830] b') N-말단 아미노산 잔기는 cLeu 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 Pro 잔기;

[0831] c') N-말단 아미노산 잔기는 Pro 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 Hph(3,5-diF-4-CF3) 잔기;

[0832] d') N-말단 아미노산 잔기는 MeGly 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 EtPhe(4-Me) 잔기; 및

[0833] e') N-말단 아미노산 잔기는 Aze(2) 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 MeAla 잔기.

[0834] 양태 2에서, 용매는 바람직하게는 아세토니트릴, 디메틸 카보네이트, 2-MeTHF, 및 아니솔로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상을 포함한다.

[0835] 한 양태에서, 용매는 아세토니트릴, 디메틸 카보네이트, 2-MeTHF 및 아니솔로 구성된 군에서 선택되는 하나이고, 바람직하게는 아세토니트릴 및 디메틸 카보네이트로 구성된 군에서 선택되는 하나이며, 더 바람직하게는 아세토니트릴 또는 디메틸 카보네이트이다.

[0836] 한 양태에서, 본 발명의 펩티드 화합물은 선형 펩티드 화합물일 수 있다. 다른 양태에서, 본 발명의 펩티드 화합물은 고리형 펩티드 화합물일 수 있다. 한 양태에서, 상기 선형 또는 고리형 펩티드 화합물은 이의 모이어티 구조로서 고리형 구조를 포함할 수 있다. 고리형 구조의 구체적인 예는 하나의 아미노산 잔기의 측쇄가 다른 아미노산 잔기의 측쇄에 연결된 것, 하나의 아미노산 잔기의 N-치환기가 다른 아미노산 잔기의 측쇄에 연결된 것, 및 하나의 아미노산 잔기의 N-치환기가 다른 아미노산 잔기의 N-치환기에 연결된 것을 포함한다. 고리형 구조에 대한 연결에 관여하는 2개의 아미노산 잔기는 인접할 수 있거나, 또는 임의의 수의 아미노산 잔기들, 예를 들어 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 또는 19개의 아미노산 잔기가 이들 사이에 존재할 수 있다. 상기 고리형 구조에 의해 형성된 고리의 크기의 예는 4원 고리, 5원 고리, 6원 고리, 7원 고리, 8원 고리, 9원 고리, 10원 고리, 11원 고리, 12원 고리, 13원 고리, 14원 고리, 15원 고리, 16원 고리, 17원 고리, 18원 고리, 19원 고리, 20원 고리, 21원 고리, 22원 고리, 23원 고리, 24원 고리, 25원 고리, 26원 고리, 27원 고리, 28원 고리, 29원 고리, 30원 고리, 31원 고리, 32원 고리, 33원 고리, 34원 고리, 및 35원 고리를 포함하지만, 특별히 제한되지는 않는다. 펩티드 화합물에 고리형 구조가 존재하는 경우, 고리형 구조의 개수는 제한되지 않으나, 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개의 고리형 구조가 존재하는 것이 바람직하다.

[0837] 한 양태에서, 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기를 펩티드 화합물의 C-말단 아미노산 잔기와 연결시키는 것은 N-말단 아미노산 잔기의 아미노기를 C-말단 아미노산 잔기의 카르복실기와 연결하는 것이다. 한 양태에서, 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기의 아미노기와 C-말단 아미노산 잔기의 카르복실기는 아미드 결합에 의해 연결된다.

[0838] 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기 및 C-말단 아미노산 잔기가 아미드 결합에 의해 연결된 경우, 고리형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물은 N-말단 아미노산 잔기의 아미노기와 C-말단 아미노산 잔기의 카르복실기를 축합시킴으로써 생성할 수 있다. 상기 아미드 결합은 상기 N-말단 아미노산 잔기의 주쇄 내 아미노기와 상기 C-말단 아미노산 잔기의 주쇄 내 카르복실기 사이에 형성될 수 있고, 상기 N-말단 아미노산 잔기의 주쇄 내 아미노기와 상기 C-말단 아미노산 잔기의 측쇄 내 카르복실기 사이에 형성될 수 있고, 상기 N-말단 아미노산 잔기의 측쇄 내 아미노기와 상기 C-말단 아미노산 잔기의 주쇄 내 카르복실기 사이에 형성될 수 있으며, 상기 N-말단 아미노산 잔기의 측쇄 내 아미노기와 상기 C-말단 아미노산 잔기의 측쇄 내 카르복실기 사이에 형성될 수 있다. 축합 시, 축합 시약을 사용하여 시스템 내에서 카르복실기를 활성화시키거나, 또는 카르복실기를 활성 에스테르로 미리 전환시킬 수 있다. 본원에서 사용된 용어 "아미노기 및 카르복실기의 축합"은 아미노기 및 카르복실기가 아미드 결합에 의하여 연결되어 있는 축합을 의미한다.

[0839] 한 양태에서, 상기 연결시키는 단계는 축합 시약의 존재 또는 부재 하에, 염기의 존재 또는 부재 하에, -20℃ 내지 용매의 끓는점 근처 사이, 바람직하게는 -20℃ 내지 100℃ 사이, 바람직하게는 -5℃ 내지 60℃ 사이의 온도에서, 10분 내지 48시간 동안 용매 중에서 반응 혼합물을 교반함으로써 실시될 수 있다. 상기 연결시키는 단

계에서 축합 시약을 사용하는 경우, 축합 시약 또는 축합 시약을 함유하는 용액을 펩티드 화합물과 염기를 함유하는 용액에 첨가하거나, 또는 출발 물질 및 선택적으로 염기를 함유하는 용액을 축합 시약을 함유하는 용액에 첨가할 수 있다. 상기 연결시키는 단계에서 축합 시약을 사용하지 않는 경우, 카복실기를 활성 에스테르로 미리 전환시킬 수 있다.

[0840] 아미노기를 아미드 결합에 의해 카르복실기와 연결할 때, 축합 시약, 염기 및 이들의 사용량은, 이들이 아미드 결합을 형성할 수 있는 한 특별히 제한되지 않으나, 바람직하게는 펩티이드 합성에 통상적으로 사용되는 축합 시약, 염기 및 사용량이다(예를 들어, Peptide Coupling Reagents, More than a Letter Soup (Chem. Rev. 2011, 111, 6557-6602.)를 참조).

[0841] 축합 시약의 구체적인 예는 N,N'-디시클로헥실카르보디이미드(DCC), N,N'-디이소프로필카르보디이미드(DIC), 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카르보디이미드 염산염(EDCI HCl), 1-히드록시-1H-벤조트리아졸(HOBt), 1-히드록시-7-아자벤조트리아졸(HOAt), 2-시아노-2-(히드록시이미노)에틸 아세테이트(옥시마(oxyma)), 3,4-디히드로-3-히드록시-4-옥소-1,2,3-벤조트리아진(HOBt 또는 HODhbt), N-히드록시-5-노르보르넨-2,3-디카르복시미드(HONB), 2,3,4,5,6-펜타플루오로페놀(HOPfp), N-히드록시숙신이미드(HOSu), (HOSu), 6-클로로-1-히드록시-1H-벤조트리아졸(Cl-HOBt), O-(1H-벤조트리아졸-1-일)-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스페이트(HBTU), O-(7-아자-1H-벤조트리아졸-1-일)-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스페이트(HATU), N-[1-(시아노-2-에톡시-2-옥소에틸리덴아미녹시)디메틸아미노(모르폴리노)]우로늄 헥사플루오로포스페이트(COMU), O-[(에톡시카르보닐)시아노메틸렌아미노]-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스페이트(HOTU), O-(1H-벤조트리아졸-1-일)-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄 테트라플루오로보레이트(TBTU), O-(7-아자벤조트리아졸-1-일)-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄 테트라플루오로보레이트(TATU), [에틸시아노(하이드록시이미노)아세타토-$O^2$]트리-1-피롤리디닐포스포늄 헥사플루오로포스페이트(PyOxim), 2-브로모-1-에틸피리디늄 테트라플루오로보레이트(BEP), 1H-벤조트리아졸-1-일옥시-트리(피롤리디노)포스포늄 헥사플루오로포스페이트(PyBOP), 1H-벤조트리아졸-1-일옥시-트리스(디메틸아미노)포스포늄 헥사플루오로포스페이트(BOP), 브로모트리(피롤리디노)포스포늄 헥사플루오로포스페이트(PyBroP), 클로로트리(피롤리디노)포스포늄 헥사플루오로포스페이트(PyCloP), (7-아자벤조트리아졸-1-일옥시)트리피롤리디노 포스포늄 헥사플루오로포스페이트 (PyAOP), 브로모트리스(디메틸아미노)포스포늄 헥사플루오로포스페이트(Brop), 3-(디에톡시포스포릴옥시)-1,2,3-벤조트리아진-4(3H)-온(DEPBT), N,N,N',N'-테트라메틸-O-(N-숙신이미딜)유로늄 테트라플루오로보레이트(TSTU), N,N,N',N'-테트라메틸-O-(N-숙신이미딜)유로늄 헥사플루오로포스페이트(HSTU), O-(3,4-디히드로-4-옥소-1,2,3-벤조트리아진-3-일)-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄 테트라플루오로보레이트(TDBTU), 테트라메틸티오우로늄 S-(1-옥사이드-2-피리딜)-N,N,N',N'-테트라플루오로보레이트(TOTT), O-(2-옥소-1(2H)피리딜)-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄 테트라플루오로보레이트(TPTU), N,N'-카르보닐 디이미다졸(CDI), 1,1'-카르보닐-디-(1,2,4-트리아졸) (CDT), 4-(4,6-디메톡시-1,3,5-트리아진-2-일)-4-메틸모르폴리늄 염화물(DMT-MM), 및 프로필포스포닉 무수물(T3P)을 포함한다. 이들 중에서, 본 발명의 축합 시약은 고리화 반응의 전환율을 증가시키고 부산물을 억제하는 관점에서 바람직하게는 HATU, COMU, DMT-MM, PyOxim, PyBOP 또는 PyClop이고, 더 바람직하게는 HATU 또는 COMU이다. 추가로, 용매와 축합 시약의 조합은 바람직하게는 HATU 및 디메틸 카보네이트 또는 아세토니트릴, 또는 COMU 및 디메틸 카보네이트 또는 아세토니트릴인데, 이는 에피머화 및 이량체 및 삼량체 부산물의 형성을 추가로 억제할 수 있기 때문이다.

[0842] 염기로는, 유기 염기가 적합하게 사용되며, 특히 3차 아민을 함유하는 유기 염기가 바람직하다. 염기의 구체적인 예는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA), 1,8-디아자비시클로[5.4.0]-7-운데센(DBU), 2,3,6,7-테트라히드로-1H,5H-9-아자벤조[ij]퀴놀리진, 1,4-디아자비시클로[2.2.2]옥탄(DABCO), 1,5-디아자비시클로[4.3.0]-5-노넨(DBN), 7-메틸-1,5,7-트리아자비시클로[4.4.0]데크-5-엔, 1,1,3,3-테트라메틸구아니딘(TMG), 1,8-비스(테트라메틸구아니디노)나프탈렌(TMGN), 2-tert-부틸-1,1,3,3-테트라메틸구아니딘(BTMG), 트리에틸아민(TEA), 트리메틸아민, 1-메틸피페리딘, N,N'-디메틸피페라진, N-메틸모르폴린, N-에틸모르폴린, 및 p-디메틸아미노피리딘(DMAP)을 포함한다. 이 중에서도, 고리화 반응의 전환율을 높이고 부산물을 억제하는 관점에서, 본 발명의 염기로서 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)이 바람직하다. 추가로, 용매, 축합 시약 및 염기의 조합은, 에피머화 및 이량체 및 삼량체 부산물의 형성을 더욱 억제할 수 있기 때문에, 바람직하게는 HATU, 디메틸 카보네이트, 및 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA), HATU, 아세토니트릴, 및 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA), COMU, 디메틸 카보네이트, 및 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA), 또는 COMU, 아세토니트릴, 및 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)이다.

[0843] 한 양태에서, 본 발명의 방법에 의해 생성된 고리형 펩티드 화합물은 8 내지 20개, 바람직하게는 9 내지 15개의 아미노산 잔기를 포함할 수 있고, 아미노산 잔기의 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 11개, 적어도 12개, 적어도 13개,

적어도 14개, 적어도 15개, 적어도 16개, 적어도 17개, 적어도 18개, 또는 적어도 19개가 비천연 아미노산 잔기일 수 있다. 한 양태에서, 본 발명의 방법에 의해 생성된 고리형 펩티드 화합물에 함유된 비천연 아미노산의 비율은 상기 펩티드 화합물에 함유된 아미노산의 총 수에 대하여, 예를 들어 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상 또는 80% 이상이다.

[0844] 고리형 펩티드 화합물에 함유된 비천연 아미노산 잔기는 N-치환 비천연 아미노산 잔기 또는 N-비치환된 비천연 아미노산 잔기일 수 있다. 천연 아미노산의 주쇄에서 아미노기가 수소 이외의 원자 또는 작용기로 치환되어 있는 아미노산 잔기, 또는 측쇄의 천연 아미노산과 상이한 구조를 갖고, 주쇄의 아미노기가 수소 이외의 원자 또는 작용기로 치환되어 있는 아미노산 잔기는 N-치환 비천연 아미노산 잔기에 해당한다. 주쇄의 아미노기가 치환되어 있지 않지만, 측쇄의 천연 아미노산과 상이한 구조를 갖는 아미노산 잔기는 N-비치환된 비천연 아미노산 잔기에 해당한다.

[0845] 한 양태에서, 본 발명의 방법에 의해 생성된 고리형 펩티드 화합물은 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 11개, 적어도 12개, 적어도 13개, 적어도 14개, 적어도 15개, 적어도 16개, 적어도 17개, 적어도 18개, 또는 적어도 19개의 N-치환 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 한 양태에서, 본 발명의 방법에 의해 생성된 고리형 펩티드 화합물에 함유된 N-치환 아미노산 잔기의 비율은 상기 펩티드 화합물에 함유된 아미노산의 총 수에 대하여, 예를 들어 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상 또는 80% 이상이다. 상기 N-치환 아미노산 잔기는 N-치환 비천연 아미노산 잔기일 수 있다.

[0846] 한 양태에서, 본 발명의 방법에 의해 생성된 고리형 펩티드 화합물은 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 11개, 적어도 12개, 적어도 13개, 적어도 14개, 적어도 15개, 적어도 16개, 적어도 17개, 적어도 18개, 또는 적어도 19개의 N-치환 비천연 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 한 양태에서, 본 발명의 방법에 의해 생성된 고리형 펩티드 화합물에 함유된 N-치환 비천연 아미노산 잔기의 비율은 상기 펩티드 화합물에 함유된 아미노산의 총 수에 대하여, 예를 들어 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상 또는 80% 이상이다.

[0847] 한 양태에서, 본 발명의 방법에 의해 생성된 고리형 펩티드 화합물은 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 11개, 적어도 12개, 적어도 13개, 적어도 14개, 적어도 15개, 적어도 16개, 적어도 17개, 적어도 18개, 또는 적어도 19개의 α,α-이치환 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 한 양태에서, 본 발명의 방법에 의해 생성된 고리형 펩티드 화합물에 함유된 α,α-이치환 아미노산 잔기의 비율은 상기 펩티드 화합물에 함유된 아미노산의 총 수에 대하여, 예를 들어 5% 이상, 10% 이상, 20% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상 또는 80% 이상이다.

[0848] 본 발명의 방법에 의해 생성된 고리형 펩티드 화합물은 바람직하게는 9 내지 15개의 아미노산 잔기를 포함하고, 더 바람직하게는 11개의 아미노산 잔기를 포함한다. 상기 고리형 펩티드 화합물에서, 상기 아미노산 잔기 중 1개 이상, 2개 이상, 3개 이상, 4개 이상, 5개 이상 또는 6개 이상은 N-치환 아미노산 잔기일 수 있고, 상기 아미노산 잔기 중 1개 이상 또는 2개 이상은 N-비치환된 비천연 아미노산 잔기일 수 있다. 본 발명의 방법은 이러한 비천연 아미노산 잔기를 많이 함유하는 고리형 펩티드 화합물의 대량 생산에 특히 유용하다.

[0849] 한 양태에서, 펩티드 화합물에 함유된 C-말단의 아미노산 잔기는 카르복실기의 α-탄소 상에 측쇄를 갖는 아미노산 잔기이다.

[0850] 한 양태에서, 펩티드 화합물은 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기 및 C-말단 아미노산 잔기 이외의 아미노산 잔기들 중 어느 하나에서 화학식 (1)의 아미노산 잔기를 포함한다:

[0851] [화학식 31]




[0852] (1)

[0853] 상기 화학식에서, $R^1$은 수소 또는 $C_1$-$C_6$ 알킬이고; $R^2$ 및 $R^3$은 각각 독립적으로 수소 또는 $C_1$-$C_6$ 알킬이거나, 또

는 $R^2$ 및 $R^3$은 이들이 부착된 질소 원자와 함께 4원 내지 7원 포화 헤테로사이클을 형성한다.

[0854] 화학식 (1)의 아미노산 잔기에서, $R^1$은 바람직하게는 $C_1$-$C_6$ 알킬, 더 바람직하게는 메틸이다.

[0855] 화학식 (1)의 아미노산 잔기에서, $R^2$ 및 $R^3$은 각각 독립적으로 바람직하게는 $C_1$-$C_6$ 알킬, 더 바람직하게는 메틸이다.

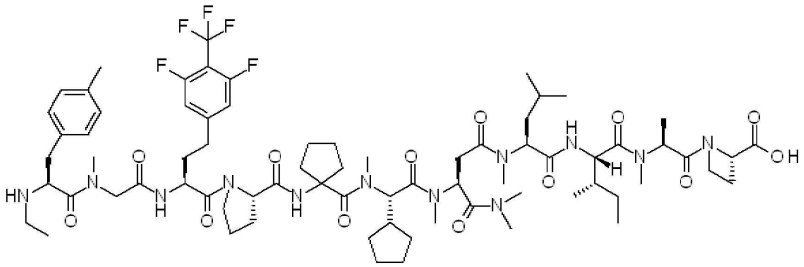
[0856] 화학식 (1)의 아미노산 잔기의 다른 양태에서, $R^1$은 $C_1$-$C_6$ 알킬이고; $R^2$ 및 $R^3$은 각각 독립적으로 $C_1$-$C_6$ 알킬이거나, 또는 $R^2$ 및 $R^3$은 이들이 부착된 질소 원자와 함께 4원 내지 7원 포화 헤테로사이클을 형성한다.

[0857] 화학식 (1)의 아미노산 잔기의 다른 양태에서, $R^1$은 바람직하게는 메틸이고; $R^2$ 및 $R^3$은 각각 메틸이다

[0858] 한 양태에서, 상기 펩티드 화합물은 선형 펩티드 화합물이다. 선형 펩티드 화합물은 바람직하게는 9 내지 15개, 더 바람직하게는 11개의 아미노산 잔기를 포함한다.

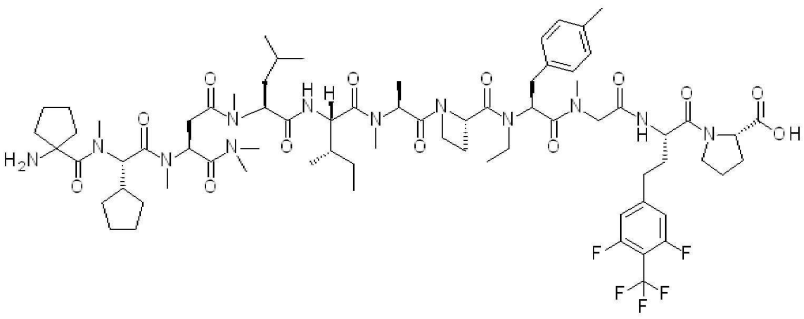
[0859] 한 양태에서, 상기 펩티드 화합물은 하기로 구성된 군에서 선택된 선형 펩티드 화합물:

[0860] [화학식 32]



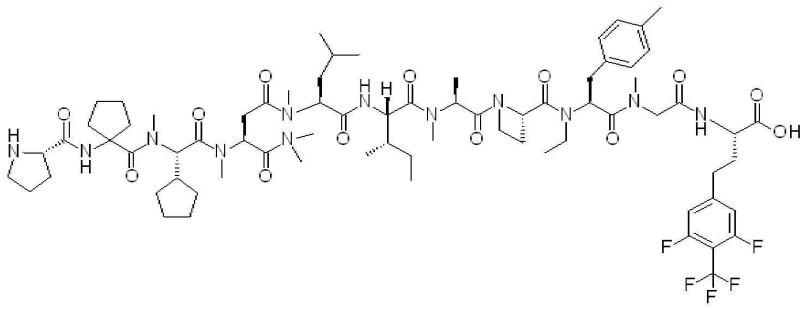
[0861] ,

[0862] [화학식 33]



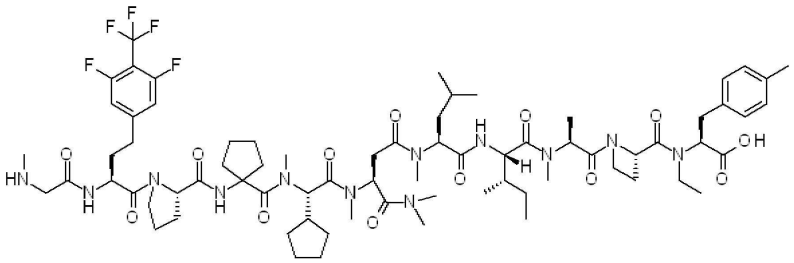
[0863] ,

[0864] [화학식 34]

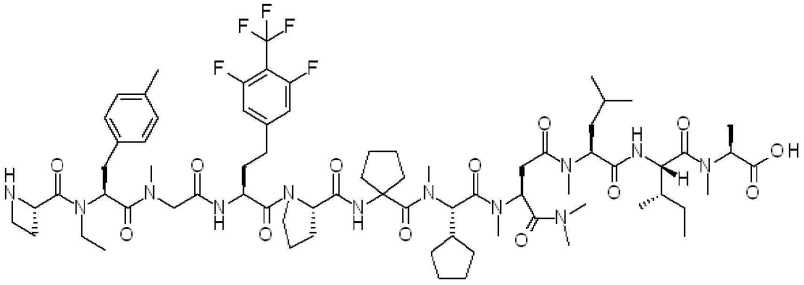


[0865] ,

[0866] [화학식 35]

[0867]  , 및

[0868] [화학식 36]



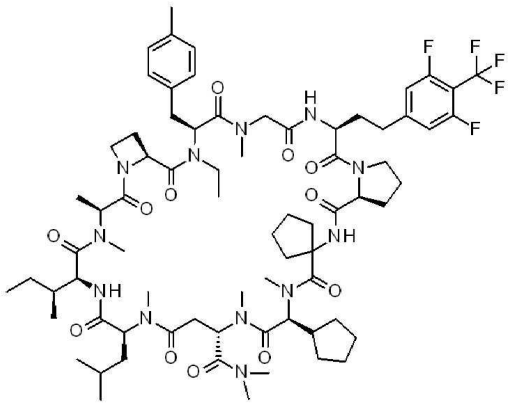
[0869]

[0870] 또는 이의 염 또는 이의 용매화물이다.

[0871] 한 양태에서, 본 발명의 방법에 의해 생성된 고리형 펩티드 화합물은 바람직하게는 용매화물, 더 바람직하게는 수화물, DMSO-수화물, 아세톤-수화물, 또는 DMSO-용매화물, 더 바람직하게는 수화물이다.

[0872] 한 양태에서, 본 발명의 방법에 의해 생성된 고리형 펩티드 화합물은 하기의 화학식 (2)로 표시되는 고리형 펩티드 화합물:

[0873] [화학식 37]



[0874] (2)

[0875] 또는 이의 염 또는 이의 용매화물이다. 국제공보 제WO2021/090855호에 기재된 바와 같이, 상기 화학식으로 표시되는 고리형 펩티드 화합물은 KRAS 억제제로서 유용하며, 다양한 KRAS-관련 질환, 예를 들어 KRAS-관련 암에 사용될 수 있다.

[0876] 한 양태에서, 컬럼크로마토그래피는 본 발명의 방법에 의해 생성된 고리형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 분리 및/또는 정제에 사용하지 않는 것이 바람직하다.

[0877] 본 발명의 방법에 의해 생성된 고리형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물은, 예를 들어 컬럼 크로마토그래피를 사용하는 대신에 결정화에 의해 분리 및/또는 정제될 수 있다.

[0878] 구체적으로, 예를 들어 축합 반응 후의 반응 용액을 별도로 조작하고, 유기층을 필요에 따라 농축 및/또는 여과한 후, 결정화에 적합한 용매를 수득된 잔사에 첨가하고, 선택적으로 시드 결정을 첨가하며, 필요에 따라 교반하여 고리형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 결정을 수득할 수 있다. 결정화 시 첨가되는 용매는 고리형 펩티드 화합물을 결정화할 수 있는 용매라면 특별히 제한되지 않으나, 바람직하게는 고리형 펩티드 화합물이 용해된 용액에 대하여 고리형 펩티드 화합물의 용해도를 감소시키는 작업을 실시할 수 있는 용매이다.

예를 들어, 펩티드 화합물은 저용매의 첨가 또는 용액의 냉각에 의해 고리형 펩티드 화합물의 용해도를 감소시켜 결정화시킬 수 있는 경우, 이러한 작업을 할 수 있는 용매를 사용할 수 있다. 추가로, 고리형 펩티드 화합물의 결정이 고리형 펩티드 화합물의 조 결정을 현탁 상태로 임의의 시간 동안 유지함으로써 수득할 수 있는 경우, 이러한 조작이 가능한 용매를 결정화에 사용할 수 있다. 결정화 시 첨가되는 용매의 구체적인 예는 아세톤, 물, DMSO, 아세토니트릴, 에탄올 또는 이들의 혼합 용매를 포함한다.

[0879] 한 양태에서, 본 발명의 방법에 의해 생성된 고리형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 결정은 하기 기재된 바와 같이 상기 화학식 (2)의 화합물의 비용매화물 결정, 용매화물 결정, 염의 결정, 또는 염의 용매화물 결정일 수 있다. 한 양태에서, 상기 비용매화물 결정(용매화물-비함유 결정)은 용매화물 결정 또는 수화물 결정 이외의 결정을 지칭할 수 있다. 화학식 (2)로 표시되는 고리형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 결정은 바람직하게는 용매화물 결정이고, 더 바람직하게는 수화물 결정이다.

[0880] 한 양태에서, 본 발명의 방법은 펩티드 화합물을 제공하는 단계를 추가로 포함한다. 펩티드 화합물은, 예를 들어 하기의 단계 1 및 단계 2, 그리고 선택적으로 단계 1 및 단계 2를 다수 회(바람직하게는 2 내지 20회), 및/또는 하기의 단계 1 및 단계 3, 그리고 선택적으로 단계 1 및 단계 3을 다수 회(바람직하게는 2 내지 20회), 및 마지막으로 단계 1 및 단계 4를 반복함으로써 생성될 수 있다:

[0881] (단계 1) C-보호 아미노산 또는 C-보호 펩티드를 N-보호 아미노산 또는 N-보호 펩티드를 연결/축합시키는 단계;

[0882] (단계 2) 단계 1 이후에 N-보호기를 제거/탈보호하는 단계;

[0883] (단계 3) 단계 1 이후에 C-보호기를 제거/탈보호하는 단계;

[0884] (단계 4) 단계 1 이후에, C-보호기에 이어서 N-보호기를 제거/탈보호하는 단계.

[0885] 본원에서 사용된 용어 "C-보호된 아미노산"은 카르복실기가 보호된 천연 또는 비천연 아미노산을 의미하고, "C-보호된 펩디드"는 C-말단 아미노산 잔기의 카르복실기가 보호된 펩티드를 의미한다. 상기 펩티드는 천연 아미노산 잔기만으로 구성되거나, 비천연 아미노산 잔기만으로 구성되거나, 또는 천연 및 비천연 아미노산 잔기의 임의의 조합으로 구성될 수 있다.

[0886] 당업계에 공지된 임의의 보호기는 "C-보호된 아미노산" 및 "C-보호된 펩티드"의 카르복시기에 대한 보호기로서 사용될 수 있다. C-보호된 아미노산 및 C-보호 펩티드의 용해도는 반응에 사용되는 용매 중에서 적어도 1%(w/v) 이상, 더 바람직하게는 5%(w/v) 이상이다. 이러한 카복시기에 대한 보호기의 구체적인 예는 메틸기, 에틸기, t-Bu기, 트리틸기, 및 큐밀기를 포함하고, 이 중 t-Bu기가 바람직하다.

[0887] 본원에서 사용된 용어 "N-보호된 아미노산"은 아미노기가 보호된 천연 또는 비천연 아미노산을 의미하고, "N-보호된 펩티드"는 N-말단의 아미노산 잔기의 아미노기가 보호된 펩티드를 의미한다. 상기 펩티드는 천연 아미노산 잔기만으로 구성되거나, 비천연 아미노산 잔기만으로 구성되거나, 또는 천연 및 비천연 아미노산 잔기의 임의의 조합으로 구성될 수 있다.

[0888] 당업계에 공지된 임의의 보호기는 "N-보호된 아미노산" 및 "N-보호된 펩티드"의 아미노기에 대한 보호기로서 사용될 수 있다. 아미노기에 대한 이러한 보호기의 구체적인 예는 Cbz, p-니트로벤질옥시카르보닐, 2-나프틸메틸옥시카르보닐, 디페닐메틸옥시카르보닐, 9-안트릴메틸옥시카보닐, Teoc, Boc, 트리플루오로아세틸 또는 Alloc을 포함하며, 이들 중에서 Cbz, Teoc 또는 트리플루오로아세틸이 바람직하다.

[0889] 당업계에 공지된 바와 같이, N-보호된 아미노산 및 C-보호된 아미노산 및/또는 N-보호된 펩티드 및 C-보호된 펩티드 각각에 대한 보호기는 전형적으로 화학 반응 조건에 따라 선택되고, 당업계에 공지된 통상적인 방법에 의해 결정될 수 있다. 예를 들어, 물과 혼화성이 없는 용매(예를 들어, 친유성 용매)를 사용하는 경우, 친수성 보호기는 보호된 화합물의 유기 용매에 대한 용해도를 감소시킬 수 있으므로, 이러한 친수성 보호기는 적합한 보호기가 아닐 수 있다. 따라서, 본원에 기재된 바와 같이 물과 혼화성이 아닌 용매를 사용하는 경우, 친유성 보호기는, 예를 들어 물과 혼화성이 아닌 용매 중의 펩티드 화합물의 용해도를 유지할 수 있기 때문에, 바람직한 보호기일 수 있다.

[0890] 이러한 보호기의 선택은 "Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, 5판, 2014"에 기재된 방법과 같이 당업계에 공지되거나 본원에 기재된 방법에 의해 실시될 수 있다. 비제한적인 예로서, 본 발명의 방법에서 사용될 수 있는 N-보호기의 예는 Cbz 기를 포함한다. 아미노산이 아미노산 잔기의 위치 α에서 스피로-시클로알킬기와 같은 입체적으로 교란되는 작용기를 갖는 경우, 바람직한 예는 트리플루오로아세틸을 포함한다.

[0891] 한 양태에서, 본 발명의 생성 방법에서 연결시키는 단계는 액상 방법에 의해 실시된다.

[0892] 한 양태에서, 본 발명의 생성 방법에서 연결시키는 단계는 용매와 축합 시약을 혼합하여 수득된 혼합용액에 펩티드 화합물과 선택적으로 염기를 혼합하여 실시된다. 이러한 작업은 본원에서 "역 적가"로 지칭될 수 있다. 장기간에 걸쳐, 예를 들어, 수 시간 내지 수 일, 바람직하게는 1 내지 24시간, 더 바람직하게는 1 내지 10시간에 걸쳐 펩티드 화합물 및 염기를 역 적가하는 것은 다량의 희석용 용매를 사용하지 않고 이량체 및 삼량체 부산물의 형성을 억제할 수 있다.

[0893] 본 발명의 방법에 의해 생성된 고리형 펩티드 화합물은 고순도이면서 하기 기재된 바와 같이 부산물(예를 들어, 에피머, 이량체 및 삼량체)의 함량이 낮다.

[0894] 한 양태에서, 본 발명의 생성 방법에서 상기 연결시키는 단계에서 형성된 총 부산물의 함량은, 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 20% 미만, 15% 미만, 10% 미만, 5% 미만, 또는 3% 미만이다.

[0895] 한 양태에서, 본 발명의 생성 방법에서 상기 연결시키는 단계에서 형성된 부산물 각각의 함량은, 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 15% 미만, 10% 미만, 5% 미만, 3% 미만, 1% 미만, 또는 검출 불가능한 양이고, 부산물은 에피머, 이량체 및 삼량체이다.

[0896] 한 양태에서, 본 발명의 생성 방법에서 상기 연결시키는 단계에서 형성된 부산물은 고리형 펩티드 화합물의 에피머를 포함하고, 에피머의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 10% 미만, 7.5% 미만, 5% 미만, 2.5% 미만, 또는 1% 미만이다.

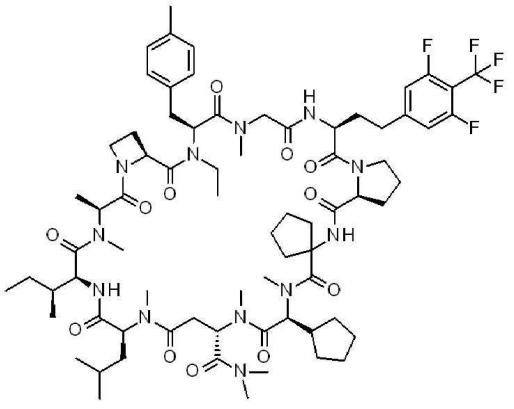
[0897] 한 양태에서, 본 발명의 생성 방법에서 상기 연결시키는 단계에서 형성된 부산물은 이량체를 포함하고, 이량체의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 15% 미만, 10% 미만, 5% 미만, 2.5% 미만, 또는 1% 미만이다.

[0898] 한 양태에서, 본 발명의 생성 방법에서 상기 연결시키는 단계에서 형성된 부산물은 삼량체를 포함하고, 삼량체의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 5% 미만, 2.5% 미만, 1% 미만, 또는 검출 불가능한 양이다.

[0899] 한 양태에서, 본 발명의 생성 방법에서 상기 연결시키는 단계에서 형성된 부산물은 이량체 및 삼량체를 포함하고, 이량체 및 삼량체의 총 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 15% 미만, 10% 미만, 5% 미만, 2.5% 미만, 또는 1% 미만이다.

[0900] 한 양태에서, 본 발명은 하기의 화학식 (2)로 표시되는 고리형 펩티드 화합물:

[0901] [화학식 39]

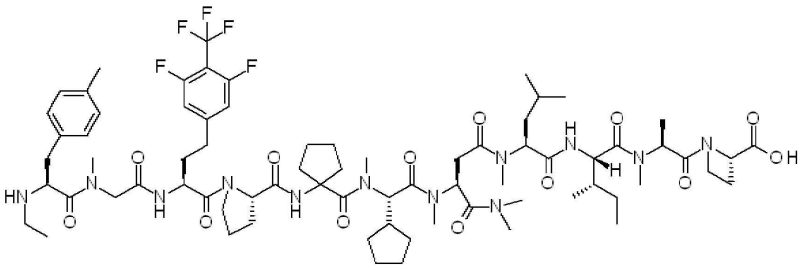


[0902] (2)

[0903] 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 생성 방법에 관한 것으로서:

[0904] (1) 하기의 화학식으로 표시되는 선형 펩티드 화합물:

[0905] [화학식 38]



[0906]

[0907] 또는 이의 염 또는 이의 용매화물(화합물 B13)을 제공하는 단계; 및

[0908] (2) 상기 선형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 N-말단 아미노산 잔기와 상기 선형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 C-말단 아미노산 잔기를 연결시키는 단계를 포함한다. 이하, 이러한 양태는 '양태 3'이라고도 한다.

[0909] 양태 3에서, 단계 (1)은, 예를 들어 하기의 실시예 B-1 내지 B-13에 기재된 방법에 따른 선형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물(화합물 B13)을 제공할 수 있다.

[0910] 양태 3에서, 단계 (2)는 바람직하게는 용매의 존재하에 실시된다. 단계 (2)에서 사용되는 용매는 바람직하게는 아세토니트릴, 디메틸 카보네이트 및 2-MeTHF로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하고, 더 바람직하게는 아세토니트릴, 디메틸 카보네이트 및 2-MeTHF로 구성된 군에서 선택되는 하나이고, 더 바람직하게는 아세토니트릴 및 디메틸 카보네이트로 구성된 군에서 선택되는 하나이다.

[0911] 양태 3에서, 단계 (2)는 바람직하게는 축합 시약의 존재하에 실시된다. 단계 (2)에서 사용되는 축합 시약은 바람직하게는 COMU, HATU, PyBOP, PyOxim, PyClop, DMT-MM, DEPBT, FDPP, T3P 및 BEP-BF4로 구성된 군에서 선택되는 하나이고, 더 바람직하게는 COMU 및 HATU로 구성된 군에서 선택되는 하나이다.

[0912] 양태 3에서, 축합 시약과 용매의 조합은 바람직하게는 COMU 및 HATU로 구성된 군에서 선택되는 하나와 아세토니트릴, 디메틸 카보네이트 및 2-MeTHF로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상의 조합이고, 더 바람직하게는 COMU 및 HATU로 구성된 군에서 선택되는 하나와 아세토니트릴 및 디메틸 카보네이트로 구성된 군에서 선택되는 하나의 조합이다.

[0913] 양태 3에서, 단계 (2)는 바람직하게는 염기의 존재하에 실시된다. 단계 (2)에서 사용된 염기는 바람직하게는 유기 염기, 더 바람직하게는 3차 아민을 포함하는 유기염기, 더 바람직하게는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA), 1,8-디아자비시클로[5.4.0]-7-운데센(DBU), 2,3,6,7-테트라히드로-1H,5H-9-아자벤조[ij]퀴놀리진, 1,4-디아자비시클로[2.2.2]옥탄(DABCO), 1,5-디아자비시클로[4.3.0]-5-노넨(DBN), 7-메틸-1,5,7-트리아자비시클로[4.4.0]데크-5-엔, 1,1,3,3-테트라메틸구아니딘(TMG), 1,8-비스(테트라메틸구아니디노)나프탈렌(TMGN), 2-tert-부틸-1,1,3,3-테트라메틸구아니딘(BTMG), 트리에틸아민(TEA), 트리메틸아민, 1-메틸피페리딘, N,N'-디메틸피페라진, N-메틸모르폴린, N-에틸모르폴린, 및 p-디메틸아미노피리딘(DMAP)으로 구성된 군에서 선택되는 하나이며, 특히 바람직하게는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)이다.

[0914] 양태 3에서, 축합 시약과 용매 및 염기의 조합은 바람직하게는 COMU, HATU, PyBOP, PyOxim, PyClop, DMT-MM, DEPBT, FDPP, T3P, 및 BEP-BF4로 구성된 군에서 선택되는 하나; 아세토니트릴, 디메틸 카보네이트, 및 2-MeTHF로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상; 및 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)의 조합; 더 바람직하게는 COMU 및 HATU로 구성된 군에서 선택되는 하나; 아세토니트릴, 디메틸 카보네이트, 및 2-MeTHF로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상; 및 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)의 조합; 및 더 바람직하게는 COMU 및 HATU로 구성된 군에서 선택되는 하나; 아세토니트릴 및 디메틸 카보네이트로 구성된 군에서 선택되는 하나; 및 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)으로 구성된 군에서 선택되는 하나의 조합이다.

[0915] 양태 3에서, 단계 (2)는 바람직하게는 용매와 축합 시약을 혼합하여 수득된 혼합 용액 내에 펩티드 화합물과 염기를 혼합하여 실시된다. 이는 다량의 용매를 희석에 사용하지 않고 이량체 및 삼량체 부산물의 형성을 억제할 수 있다.

[0916] 양태 3에서, 형성된 총 부산물의 함량은 바람직하게는, 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 10% 미만, 7.5% 미만, 5% 미만, 3% 미만, 또는 1% 미만이다.

[0917] 양태 3에서, 형성된 부산물 각각의 함량은 바람직하게는, 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 10% 미만, 7.5% 미만, 5% 미만, 3% 미만, 1% 미만, 또는 검출 불가능한 양이다.

[0918] 양태 3에서, 형성된 부산물 각각의 함량은 바람직하게는, 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 10% 미만, 7.5% 미만, 5% 미만, 3% 미만, 1% 미만, 또는 검출 불가능한 양이고, 부산물은 에피머, 이량체 및 삼량체이다.

[0919] 양태 3에서, 형성된 부산물은 바람직하게는 고리형 펩티드 화합물의 에피머를 포함하고, 에피머의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 3% 미만, 1% 미만, 또는 검출 불가능한 값이다.

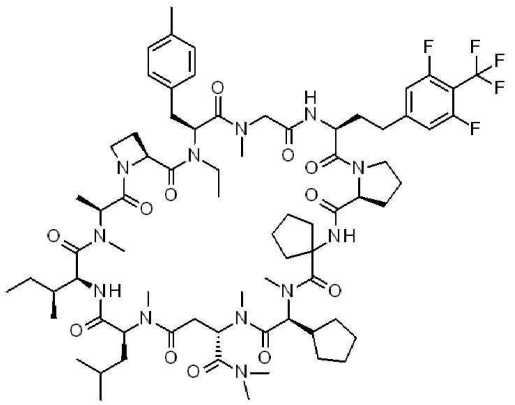
[0920] 양태 3에서, 형성된 부산물은 바람직하게는 이량체를 포함하고, 이량체의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 5% 미만, 3% 미만, 또는 1% 미만이다.

[0921] 양태 3에서, 형성된 부산물은 바람직하게는 삼량체를 포함하고, 삼량체의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 3% 미만, 1% 미만, 또는 검출 불가능한 양이다.

[0922] 양태 3에서, 형성된 부산물은 바람직하게는 이량체 및 삼량체를 포함하고, 이량체 및 삼량체의 총 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 5% 미만, 3% 미만, 또는 1% 미만이다.

[0923] 한 양태에서, 본 발명은 하기의 화학식 (2)로 표시되는 고리형 펩티드 화합물:

[0924] [화학식 41]

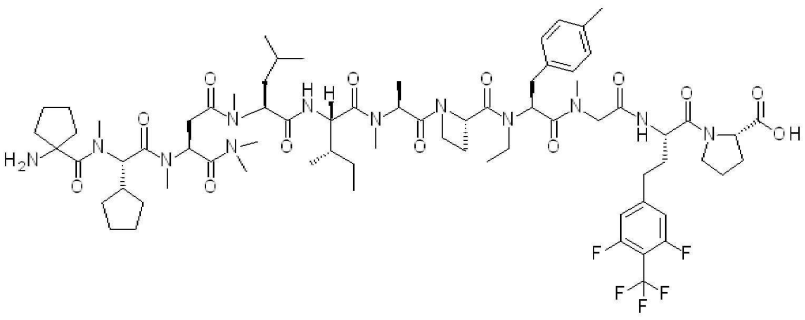


[0925] (2)

[0926] 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 생성 방법에 관한 것으로서:

[0927] (1) 하기의 화학식으로 표시되는 선형 펩티드 화합물:

[0928] [화학식 40]



[0929]

[0930] 또는 이의 염 또는 이의 용매화물(화합물 D21)을 제공하는 단계; 및

[0931] (2) 상기 선형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 N-말단 아미노산 잔기와 상기 선형 펩티드 화

합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 C-말단 아미노산 잔기를 연결시키는 단계를 포함한다. 이하, 이러한 양태는 '양태 4'이라고도 한다.

[0932] 양태 4에서, 단계 (1)은, 예를 들어 하기의 실시예 D-1 내지 D-21에 기재된 방법에 따른 선형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물(화합물 D21)을 제공할 수 있다.

[0933] 양태 4에서, 단계 (2)는 바람직하게는 용매의 존재하에 실시된다. 단계 (2)에서 사용되는 용매는 바람직하게는 아세토니트릴, 디메틸 카보네이트, 2-MeTHF 및 아니솔로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하고, 더 바람직하게는 아세토니트릴, 디메틸 카보네이트, 2-MeTHF 및 아니솔로 구성된 군에서 선택되는 하나이고, 더 바람직하게는 디메틸 카보네이트이다.

[0934] 양태 4에서, 단계 (2)는 바람직하게는 축합 시약의 존재하에 실시된다. 단계 (2)에서 사용되는 축합 시약은 바람직하게는 COMU, HATU, PyBOP, PyOxim, PyClop, 및 DMT-MM으로 구성된 군에서 선택되는 하나이고, 더 바람직하게는 COMU 및 HATU로 구성된 군에서 선택되는 하나이고, 더 바람직하게는 COMU이다.

[0935] 양태 4에서, 축합 시약과 용매의 조합은 바람직하게는 COMU, HATU, PyBOP, PyOxim, PyClop, 및 DMT-MM으로 구성된 군에서 선택되는 하나와 아세토니트릴, 디메틸 카보네이트, 2-MeTHF 및 아니솔로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상의 조합이고, 더 바람직하게는 COMU와 아세토니트릴 및 디메틸 카보네이트로 구성된 군에서 선택되는 하나의 조합이며, 더 바람직하게는 COMU 및 디메틸 카보네이트의 조합이다.

[0936] 양태 4에서, 단계 (2)는 바람직하게는 염기의 존재하에 실시된다. 단계 (2)에서 사용된 염기는 바람직하게는 유기 염기, 더 바람직하게는 3차 아민을 포함하는 유기염기, 더 바람직하게는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA), 1,8-디아자비시클로[5.4.0]-7-운데센(DBU), 2,3,6,7-테트라히드로-1H,5H-9-아자벤조[ij]퀴놀리진, 1,4-디아자비시클로[2.2.2]옥탄(DABCO), 1,5-디아자비시클로[4.3.0]-5-노넨(DBN), 7-메틸-1,5,7-트리아자비시클로[4.4.0]데크-5-엔, 1,1,3,3-테트라메틸구아니딘(TMG), 1,8-비스(테트라메틸구아니디노)나프탈렌(TMGN), 2-tert-부틸-1,1,3,3-테트라메틸구아니딘(BTMG), 트리에틸아민(TEA), 트리메틸아민, 1-메틸피페리딘, N,N'-디메틸피페라진, N-메틸모르폴린, N-에틸모르폴린, 및 p-디메틸아미노피리딘(DMAP)으로 구성된 군에서 선택되는 하나이며, 특히 바람직하게는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)이다.

[0937] 양태 4에서, 축합 시약과 용매 및 염기의 조합은 바람직하게는 COMU와, 아세토니트릴 및 디메틸 카보네이트로 구성된 군에서 선택되는 하나, 및 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)의 조합, 더 바람직하게는 COMU, 디메틸 카보네이트, 및 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)의 조합이다.

[0938] 양태 4에서, 단계 (2)는 바람직하게는 용매와 축합 시약을 혼합하여 수득된 혼합 용액 내에 펩티드 화합물과 염기를 혼합하여 실시된다. 이는 다량의 용매를 희석에 사용하지 않고 이량체 및 삼량체 부산물의 형성을 억제할 수 있다.

[0939] 양태 4에서, 형성된 총 부산물의 함량은 바람직하게는, 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 20% 미만, 15% 미만, 10% 미만, 5% 미만, 또는 3% 미만이다.

[0940] 양태 4에서, 형성된 부산물 각각의 함량은 바람직하게는, 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 15% 미만, 10% 미만, 7.5% 미만, 5% 미만, 2.5% 미만, 또는 1% 미만이다.

[0941] 양태 4에서, 형성된 부산물 각각의 함량은 바람직하게는, 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 15% 미만, 10% 미만, 7.5% 미만, 5% 미만, 2.5% 미만, 또는 1% 미만이며, 부산물은 에피머, 이량체 및 삼량체이다.

[0942] 양태 4에서, 형성된 부산물은 바람직하게는 고리형 펩티드 화합물의 에피머를 포함하고, 에피머의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 3% 미만, 1% 미만, 또는 검출 불가능한 값이다.

[0943] 양태 4에서, 형성된 부산물은 바람직하게는 이량체를 포함하고, 이량체의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 15% 미만, 10% 미만, 또는 5% 미만이다.

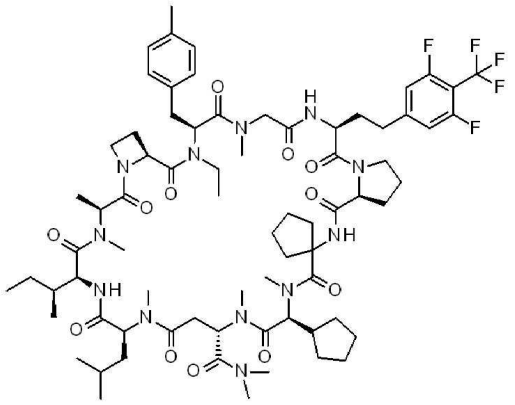
[0944] 양태 4에서, 형성된 부산물은 바람직하게는 삼량체를 포함하고, 삼량체의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 5% 미만, 3% 미만, 또는 1% 미만이다.

[0945] 양태 4에서, 형성된 부산물은 바람직하게는 이량체 및 삼량체를 포함하고, 이량체 및 삼량체의 총 함량은 생성

물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석으로 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 20% 미만, 15% 미만, 10% 미만, 5% 미만, 또는 3% 미만이다.

[0946] 한 양태에서, 본 발명은 하기의 화학식 (2)로 표시되는 고리형 펩티드 화합물:

[0947] [화학식 43]

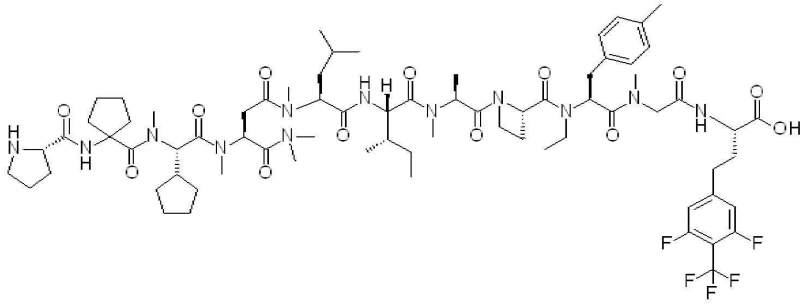


[0948] (2)

[0949] 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 생성 방법에 관한 것으로서:

[0950] (1) 하기의 화학식으로 표시되는 선형 펩티드 화합물:

[0951] [화학식 42]



[0952]

[0953] 또는 이의 염 또는 이의 용매화물(화합물 E9)을 제공하는 단계; 및

[0954] (2) 상기 선형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 N-말단 아미노산 잔기와 상기 선형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 C-말단 아미노산 잔기를 연결시키는 단계를 포함한다. 이하, 이러한 양태는 '양태 5'이라고도 한다.

[0955] 양태 5에서, 단계 (1)은, 예를 들어 하기의 실시예 E-1 내지 E-9에 기재된 방법에 따른 선형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물(화합물 E9)을 제공할 수 있다.

[0956] 양태 5에서, 단계 (2)는 바람직하게는 용매의 존재하에 실시된다. 단계 (2)에서 사용되는 용매는 바람직하게는 아세토니트릴, 디메틸 카보네이트, 2-MeTHF 및 아니솔로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하고, 더 바람직하게는 아세토니트릴, 디메틸 카보네이트, 2-MeTHF 및 아니솔로 구성된 군에서 선택되는 하나이고, 더 바람직하게는 디메틸 카보네이트이다.

[0957] 양태 5에서, 단계 (2)는 바람직하게는 축합 시약의 존재하에 실시된다. 단계 (2)에서 사용되는 축합 시약은 바람직하게는 COMU, HATU, PyBOP, PyOxim, PyClop, 및 DMT-MM으로 구성된 군에서 선택되는 하나이고, 더 바람직하게는 COMU 및 HATU로 구성된 군에서 선택되는 하나이고, 더 바람직하게는 COMU이다.

[0958] 양태 5에서, 축합 시약과 용매의 조합은 바람직하게는 COMU, HATU, PyBOP, PyOxim, PyClop, 및 DMT-MM으로 구성된 군에서 선택되는 하나와 아세토니트릴, 디메틸 카보네이트, 2-MeTHF 및 아니솔로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상의 조합이고, 더 바람직하게는 COMU 및 HATU로 구성된 군에서 선택되는 하나와 아세토니트릴 및 디메틸 카보네이트로 구성된 군에서 선택되는 하나의 조합이며, 더 바람직하게는 COMU 및 디메틸 카보네이트의 조합이다.

[0959] 양태 5에서, 단계 (2)는 바람직하게는 염기의 존재하에 실시된다. 단계 (2)에서 사용된 염기는 바람직하게는 유기 염기, 더 바람직하게는 3차 아민을 포함하는 유기 염기, 더 바람직하게는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA), 1,8-디아자비시클로[5.4.0]-7-운데센(DBU), 2,3,6,7-테트라히드로-1H,5H-9-아자벤조[ij]퀴놀리진, 1,4-디아자비시클로[2.2.2]옥탄(DABCO), 1,5-디아자비시클로[4.3.0]-5-노넨(DBN), 7-메틸-1,5,7-트리아자비시클로[4.4.0]데크-5-엔, 1,1,3,3-테트라메틸구아니딘(TMG), 1,8-비스(테트라메틸구아니디노)나프탈렌(TMGN), 2-tert-부틸-1,1,3,3-테트라메틸구아니딘(BTMG), 트리에틸아민(TEA), 트리메틸아민, 1-메틸피페리딘, N,N'-디메틸피페라진, N-메틸모르폴린, N-에틸모르폴린, 및 p-디메틸아미노피리딘(DMAP)으로 구성된 군에서 선택되는 하나이며, 특히 바람직하게는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)이다.

[0960] 양태 5에서, 축합 시약과 용매 및 염기의 조합은 바람직하게는 COMU 및 HATU로 구성된 군에서 선택되는 하나와; 아세토니트릴 및 디메틸 카보네이트로 구성된 군에서 선택되는 하나; 및 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)의 조합, 더 바람직하게는 COMU, 디메틸 카보네이트, 및 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)의 조합이다.

[0961] 양태 5에서, 단계 (2)는 바람직하게는 용매와 축합 시약을 혼합하여 수득된 혼합 용액 내에 펩티드 화합물과 염기를 혼합하여 실시된다. 이는 다량의 용매를 희석에 사용하지 않고 이량체 및 삼량체 부산물의 형성을 억제할 수 있다.

[0962] 양태 5에서, 형성된 총 부산물의 함량은 바람직하게는, 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 10% 미만, 7.5% 미만, 5% 미만, 또는 2.5% 미만이다.

[0963] 양태 5에서, 형성된 부산물 각각의 함량은 바람직하게는, 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 10% 미만, 7.5% 미만, 5% 미만, 3% 미만, 1% 미만, 또는 검출 불가능한 양이다.

[0964] 양태 5에서, 형성된 부산물 각각의 함량은 바람직하게는, 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 10% 미만, 7.5% 미만, 5% 미만, 3% 미만, 1% 미만, 또는 검출 불가능한 양이고, 부산물은 에피머, 이량체 및 삼량체이다.

[0965] 양태 5에서, 형성된 부산물은 바람직하게는 고리형 펩티드 화합물의 에피머를 포함하고, 에피머의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 7.5% 미만, 5% 미만, 3% 미만, 또는 1% 미만이다.

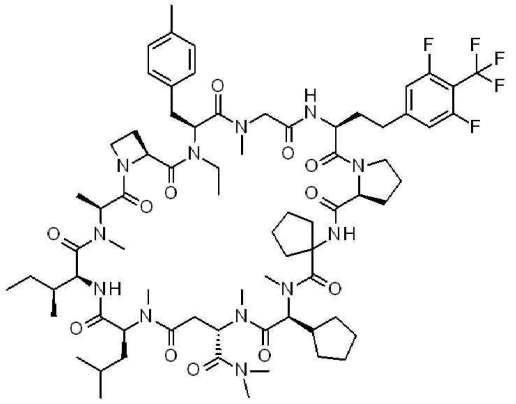
[0966] 양태 5에서, 형성된 부산물은 바람직하게는 이량체를 포함하고, 이량체의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 10% 미만, 7.5% 미만, 5% 미만, 2.5% 미만, 또는 1% 미만이다.

[0967] 양태 5에서, 형성된 부산물은 바람직하게는 삼량체를 포함하고, 삼량체의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 3% 미만, 1% 미만, 또는 검출 불가능한 양이다.

[0968] 양태 5에서, 형성된 부산물은 바람직하게는 이량체 및 삼량체를 포함하고, 이량체 및 삼량체의 총 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 10% 미만, 7.5% 미만, 5% 미만, 2.5% 미만, 또는 1% 미만이다.

[0969] 한 양태에서, 본 발명은 하기의 화학식 (2)로 표시되는 고리형 펩티드 화합물:

[0970] [화학식 45]

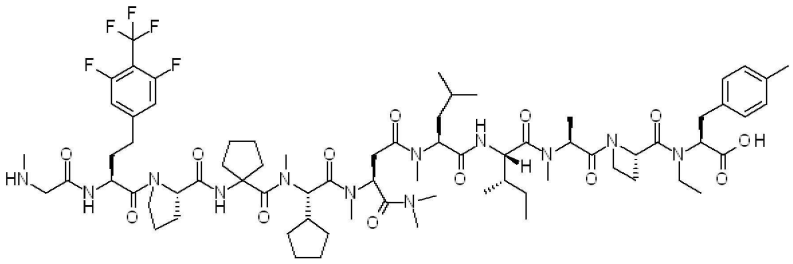


[0971] (2)

[0972] 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 생성 방법에 관한 것으로서:

[0973] (1) 하기의 화학식으로 표시되는 선형 펩티드 화합물:

[0974] [화학식 44]



[0975]

[0976] 또는 이의 염 또는 이의 용매화물(화합물 C15)을 제공하는 단계; 및

[0977] (2) 상기 선형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 N-말단 아미노산 잔기와 상기 선형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 C-말단 아미노산 잔기를 연결시키는 단계를 포함한다. 이하, 이러한 양태는 '양태 6'이라고도 한다.

[0978] 양태 6에서, 단계 (1)은, 예를 들어 하기의 실시예 C-1 내지 C-14에 기재된 방법에 따른 선형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물(화합물 C15)을 제공할 수 있다.

[0979] 양태 6에서, 단계 (2)는 바람직하게는 용매의 존재하에 실시된다. 단계 (2)에서 사용되는 용매는 바람직하게는 아세토니트릴 및 디메틸 카보네이트 중에서 선택되는 하나 또는 둘을 포함하고, 더 바람직하게는 디메틸 카보네이트이다.

[0980] 양태 6에서, 단계 (2)는 바람직하게는 축합 시약의 존재하에 실시된다. 단계 (2)에서 사용되는 축합 시약은 바람직하게는 COMU, HATU, PyBOP, PyOxim, PyClop, DMT-MM, 및 DEPBT로 구성된 군에서 선택되는 하나이고, 더 바람직하게는 COMU 및 HATU로 구성된 군에서 선택되는 하나이고, 더 바람직하게는 HATU이다.

[0981] 양태 6에서, 축합 시약과 용매의 조합은 바람직하게는 COMU, HATU, PyBOP, PyOxim, PyClop, DMT-MM, 및 DEPBT로 구성된 군에서 선택되는 하나와 아세토니트릴 및 디메틸 카보네이트로 구성된 군에서 선택되는 하나 또는 둘의 조합이고, 더 바람직하게는 COMU 및 HATU로 구성된 군에서 선택되는 하나와 아세토니트릴 및 디메틸 카보네이트로 구성된 군에서 선택되는 하나의 조합이며, 추가로 바람직하게는 COMU 및 HATU로 구성된 군에서 선택되는 하나와 디메틸 카보네이트의 조합이며, 특히 바람직하게는 HATU 및 디메틸 카보네이트의 조합이다.

[0982] 양태 6에서, 단계 (2)는 바람직하게는 염기의 존재하에 실시된다. 단계 (2)에서 사용된 염기는 바람직하게는 유기 염기, 더 바람직하게는 3차 아민을 포함하는 유기 염기, 더 바람직하게는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA), 1,8-디아자비시클로[5.4.0]-7-운데센(DBU), 2,3,6,7-테트라히드로-1H,5H-9-아자벤조[ij]퀴놀리진, 1,4-디아자비시클로[2.2.2]옥탄(DABCO), 1,5-디아자비시클로[4.3.0]-5-노넨(DBN), 7-메틸-1,5,7-트리아자비시클로[4.4.0]데크-5-엔, 1,1,3,3-테트라메틸구아니딘(TMG), 1,8-비스(테트라메틸구아니디노)나프탈렌(TMGN), 2-tert-부틸-1,1,3,3-테트라메틸구아니딘(BTMG), 트리에틸아민(TEA), 트리메틸아민, 1-메틸피페리딘, N,N'-디메틸피페라진, N-메틸모르폴린, N-에틸모르폴린, 및 p-디메틸아미노피리딘(DMAP)으로 구성된 군에서 선택되는 하나이며, 특히

바람직하게는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)이다.

[0983] 양태 6에서, 축합 시약과 용매 및 염기의 조합은 바람직하게는 COMU 및 HATU로 구성된 군에서 선택되는 하나와, 아세토니트릴 및 디메틸 카보네이트로 구성된 군에서 선택되는 하나, 및 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)의 조합, 더 바람직하게는 COMU 및 HATU로 구성된 군에서 선택되는 하나, 디메틸 카보네이트, 및 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)의 조합이며, 추가로 바람직하게는 HATU, 디메틸 카보네이트, 및 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)의 조합이다.

[0984] 양태 6에서, 단계 (2)는 바람직하게는 용매와 축합 시약을 혼합하여 수득된 혼합 용액 내에 펩티드 화합물과 염기를 혼합하여 실시된다. 이는 다량의 용매를 희석에 사용하지 않고 이량체 및 삼량체 부산물의 형성을 억제할 수 있다.

[0985] 양태 6에서, 형성된 총 부산물의 함량은 바람직하게는, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 10% 미만, 7.5% 미만, 5% 미만, 또는 2.5% 미만이다.

[0986] 양태 6에서, 형성된 부산물 각각의 함량은 바람직하게는, 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 10% 미만, 7.5% 미만, 5% 미만, 3% 미만, 1% 미만, 또는 검출 불가능한 양이다.

[0987] 양태 6에서, 형성된 부산물 각각의 함량은 바람직하게는, 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 10% 미만, 7.5% 미만, 5% 미만, 3% 미만, 1% 미만, 또는 검출 불가능한 양이고, 부산물은 에피머, 이량체 및 삼량체이다.

[0988] 양태 6에서, 형성된 부산물은 바람직하게는 고리형 펩티드 화합물의 에피머를 포함하고, 에피머의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 7.5% 미만, 5% 미만, 3% 미만, 또는 1% 미만이다.

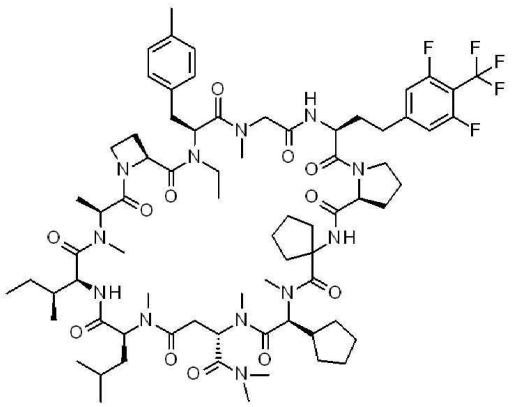
[0989] 양태 6에서, 형성된 부산물은 바람직하게는 이량체를 포함하고, 이량체의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 10% 미만, 7.5% 미만, 5% 미만, 2.5% 미만, 또는 1% 미만이다.

[0990] 양태 6에서, 형성된 부산물은 바람직하게는 삼량체를 포함하고, 삼량체의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 3% 미만, 1% 미만, 또는 검출 불가능한 양이다.

[0991] 양태 6에서, 형성된 부산물은 바람직하게는 이량체 및 삼량체를 포함하고, 이량체 및 삼량체의 총 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 10% 미만, 7.5% 미만, 5% 미만, 2.5% 미만, 또는 1% 미만이다.

[0992] 한 양태에서, 본 발명은 하기의 화학식 (2)로 표시되는 고리형 펩티드 화합물:

[0993] [화학식 47]

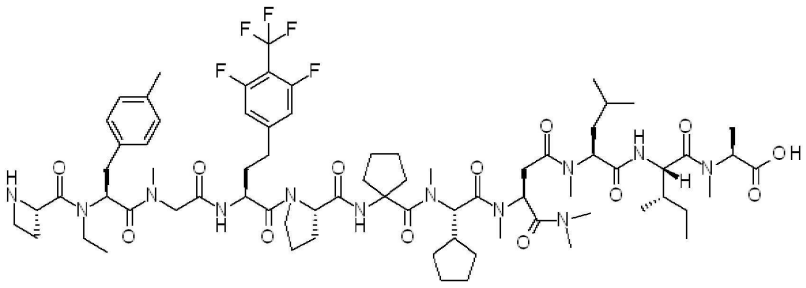


[0994] (2)

[0995] 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 생성 방법에 관한 것으로서:

[0996] (1) 하기의 화학식으로 표시되는 선형 펩티드 화합물:

[0997] [화학식 46]



[0998]

[0999] 또는 이의 염 또는 이의 용매화물(화합물 A36)을 제공하는 단계; 및

[1000] (2) 상기 선형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 N-말단 아미노산 잔기와 상기 선형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 C-말단 아미노산 잔기를 연결시키는 단계를 포함한다. 이하, 이러한 양태는 '양태 7'이라고도 한다.

[1001] 양태 7에서, 단계 (1)은, 예를 들어 하기의 실시예 A-1 내지 A-25에 기재된 방법에 따른 선형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물(화합물 A36)을 제공할 수 있다.

[1002] 양태 7에서, 단계 (2)는 바람직하게는 용매의 존재하에 실시된다. 단계 (2)에서 사용되는 용매는 바람직하게는 아세토니트릴 및 디메틸 카보네이트로 구성된 군에서 선택되는 하나 또는 둘을 포함하고, 더 바람직하게는 아세토니트릴이다.

[1003] 양태 7에서, 단계 (2)는 바람직하게는 축합 시약의 존재하에 실시된다. 단계 (2)에서 사용되는 축합 시약은 바람직하게는 COMU, HATU, PyBOP, PyOxim, PyClop, 및 DMT-MM으로 구성된 군에서 선택되는 하나이고, 더 바람직하게는 COMU, HATU, 및 PyOxim으로 구성된 군에서 선택되는 하나이고, 추가로 바람직하게는 COMU이다.

[1004] 양태 7에서, 축합 시약과 용매의 조합은 바람직하게는 COMU, HATU, PyBOP, PyOxim, PyClop, 및 DMT-MM으로 구성된 군에서 선택되는 하나와 아세토니트릴 및 디메틸 카보네이트로 구성된 군에서 선택되는 하나 또는 둘의 조합이고, 더 바람직하게는 COMU, HATU, 및 PyOxim으로 구성된 군에서 선택되는 하나와 아세토니트릴 및 디메틸 카보네이트로 구성된 군에서 선택되는 하나의 조합이며, 추가로 바람직하게는 COMU와, 아세토니트릴 및 디메틸 카보네이트로 구성된 군에서 선택되는 하나의 조합이며, 특히 바람직하게는 COMU 및 아세토니트릴의 조합이다. 양태 7의 다른 구현예에서, 축합 시약과 용매의 조합은 바람직하게는 HATU 및 디메틸 카보네이트의 조합이고, PyOxim 및 디메틸 카보네이트의 조합이다.

[1005] 양태 7에서, 단계 (2)는 바람직하게는 염기의 존재하에 실시된다. 단계 (2)에서 사용된 염기는 바람직하게는 유기 염기, 더 바람직하게는 3차 아민을 포함하는 유기 염기, 더 바람직하게는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA), 1,8-디아자비시클로[5.4.0]-7-운데센(DBU), 2,3,6,7-테트라히드로-1H,5H-9-아자벤조[ij]퀴놀리진, 1,4-디아자비시클로[2.2.2]옥탄(DABCO), 1,5-디아자비시클로[4.3.0]-5-노넨(DBN), 7-메틸-1,5,7-트리아자비시클로[4.4.0]데크-5-엔, 1,1,3,3-테트라메틸구아니딘(TMG), 1,8-비스(테트라메틸구아니디노)나프탈렌(TMGN), 2-tert-부틸-1,1,3,3-테트라메틸구아니딘(BTMG), 트리에틸아민(TEA), 트리메틸아민, 1-메틸피페리딘, N,N'-디메틸피페라진, N-메틸모르폴린, N-에틸모르폴린, 및 p-디메틸아미노피리딘(DMAP)으로 구성된 군에서 선택되는 하나이며, 특히 바람직하게는 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)이다.

[1006] 양태 7에서, 축합 시약과 용매 및 염기의 조합은 바람직하게는 COMU, HATU, 및 PyOxim으로 구성된 군에서 선택되는 하나와, 아세토니트릴 및 디메틸 카보네이트로 구성된 군에서 선택되는 하나, 및 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)의 조합, 더 바람직하게는 COMU와, 아세토니트릴 및 디메틸 카보네이트로 구성된 군에서 선택되는 하나, 및 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)의 조합이며, 추가로 바람직하게는 COMU, 아세토니트릴, 및 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)의 조합이다. 양태 7의 다른 구현예에서, 축합 시약과 용매 및 염기의 조합은 바람직하게는 HATU, 디메틸 카보네이트, 및 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)의 조합, 및 PyOxim, 디메틸 카보네이트, 및 N,N-디이소프로필에틸아민(DIPEA)의 조합이다.

[1007] 양태 7에서, 단계 (2)는 바람직하게는 용매와 축합 시약을 혼합하여 수득된 혼합 용액 내에 펩티드 화합물과 염기를 혼합하여 실시된다. 이는 다량의 용매를 희석에 사용하지 않고 이량체 및 삼량체 부산물의 형성을 억제할 수 있다.

[1008] 양태 7에서, 형성된 총 부산물의 함량은 바람직하게는, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 15% 미만, 10% 미만, 7.5% 미만, 또는 5% 미만이다.

[1009] 양태 7에서, 형성된 부산물 각각의 함량은 바람직하게는, 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 10% 미만, 7.5% 미만, 5% 미만, 3% 미만, 1% 미만, 또는 검출 불가능한 양이다.

[1010] 양태 7에서, 형성된 부산물 각각의 함량은 바람직하게는, 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 10% 미만, 7.5% 미만, 5% 미만, 3% 미만, 1% 미만, 또는 검출 불가능한 양이고, 부산물은 에피머, 이량체 및 삼량체이다.

[1011] 양태 7에서, 형성된 부산물은 바람직하게는 고리형 펩티드 화합물의 에피머를 포함하고, 에피머의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 5% 미만, 3% 미만, 또는 1% 미만이다.

[1012] 양태 7에서, 형성된 부산물은 바람직하게는 이량체를 포함하고, 이량체의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 10% 미만, 7.5% 미만, 또는 5% 미만이다.

[1013] 양태 7에서, 형성된 부산물은 바람직하게는 삼량체를 포함하고, 삼량체의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 3% 미만, 1% 미만, 또는 검출 불가능한 양이다.

[1014] 양태 7에서, 형성된 부산물은 바람직하게는 이량체 및 삼량체를 포함하고, 이량체 및 삼량체의 총 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 10% 미만, 7.5% 미만, 또는 5% 미만이다.

[1015] 고리형 펩티드 화합물의 에피머화 억제 방법

[1016] 한 양태에서, 본 발명은 고리형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 생성 시 고리형 펩티드 화합물의 에피머화를 억제하는 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 용매 중에서 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기를 펩티드 화합물의 C-말단 아미노산 잔기와 연결시키는 단계를 포함하고, 여기서 상기 N-말단 아미노산 잔기 및 C-말단 아미노산 잔기 중 적어도 하나는 고리형 아미노산 잔기이고, 상기 용매는 아세토니트릴, 디메틸카보네이트, 2-MeTHF 및 아니솔로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상을 포함한다. 이하, 이러한 양태는 '양태 8'이라고도 한다.

[1017] 한 양태에서, 본 발명은 고리형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 생성 시 고리형 펩티드 화합물의 에피머화를 억제하는 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 용매 중에서 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기를 펩티드 화합물의 C-말단 아미노산 잔기와 연결시키는 단계를 포함하고, 여기서 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기 및 C-말단 아미노산 잔기는 하기의 a) 내지 e) 중에서 선택된다:

[1018] a) N-말단 아미노산 잔기는 N-치환 페닐알라닌 잔기 또는 N-치환 페닐알라닌 유도체 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기;

[1019] b) N-말단 아미노산 잔기는 α,α-이치환 아미노산 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기;

[1020] c) N-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 호모페닐알라닌 잔기 또는 호모페닐알라닌 유도체 잔기;

[1021] d) N-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 N-치환 Ala 잔기; 및

[1022] e) N-말단 아미노산 잔기는 N-치환 Gly 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 N-치환 페닐알라닌 잔기 또는 N-치환 페닐알라닌 유도체 잔기. 이하, 이러한 양태는 '양태 9'이라고도 한다.

[1023] 양태 8 및 9에서, 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기를 펩티드 화합물의 C-말단 아미노산 잔기와 연결시키는 단계는 상기 "고리형 펩티드 화합물의 생성 방법"에 기재된 바와 같다.

[1024] 양태 8 및 9에서, 형성된 에피머의 함량은 바람직하게는, 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 20% 미만, 15% 미만, 10% 미만, 5% 미만, 또는 3% 미만이다.

[1025] 양태 8 및 9에서, 형성된 에피머의 함량은 바람직하게는, 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하

여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 15% 미만, 10% 미만, 5% 미만, 3% 미만, 1% 미만, 또는 검출 불가능한 양이다.

[1026] 고리형 펩티드 화합물의 올리고머 형성 억제 방법

[1027] 한 양태에서, 본 발명은 고리형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 생성 시 고리형 펩티드 화합물의 올리고머의 형성을 억제하는 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 용매 중에서 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기를 펩티드 화합물의 C-말단 아미노산 잔기와 연결시키는 단계를 포함하고, 여기서 상기 N-말단 아미노산 잔기 및 C-말단 아미노산 잔기 중 적어도 하나는 고리형 아미노산 잔기이고, 상기 용매는 아세토니트릴, 디메틸 카보네이트, 2-MeTHF 및 아니솔로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상을 포함한다. 이하, 이러한 양태는 '양태 10'이라고도 한다.

[1028] 한 양태에서, 본 발명은 고리형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 생성 시 고리형 펩티드 화합물의 올리고머의 형성을 억제하는 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 용매 중에서 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기를 펩티드 화합물의 C-말단 아미노산 잔기와 연결시키는 단계를 포함하고, 여기서 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기 및 C-말단 아미노산 잔기는 하기의 a) 내지 e) 중에서 선택된다:

[1029] a) N-말단 아미노산 잔기는 N-치환 페닐알라닌 잔기 또는 N-치환 페닐알라닌 유도체 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기;

[1030] b) N-말단 아미노산 잔기는 α,α-이치환 아미노산 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기;

[1031] c) N-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 호모페닐알라닌 잔기 또는 호모페닐알라닌 유도체 잔기;

[1032] d) N-말단 아미노산 잔기는 고리형 아미노산 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 N-치환 Ala 잔기; 및

[1033] e) N-말단 아미노산 잔기는 N-치환 Gly 잔기이고, C-말단 아미노산 잔기는 N-치환 페닐알라닌 잔기 또는 N-치환 페닐알라닌 유도체 잔기. 이하, 이러한 양태는 '양태 11'이라고도 한다.

[1034] 양태 10 및 11에서, 펩티드 화합물의 N-말단 아미노산 잔기를 펩티드 화합물의 C-말단 아미노산 잔기와 연결시키는 단계는 상기 "고리형 펩티드 화합물의 생성 방법"에 기재된 바와 같다.

[1035] 양태 10 및 11에서, 형성된 부산물은 바람직하게는 이량체를 포함하고, 이량체의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 15% 미만, 10% 미만, 5% 미만, 2.5% 미만, 또는 1% 미만이다.

[1036] 양태 10 및 11에서, 형성된 부산물은 바람직하게는 삼량체를 포함하고, 삼량체의 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 5% 미만, 2.5% 미만, 1% 미만, 또는 검출 불가능한 양이다.

[1037] 양태 10 및 11에서, 형성된 부산물은 바람직하게는 이량체 및 삼량체를 포함하고, 이량체 및 삼량체의 총 함량은 생성물의 총량을 기준으로 하여, HPLC 분석을 사용하여 220 nm에서의 UV면적 값에 의해 결정시, 15% 미만, 10% 미만, 5% 미만, 2.5% 미만, 또는 1% 미만이다.

[1038] [실시예]

[1039] 본 발명의 내용은 하기의 실시예에 의해 추가로 설명될 것이지만, 본 발명이 이에 제한되는 것은 아니다. 달리 명시되지 않는 한, 출발 물질, 출발 원료, 용매 및 시약은 상업적 공급자로부터 입수하거나, 공지된 방법을 사용하여 합성하였다.

[1040] HPLC에 의한 분석 조건은 하기와 같다.

[1041] HPLC 분석 조건 방법 1

[1042] 장비: Waters ACQUITY UPLC H-Class

[1043] 컬럼: CAPCELL CORE ADME (OSAKA SODA), 2.1 mm ID x 50 mm, 2.7 μm

[1044] 이동상: 0.05% TFA/물 (A), 0.05% TFA/MeCN (B)

[1045] 용출 방법: B): 5%(0분) → 100%(5분) → 5%(5.1분) → 5%(7분)

[1046] 유속: 0.5 mL/분

[1047] 컬럼 온도: 35℃

[1048] 검출 파장: 210 nm (PDA)

[1049] HPLC 분석 조건 방법 2

[1050] 장비: Waters ACQUITY UPLC H-Class

[1051] 컬럼: CAPCELL CORE ADME (OSAKA SODA), 2.1 mm ID x 50 mm, 2.7 μm

[1052] 이동상: 0.05% TFA/물 (A), 0.05% TFA/MeCN (B)

[1053] 용리 방법: B): 5%(0분) → 100%(7분) → 5%(7.1분) → 5%(9분)

[1054] 유속: 0.5 mL/분

[1055] 컬럼 온도: 35℃

[1056] 검출 파장: 210 nm (PDA)

[1057] HPLC 분석 조건 방법 3

[1058] 장비: Waters ACQUITY UPLC H-Class

[1059] 컬럼: ACQUITY UPLC CSH C18 (Waters), 2.1 mm IDx150 mm, 1.7 μm

[1060] 이동상: 0.05% TFA/물 (A), 0.05% TFA/MeCN (B)

[1061] 용출 방법: B) 20%(0분) → 100%(24분) → 100%(29분) → 20%(29.1분) → 20%(34분)

[1062] 유속: 0.3 mL/분

[1063] 컬럼 온도: 50℃

[1064] 검출 파장: 220 nm (PDA)

[1065] HPLC 분석 조건 방법 4

[1066] 장비: Waters ACQUITY UPLC H-Class

[1067] 컬럼: Ascentis Express 90A C18(Sigma-Aldrich), 2.1 mm ID x 50 mm, 2.7 μm

[1068] 이동상: 0.05% TFA/물 (A), 0.05% TFA/MeCN (B)

[1069] 용출 방법: B): 5%(0분) → 100%(5분) → 5%(5.1분) → 5%(7분)

[1070] 유속: 0.5 mL/분

[1071] 컬럼 온도: 35℃

[1072] 검출 파장: 210 nm (PDA)

[1073] HPLC 분석 조건 방법 5

[1074] 장비: Waters ACQUITY UPLC H-Class

[1075] 컬럼: CAPCELL CORE ADME(OSAKA SODA), 2.1 mm ID x 50 mm, 2.7 μm

[1076] 이동상: 0.05% TFA/물 (A), 0.05% TFA/MeCN (B)

[1077] 용출 방법: B): 5%(0분) → 100%(10분) → 5%(10.1분) → 5%(12분)

[1078] 유속: 0.5 mL/분

[1079] 컬럼 온도: 35℃

[1080] 검출 파장: 210 nm (PDA)

[1081] HPLC 분석 조건 방법 6

[1082] 장비: Waters ACQUITY UPLC H-Class

[1083] 컬럼: ACQUITY UPLC CSH C18 (Waters), 2.1 mm ID x 100 mm, 1.7 μm

[1084] 이동상: 0.05% TFA/물 (A), 0.05% TFA/MeCN (B)

[1085] 용출 방법: B) 20%(0분) → 100%(10분) → 100%(13.5분) → 20%(13.6분) → 20%(18.0분)

[1086] 유속: 0.3 mL/분

[1087] 컬럼 온도: 50℃

[1088] 검출 파장: 210 nm (PDA)

[1089] HPLC 분석 조건 방법 7

[1090] 장비: Waters ACQUITY UPLC H-Class

[1091] 컬럼: Ascentis Express 90A C18(Sigma-Aldrich), 2.1 mm ID x 50 mm, 2.7 μm

[1092] 이동상: 0.05% TFA/물 (A), 0.05% TFA/MeCN (B)

[1093] 용출 방법: B): 5%(0분) → 100%(6분) → 5%(6.1분) → 5%(8분)

[1094] 유속: 0.5 mL/분

[1095] 컬럼 온도: 35℃

[1096] 검출 파장: 210 nm (PDA)

[1097] HPLC 분석 조건 방법 8

[1098] 장비: Waters ACQUITY UPLC H-Class

[1099] 컬럼: ACQUITY UPLC CSH C18 (Waters), 2.1 mm ID x 150 mm, 1.7 μm

[1100] 이동상: 0.05% TFA/물 (A), 0.05% TFA/MeCN (B)

[1101] 용출 방법: B) 20%(0분) → 100%(84분) → 100%(89분) → 20%(89.1분) → 20%(94분)

[1102] 유속: 0.3 mL/분

[1103] 컬럼 온도: 50℃

[1104] 검출 파장: 210 nm (PDA)

[1105] HPLC 분석 조건 방법 9

[1106] 장비: Waters ACQUITY UPLC H-Class

[1107] 컬럼: CHIRALPAK IC-3 (DAICEL) 4.6 mm ID x 150 mm, 3 μm

[1108] 이동상: 0.05% TFA/물 (A), 0.05% TFA/MeCN (B)

[1109] 용출 방법: B): 5%(0분) → 100%(20분) → 5%(20.1분) → 5%(25분)

[1110] 유속: 1.0 mL/분

[1111] 컬럼 온도: 30℃

[1112] 검출 파장: 210 nm (PDA)

표 1

[1113]

| 실시예 번호(화합물 번호) | HPLC 분석 조건 | 체류 시간(분) | 실시예 번호(화합물 번호) | HPLC 분석 조건 | 체류 시간(분) |
|---|---|---|---|---|---|
| 실시예 A-1(화합물 A2) | 방법 1 | 3.769 | 실시예 B-36(화합물 B25) | 방법 1 | 4.422 |
| 실시예 A-3(화합물 A5) | 방법 1 | 4.161 | 실시예 B-37(화합물 B26) | 방법 1 | 3.459 |
| 실시예 A-4(화합물 A7) | 방법 1 | 5.195 | 실시예 B-38(화합물 B27) | 방법 6 | 9.019 |
| 실시예 A-5(화합물 A8) | 방법 1 | 5.180 | 실시예 B-39(화합물 B28) | 방법 6 | 6.063 |
| 실시예 A-6(화합물 A9) | 방법 1 | 2.915 | 실시예 B-40(화합물 B11) | 방법 6 | 11.367 |
| 실시예 A-7(화합물 A11) | 방법 1 | 3.510 | 실시예 B-42(화합물 B29) | 방법 6 | 10.254 |
| 실시예 A-8(화합물 A12) | 방법 1 | 1.560 | 실시예 B-43(화합물 B30) | 없음 | 없음 |
| 실시예 A-9(화합물 A14) | 방법 1 | 4.356 | 실시예 C-1(화합물 C1) | 방법 1 | 4.663 |
| 실시예 A-10(화합물 A15) | 방법 1 | 2.297 | 실시예 C-2(화합물 C2) | 방법 1 | 2.714 |
| 실시예 A-11(화합물 A17) | 방법 1 | 6.166 | 실시예 C-3(화합물 C3) | 방법 1 | 4.443 |
| 실시예 A-12(화합물 A18) | 방법 1 | 2.725 | 실시예 C-4(화합물 C4) | 방법 1 | 2.918 |
| 실시예 A-13(화합물 A20) | 방법 1 | 4.189 | 실시예 C-5(화합물 C5) | 방법 1 | 4.445 |
| 실시예 A-14(화합물 A21) | 방법 1 | 2.846 | 실시예 C-6(화합물 C6) | 방법 1 | 2.892 |
| 실시예 A-15(화합물 A23) | 방법 1 | 4.978 | 실시예 C-7(화합물 C7) | 방법 1 | 4.701 |
| 실시예 A-16(화합물 A24) | 방법 1 | 4.220 | 실시예 C-8(화합물 C8) | 방법 1 | 5.566 |
| 실시예 A-17(화합물 A25) | 방법 3 | 21.235 | 실시예 C-9(화합물 C9) | 방법 1 | 3.582 |
| 실시예 A-18(화합물 A28) | 방법 4 | 4.500 | 실시예 C-10(화합물 C10) | 방법 3 | 22.077 |
| 실시예 A-19(화합물 A29) | 방법 4 | 2.389 | 실시예 C-11(화합물 C11) | 방법 2 | 4.628 |
| 실시예 A-20(화합물 A31) | 방법 4 | 4.065 | 실시예 C-12(화합물 C13) | 방법 3 | 21.380 |
| 실시예 A-22(화합물 A33) | 방법 2 | 4.256 | 실시예 C-13(화합물 C14) | 방법 3 | 18.926 |
| 실시예 A-23(화합물 A34) | 방법 3 | 21.670 | 실시예 C-14(화합물 C15) | 방법 3 | 13.418 |
| 실시예 A-24(화합물 A35) | 방법 3 | 19.027 | 실시예 D-1(화합물 D1) | 방법 1 | 3.695 |
| 실시예 A-25(화합물 A36) | 방법 3 | 13.323 | 실시예 D-2(화합물 D2) | 방법 1 | 1.974 |
| 실시예 A-29(화합물 A37) | 방법 4 | 2.937 | 실시예 D-10(화합물 D3) | 방법 4 | 2.538 |
| 실시예 B-1(화합물 B1) | 방법 1 | 3.519 | 실시예 D-11(화합물 D4) | 방법 4 | 4.004 |
| 실시예 B-3(화합물 B3) | 방법 1 | 3.543 | 실시예 D-12(화합물 D5) | 방법 4 | 2.510 |
| 실시예 B-4(화합물 B4) | 방법 1 | 1.670 | 실시예 D-13(화합물 D6) | 방법 4 | 4.235 |
| 실시예 B-5(화합물 B5) | 방법 1 | 3.893 | 실시예 D-15(화합물 D7) | 방법 7 | 5.964 |
| 실시예 B-6(화합물 B6) | 방법 1 | 4.937 | 실시예 D-16(화합물 D8) | 방법 4 | 3.057 |
| 실시예 B-7(화합물 B7) | 방법 1 | 2.747 | 실시예 D-17(화합물 D9) | 방법 1 | 5.452 |
| 실시예 B-8(화합물 B8) | 방법 3 | 20.037 | 실시예 D-18(화합물 D10) | 방법 1 | 4.564 |
| 실시예 B-10(화합물 B10) | 방법 2 | 4.054 | 실시예 D-19(화합물 D11) | 방법 3 | 21.550 |
| 실시예 B-11(화합물 B11) | 방법 3 | 21.617 | 실시예 D-20(화합물 D12) | 방법 3 | 19.111 |
| 실시예 B-12(화합물 B12) | 방법 3 | 19.638 | 실시예 D-21(화합물 D13) | 방법 3 | 12.952 |
| 실시예 B-13(화합물 B13) | 방법 3 | 12.613 | 실시예 E-2(화합물 E2) | 방법 1 | 4.469 |
| 실시예 B-22(화합물 B16) | 방법 1 | 4.613 | 실시예 E-3(화합물 E3) | 방법 1 | 2.956 |
| 실시예 B-23(화합물 B17) | 방법 1 | 3.686 | 실시예 E-4(화합물 E4) | 방법 1 | 3.427 |
| 실시예 B-25(화합물 B18) | 방법 1 | 4.374 | 실시예 E-5(화합물 E5) | 방법 1 | 5.361 |
| 실시예 B-26(화합물 B20) | 방법 1 | 4.481 | 실시예 E-6(화합물 E6) | 방법 1 | 4.510 |
| 실시예 B-27(화합물 B21) | 방법 1 | 3.107 | 실시예 E-7(화합물 E7) | 방법 3 | 21.328 |
| 실시예 B-30(화합물 B22) | 없음 | 없음 | 실시예 E-8(화합물 E8) | 방법 3 | 19.054 |
| 실시예 B-31(화합물 B23) | 방법 1 | 4.249 | 실시예 E-9(화합물 E9) | 방법 3 | 13.427 |

[1114] LCMS에 의한 분석 조건은 하기와 같다.

[1115] LCMS 분석 조건 방법 1

[1116] 장비: Waters ACQUITY UPLC H-Class + ACQUITY QDA

[1117] 컬럼: CAPCELL CORE ADME(OSAKA SODA), 2.1 mm ID x 50 mm, 2.7 μm

[1118] 이동상: 0.05% TFA/물 (A), 0.05% TFA/MeCN (B)

[1119] 용리 방법: B): 5%(0분) → 100%(5분) → 5%(5.1분) → 5%(7분)

[1120] 유속: 0.5 mL/분

[1121] 컬럼 온도: 35℃

[1122] 검출 파장: 210 nm (PDA)

[1123] LCMS 분석 조건 방법 2

[1124] 장비: Waters ACQUITY UPLC H-Class + ACQUITY QDA

[1125] 컬럼: Ascentis Express 90A C18(Sigma-Aldrich), 2.1 mm ID x 50 mm, 2.7 μm

[1126] 이동상: 0.05% TFA/물 (A), 0.05% TFA/MeCN (B)

[1127] 용리 방법: B) 5%(0분) → 100%(6분) → 5%(6.1분) → 5%(8분)

[1128] 유속: 0.5 mL/분

[1129] 컬럼 온도: 35℃

[1130] 검출 파장: 210 nm (PDA)

[1131] LCMS 분석 조건 방법 3

[1132] 장비: Waters SQD2

[1133] 컬럼: ACQUITY UPLC CSH C18 (Waters), 2.1 mm IDx150 mm, 1.7 μm

[1134] 이동상: 0.05% TFA/물 (A), 0.05% TFA/MeCN (B)

[1135] 용출 방법: B) 20%(0분) → 100%(24분) → 100%(29분) → 20%(29.1분) → 20%(34분)

[1136] 유속: 0.3 mL/분

[1137] 컬럼 온도: 50℃

[1138] 검출 파장: 220 nm (PDA)

[1139] LCMS 분석 조건 방법 4

[1140] 장비: Waters ACQUITY UPLC H-Class + ACQUITY QDA

[1141] 컬럼: Ascentis Express 90A C18(Sigma-Aldrich), 2.1 mm ID x 50 mm, 2.7 μm

[1142] 이동상: 0.05% TFA/물 (A), 0.05% TFA/MeCN (B)

[1143] 용출 방법: B): 5%(0분) → 100%(5분) → 5%(5.1분) → 5%(7분)

[1144] 유속: 0.5 mL/분

[1145] 컬럼 온도: 35℃

[1146] 검출 파장: 210 nm (PDA)

[1147] LCMS 분석 조건 방법 5

[1148] 장비: Waters ACQUITY UPLC H-Class + ACQUITY QDA

[1149] 컬럼: CAPCELL CORE ADME(OSAKA SODA), 2.1 mm ID x 50 mm, 2.7 μm

[1150] 이동상: 0.05% TFA/물 (A), 0.05% TFA/MeCN (B)

[1151] 용출 방법: B) 5%(0분) → 100%(10분) → 5%(10.1분) → 5%(12분)

[1152] 유속: 0.5 mL/분

[1153] 컬럼 온도: 35℃

[1154] 검출 파장: 210 nm (PDA)

[1155] LCMS 분석 조건 방법 6

[1156] 장비: Waters ACQUITY UPLC H-Class + SQ 검출기 2

[1157] 컬럼: ACQUITY UPLC CSH C18 (Waters), 2.1 mm ID x 100 mm, 1.7 μm

[1158] 이동상: 0.05% TFA/물 (A), 0.05% TFA/MeCN (B)

[1159] 용출 방법: B) 20%(0분) → 100%(10분) → 100%(13.5분) → 20%(13.6분) → 20%(18.0분)

[1160] 유속: 0.3 mL/분

[1161] 컬럼 온도: 50℃

[1162] 검출 파장: 210 nm (PDA)

표 2

[1163]

| 실시예 번호(화합물 번호) | HPLC 분석 조건 | 체류 시간(분) | MS Found (m/z) | MS 극성 | 실시예 번호(화합물 번호) | HPLC 분석 조건 | 체류 시간(분) | MS Found (m/z) | MS 극성 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 실시예 A-1(화합물 A2) | 방법 1 | 3.845 | 316 | $[M+Na]^+$ | 실시예 B-22(화합물 B16) | 방법 1 | 4.642 | 449 | $[M+H]^+$ |
| 실시예 A-2(화합물 A5) | 방법 2 | 3.708 | 407 | $[M+H]^+$ | 실시예 B-23(화합물 B17) | 방법 1 | 3.635 | 393 | $[M+H]^+$ |
| 실시예 A-5(화합물 A8) | 방법 1 | 4.936 | 544 | $[M+H]^+$ | 실시예 B-25(화합물 B18) | 방법 1 | 4.374 | 639 | $[M+H]^+$ |
| 실시예 A-6(화합물 A9) | 방법 1 | 2.637 | 400 | $[M+H]^+$ | 실시예 B-26(화합물 B20) | 방법 4 | 4.241 | 593 | $[M+Na]^+$ |
| 실시예 A-7(화합물 A11) | 방법 1 | 3.496 | 387 | $[M+Na]^+$ | 실시예 B-27(화합물 B21) | 방법 4 | 2.958 | 437 | $[M+H]^+$ |
| 실시예 A-8(화합물 A12) | 방법 1 | 1.532 | 231 | $[M+H]^+$ | 실시예 B-30(화합물 B22) | 방법 4 | 4.741 | 832 | $[M+H]^+$ |
| 실시예 A-9(화합물 A14) | 방법 1 | 4.329 | 526 | $[M+Na]^+$ | 실시예 B-31(화합물 B23) | 방법 1 | 4.237 | 775 | $[M+H]^+$ |
| 실시예 A-10(화합물 A15) | 방법 1 | 2.229 | 370 | $[M+H]^+$ | 실시예 B-36(화합물 B25) | 방법 5 | 6.914 | 637 | $[M+Na]^+$ |
| 실시예 A-11(화합물 A17) | 방법 1 | 6.181 | 599 | $[M+Na]^+$ | 실시예 B-37(화합물 B26) | 방법 1 | 3.307 | 581 | $[M+Na]^+$ |
| 실시예 A-12(화합물 A18) | 방법 1 | 2.749 | 503 | $[M+Na]^+$ | 실시예 B-38(화합물 B27) | 방법 6 | 9.79 | 1046 | $[M+H]^+$ |
| 실시예 A-13(화합물 A20) | 방법 1 | 4.206 | 735 | $[M+Na]^+$ | 실시예 B-39(화합물 B28) | 방법 6 | 5.50 | 890 | $[M+H]^+$ |
| 실시예 A-14(화합물 A21) | 방법 1 | 2.839 | 578 | $[M+H]^+$ | 실시예 B-40(화합물 B11) | 방법 6 | 10.66 | 1668 | $[M+Na]^+$ |
| 실시예 A-15(화합물 A23) | 방법 1 | 4.827 | 1000 | $[M+Na]^+$ | 실시예 B-42(화합물 B29) | 방법 6 | 11.00 | 1261 | $[M+Na]^+$ |
| 실시예 A-16(화합물 A24) | 방법 1 | 4.133 | 943 | $[M+Na]^+$ | 실시예 B-43(화합물 B30) | 방법 4 | 4.320 | 1182 | $[M+H]^+$ |
| 실시예 A-17(화합물 A25) | 방법 3 | 21.82 | 1325 | $[M+Na]^+$ | 실시예 C-3(화합물 C3) | 방법 1 | 4.339 | 481 | $[M+H]^+$ |
| 실시예 A-18(화합물 A28) | 방법 4 | 4.507 | 469 | $[M+H]^+$ | 실시예 C-5(화합물 C5) | 방법 1 | 4.374 | 566 | $[M+H]^+$ |

| | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 실시예 A29) | A-19(화합물 | 방법 4 | 2.411 | 335 | $[M+H]^+$ | 실시예 C7) | C-7(화합물 | 방법 2 | 4.226 | 679 | $[M+H]^+$ |
| 실시예 A31) | A-20(화합물 | 방법 4 | 4.083 | 574 | $[M+Na]^+$ | 실시예 C8) | C-8(화합물 | 방법 1 | 5.337 | 816 | $[M+H]^+$ |
| 실시예 A32) | A-21(화합물 | 방법 2 | 3.045 | 496 | $[M+H]^+$ | 실시예 C9) | C-9(화합물 | 방법 1 | 3.249 | 672 | $[M+H]^+$ |
| 실시예 A34) | A-23(화합물 | 방법 3 | 22.30 | 1668 | $[M+Na]^+$ | 실시예 C10) | C-10(화합물 | 방법 3 | 22.67 | 1575 | $[M+H]^+$ |
| 실시예 A36) | A-25(화합물 | 방법 3 | 13.76 | 1456 | $[M+H]^+$ | 실시예 C13) | C-12(화합물 | 방법 3 | 22.04 | 1668 | $[M+Na]^+$ |
| 실시예 B1) | B-1(화합물 | 방법 1 | 3.620 | 314 | $[M+Na]^+$ | 실시예 C15) | C-14(화합물 | 방법 3 | 13.93 | 1456 | $[M+H]^+$ |
| 실시예 B3) | B-3(화합물 | 방법 1 | 3.519 | 377 | $[M+H]^+$ | 실시예 D1) | D-1(화합물 | 방법 1 | 3.815 | 328 | $[M+Na]^+$ |
| 실시예 B5) | B-5(화합물 | 방법 2 | 3.477 | 490 | $[M+H]^+$ | 실시예 D9) | D-17(화합물 | 방법 3 | 21.57 | 1306 | $[M+Na]^+$ |
| 실시예 B6) | B-6(화합물 | 방법 1 | 4.739 | 627 | $[M+H]^+$ | 실시예 D13) | D-21(화합물 | 방법 3 | 13.34 | 1456 | $[M+H]^+$ |
| 실시예 B7) | B-7(화합물 | 방법 1 | 2.488 | 483 | $[M+H]^+$ | 실시예 E2) | E-2(화합물 | 방법 1 | 4.563 | 474 | $[M+H]^+$ |
| 실시예 B8) | B-8(화합물 | 방법 3 | 20.69 | 1408 | $[M+Na]^+$ | 실시예 E3) | E-3(화합물 | 방법 1 | 2.841 | 340 | $[M+H]^+$ |
| 실시예 B9) | B-9(화합물 | 방법 2 | 3.347 | 413 | $[M+H]^+$ | 실시예 E5) | E-5(화합물 | 방법 3 | 21.14 | 1403 | $[M+Na]^+$ |
| 실시예 B11) | B-11(화합물 | 방법 3 | 22.21 | 1668 | $[M+Na]^+$ | 실시예 E9) | E-9(화합물 | 방법 3 | 13.85 | 1456 | $[M+H]^+$ |
| 실시예 B13) | B-13(화합물 | 방법 3 | 13.10 | 1456 | $[M+H]^+$ | | | | | | |

[1164] $^1$H-NMR 스펙트럼은 핵자기 공명 장치 ECX500II(JEOL사 제조)를 이용하여 측정하였으며, 내부 표준 물질로 사용된 $Me_4Si$의 화학적 이동을 0 ppm으로 설정하고, 샘플 용매로부터의 중수소 잠금 신호를 참고하였다. 샘플 용매로서, 측정 목적에 따라 상업적으로 입수가능한 중수소화 용매를 사용하였다. 신호의 적분값은 각 신호의 신호 면적 강도의 비율을 기초로 계산되었다.

[1165] qNMR에 의한 측정 방법은 표적 화합물 및 내부 표준 물질을 함유하는 잔류물을 DMSO-$d_6$에 용해하고 하기의 분석 조건을 거쳐 실시되었다. 수율은 qNMR에 의해 계산된 잔류물 내 표적 화합물의 함량 값 및 HPLC에 의해 계산된 잔류물 내 표적 화합물의 순도 값을 사용하여 하기 식에 의해 계산되었다.

*수학식 1*

$$\text{수율}(\%) = \frac{\text{잔류물의 중량}(mg) \times \text{함량}(\%) \times \text{순도}(\%)}{\text{이론적 수율}(mg)} \times 100$$

[1166]

[1167] 측정 장치: JNM-ECZ500R

[1168] 내부 표준 물질: 1,3,5-트리메톡시벤젠 또는 3,5-비스(트리플루오로메틸)벤조산

[1169] 측정 조건($^1$H-NMR): DMSO-$d_6$, 24.3℃, 펄스각 90° , 디지털 분해능 0.25 Hz, 이완 시간 60초, 스핀 없음, 누적 횟수 8회

[1170] 측정 조건($^{19}$F-NMR): DMSO-$d_6$, 24.3℃, 펄스각 90° , 디지털 분해능 0.22 Hz, 이완 시간 60초, 스핀 없음, 누적 횟수 8회

[1171] HPLC 및 LCMS에 의한 측정 방법은 하기의 방법들 중 임의의 것에 따라 표적 화합물을 샘플로서 함유하는 혼합 용액을 제조하고, 이를 전술한 분석 조건에 적용함으로써 실시되었다.

[1172] 샘플 제조 방법 1: 표적 화합물을 함유하는 혼합 용액을 아세토니트릴로 희석하였다.

[1173] 샘플 제조 방법 2: 표적 화합물을 함유하는 혼합 용액을 9 : 1 비율의 아세토니트릴과 프로필아민의 혼합 용액으로 희석하였다.

[1174] 샘플 제조 방법 3: 표적 화합물을 함유하는 혼합 용액을 메탄올로 희석하였다.

[1175] 샘플 제조 방법 4: 표적 화합물을 함유하는 혼합 용액을 4 : 1 비율의 메탄올과 물의 혼합 용액으로 희석하였다.

[1176] 샘플 제조 방법 5: 표적 화합물을 함유하는 혼합 용액을 10 : 1 비율의 아세토니트릴과 프로필아민의 혼합 용액으로 희석하였다.

[1177] 반응 전환율은 HPLC 분석에 의해 계산된 출발 물질의 면적값과 표적 물질의 면적값, 또는 출발 물질의 면적값, 출발 물질의 프로필아미드 유도체의 면적값과 표적 물질의 면적값, 또는 반응 전 출발 물질의 면적값과 반응 후 출발 물질의 면적값을 이용하여 하기의 식들 중 임의의 것에 의해 계산하였다.

[1178] 계산식 1: 반응 전환율(%) = 표적 물질의 면적값/(출발 물질의 면적값 + 표적 물질의 면적값) x 100

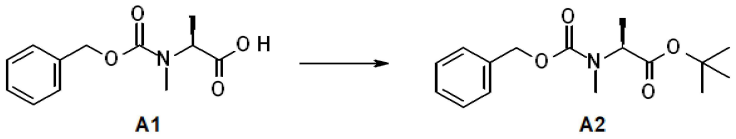
[1179] 계산식 2: 반응 전환율(%) = 100 - (반응 후 출발 물질의 면적값/반응 전 출발 물질의 면적값 x 100)

[1180] 계산식 3: 반응 전환율(%) = 표적 물질의 면적값/(출발 물질의 면적값 + 출발 물질의 프로필아미드 유도체의 면적값 + 표적 물질의 면적값) x 100

[1181] 실시예 A-1

[1182] 화합물 A2의 합성: tert-부틸 (2S)-2-[벤질옥시카르보닐(메틸)아미노]프로파노에이트

[1183] [화학식 48]

[1184] 


[1185] 화합물 A1(5.00 g)을 반응 용기에 첨가하였다. 다음으로, 디클로로메탄(10 mL) 및 시클로헥산(40 mL)을 실온에서 반응 용기에 첨가하였다. 반응 용기의 내부를 수소로 대체하고 tert-부틸 2,2,2-트리클로로아세트이미데이트(7.55 mL) 및 삼불화붕소 디에틸에테르 복합체(267 μL)를 첨가한 후, 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 91.7%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 생성된 슬러리를 여과하고, 고체 잔류물을 시클로헥산으로 세척하였다. 여액을 10% 시트르산 수용액(40 mL x 9), 5% 탄산나트륨 수용액(40 mL x 3), 포화 NaCl 수용액(40 mL)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수하고 여과하여 황산나트륨을 제거하였다. 생성된 여액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 A2를 함유하는 잔류물(5.05 g)을 수득하였다.

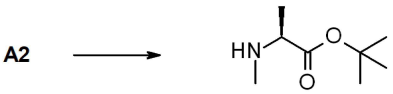
[1186] 화합물 A2의 LC 체류 시간: 3.769분(HPLC 분석 조건: 방법 1)

[1187] 화합물 A2의 LCMS(ESI) 체류 시간: 3.845분, m/z = 316.08 $[M+Na]^+$ (LCMS 분석조건: 방법 1)

[1188] 실시예 A-2

[1189] 화합물 A3의 합성: tert-부틸 (2S)-2-(메틸아미노)프로파노에이트

[1190] [화학식 49]




A3

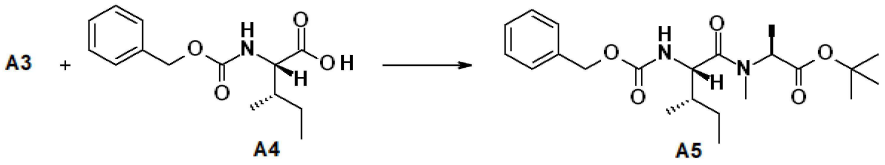
[1191]

[1192] 실시예 A-1에서 수득한 화합물 A2를 함유하는 잔류물(4.03 g)을 반응 용기에 첨가하였다. 다음으로, 2-MeTHF(42 mL) 및 5% Pd/C(2.92 g, 50% 수성 함량)를 실온에서 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기의 내부를 수소로 치환하고, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 용기의 내부를 다시 수소로 치환한 후, 혼합물을 실온에서 추가로 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 2)임을 확인하였다. 반응 용기의 내부를 질소로 치환한 후, 반응 혼합물을 여과지 및 필터를 이용하여 감압하에 여과하였다. 반응 용기와 여과지 및 필터를 2-MeTHF(21 mL x 2)로 세척하였다. 생성된 여액 및 세척액을 혼합하고, 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 A3을 함유하는 잔류물(1.66 g)을 수득하였다.

[1193] 실시예 A-3

[1194] 화합물 A5의 합성: tert-부틸 (2S)-2-[[(2S,3S)-2-(벤질옥시카르보닐아미노)-3-메틸-펜타노일]-메틸-아미노]프로파노에이트

[1195] [화학식 50]




[1196]

[1197] 실시예 A-2에서 수득한 화합물 A3를 함유하는 잔류물(1.66 g) 및 화합물 A4(3.29 g)를 반응 용기에 첨가하고, 반응 용기를 질소 치환하였다. 다음으로, 2-MeTHF(16 mL), 톨루엔(17 mL), MeCN(2.7 mL), 및 DIPEA(11.0 mL)를 실온에서 순차적으로 첨가하였다. HATU(5.96 g)를 교반하면서 첨가한 후 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 후 1시간 및 2시간의 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 불순물 프로파일에 차이가 없음을 확인하였다. N-메틸이미다졸(0.9 mL)을 반응 용기에 첨가하고, 5% 탄산나트륨 수용액(40 mL)을 교반하면서 추가로 첨가한 후, 혼합물을 1시간 동안 교반하였다. 다음으로, 2.5% 암모니아 수용액(40 mL)을 첨가하고, 혼합물을 15분 동안 교반하였다. 수성층을 배출한 후, 생성된 유기층을 2.5% 암모니아 수용액(60 mL), 5% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(60 mL x 2), 및 3% 인산수소이칼륨 수용액(60 mL)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수하고 여과하여 황산나트륨을 제거하였다. 생성된 여액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 A5를 함유하는 잔류물(3.88 g)을 수득하였다.

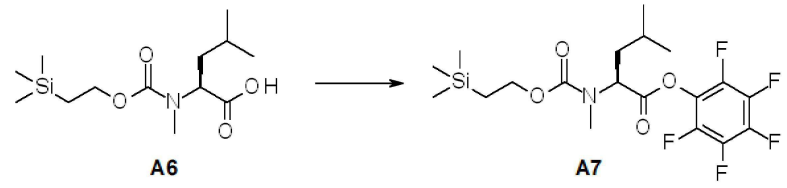
[1198] 화합물 A5의 LC 체류 시간: 4.161분(HPLC 분석 조건: 방법 1)

[1199] 화합물 A5의 LCMS (ESI) 체류 시간: 3.708분, m/z = 407.31 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건: 방법 2, 방법 4의 컬럼을 LC 컬럼으로서 사용하였음)

[1200] 실시예 A-4

[1201] 화합물 A7의 합성: (2,3,4,5,6-펜타플루오로페닐) (2S)-4-메틸-2-[메틸(2-트리메틸실릴에톡시카르보닐)아미노]펜타노에이트

[1202] [화학식 51]




[1203]

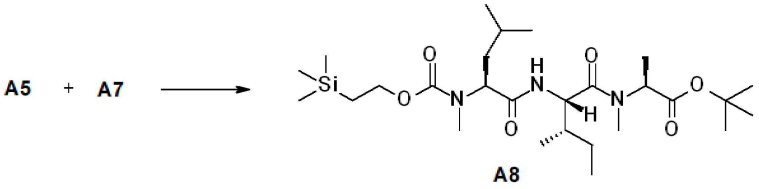
[1204] 화합물 A6(15.8 g) 및 2,3,4,5,6-펜타플루오로페놀(12.6 g)을 실온에서 반응 용기에 첨가하고, 반응 용기를 질소 치환하였다. 다음으로, 이소프로필 아세테이트(100 mL)와 DMF(100 mL)를 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 0℃로 설정하고, 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)-카르보디이미드(13.1 g)를 교반하면서 첨가한 후, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 외부 온도를 0℃로 설정하고, 0.5 N 염산 수용액(100 mL)을 교반하면서 첨가한 후, 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반하였다. 수성층을 배출한 후, 생성된 유기층을 0.5 N 염산 수용액(100 mL)으로 세척한 후, DMF(10 mL) 및 5% 탄산칼륨 수용액(100 mL)을 첨가하여 세척하였다. 다음으로, 유기층을 5% 탄산칼륨 수용액(100 mL)과 포화 NaCl 수용액(100 mL)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수하고 여과하여 황산나트륨을 제거하였다. 생성된 여액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 A7을 함유하는 잔류물(23.9 g)을 수득하였다.

[1205] 화합물 A7의 LC 체류 시간: 5.195분(HPLC 분석 조건: 방법 1)

[1206] 실시예 A-5

[1207] 화합물 A8의 합성: tert-부틸 (2S)-2-[메틸-[(2S,3S)-3-메틸-2-[[(2S)-4-메틸-2-[메틸(2-트리메틸실릴에톡시카르보닐)아미노]펜타노일]아미노]펜타노일]아미노]프로파노에이트

[1208] [화학식 52]




[1209]

[1210] 실시예 A-3에서 수득한 화합물 A5를 함유하는 잔류물(2.88 g) 및 이소프로필 아세테이트(8.3 mL)를 반응 용기에 첨가하였다. 다음으로, 실시예 A-4에서 수득한 화합물 A7을 함유하는 잔류물(3.88 g), 톨루엔(2.3 mL), 아세톤(23 mL), NMM(4.67 mL), 및 5% Pd/C(1.51 g, 50% 수성 함량)를 실온에서 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기의 내부를 수소로 치환하고, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 내부를 질소로 치환한 후, Pd/C를 여과지 및 필터를 이용하여 감압하에 여과하였다. 반응 용기와 여과지 및 필터를 2-MeTHF(50 mL)로 세척하였다. 생성된 용액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하였다. 생성된 잔류물을 2-MeTHF(40 mL)에 용해시키고, 5% 탄산칼륨(40 mL) 및 DMAP(873 mg)를 교반하면서 첨가한 후, 2.5시간 동안 교반하였다. 다음으로, 5% 황산수소칼륨 수용액(40 mL)을 첨가하고, 혼합물을 30분 동안 교반하였다. 수성층을 배출한 후, 생성된 유기층을 5% 황산수소칼륨 수용액(40 mL) 및 5% 탄산칼륨 수용액(40 mL x 2)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수하고 여과하여 황산나트륨을 제거하였다. 생성된 여액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 A8을 함유하는 잔류물(3.58 g)을 수득하였다.

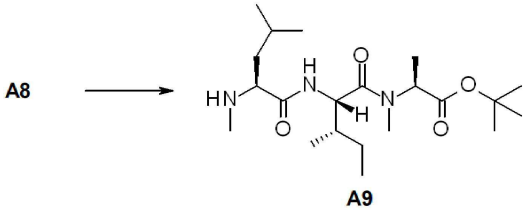
[1211] 화합물 A8의 LC 체류 시간: 5.180분(HPLC 분석 조건: 방법 1)

[1212] 화합물 A8의 LCMS(ESI) 체류 시간: 4.936분, m/z = 544.31 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건: 방법 1)

[1213] 실시예 A-6

[1214] 화합물 A9의 합성: tert-부틸 (2S)-2-[메틸-[(2S,3S)-3-메틸-2-[[(2S)-4-메틸-2-(메틸아미노)펜타노일]아미노]펜타노일]아미노]프로파노에이트

[1215] [화학식 53]




[1216]

[1217] 실시예 A-5에서 수득한 화합물 A8을 함유하는 잔류물(2.56 g) 및 2-MeTHF(5.0 mL)를 실온에서 반응 용기에 첨가하고, 반응 용기를 질소 치환하였다. 다음으로, 반응 용기의 외부 온도를 50℃로 설정하고, 1 M TBAF(11.8 mL)를 교반하면서 첨가한 후, 혼합물을 50℃의 외부 온도에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 외부 온도 설정치를 0℃로 설정하고, IPAc(10 mL) 및 5% 탄산칼륨(10 mL)을 교반하면서 첨가한 후, 혼합물을 실온에서 15분 동안 교반하였다. 수성층을 배출한 후, 생성된 유기층을 5% 탄산칼륨(10 mL x 2)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수하고 여과하여 황산나트륨을 제거하였다. 생성된 여액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 A9를 함유하는 잔류물(1.54 g)을 수득하였다.

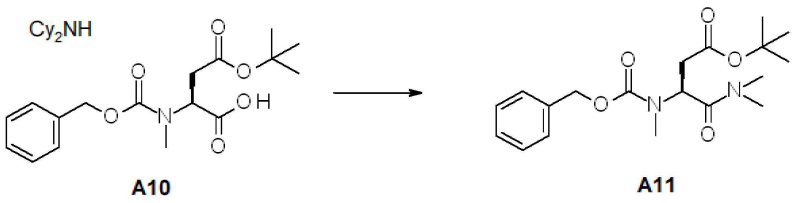
[1218] 화합물 A9의 LC 체류 시간: 2.915분(HPLC 분석 조건: 방법 1)

[1219] 화합물 A9의 LCMS(ESI) 체류 시간: 2.637분, m/z = 400.34 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건: 방법 1)

[1220] 실시예 A-7

[1221] 화합물 A11의 합성: (tert-부틸 (3S)-3-[벤질옥시카르보닐(메틸)아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노에이트)

[1222] [화학식 54]

[1223] 

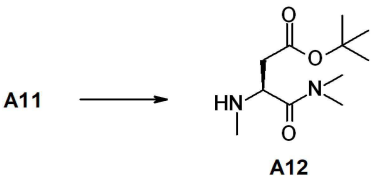

[1224] 질소 치환 후 반응 용기에 화합물 A10(415 g) 및 2-MeTHF(2.4 L)를 실온에서 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 10℃로 설정하고, 반응 혼합물을 교반하면서 DIPEA(281 g)와 디메틸아민-THF 용액(2 M, THF 용액, 560 mL)을 순차적으로 첨가하고, 혼합물을 30분 동안 교반하였다. T3P(50 w/w%, 2-MeTHF 용액, 750 mL)를 첨가한 후, 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하고, 혼합물을 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 3), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 100%(출발 물질이 검출되지 않음)(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 외부 온도를 10℃로 설정하고, 10% 시트르산 일수화물 수용액(2.5 L)을 반응 혼합물에 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하고, 혼합물을 10분 동안 교반하였다. 이어서, 교반을 중지하고, 수성층을 반응 용기로부터 배출하였다. 생성된 유기층을 10% 시트르산 일수화물 수용액(2.5 L) 및 5% 탄산나트륨 수용액(2.5 L x 2)으로 세척하였다. 생성물을 40℃의 외부 온도에서 액체 부피가 약 500 mL가 될 때까지 감압하에 농축하여 화합물 A11을 함유하는 용액(500g)을 수득하였다.

[1225] 화합물 A11의 LC 체류 시간: 3.510분(HPLC 분석 조건: 방법 3)

[1226] 실시예 A-8

[1227] 화합물 A12의 합성 (tert-부틸 (3S)-4-(디메틸아미노)-3-(메틸아미노)-4-옥소-부타노에이트)

[1228] [화학식 55]

[1229] 


[1230] 질소 치환 후 반응 용기에 5% Pd/C(116 g, 50% 수성 함량), 실시예 A-7에서 수득한 화합물 A11을 함유하는 용액(485 g), 및 2-MeTHF(2.1 L)를 순차적으로 실온에서 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하였고, 반응 용기의 내부 압력이 0.18 MPaG이 될 때까지 반응 용기를 수소로 가압하였다. 1시간 30분 동안 교반한 후, 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 100%(출발 물질이 검출되지 않음)(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 내부를 질소로 치환한 후, 반응 혼합물을 가압 여과하였다. 반응 용기의 내부 및 여과 장치를 2-MeTHF(1.2 L x 2)로 세척하고, 여액 및 세척

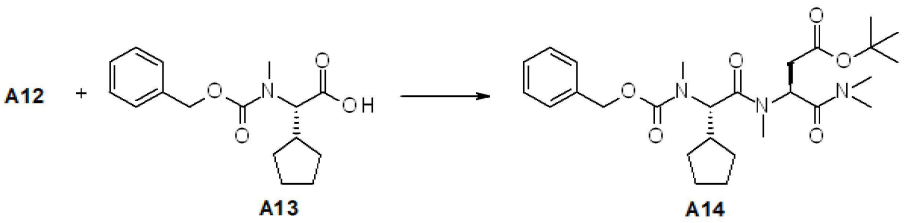
액을 저장 용액으로서 저장 용기 내에 수집하였다. 생성물을 40℃의 외부 온도에서 액체 부피가 약 300 mL가 될 때까지 감압하에 농축하여 화합물 A12를 함유하는 용액(291 g)을 수득하였다.

[1231] 화합물 A12의 LC 체류 시간: 1.56분(HPLC 분석 조건: 방법 3)

[1232] 실시예 A-9

[1233] 화합물 A14의 합성 (tert-부틸 (3S)-3-[[(2S)-2-[벤질옥시카르보닐(메틸)아미노]-2-시클로펜틸-아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노에이트)

[1234] [화학식 56]




[1235]

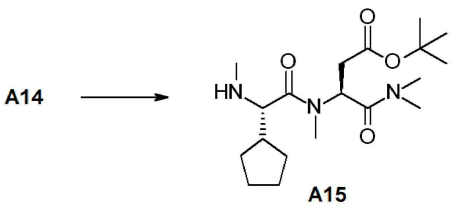
[1236] 반응 용기에 실시예 A-8에서 수득한 A12를 함유하는 용액(291 g), 화합물 A13(49 w/w% 2-MeTHF 용액, 548 g), 2-MeTHF(445 mL) 및 아세토니트릴(310 mL)을 실온에서 첨가하였다. 외부 온도를 10℃로 냉각하고, DIPEA(439 g) 및 HATU(434 g)를 순차적으로 첨가한 후, 외부 온도를 25℃로 가온시켰다. 반응 혼합물을 25℃에서 5시간 동안 교반한 후, 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 98.6%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기에 CPME(402 mL), 5% 탄산칼륨 수용액(309 mL), 및 N-메틸이미다졸(62.6 g)을 순차적으로 첨가하고, 혼합물을 30분 동안 교반하였다. 이후, 2.5% 암모니아 수용액(1.2 L)을 첨가한 후, 혼합물을 10분 동안 교반한 후, 수성층을 배출하였다. 생성된 유기층을 2.5% 암모니아 수용액(1.5 L), 10% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(1.5 L x 2), 및 5% 탄산칼륨 수용액(1.5 L)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 40℃의 외부 온도에서 교반하면서 액체 부피가 약 700 mL가 될 때까지 감압하에 농축하여 화합물 A14를 함유하는 용액(649 g)을 수득하였다.

[1237] 화합물 A14의 LC 체류 시간: 4.356분(HPLC 분석 조건: 방법 3)

[1238] 실시예 A-10

[1239] 화합물 A15의 합성 (tert-부틸 (3S)-3-[[(2S)-2-시클로펜틸-2-(메틸아미노)아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노에이트)

[1240] [화학식 57]




[1241]

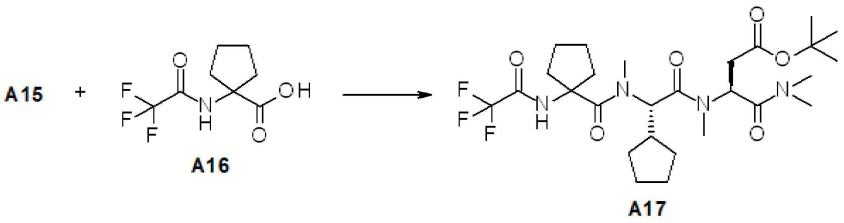
[1242] 질소 치환 후 반응 용기에 5% Pd/C(112 g, 50% 수성 함량), 실시예 A-9에서 수득한 화합물 A14를 함유하는 용액(642 g), 및 2-MeTHF(2.0 L)를 순차적으로 실온에서 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하였고, 반응 용기의 내부 압력이 0.18 MPaG이 될 때까지 반응 용기를 수소로 가압하였다. 혼합물을 2시간 동안 교반하고, 내부 압력의 변동은 확인되지 않았다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 100%(출발 물질이 검출되지 않음)(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 내부를 질소로 치환한 후, 반응 혼합물을 가압 여과하였다. 반응 용기의 내부 및 여과 장치를 2-MeTHF(1.1 L x 2)로 세척하고, 여액 및 세척액을 저장 용액으로서 수집하였다. 생성된 여액 및 세척액을 40℃의 외부 온도에서 교반하면서 반응 혼합물의 액체 부피가 약 550 mL가 될 때까지 감압하에 농축하여 화합물 A15를 함유하는 용액(597 g)을 수득하였다.

[1243] 화합물 A15의 LC 체류 시간: 2.297분(HPLC 분석 조건: 방법 3)

[1244] 실시예 A-11

[1245] 화합물 A17의 합성 (tert-부틸 (3S)-3-[[(2S)-2-시클로펜틸-2-[메틸-[1-[(2,2,2-트리플루오로아세틸)아미노]시클로펜탄카르보닐]아미노]아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노에이트)

[1246] [화학식 58]




[1247]

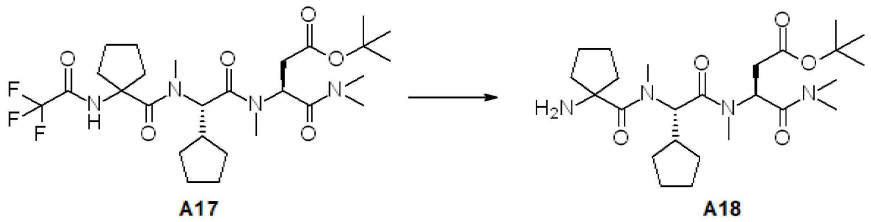
[1248] 질소 치환 후 반응 용기에 화합물 A16(333 g) 및 2-MeTHF(1.8 L)를 실온에서 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 10℃로 설정하고, DIPEA(477 g), 실시예 A-10에서 수득한 화합물 A15를 함유하는 용액(585 g), T3P(50 w/w%, 2-MeTHF 용액, 1.2 L), 및 DMAP(180 g)를 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 50℃로 설정하고, 혼합물을 5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.4%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 외부 온도를 10℃로 설정하고, 5% 탄산나트륨 수용액(2.2 L)을 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하고, 혼합물을 30분 동안 교반한 후, 교반을 정지하고, 수성층을 반응 용기로부터 배출하였다. 이후, 5% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(2.2 L)을 첨가하였다. 혼합물을 10분 동안 교반한 후, 교반을 정지하고, 수성층을 반응 용기로부터 배출하였다. 생성된 유기층을 5% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(2.2 L) 및 5% 탄산나트륨 수용액(2.2 L)으로 세척하였다. 생성물을 40℃의 외부 온도에서 액체 부피가 약 850 mL가 될 때까지 감압하에 농축하였다. 2-MeTHF(650 mL)를 첨가한 후, 혼합물을 40℃의 외부 온도에서 액체 부피가 약 850 mL가 될 때까지 감압하에 다시 농축하여 화합물 A17을 함유하는 용액(721 g)을 수득하였다.

[1249] 화합물 A17의 LC 체류 시간: 6.166분(HPLC 분석 조건: 방법 3)

[1250] 실시예 A-12

[1251] 화합물 A18의 합성 (tert-부틸 (3S)-3-[[(2S)-2-[(1-아미노시클로펜탄카르보닐)-메틸-아미노]-2-시클로펜틸-아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노에이트)

[1252] [화학식 59]




[1253]

[1254] 질소 치환 후 반응 용기에 화합물 A17을 함유한 용액(3.42 kg), 2-MeTHF(3.4 L), 및 메탄올(450 mL)을 실온에서 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 -20℃로 설정하고, $LiBH_4$(4 M, THF 용액, 1.39 L)을 교반하면서 첨가한 후, 혼합물을 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 4), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 100%(출발 물질이 검출되지 않음)(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 외부 온도를 -10℃로 설정하고, 20% 염화암모늄 수용액(4.0 L)을 3시간에 걸쳐 적가하였다. 혼합물을 25℃의 외부 온도에서 1시간 동안 교반한 후, 교반을 정지하고, 수성층을 반응 용기로부터 배출하였다. 반응 용기의 외부 온도를 10℃로 설정하고, 트리플루오로아세트산(158 g)을 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하고, 혼합물을 1시간 동안 교반하였다. 생성된 반응 혼합물 및 반응 용기를 2-MeTHF(100 mL x 2)로 세척하여 수득한 세척액을 취합하여 저장 용기 내에 수집하였다. 질소 치환 후 다른 반응 용기에 2 M 수산화나트륨 수용액(4.0 L)을 실온에서 첨가하고, 반응 용기의 외부 온도를 10℃로 설정하였다. 저장 용기 내에 수집된 반응 혼합물을 50분에 걸쳐 적가한 후, 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하였다. 혼합물을 10분 동안 교반한 후, 교반을 정지하고, 수성층을 반응 용기로부터 배출하였다. 생성된 유기층을 2 M 수산

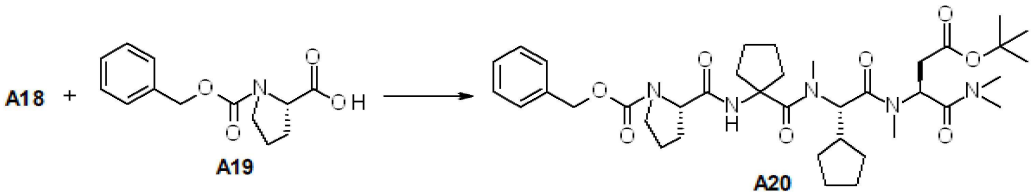
화나트륨 수용액(4.0 L) 및 10% 인산수소이칼륨 수용액(4.0 L)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 40℃의 외부 온도에서 액체 부피가 약 1.3 L이 될 때까지 감압하에 농축하였다. 2-MeTHF(1.6 L)를 첨가한 후, 혼합물을 40℃의 외부 온도에서 액체 부피가 약 1.3 L이 될 때까지 다시 감압하에 농축하였다. 이러한 농축 작업을 3회 반복하여 화합물 A18을 함유하는 용액(1.19 kg)을 수득하였다.

[1255] 화합물 A18의 LC 체류 시간: 2.725분(HPLC 분석 조건: 방법 3)

[1256] 실시예 A13

[1257] 화합물 A20의 합성: (벤질 (2S)-2-[[1-[[(1S)-2-[[(1S)-3-tert-부톡시-1-(디메틸카르바모일)-3-옥소-프로필]-메틸-아미노]-1-시클로펜틸-2-옥소-에틸]-메틸-카르바모일]시클로펜틸]카르바모일]피롤리딘-1-카르복실레이트)

[1258] [화학식 60]

[1259] 

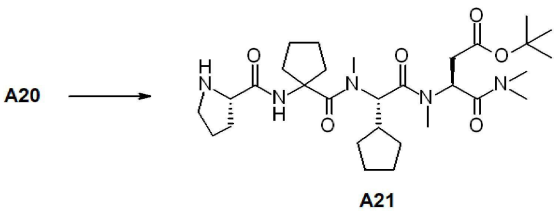

[1260] 질소 치환 후 반응 용기에 실시예 A-12에서 수득한 화합물 18을 함유하는 용액(585 g, 2-MeTHF 용액), 및 아세토니트릴(1.6 L)을 순차적으로 실온에서 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 10℃로 설정하고, 화합물 A19(220 g), DIPEA(264 g), 2-브로모-1-에틸피리디늄 테트라플루오로보레이트(279 g)를 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하고, 혼합물을 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.6%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 외부 온도를 10℃로 설정하고, CPME(3.3 L), 5% 탄산칼륨 수용액(2.0 L), 및 N-메틸이미다졸(55.8 g)을 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하고, 혼합물을 30분 동안 교반한 후, 수성층을 반응 용기로부터 배출하였다. 생성된 유기층을 5% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(2.5 L x 2) 및 5% 탄산나트륨 수용액(2.0 L x 2)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 40℃의 외부 온도에서 액체 부피가 약 1 L가 될 때까지 감압하에 농축하였다. 생성된 잔류물에 THF(1.6 L)를 첨가하여 화합물 A20을 함유하는 용액(2.09 kg)을 수득하였다.

[1261] 화합물 A20의 LC 체류 시간: 4.189분(HPLC 분석 조건: 방법 3)

[1262] 실시예 A-14

[1263] 화합물 A21의 합성: (tert-부틸 (3S)-3-[[(2S)-2-시클로펜틸-2-[메틸-[1-[[(2S)-피롤리딘-2-카르보닐]아미노]시클로펜탄카르보닐]아미노]아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노에이트)

[1264] [화학식 61]

[1265] 

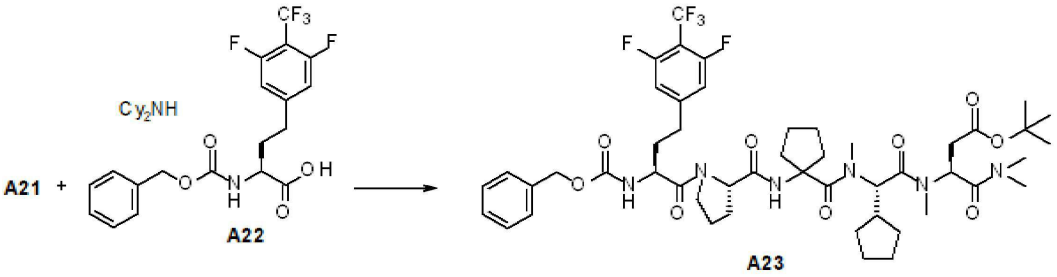

[1266] 질소 치환 후 반응 용기에 5% Pd/C(100 g, 50% 수성 함량), 실시예 A-13에서 수득한 화합물 A20을 함유하는 용액(2.09 kg), 및 THF(0.5 L)를 순차적으로 실온에서 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하였고, 반응 용기의 내부 압력이 0.18 MPaG이 될 때까지 반응 용기를 수소로 가압하였다. 2시간 30분 후, 내부 압력의 변동은 확인되지 않았다. 이후 반응 용기를 질소로 치환한 다음, 수소로 0.18 MPaG까지 가압하고, 반응 혼합물을 추가 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.5%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 내부를 질소로 치환한 후, 반응 혼합물을 가압 여과하였다. 반응 용기 및 여과 장치를 2-MeTHF(1.0 L x 2)로 세척하였다. 생성된 여액 및 세척액을 40℃의 외부 온도에서 액체 부피가 약 0.8 L가 될 때까지 감압하에 농축하여 화합물 A21을 함유하는 용액(530 g)을 수득하였다.

[1267] 화합물 A21의 LC 체류 시간: 2.846분(HPLC 분석 조건: 방법 3)

[1268] 실시예 A-15

[1269] 화합물 A23의 합성: (tert-부틸 (3S)-3-[[(2S)-2-[[1-[[(2S)-1-[(2S)-2-(벤질옥시카르보닐아미노)-4-[3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐]부타노일]피롤리딘-2-카르보닐]아미노]시클로펜탄카르보닐]-메틸-아미노]-2-시클로펜틸-아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노에이트)

[1270] [화학식 62]




[1271]

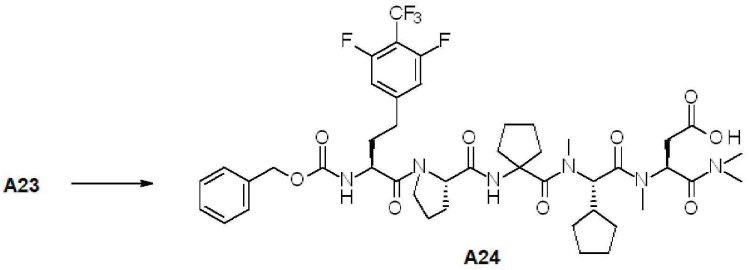
[1272] 질소 치환 후 반응 용기에 실시예 A-14에서 수득한 화합물 A21을 함유한 용액(1.10 kg), 2-MeTHF(1.4 L), 및 화합물 A22(545 g)를 실온에서 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 10℃로 설정하고, DIPEA(432 g) 및 T3P(50 w/w% 2-MeTHF 용액, 1.16 kg)를 순차적으로 교반하면서 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하고, 혼합물을 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.8%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 외부 온도를 15℃로 설정하고, 5% 탄산칼륨 수용액(2.6 L) 및 N-메틸이미다졸(62.3 g)을 교반하면서 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하고, 혼합물을 30분 동안 교반한 후, 수성층을 반응 용기로부터 배출하였다. 생성된 유기층을 10% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(2.6 L x 2)으로 세척한 후, 아세토니트릴(1.0 L), MTBE(1.1 L), 헵탄(1.6 L), 및 2.5% 탄산칼륨 수용액(2.5 L)을 25℃의 외부 온도에서 순차적으로 첨가하였다. 혼합물을 10분 동안 교반한 후, 교반을 정지한 다음, 수성층을 반응 용기로부터 배출하였다. 생성된 유기층에 아세토니트릴(1.5 L), 2-MeTHF(0.44 L), 및 2.5% 탄산칼륨 수용액(3.8 L)을 첨가하고, 혼합물을 10분 동안 교반하였다. 교반을 중지한 후, 수성층을 반응 용기로부터 배출하였다. 생성된 유기층에 아세토니트릴(1.5 L) 및 2.5% 탄산칼륨 수용액(3.8 L)을 첨가하고, 혼합물을 10분 동안 교반하였다. 교반을 중지한 후, 수성층을 반응 용기로부터 배출하였다. 생성된 유기층을 40℃의 외부 온도에서 액체 부피가 약 1.5 L가 될 때까지 감압하에 농축하였다. IPAc(1.5 L)를 생성된 잔류물에 첨가하고, 감압하에 농축하는 작업을 반응 혼합물의 액체 부피가 약 1.5 L가 될 때까지 2회 반복하여 화합물 A23을 함유하는 용액(1.55 kg)을 수득하였다.

[1273] 화합물 A23의 LC 체류 시간: 4.978분(HPLC 분석 조건: 방법 3)

[1274] 실시예 A-16

[1275] 화합물 A24의 합성: ((3S)-3-[[(2S)-2-[[1-[[(2S)-1-[(2S)-2-(벤질옥시카르보닐아미노)-4-[3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐]부타노일]피롤리딘-2-카르보닐]아미노]시클로펜탄카르보닐]-메틸-아미노]-2-시클로펜틸-아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부탄산)

[1276] [화학식 63]




[1277]

[1278] 질소 치환 후 반응 용기에 실시예 A-15에서 수득한 화합물 A23을 함유한 용액(1.31 kg), 이소프로필 아세테이트(2.5 L), 및 헥사메틸디실라잔(336 mL)을 실온에서 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 0℃로 설

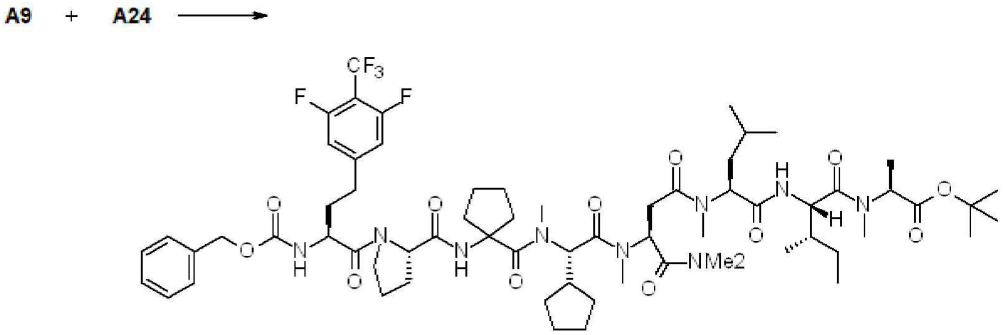
정하고, 트리메틸실릴 트리플루오로메탄설포네이트(232 mL)를 첨가하였다. 외부 온도를 25℃로 설정하고, 반응 혼합물을 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 외부 온도를 0℃로 설정하고, 2-MeTHF(3.2 L) 및 5% 인산수소이나트륨 수용액(6.4 L)을 반응 용기에 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하고, 반응 혼합물을 10분 동안 교반하였다. 이어서, 교반을 중지하고, 수성층을 반응 용기로부터 배출하였다. 이어서, 유기층을 5% 인산이수소나트륨 수용액 (6.4 L) 및 15% 염화나트륨(6.4 L)으로 세척하였다. 생성된 유기층에 DIPEA(366 g)를 교반하면서 첨가한 후, 혼합물을 40℃의 외부 온도에서 액체 부피가 약 1.2 mL가 될 때까지 감압하에 농축하여 화합물 A24를 함유하는 용액(1.27 kg)을 수득하였다.

[1279] 화합물 A24의 LC 체류 시간: 4.220분(HPLC 분석 조건: 방법 3)

[1280] 실시예 A-17

[1281] 화합물 A25의 합성: tert-부틸 (2S)-2-[[(2S,3S)-2-[[(2S)-2-[[(3S)-3-[[(2S)-2-[[1-[[(2S)-1-[(2S)-2-(벤질옥시카르보닐아미노)-4-[3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐]부타노일]피롤리딘-2-카르보닐]아미노]시클로펜탄카르보닐]-메틸-아미노]-2-시클로펜틸-아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노일]-메틸-아미노]-4-메틸-펜타노일]아미노]-3-메틸-펜타노일]-메틸-아미노]프로파노에이트

[1282] [화학식 64]




A25

[1283]

[1284] 실시예 A-16에서 수득한 화합물 A24를 함유하는 용액(4.02 g)을 반응 용기에 첨가하였다. 실시예 A-6에서 수득한 화합물 A9를 함유하는 잔류물(0.797 g), 2-MeTHF(36 mL), DMF(9.2 mL), 및 DIPEA(1.77 mL)를 순차적으로 실온에서 첨가하고, 반응 용기를 질소 치환하였다. 다음으로, HATU(1.59 g)를 교반하면서 첨가한 후 혼합물을 실온에서 20시간 동안 교반하였다. 이어서, 실시예 A-6에서 수득한 화합물 A9를 함유하는 잔류물(0.04 g) 및 HATU(0.37 g)를 첨가하고, 혼합물을 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기에 2.5% 암모니아 수용액(32 mL)을 첨가하고, 혼합물을 30분 동안 교반하였다. 수성층을 배출한 후, 생성된 유기층을 10% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(28 mL x 3) 및 5% 탄산칼륨 수용액(28 mL x 2)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수하고 여과하여 황산나트륨을 제거하였다. 생성물을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하고, 생성된 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(용출액 : 에틸 아세테이트/헵탄 70 : 30 내지 100 : 0)로 정제하였다. 표적 물질을 함유하는 용출액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 A25를 함유하는 잔류물(2.08 g)을 수득하였다.

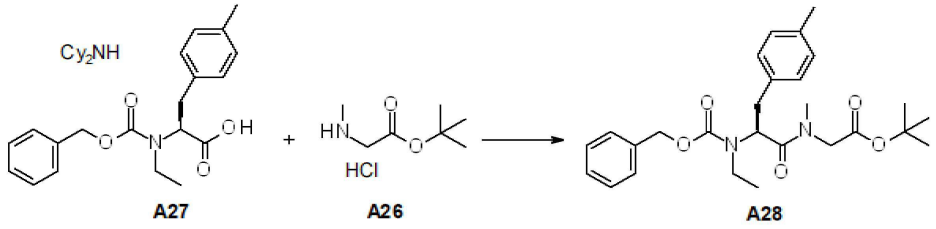
[1285] 화합물 A25의 LC 체류 시간: 21.235분(HPLC 분석 조건: 방법 3)

[1286] 화합물 A25의 LCMS(ESI): 체류 시간: 21.82분, m/z = 1325.478 $[M+Na]^+$ (LCMS 분석조건: 방법 3)

[1287] 실시예 A-18

[1288] 화합물 A28의 합성: (tert-부틸 2-[[(2S)-2-[벤질옥시카르보닐(에틸)아미노]-3-(p-톨릴)프로파노일]-메틸-아미노]아세테이트)

[1289] [화학식 65]

[1290] 

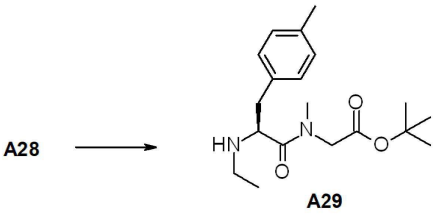

[1291] 질소 치환 후 반응 용기에 화합물 A27(350 g) 및 화합물 A26(146 g)을 실온에서 첨가한 후, 2-MeTHF(2.0 L)를 첨가하고 혼합물을 교반하였다. 반응 용기의 외부 온도를 10℃로 설정하고, DIPEA(630 mL)를 첨가한 후, T3P(50 w/w% 2-MeTHF 용액, 1.02 kg)를 적가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하고, 혼합물을 1시간 40분 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 2), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.7%(반응 전환율의 계산식 3)임을 확인하였다. 5% 탄산나트륨 수용액(2.0 L)을 적가한 후, 물(0.50 L)을 첨가하였다. 혼합물을 15분 동안 교반한 후, 수성층을 반응 용기로부터 배출하였다. 생성된 유기층을 25℃의 외부 온도에서 5% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(2.0 L x 2) 및 5% 탄산나트륨 수용액(2.0 L)으로 또한 세척하였다. 생성된 유기층을 40℃의 외부 온도에서 액체 부피가 약 600 mL가 될 때까지 감압하에 농축하여 화합물 A28을 함유하는 용액(595 g)을 수득하였다.

[1292] 화합물 A28의 LC 체류 시간: 4.500분(HPLC 분석 조건: 방법 1)

[1293] 실시예 A-19

[1294] 화합물 A29의 합성: (tert-부틸 2-[[(2S)-2-(에틸아미노)-3-(p-톨릴)프로파노일]-메틸-아미노]아세테이트)

[1295] [화학식 66]

[1296] 

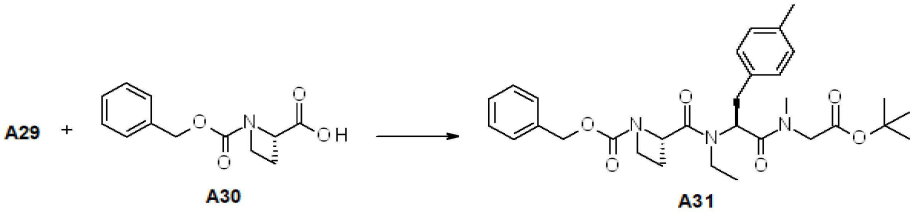

[1297] 질소 치환 후 반응 용기에 실시예 A-18에서 수득한 화합물 A28을 함유하는 용액(589 g) 및 2-MeTHF(1.7 L)를 첨가한 후, 5% Pd/C(142 g, 50% 수성 함량)를 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하였고, 반응 용기의 내부 압력이 0.18 MPaG이 될 때까지 반응 용기를 수소로 가압하였다. 1시간 후, 내부 압력의 변동은 확인되지 않았다. 이후 반응 용기를 질소로 치환한 다음, 수소로 0.15 MPaG까지 추가로 가압하고, 반응 혼합물을 5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.8%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 내부를 질소로 치환한 후, 반응 혼합물을 가압 여과하였다. 반응 용기 및 여과 장치를 2-MeTHF(1.0 L)로 세척하고, 여액 및 세척액을 저장 용액으로서 저장 용기 내에 수집하였다. 생성된 여액 및 세척액을 40℃의 외부 온도에서 액체 부피가 약 500 mL가 될 때까지 감압하에 농축하여 화합물 A29를 함유하는 용액(527 g)을 수득하였다.

[1298] 화합물 A29의 LC 체류 시간: 2.389분(HPLC 분석 조건: 방법 1)

[1299] 실시예 A-20

[1300] 화합물 A31의 합성: (벤질 (2S)-2-[[(1S)-2-[(2-tert-부톡시-2-옥소-에틸)-메틸-아미노]-2-옥소-1-(p-톨릴메틸)에틸]-에틸-카르바모일]아제티딘-1-카르복실레이트)

[1301] [화학식 67]




[1302]

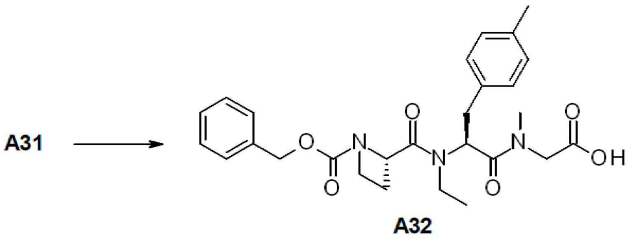
[1303] 질소 치환 후 반응 용기에 실시예 A-19에서 수득한 화합물 A29를 함유한 용액(522 g), 2-MeTHF(1.4 L), 및 화합물 A30(234 g)를 실온에서 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 10℃로 설정하고, DIPEA(570 mL)를 교반하면서 첨가한 후, T3P(50 w/w% 2-MeTHF 용액, 1.02 L)를 적가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하고, 반응 혼합물을 2시간 30분 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 100%(출발 물질이 검출되지 않음)(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 외부 온도를 10℃로 설정하고, 5% 탄산나트륨 수용액(1.4 L)을 반응 혼합물에 교반하면서 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하고, 혼합물을 10분 동안 교반한 후, 교반을 정지하고, 수성층을 반응 용기로부터 배출하였다. 생성된 유기층을 5% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(1.4 L x 2) 및 5% 탄산나트륨 수용액(1.4 L)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 액체 부피가 약 650 mL가 될 때까지 감압하에 농축하여 화합물 A31을 함유하는 용액(655 g)을 수득하였다. 생성된 화합물 A31을 함유하는 용액의 일부(5.03 g)를 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(용출액 : 헵탄/에틸 아세테이트 90 : 10 내지 50 : 50)로 정제하였다. 표적 물질을 함유하는 용출액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 A31을 함유하는 잔류물(2.88 g)을 수득하였다.

[1304] 화합물 A31의 LC 체류 시간: 4.065분(HPLC 분석 조건: 방법 1)

[1305] 실시예 A-21

[1306] 화합물 A32의 합성: 2-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[벤질옥시카르보닐(메틸)아미노]부타노일]-에틸-아미노]-3-(p-톨릴)프로파노일]-메틸-아미노]아세트산

[1307] [화학식 68]




[1308]

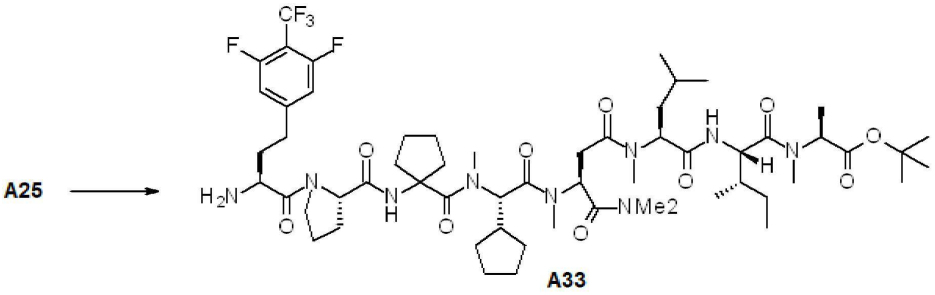
[1309] 실시예 A-20에서 수득한 화합물 A31을 함유하는 잔류물(2.57 g)을 반응 용기에 첨가하였다. 2-MeTHF(24 mL) 및 HMDS(6.85 mL)를 실온에서 순차적으로 첨가하고 반응 용기를 질소 치환하였다. 다음으로, 반응 용기의 외부 온도를 0℃로 설정하고, TMSOTf(5.06 mL)를 교반하면서 첨가한 후, 혼합물을 50C의 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 외부 온도를 0℃로 설정하고, 5% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(20 mL)을 반응 용기에 첨가하고, 혼합물을 실온에서 20분 동안 교반하였다. 수성층을 배출한 후, 생성된 유기층을 5% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(20 mL x 3)으로 세척하였다. 다음으로, 5% 인산수소이칼륨 수용액(20 mL x 2)을 생성된 유기층에 첨가하여 생성물을 수성층으로 상전이시켰다. 유기층을 배출한 후, 이소프로필 아세테이트(50 mL) 및 5% 황산수소나트륨 일수화물 수용액을 pH 1~3이 될 때까지 생성된 수성층에 첨가하여 생성물을 유기층으로 상전이시켰다. 이소프로필 아세테이트(50 mL)로 2회 추출하고, 생성된 유기층을 모두 황산나트륨으로 탈수시키고 여과하여 황산나트륨을 제거하였다. 다음으로, 생성된 여액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하였다. 생성된 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로(용출액 : 디클로로메탄/메탄올 100 : 0 내지 80 : 20)로 정제하였다. 표적 물질을 함유하는 용출액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 A32를 함유하는 잔류물(1.18 g)을 수득하였다.

[1310] 화합물 A32의 LCMS(ESI) 체류 시간: 3.045분, m/z = 496.27 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건: 방법 2, 방법 4의 컬럼을 LC 컬럼으로서 사용하였음)

[1311] 실시예 A-22

[1312] 화합물 A33의 합성: tert-부틸 (2S)-2-[[(2S,3S)-2-[[(2S)-2-[[(3S)-3-[[(2S)-2-[[1-[[(2S)-1-[(2S)-2-아미노-4-[3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐]부타노일]피롤리딘-2-카르보닐]아미노]시클로펜탄카르보닐]-메틸-아미노]-2-시클로펜틸-아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노일]-메틸-아미노]-4-메틸-펜타노일]아미노]-3-메틸-펜타노일]-메틸-아미노]프로파노에이트

[1313] [화학식 69]




[1314]

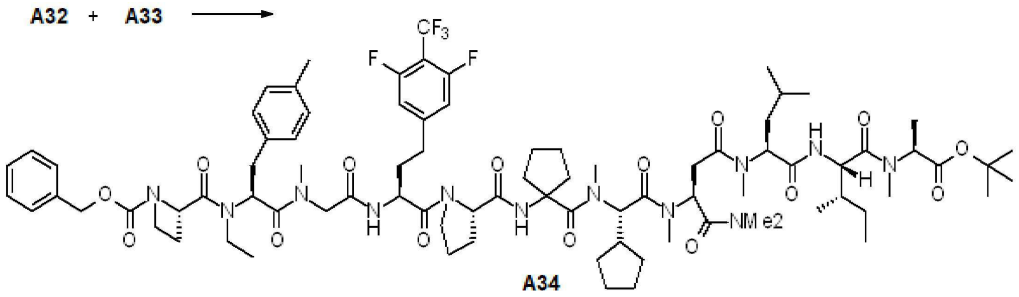
[1315] 실시예 A-17에서 수득한 화합물 A25(1.87 g)를 반응 용기에 첨가하였다. 다음으로, THF(18 mL) 및 5% Pd/C(296 mg, 50% 수성 함량)를 실온에서 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기의 내부를 수소로 치환하고, 혼합물을 실온에서 교반하였다. 반응 용기의 내부를 2시간 및 4시간 후 다시 수소로 치환하고, 5% Pd/C(296 mg, 50% 수성 함량)를 5시간 후 첨가하고, 혼합물을 추가로 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 내부를 질소로 치환한 후, 반응 혼합물을 여과지 및 필터를 이용하여 감압하에 여과하였다. 반응 용기와 여과지 및 필터를 THF(9.0 mL x 2)로 세척하였다. 여액 및 세척액을 취합하고, 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 A33을 함유하는 잔류물(1.68 g)을 수득하였다.

[1316] 화합물 A33의 LC 체류 시간: 4.256분(HPLC 분석 조건: 방법 2)

[1317] 실시예 A-23

[1318] 화합물 A34의 합성: 벤질 (2S)-2-[[(1S)-2-[[2-[[(1S)-1-[(2S)-2-[[1-[[(1S)-2-[[(1S)-3-[[(1S)-1-[[(1S,2S)-1-[[(1S)-2-tert-부톡시-1-메틸-2-옥소-에틸]-메틸-카르바모일]-2-메틸-부틸]카르바모일]-3-메틸-부틸]-메틸-아미노]-1-(디메틸카르바모일)-3-옥소-프로필]-메틸-아미노]-1-시클로펜틸-2-옥소-에틸]-메틸-카르바모일]시클로펜틸]카르바모일]피롤리딘-1-카르보닐]-3-[3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐]프로필]아미노-2-옥소-에틸]-메틸-아미노]-2-옥소-1-(p-톨릴메틸)에틸]-에틸-카르바모일]아제티딘-1-카르복실레이트

[1319] [화학식 70]




[1320]

[1321] 실시예 A-22에서 수득한 화합물 A33을 함유하는 잔류물(1.68 g) 및 실시예 A-21에서 수득한 화합물 A32를 함유하는 잔류물(0.856 g)을 반응 용기에 첨가하였다. 2-MeTHF(13 mL), DMF(4.2 mL), 및 DIPEA(1.41 mL)를 실온에서 순차적으로 첨가하고 반응 용기를 질소 치환하였다. 다음으로, HATU(1.26 g)를 교반하면서 첨가한 후 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.8%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기에 2.5% 암모니아

수용액(10 mL)을 첨가하고, 혼합물을 15분 동안 교반하였다. 수성층을 배출한 후, 생성된 유기층을 10% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(10 mL x 3) 및 5% 탄산칼륨 수용액(10 mL x 2)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수하고 여과하여 황산나트륨을 제거하였다. 생성된 여액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하고, 생성된 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(용출액 : 에틸 아세테이트/메탄올 100 : 0 내지 90 : 10)로 정제하였다. 표적 물질을 함유하는 용출액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 A34를 함유하는 잔류물(1.96 g)을 수득하였다.

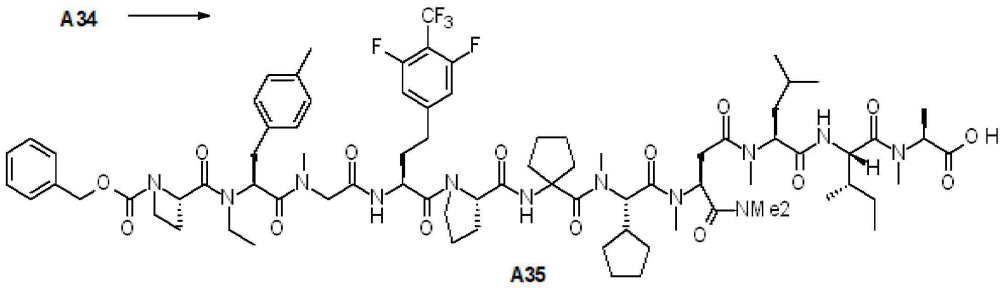
[1322] 화합물 A34의 LC 체류 시간: 21.670분(HPLC 분석 조건: 방법 3)

[1323] 화합물 A34의 LCMS(ESI) 체류 시간: 22.30분, m/z = 1668.168 $[M+Na]^+$ (LCMS 분석조건: 방법 3)

[1324] 실시예 A-24

[1325] 화합물 A35의 합성: (2S)-2-[[(2S,3S)-2-[[(2S)-2-[[(3S)-3-[[(2S)-2-[[1-[[(2S)-1-[(2S)-2-[[2-[[(2S)-2-[[(2S)-1-벤질옥시카르보닐아제티딘-2-카르보닐]-에틸-아미노]-3-(p-톨릴)프로파노일]-메틸-아미노]아세틸]아미노]-4-[3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐]부타노일]피롤리딘-2-카르보닐]아미노]시클로펜탄카르보닐]-메틸-아미노]-2-시클로펜틸-아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노일]-메틸-아미노]-4-메틸-펜타노일]아미노]-3-메틸-펜타노일]-메틸-아미노]프로판산

[1326] [화학식 71]

[1327] 

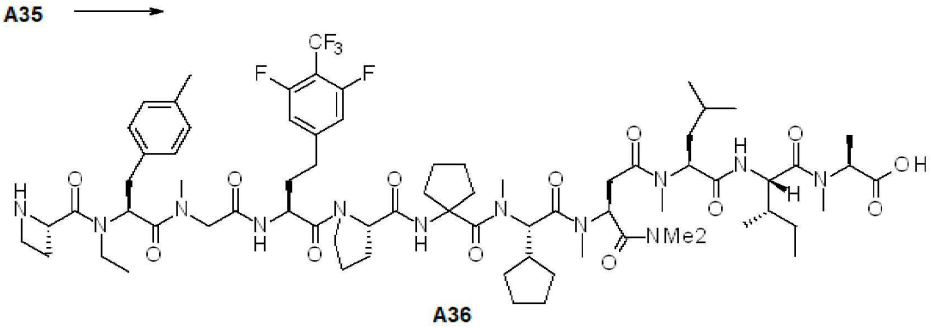

[1328] 실시예 A-23에서 수득한 화합물 A34를 함유하는 잔류물(1.62 g)을 반응 용기에 첨가하였다. 2-MeTHF(16 mL) 및 HMDS(1.03 mL)를 실온에서 순차적으로 첨가하고 반응 용기를 질소 치환하였다. 다음으로, 반응 용기의 외부 온도를 0℃로 설정하고, TMSOTf(0.709 mL)를 교반하면서 첨가한 후, 혼합물을 50C의 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 외부 온도를 0℃로 설정하고, 5% 탄산수소나트륨 수용액(15 mL)을 반응 용기에 첨가하고, 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반하였다. 수성층을 배출한 후, 생성된 유기층을 5% 인산이수소나트륨 수용액(15 mL) 및 10% NaCl 수용액(15 mL)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수하고 여과하여 황산나트륨을 제거하였다. 생성된 여액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 A35를 함유하는 잔류물(1.66 g)을 수득하였다.

[1329] 화합물 A35의 LC 체류 시간: 19.027분(HPLC 분석 조건: 방법 3)

[1330] 실시예 A-25

[1331] 화합물 A36의 합성: (2S)-2-[[(2S,3S)-2-[[(2S)-2-[[(3S)-3-[[(2S)-2-[[1-[[(2S)-1-[(2S)-2-[[2-[[(2S)-2-[[(2S)-아제티딘-2-카르보닐]-에틸-아미노]-3-(p-톨릴)프로파노일]-메틸-아미노]아세틸]아미노]-4-[3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐]부타노일]피롤리딘-2-카르보닐]아미노]시클로펜탄카르보닐]-메틸-아미노]-2-시클로펜틸-아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노일]-메틸-아미노]-4-메틸-펜타노일]아미노]-3-메틸-펜타노일]-메틸-아미노]프로판산

[1332] [화학식 72]




[1333]

[1334] 실시예 A-24에서 수득한 화합물 A35를 함유하는 잔류물(1.66 g)을 반응 용기에 첨가하였다. 다음으로, THF(11 mL) 및 5% Pd/C(444 mg, 50% 수성 함량)를 실온에서 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기의 내부를 수소로 치환하고, 혼합물을 실온에서 교반하였다. 2시간 후, 반응 용기의 내부를 수소로 다시 치환하고, 혼합물을 4시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.8%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 내부를 질소로 치환한 후, 반응 혼합물을 여과지 및 필터를 이용하여 감압하에 여과하였다. 반응 용기와 여과지 및 필터를 THF(6.0 mL x 2)로 세척하였다. 생성된 여액 및 세척액을 취합하고, 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하였다. 생성된 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로(용출액 : 디클로로메탄/메탄올 100 : 0 내지 80 : 20)로 정제하였다. 표적 물질을 함유하는 용출액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 A36을 함유하는 잔류물(1.02 g)을 수득하였다.

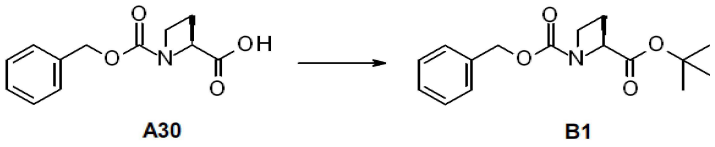
[1335] 화합물 A36의 LC 체류 시간: 13.323분(HPLC 분석 조건: 방법 3)

[1336] 화합물 A36의 LCMS(ESI) 체류 시간: 13.76분, m/z = 1456.124 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건: 방법 3)

[1337] 실시예 B-1

[1338] 화합물 B1의 합성: O2-tert-부틸 O1-벤질 (2S)-아제티딘-1,2-디카르복실레이트

[1339] [화학식 73]




[1340]

[1341] 질소 치환 후 반응 용기에 화합물 A30(5.95 g), 디클로로메탄(12 mL) 및 시클로헥산(48 mL)을 실온에서 순차적으로 첨가하였다. tert-부틸 2,2,2-트리클로로아세트이미데이트(9.06 mL) 및 삼불화붕소 디에틸에테르 복합체(320 μL)를 첨가한 후, 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 95.6%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 생성된 슬러리를 여과하고, 고체 잔류물을 시클로헥산으로 세척하였다. 생성된 여액을 10% 시트르산 수용액(40 mL x 9), 5% 탄산나트륨 수용액(40 mL x 3), 및 10% NaCl 수용액(40 mL)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수하고, 생성된 여액을 여과하여 황산나트륨을 제거하였다. 생성물을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 B1을 함유하는 잔류물(6.96 g)을 수득하였다.

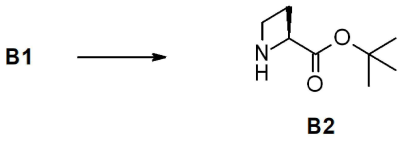
[1342] 화합물 B1의 LC 체류 시간: 3.519분(HPLC 분석 조건: 방법 1)

[1343] 화합물 B1의 LCMS(ESI) 체류 시간: 3.620분, m/z = 314.10 $[M+Na]^+$ (LCMS 분석조건: 방법 1)

[1344] 실시예 B-2

[1345] 화합물 B2의 합성: tert-부틸 (2S)-아제티딘-2-카르복실레이트

[1346] [화학식 74]



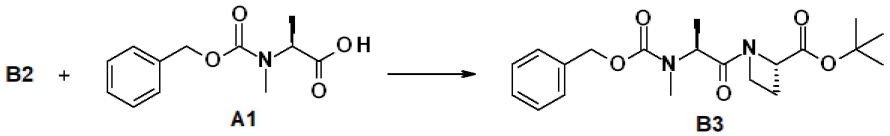

[1347]

[1348] 실시예 B-1에서 수득한 화합물 B1을 함유하는 잔류물(6.00 g)을 반응 용기에 첨가하였다. 다음으로, 2-MeTHF(62 mL) 및 5% Pd/C(4.39 g, 50% 수성 함량)를 실온에서 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기의 내부를 수소로 치환하고, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 용기의 내부를 다시 수소로 치환하고, 혼합물을 실온에서 추가로 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 2)임을 확인하였다. 반응 용기의 내부를 질소로 치환한 후, 반응 혼합물을 여과지 및 필터를 이용하여 감압하에 여과하였다. 반응 용기와 여과지 및 필터를 2-MeTHF(30 mL x 2)로 세척하였다. 생성된 용액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 B2를 함유하는 잔류물(2.23 g)을 수득하였다.

[1349] 실시예 B-3

[1350] 화합물 B3의 합성: tert-부틸 (2S)-2-[메틸-[(2S)-2-[메틸-[(Z)-2-메틸렌펜타-3-엔옥시]카르보닐-아미노]프로파노일]아미노]부타노에이트

[1351] [화학식 75]




[1352]

[1353] 실시예 B-2에서 수득한 화합물 B2를 함유하는 잔류물(2.33 g) 및 화합물 A1(4.21 g)를 실온에서 반응 용기에 첨가하고, 반응 용기를 질소 치환하였다. 다음으로, 2-MeTHF(43 mL), DIPEA(11.2 mL), T3P(50 w/w% 2-MeTHF 용액, 22.2 mL)를 순차적으로 첨가한 후, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 후 1시간 및 2시간의 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 LC 프로파일에 차이가 거의 없음을 확인하였다. 5% 탄산나트륨 수용액(50 mL)을 첨가하고, 혼합물을 10분 동안 교반하였다. 수성 층을 배출한 후, 생성된 유기층을 5% 탄산나트륨 수용액(50 mL x 3), 5% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(50 mL x 2), 및 다시 5% 탄산나트륨 수용액(50 mL x 5)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수하고 여과하여 황산나트륨을 제거하였다. 생성된 여액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 B3을 함유하는 잔류물(4.47 g)을 수득하였다.

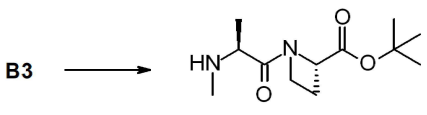
[1354] 화합물 B3의 LC 체류 시간: 3.543분(HPLC 분석 조건: 방법 1)

[1355] 화합물 B3의 LCMS(ESI): 체류 시간: 3.519분, m/z = 377.23 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건: 방법 1)

[1356] 실시예 B-4

[1357] 화합물 B4의 합성: tert-부틸 (2S)-2-[메틸-[(2S)-2-(메틸아미노)프로파노일]아미노]부타노에이트

[1358] [화학식 76]




[1359]

[1360] 실시예 B-3에서 수득한 화합물 B3을 함유하는 잔류물(3.98 g)을 반응 용기에 첨가하였다. 다음으로, 2-MeTHF(32 mL) 및 5% Pd/C(2.27 g, 50% 수성 함량)를 실온에서 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기의 내부를 수소로 치환하고, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 내부를 질소로 치환한 후, 반응 혼합물을 여과지 및 필터를 이용하여 감압하에 여과하였다. 반응 용기와 여과지

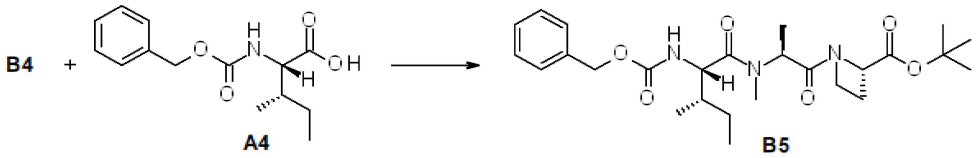
및 필터를 2-MeTHF(15 mL x 2)로 세척하였다. 생성된 여액 및 세척액을 취합하고, 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 B4를 함유하는 잔류물(2.71 g)을 수득하였다.

[1361] 화합물 B4의 LC 체류 시간: 1.670분(HPLC 분석 조건: 방법 1)

[1362] 실시예 B-5

[1363] 화합물 B5의 합성: tert-부틸 (2S)-1-[(2S)-2-[[(2S,3S)-2-(벤질옥시카르보닐아미노)-3-메틸-펜타노일]-메틸-아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르복실레이트

[1364] [화학식 77]

[1365] 


[1366] 실시예 B4에서 수득한 화합물 B4를 함유하는 잔류물(2.71 g) 및 화합물 A4(3.54 g)를 반응 용기에 첨가하고, 반응 용기를 질소 치환하였다. 다음으로, 2-MeTHF(17 mL), 톨루엔(18 mL), MeCN(2.9 mL), 및 DIPEA(11.7 mL)를 실온에서 순차적으로 첨가하였다. HATU(6.35 g)를 교반하면서 첨가한 후 혼합물을 실온에서. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기에 N-메틸이미다졸(1.0 mL)을 첨가하고, 5% 탄산나트륨 수용액(40 mL)을 교반하면서 추가로 첨가한 후, 혼합물을 1시간 동안 교반하였다. 다음으로, 2.5% 암모니아 수용액(40 mL)을 첨가하고, 혼합물을 15분 동안 교반하였다. 수성층을 배출한 후, 생성된 유기층을 2.5% 암모니아 수용액(60 mL), 5% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(60 mL x 2), 및 3% 인산수소이칼륨 수용액(60 mL)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수하고 여과하여 황산나트륨을 제거하였다. 수득한 여액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 B5를 함유하는 잔류물(5.62 g)을 수득하였다.

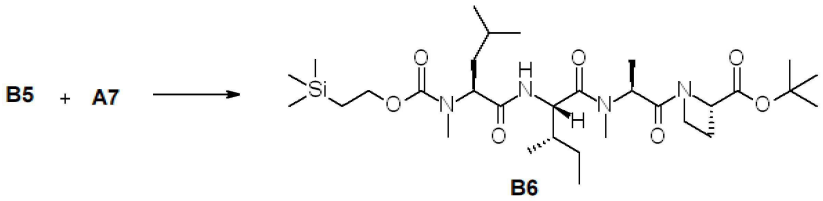
[1367] 화합물 B5의 LC 체류 시간: 3.893분(HPLC 분석 조건: 방법 1)

[1368] 화합물 B5의 LCMS(ESI) 체류 시간: 3.477분, m/z = 490.31 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건: 방법 2, 방법 4의 컬럼을 LC 컬럼으로서 사용하였음)

[1369] 실시예 B-6

[1370] 화합물 B6의 합성: tert-부틸 (2S)-1-[(2S)-2-[메틸-[(2S,3S)-3-메틸-2-[[(2S)-4-메틸-2-[메틸(2-트리메틸실릴에톡시카르보닐)아미노]펜타노일]아미노]펜타노일]아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르복실레이트

[1371] [화학식 78]

[1372] 


[1373] 실시예 B-5에서 수득한 화합물 B5를 함유하는 잔류물(4.60 g) 및 이소프로필 아세테이트(11 mL)를 반응 용기에 첨가하였다. 다음으로, 실시예 A-4에서 수득한 화합물 A7을 함유하는 잔류물(5.13 g), 톨루엔(3.0 mL), 아세톤(31 mL), NMM(6.20 mL), 및 5% Pd/C(2.00 g, 50% 수성 함량)를 실온에서 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기의 내부를 수소로 치환하고, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 내부를 질소로 치환한 후, Pd/C를 여과지 및 필터를 이용하여 감압하에 여과하였다. 반응 용기와 여과지 및 필터를 2-MeTHF(50 mL)로 세척하였다. 생성된 용액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하였다. 생성된 잔류물을 MeTHF(40 mL)에 용해시키고, 5% 탄산칼륨(40 mL) 및 DMAP(1.15 g)를 교반하면서 첨가한 후, 2.5시간 동안 교반하였다. 다음으로, 5% 황산수소칼륨 수용액(40 mL)을 첨가하고, 혼합물을 30분 동안 교반하였다. 수성층을 배출한 후, 생성된 유기층을 5% 황산수소칼륨 수용액(40 mL) 및 5% 탄산칼륨 수용액(40 mL x

2)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수하고 여과하여 황산나트륨을 제거하였다. 생성된 여액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 B6을 함유하는 잔류물(5.05 g)을 수득하였다.

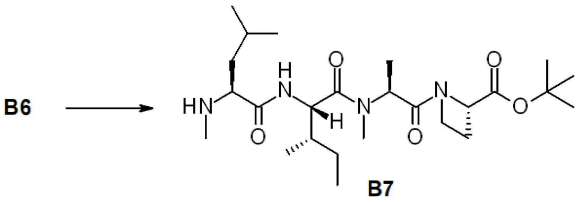
[1374] 화합물 B6의 LC 체류 시간: 4.937분(HPLC 분석 조건: 방법 1)

[1375] 화합물 B6의 LCMS(ESI) 체류 시간: 4.739분, m/z = 627.37 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건: 방법 1)

[1376] 실시예 B-7

[1377] 화합물 B7의 합성: tert-부틸 (2S)-1-[(2S)-2-[메틸-[(2S,3S)-3-메틸-2-[[(2S)-4-메틸-2-(메틸아미노)펜타노일]아미노]펜타노일]아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르복실레이트

[1378] [화학식 79]

[1379] 


[1380] 실시예 B-6에서 수득한 화합물 B6을 함유하는 잔류물(4.05 g) 및 2-MeTHF(8.0 mL)를 실온에서 반응 용기에 첨가하고, 반응 용기를 질소 치환하였다. 다음으로, 반응 용기의 외부 온도를 50℃로 설정하고, 1 M TBAF(16.1 mL)를 교반하면서 첨가한 후, 혼합물을 50℃의 외부 온도에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 외부 온도 설정치를 0℃로 설정하고, IPAc(20 mL) 및 5% 탄산칼륨(20 mL)을 교반하면서 첨가한 후, 실온에서 15분 동안 교반하였다. 수성층을 배출한 후, 생성된 유기층을 5% 탄산칼륨(20 mL x 2)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수하고 여과하여 황산나트륨을 제거하였다. 생성된 여액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 B7을 함유하는 잔류물(2.70 g)을 수득하였다.

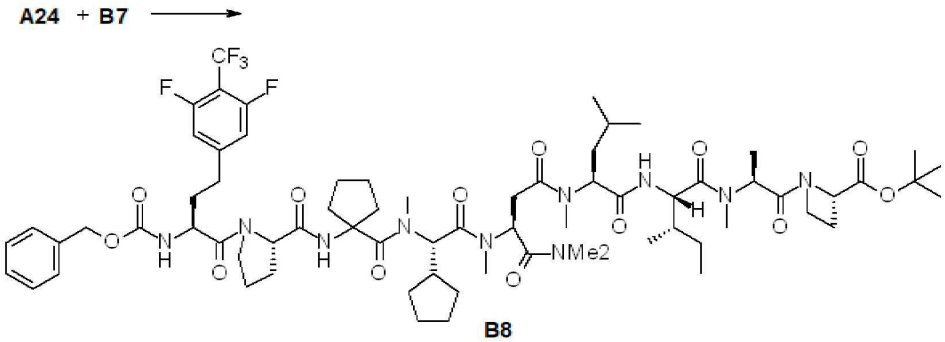
[1381] 화합물 B7의 LC 체류 시간: 2.747분(HPLC 분석 조건: 방법 1)

[1382] 화합물 B7의 LCMS(ESI) 체류 시간: 2.488분, m/z = 483.35 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건: 방법 1)

[1383] 실시예 B-8

[1384] 화합물 B8의 합성: tert-부틸 (2S)-1-[(2S)-2-[[(2S,3S)-2-[[(2S)-2-[[(3S)-3-[[(2S)-2-[[1-[[(2S)-1-[(2S)-2-(벤질옥시카르보닐아미노)-4-[3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐]부타노일]피롤리딘-2-카르보닐]아미노]시클로펜탄카르보닐]-메틸-아미노]-2-시클로펜틸-아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노일]-메틸-아미노]-4-메틸-펜타노일]아미노]-3-메틸-펜타노일]-메틸-아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르복실레이트

[1385] [화학식 80]

[1386] 


[1387] 실시예 A-16에서 수득한 화합물 A24를 함유하는 용액(4.00 g)을 반응 용기에 첨가하였다. 실시예 B-7에서 수득한 화합물 B7을 함유하는 잔류물(0.962 g), 2-MeTHF(36 mL), DMF(9.2 mL), 및 DIPEA(1.77 mL)를 순차적으로 실온에서 첨가하고, 반응 용기를 질소 치환하였다. 다음으로, HATU(1.59 g)를 교반하면서 첨가한 후 혼합물을 실온에서 20시간 동안 교반하였다. 이어서, 실시예 B-7에서 수득한 화합물 B7을 함유하는 잔류물(0.154 g) 및

HATU(1.20 g)를 첨가하고, 혼합물을 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.7%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기에 2.5% 암모니아 수용액(32 mL)을 첨가하고, 혼합물을 30분 동안 교반하였다. 수성층을 배출한 후, 생성된 유기층을 10% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(28 mL x 3) 및 5% 탄산칼륨 수용액(28 mL x 2)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수하고 여과하여 황산나트륨을 제거하였다. 생성된 여액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하고, 생성된 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(용출액 : 에틸 아세테이트/헵탄 80 : 20 내지 100 : 0)로 정제하였다. 표적 물질을 함유하는 용출액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 B8을 함유하는 잔류물(1.75 g)을 수득하였다.

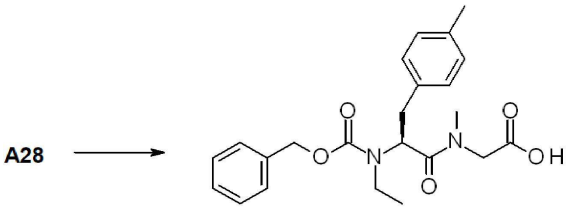
[1388] 화합물 B8의 LC 체류 시간: 20.037분(HPLC 분석 조건: 방법 3)

[1389] 화합물 B8의 LCMS(ESI) 체류 시간: 20.69분, m/z = 1408.072 $[M+Na]^+$ (LCMS 분석조건: 방법 3)

[1390] 실시예 B-9

[1391] 화합물 B9의 합성: 2-[[(2S)-2-[벤질옥시카르보닐(에틸)아미노]-3-(p-톨릴)프로파노일]-메틸-아미노]아세트산

[1392] [화학식 81]




B9

[1393]

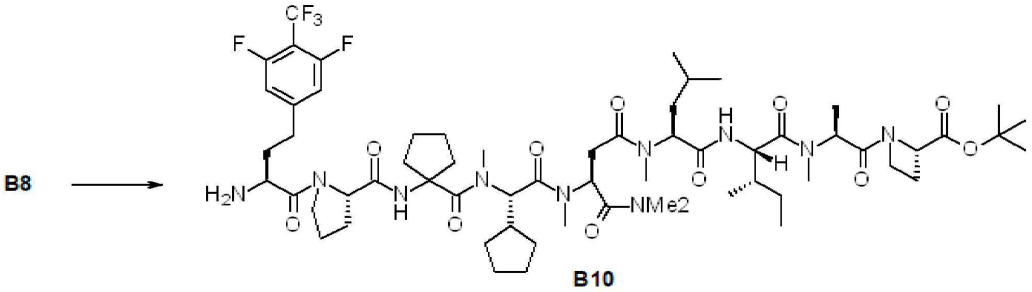
[1394] 실시예 A-18에서 수득한 화합물 A28을 함유하는 용액(5.01 g)을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피(용출액 : 헵탄/에틸 아세테이트 100 : 0 내지 80 : 20)로 정제하였다. 생성물을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하고 용출액을 제거하여 화합물 A28을 함유하는 잔류물(2.71 g)을 수득하였다. 화합물 A28을 함유하는 잔류물(2.51 g)을 반응 용기에 첨가하였다. 2-MeTHF(28 mL) 및 HMDS(7.87 mL)를 실온에서 순차적으로 첨가하고 반응 용기를 질소 치환하였다. 다음으로, 반응 용기의 외부 온도를 0℃로 설정하고, TMSOTf(5.82 mL)를 교반하면서 첨가한 후, 혼합물을 50C의 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 외부 온도를 0℃로 설정하고, 5% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(20 mL)을 반응 용기에 첨가하고, 혼합물을 실온에서 20분 동안 교반하였다. 수성층을 배출한 후, 생성된 유기층을 5% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(20 mL x 3)으로 세척하였다. 다음으로, 5% 인산수소이칼륨 수용액(20 mL x 2)을 생성된 유기층에 첨가하여 생성물을 수성층으로 상전이시켰다. 유기층을 배출한 후, 이소프로필 아세테이트(50 mL) 및 5% 황산수소나트륨 일수화물 수용액을 pH 1~3이 될 때까지 생성된 수성층에 첨가하여 생성물을 유기층으로 상전이시켰다. 이소프로필 아세테이트(50 mL)로 2회 추출하고, 생성된 유기층을 모두 황산나트륨으로 탈수시키고 여과하여 황산나트륨을 제거하였다. 생성된 여액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 B9를 함유하는 잔류물(1.70 g)을 수득하였다.

[1395] 화합물 B9의 LCMS(ESI) 체류 시간: 3.347분, m/z = 413.29 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건: 방법 2, 방법 4의 컬럼을 LC 컬럼으로서 사용하였음)

[1396] 실시예 B-10

[1397] 화합물 B10의 합성: tert-부틸 (2S)-1-[(2S)-2-[[(2S,3S)-2-[[(2S)-2-[[(3S)-3-[[(2S)-2-[[1-[[(2S)-1-[(2S)-2-아미노-4-[3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐]부타노일]피롤리딘-2-카르보닐]아미노]시클로펜탄카르보닐]-메틸-아미노]-2-시클로펜틸-아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노일]-메틸-아미노]-4-메틸-펜타노일]아미노]-3-메틸-펜타노일]-메틸-아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르복실레이트

[1398] [화학식 82]




[1399]

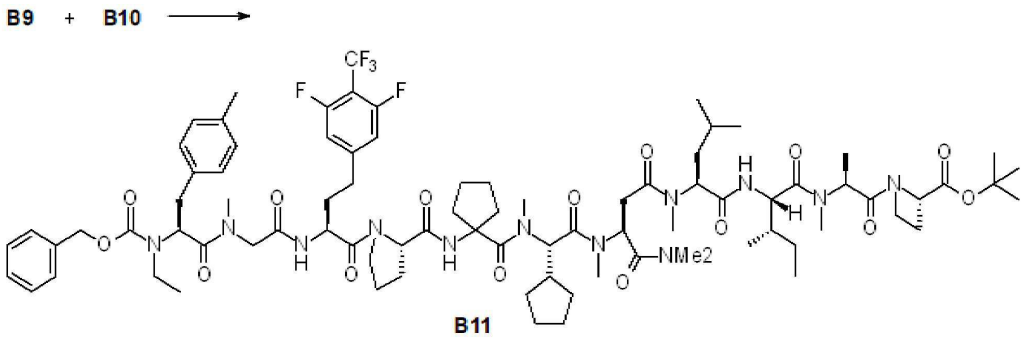
[1400] 실시예 B-8에서 수득한 화합물 B8을 함유하는 잔류물(1.46 g)을 반응 용기에 첨가하였다. 다음으로, THF(15 mL) 및 5% Pd/C(235 mg, 50% 수성 함량)를 실온에서 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기의 내부를 수소로 치환하고, 혼합물을 실온에서 교반하였다. 반응 용기의 내부를 2시간 및 4시간 후 다시 수소로 치환하고, 5% Pd/C(223 mg, 50% 수성 함량)를 5시간 후 첨가하고, 혼합물을 추가로 6시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 내부를 질소로 치환한 후, 반응 혼합물을 여과지 및 필터를 이용하여 감압하에 여과하였다. 반응 용기와 여과지 및 필터를 THF(7.0 mL x 2)로 세척하였다. 생성된 용액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 B10을 함유하는 잔류물(1.38 g)을 수득하였다.

[1401] 화합물 B10의 LC 체류 시간: 4.054분(HPLC 분석 조건: 방법 2)

[1402] 실시예 B-11

[1403] 화합물 B11의 합성: tert-부틸 (2S)-1-[(2S)-2-[[(2S,3S)-2-[[(2S)-2-[[(3S)-3-[[(2S)-2-[[1-[[(2S)-1-[(2S)-2-[[2-[[(2S)-2-[벤질옥시카르보닐(에틸)아미노]-3-(p-톨릴)프로파노일]-메틸-아미노]아세틸]아미노]-4-[3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐]부타노일]피롤리딘-2-카르보닐]아미노]시클로펜탄카르보닐]-메틸-아미노]-2-시클로펜틸-아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노일]-메틸-아미노]-4-메틸-펜타노일]아미노]-3-메틸-펜타노일]-메틸-아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르복실레이트

[1404] [화학식 83]




[1405]

[1406] 실시예 B-10에서 수득한 화합물 B10을 함유하는 잔류물(1.38 g) 및 실시예 B-9에서 수득한 화합물 B9를 함유하는 잔류물(0.581 g)을 반응 용기에 첨가하였다. 2-MeTHF(9.6 mL), DMF(3.2 mL), 및 DIPEA(1.08 mL)를 실온에서 순차적으로 첨가하고 반응 용기를 질소 치환하였다. 다음으로, HATU(0.971 g)를 교반하면서 첨가한 후 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.3%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기에 2.5% 암모니아 수용액(10 mL)을 첨가하고, 혼합물을 15분 동안 교반하였다. 수성층을 배출한 후, 생성된 유기층을 10% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(10 mL x 3) 및 5% 탄산칼륨 수용액(10 mL x 2)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수하고 여과하여 황산나트륨을 제거하였다. 생성된 여액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하고, 생성된 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(용출액 : 에틸 아세테이트/메탄올 100 : 0 내지 90 : 10)로 정제하였다. 표적 물질을 함유하는 용출액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 B11을 함유하는 잔류물(1.32 g)을 수득하였다.

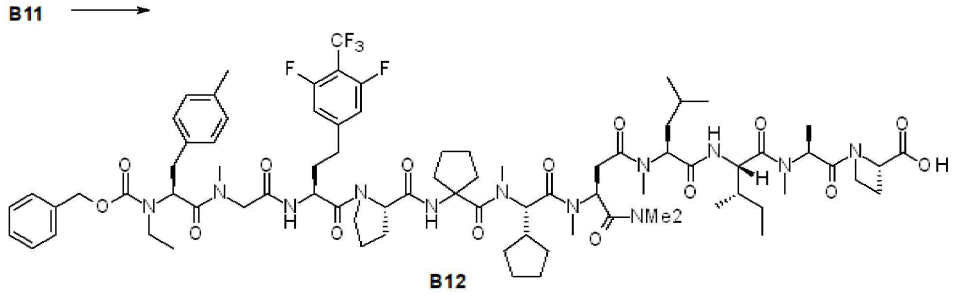
[1407] 화합물 B11의 LC 체류 시간: 21.617분(HPLC 분석 조건: 방법 3)

[1408] 화합물 B11의 LCMS(ESI) 체류 시간: 22.21분, m/z = 1668.111 $[M+Na]^+$ (LCMS 분석조건: 방법 3)

[1409] 실시예 B-12

[1410] 화합물 B12의 합성: (2S)-1-[(2S)-2-[[(2S,3S)-2-[[(2S)-2-[[(3S)-3-[[(2S)-2-[[1-[[(2S)-1-[(2S)-2-[[2-[[(2S)-2-[벤질옥시카르보닐(에틸)아미노]-3-(p-톨릴)프로파노일]-메틸-아미노]아세틸]아미노]-4-[3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐]부타노일]피롤리딘-2-카르보닐]아미노]시클로펜탄카르보닐]-메틸-아미노]-2-시클로펜틸-아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노일]-메틸-아미노]-4-메틸-펜타노일]아미노]-3-메틸-펜타노일]-메틸-아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르복실산

[1411] [화학식 84]

[1412] 

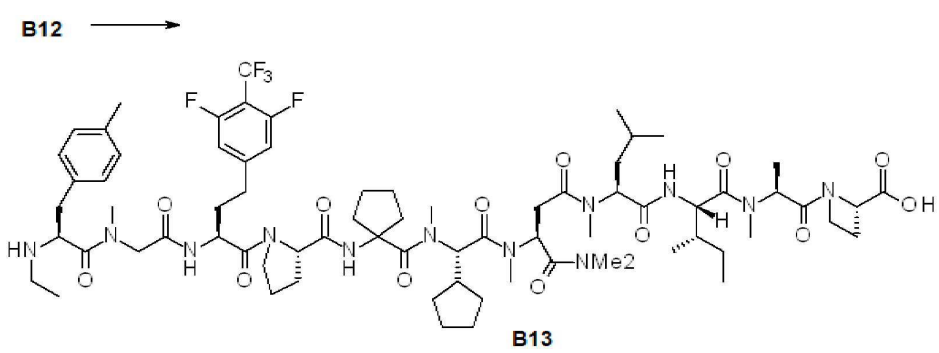

[1413] 실시예 B-11에서 수득한 화합물 B11을 함유하는 잔류물(1.08 g)을 반응 용기에 첨가하였다. 2-MeTHF(11 mL) 및 HMDS(0.688 mL)를 실온에서 순차적으로 첨가하고 반응 용기를 질소 치환하였다. 다음으로, 반응 용기의 외부 온도를 0℃로 설정하고, TMSOTf(0.475 mL)를 교반하면서 첨가한 후, 혼합물을 50C의 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 외부 온도를 0℃로 설정하고, 5% 탄산수소나트륨 수용액(15 mL)을 반응 용기에 첨가하고, 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반하였다. 수성층을 배출한 후, 생성된 유기층을 5% 인산이수소나트륨 수용액(15 mL) 및 10% NaCl 수용액(15 mL)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수하고 여과하여 황산나트륨을 제거하였다. 생성된 여액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하고, 생성된 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(용출액 : 디클로로메탄/메탄올 100 : 0 내지 80 : 20)로 정제하였다. 표적 물질을 함유하는 용출액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 B12를 함유하는 잔류물(0.831 g)을 수득하였다.

[1414] 화합물 B12의 LC 체류 시간: 19.638분(HPLC 분석 조건: 방법 3)

[1415] 실시예 B-13

[1416] 화합물 B13의 합성: (2S)-1-[(2S)-2-[[(2S,3S)-2-[[(2S)-2-[[(3S)-3-[[(2S)-2-시클로펜틸-2-[[1-[[(2S)-1-[(2S)-4-[3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐]-2-[[2-[(2S)-2-(에틸아미노)-3-(p-톨릴)프로파노일]-메틸-아미노]아세틸]아미노]부타노일]피롤리딘-2-카르보닐]아미노]시클로펜탄카르보닐]-메틸-아미노]아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노일]-메틸-아미노]-4-메틸-펜타노일]아미노]-3-메틸-펜타노일]메틸-아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르복실산

[1417] [화학식 85]

[1418] 


[1419] 실시예 B-12에서 수득한 화합물 B12를 함유하는 잔류물(0.831 g)을 반응 용기에 첨가하였다. 다음으로, THF(5.7

mL) 및 5% Pd/C(223 mg, 50% 수성 함량)를 실온에서 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기의 내부를 수소로 치환하고, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 내부를 질소로 치환한 후, 반응 혼합물을 여과지 및 필터를 이용하여 감압하에 여과하였다. 반응 용기와 여과지 및 필터를 THF(3.0 mL x 2)로 세척하였다. 생성된 여액 및 세척액을 취합하고, 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 B13을 함유하는 잔류물(0.726 g)을 수득하였다.

[1420] 화합물 B13의 LC 체류 시간: 12.613분(HPLC 분석 조건: 방법 3)

[1421] 화합물 B13의 LCMS(ESI) 체류 시간: 13.10분, m/z = 1456.124 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건: 방법 3)

[1422] 실시예 B-14

[1423] 화합물 B1의 합성: (O1-벤질 O2-tert-부틸 (2S)-아제티딘-1,2-디카르복실레이트)

[1424] [화학식 86]

[1425] 

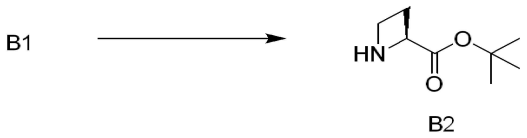
A30 B1

[1426] 반응 용기에 화합물 A30(6.02 g) 및 시클로헥산(48.0 mL)에 이어서 디클로로메탄(12.0 mL)을 실에서 첨가하고, 혼합물을 교반하였다. tert-부틸 2,2,2-트리클로로아세트이미데이트(9.14 mL) 및 삼불화붕소 디에틸에테르 복합체(0.32 L)를 교반하면서 첨가한 후, 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.0% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 혼합물을 여과지 및 멤브레인 필터를 이용하여 여과하였다. 생성된 여액을 10% 시트르산 수용액(48.0 mL x 10) 및 5% 탄산나트륨 수용액(48.0 mL x 2)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 감압하에 농축하여 화합물 B1을 함유하는 잔류물(7.42 g)을 수득하였다. 수득한 잔류물을 아세토니트릴로 희석하고 LCMS 분석(방법 1: 화합물 B1의 체류시간; 3.567분, m/z = 313.94 $[M+Na]^+$)하였다. 생성된 잔류물 및 3,5-비스(트리플루오로메틸)벤조산을 DMSO-$d_6$에 용해시키고, qNMR 분석하였다(수율: 96.3%).

[1427] 실시예 B-15

[1428] 화합물 B2의 합성: (tert-부틸 (2S)-아제티딘-2-카르복실레이트)

[1429] [화학식 87]

[1430] 

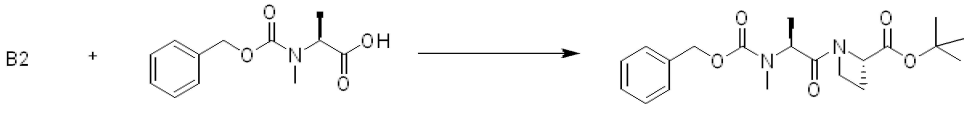
B2

[1431] 반응 용기에 실시예 B-14에서 수득한 화합물 B1을 함유하는 잔류물(7.27 g, 함량: 96.2%) 및 2-MeTHF(72.5 mL)에 이어서 5% Pd/C(5.00 g, 50% 수성 함량)를 실온에서 첨가하고, 혼합물을 교반하였다. 질소 기체를 이용한 탈기를 교반하면서 실시한 후, 수소를 이용한 탈기를 실시하고, 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 2)임을 확인하였다. 반응 혼합물을 여과지 및 멤브레인 필터를 사용하여 흡입-여과하고, 잔류물을 2-MeTHF(36.2 mL x 2)로 세척하였다. 생성된 여액을 감압하에 농축하여 화합물 B2를 함유하는 잔류물(3.63 g)을 수득하였다. 수득한 잔류물 및 1,3,5-트리메톡시벤젠을 DMSO-$d_6$에 용해시키고, qNMR 분석하였다(수율: 81.2%).

[1432] 실시예 B-16

[1433] 화합물 B3의 합성: (tert-부틸 (2S)-1-[(2S)-2-[벤질옥시카르보닐(메틸)아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르복실레이트)

[1434] [화학식 88]



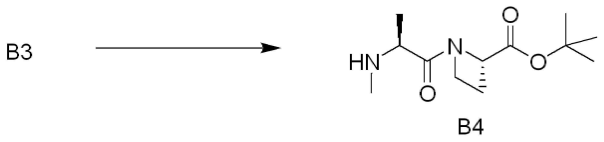

[1435]

[1436] 반응 용기에 실시예 B-15에서 수득한 화합물 B2를 함유한 잔류물(3.39 g, 함량: 84.2%) 및 화합물 A1(3.91 g)에 이어서 2-MeTHF(49.9 mL)를 실온에서 첨가하고, 혼합물을 교반하였다. NMM(4.89 mL)을 교반하면서 첨가한 후, T3P(1.6 M 2-MeTHF 용액, 24.7 mL)를 적가하고, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 2), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 3)임을 확인하였다. 반응 혼합물에 5% 탄산나트륨 수용액(43.0 mL)을 교반하면서 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 10분 동안 교반한 후, 수성층을 배출하였다. 유기층을 5% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(43.0 mL x 2) 및 5% 탄산나트륨 수용액(43.0 mL x 1)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 감압하에 농축하여 화합물 B3을 함유하는 잔류물(6.40 g)을 수득하였다. 수득한 잔류물을 아세토니트릴로 희석하고 LCMS 분석(방법 1: 화합물 B3의 체류시간; 3.467분, m/z = 377.11 $[M+H]^+$)하였다. 생성된 잔류물 및 3,5-비스(트리플루오로메틸)벤조산을 DMSO-$d_6$에 용해시키고, qNMR 분석하였다(수율: 96.5%). 생성된 잔류물에 2-MeTHF(12.0 mL)를 첨가하여 화합물 B3을 함유하는 용액(15.9 g, 함량: 37.0%)을 수득하였다.

[1437] 실시예 B-17

[1438] 화합물 B4의 합성: (tert-부틸 (2S)-1-[(2S)-2-(메틸아미노)프로파노일]아제티딘-2-카르복실레이트)

[1439] [화학식 89]



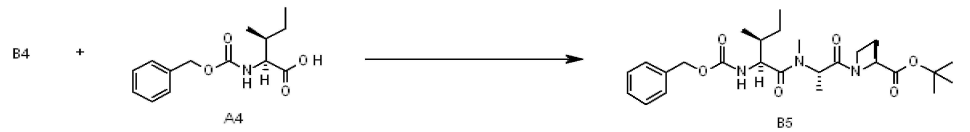

[1440]

[1441] 반응 용기에 실시예 B-16에서 수득한 화합물 B3을 함유하는 용액(7.63 g, 함량: 37.0%) 및 2-MeTHF(17.1 mL)에 이어서 5% Pd/C(1.60 g, 50% 수성 함량)를 실온에서 첨가하고, 혼합물을 교반하였다. 질소 기체를 이용한 탈기를 교반하면서 실시한 후, 수소를 이용한 탈기를 실시하고, 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 혼합물을 여과지 및 멤브레인 필터를 사용하여 흡입-여과하고, 잔류물을 2-MeTHF(11.3 mL x 2)로 세척하였다. 생성된 여액을 감압하에 농축하여 화합물 B4를 함유하는 잔류물(1.97 g)을 수득하였다. 수득한 잔류물을 아세토니트릴로 희석하고 LCMS 분석(방법 1: 화합물 B4의 체류시간; 1.573분, m/z = 243.09 $[M+H]^+$)하였다. 생성된 잔류물 및 1,3,5-트리메톡시벤젠을 DMSO-$d_6$에 용해시키고, qNMR 분석하였다(수율: 99.4%).

[1442] 실시예 B-18

[1443] 화합물 B5의 합성: (tert-부틸 (2S)-1-[(2S)-2-[[(2S,3S)-2-(벤질옥시카르보닐아미노)-3-메틸-펜타노일]-메틸-아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르복실레이트)

[1444] [화학식 90]




[1445]

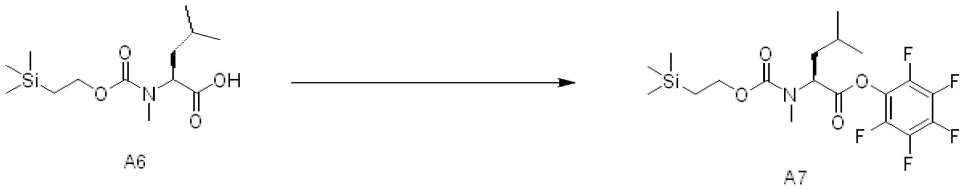
[1446] 반응 용기에 실시예 B-17에서 수득한 화합물 B4를 함유한 잔류물(1.86 g, 함량: 91.7%) 및 화합물 A4(2.25 g)에 이어서 DIPEA(7.38 mL), 2-MeTHF(5.13 mL), 톨루엔(5.13 mL), 및 아세토니트릴(1.71 mL)을 실온에서 첨가하고, 혼합물을 교반하였다. HATU(4.03 g)를 교반하면서 첨가하고, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 2), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상

(반응 전환율의 계산식 3)임을 확인하였다. 반응 혼합물에 N-메틸이미다졸(0.56 mL)에 이어서 5% 탄산나트륨 수용액(10.3 mL)을 첨가하고, 혼합물을 3시간 동안 교반한 다음, 수성층을 배출하였다. 유기층을 2.5% 암모니아 수용액(13.7 mL x 2), 10% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(13.7 mL x 2), 및 3% 인산수소이칼륨 수용액(13.7 mLx1)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 감압하에 농축하여 화합물 B5를 함유하는 잔류물(4.94 g)을 수득하였다. 수득한 잔류물을 2-MeTHF(6.0 mL), 톨루엔(6.0 mL), 및 아세토니트릴(2.0 mL)에 용해하고, 5% 염화나트륨 수용액(12.0 mL)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 감압하에 농축하여 화합물 B5를 함유하는 잔류물(4.43 g)을 수득하였다. 수득한 잔류물을 아세토니트릴로 희석하고 LCMS 분석(방법 4: 화합물 B5의 체류시간; 3.636분, m/z = 490.36 $[M+H]^+$)하였다. 생성된 잔류물 및 3,5-비스(트리플루오로메틸)벤조산을 DMSO-$d_6$에 용해시키고, qNMR 분석하였다(수율: 86.5%).

[1447] 실시예 B-19

[1448] 화합물 A7의 합성: ((2,3,4,5,6-펜타플루오로페닐) (2S)-4-메틸-2-[메틸(2-트리메틸실릴에톡시카르보닐)아미노]펜타노에이트)

[1449] [화학식 91]



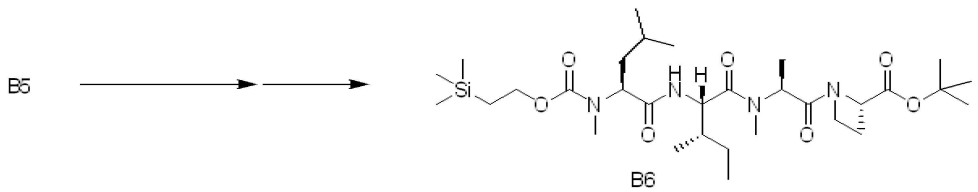

[1450]

[1451] 반응 용기에 화합물 A6(10.0 g), 이소프로필 아세테이트(51.8 mL) 및 DMF(64.8 mL)를 실온에서 첨가하였다. 이소프로필 아세테이트(13.0 mL) 중 펜타플루오로페놀(7.95 g)의 용액을 첨가하였다. 반응 용기를 얼음 수조에서 냉각시키고, 1-(3-디메틸아미노프로필)-3-에틸카르보디이미드 염산염(8.28 g)을 첨가하고, 혼합물을 30분 동안 교반하였다. 그런 다음, 반응 용기를 얼음 수조로부터 제거하고, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 2)임을 확인하였다. 반응 용기를 얼음 수조에서 냉각시키고, 0.5 M 염산 수용액(64.8 mL)을 반응 혼합물에 첨가하였다. 혼합물을 10분 동안 교반하고, 수성층을 배출하였다. 유기층을 0.5 M 염산 수용액(64.8 mL x 1), 5% 탄산칼륨 수용액(64.8 mL x 2), 및 10% 염화나트륨 수용액(64.8 mL x 1)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 감압하에 농축하여 화합물 A7을 함유하는 잔류물(15.2 g)을 수득하였다. 수득한 잔류물을 아세토니트릴로 희석하고 LCMS 분석(방법 4: 화합물 A7의 체류시간; 5.365분, m/z = 428.27 $[M-C_2H_4 + H]^+$)하였다. 생성된 잔류물 및 3,5-비스(트리플루오로메틸)벤조산을 DMSO-$d_6$에 용해시키고, qNMR 분석하였다(수율: 89.3%).

[1452] 실시예 B-20

[1453] 화합물 B6의 합성: (tert-부틸 (2S)-1-[(2S)-2-[메틸-[(2S,3S)-3-메틸-2-[[(2S)-4-메틸-2-[메틸(2-트리메틸실릴에톡시카르보닐)아미노]펜타노일]아미노]펜타노일]아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르복실레이트)

[1454] [화학식 92]




[1455]

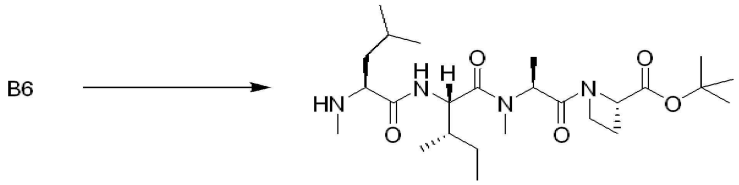
[1456] 반응 용기에 실시예 B-18에서 수득한 화합물 B5를 함유하는 잔류물(4.17 g, 함량: 67.5%) 및 실시예 B-19에서 수득한 화합물 A7을 함유하는 잔류물(5.68 g, 함량: 92.5%)에 이어서 아세톤(19.3 mL) 및 이소프로필 아세테이트(6.76 mL)를 실온에서 첨가하고, 혼합물을 교반하였다. 반응 혼합물에 NMM(3.82 mL) 및 5% Pd/C(1.24 g, 50% 수성 함량)를 교반하면서 첨가하였다. 질소 기체를 이용한 탈기를 교반하면서 실시한 후, 수소를 이용한 탈기를 실시하고, 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플

제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 혼합물을 여과지 및 멤브레인 필터를 사용하여 흡입-여과하고, 잔류물을 아세톤(9.64 mL x 2)으로 세척하였다. 생성된 여액을 감압하에 농축시키고, 잔류물을 톨루엔(18.3 mL)에 용해시켰다. 4-디메틸아미노피리딘(0.708 g) 및 5% 탄산칼륨 수용액(18.3 mL)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물에 4-디메틸아미노피리딘(0.351 g)을 첨가하고, 혼합물을 2시간 동안 교반하였다. 밤새 방치한 후, 반응 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반하고, 수성층을 배출하였다. 유기층을 5% 황산수소칼륨 수용액(18.3 mL x 2) 및 5% 탄산칼륨 수용액(18.3 mL x 2)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 감압하에 농축하여 화합물 B6을 함유하는 잔류물(4.17 g)을 수득하였다. 수득한 잔류물을 아세토니트릴로 희석하고 LCMS 분석(방법 1: 화합물 B6의 체류시간; 4.793분, m/z = 627.34 $[M+H]^+$)하였다. 생성된 잔류물 및 3,5-비스(트리플루오로메틸)벤조산을 DMSO-$d_6$에 용해시키고, qNMR 분석하였다(수율: 88.1%).

[1457] 실시예 B-21

[1458] 화합물 B7의 합성: (tert-부틸 (2S)-1-[(2S)-2-[메틸-[(2S,3S)-3-메틸-2-[[(2S)-4-메틸-2-(메틸아미노)펜타노일]아미노]펜타노일]아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르복실레이트)

[1459] [화학식 93]



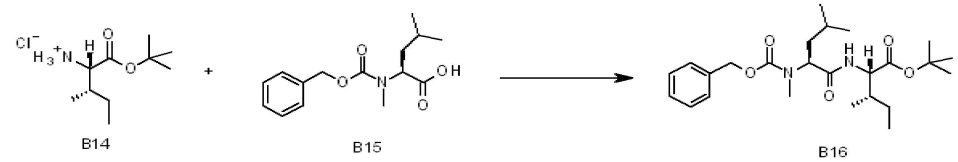

[1460]

[1461] 반응 용기에 화합물 B6 및 2-MeTHF(9.06 mL)를 함유하는 잔류물 (3.98 g, 함량: 76.5%)을 실온에서 첨가하였다. 반응 용기를 47℃로 설정된 오일 수조에서 가온하고, 테트라부틸암모늄 플루오라이드(1 M THF 용액, 12.1 mL)를 1시간에 걸쳐 첨가한 다음, 혼합물을 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기를 오일 수조로부터 제거하고, 이소프로필 아세테이트(9.06 mL) 및 5% 탄산칼륨 수용액(9.06 mL)을 반응 혼합물에 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 10분 동안 교반하고, 수성층을 배출하였다. 유기층을 5% 탄산칼륨 수용액(9.06 mL x 2)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 감압하에 농축하여 화합물 B7을 함유하는 잔류물(3.08 g)을 수득하였다. 수득한 잔류물에 2-MeTHF(9.1 mL)를 첨가하여 화합물 B7을 함유하는 용액(6.45 g, 함량: 31.2%)을 수득하였다. 생성된 용액을 아세토니트릴로 희석하고 LCMS 분석(방법 1: 화합물 B7의 체류시간; 2.552분, m/z = 483.36 $[M+H]^+$)하였다. 생성된 용액 및 1,3,5-트리메톡시벤젠을 DMSO-$d_6$에 용해시키고, qNMR 분석하였다(수율: 85.4%).

[1462] 실시예 B-22

[1463] 화합물 B16의 합성: (tert-부틸 (2S,3S)-2-[[(2S)-2-[벤질옥시카르보닐(메틸)아미노]-4-메틸-펜타노일]아미노]-3-메틸-펜타노에이트)

[1464] [화학식 94]




[1465]

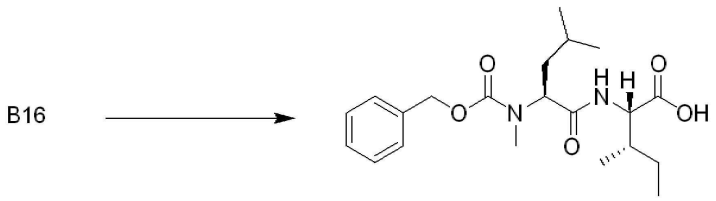
[1466] 반응 용기에 화합물 N-((벤질옥시)카르보닐)-N-메틸-L-류신 B15(4.51 g), 및 화합물 L-이소류신 tert-부틸 염산염 B14(4.34 g)에 이어서 2-MeTHF(48.7 mL)를 실온에서 첨가하고, 혼합물을 교반하였다. DIPEA(15.2 mL)를 교반하면서 첨가한 후, 25℃ 이하의 내부 온도를 유지하면서 T3P(1.6 M 2-MeTHF 용액, 24.2 mL)를 적가하고, 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 2), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.7% 이상(반응 전환율의 계산식 3)임을 확인하였다. 반응 혼합물에 내부 온

도를 25℃ 이하로 유지하면서 5% 탄산나트륨 수용액(45.0 mL)을 교반하면서 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 10분 동안 교반한 후, 수성층을 배출하였다. 유기층을 5% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(45.0 mL x 2) 및 5% 탄산나트륨 수용액(45.0 mL x 1)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 감압하에 농축하여 화합물 B16을 함유하는 잔류물(7.74 g)을 수득하였다. 수득한 잔류물을 아세토니트릴로 희석하고 LCMS 분석(방법 1: 화합물 B16의 체류시간; 4.642분, m/z = 449.24 $[M+H]^+$)하였다. 생성된 잔류물 및 3,5-비스(트리플루오로메틸)벤조산을 DMSO-$d_6$에 용해시키고, qNMR 분석하였다(수율: 99.9%).

[1467] 실시예 B-23

[1468] 화합물 B17의 합성: ((2S,3S)-2-[[(2S)-2-[벤질옥시카르보닐(메틸)아미노]-4-메틸-펜타노일]아미노]-3-메틸-펜탄산)

[1469] [화학식 95]




B17

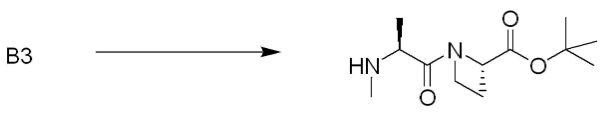
[1470]

[1471] 실시예 B-22에서 수득한 화합물 B16을 함유하는 잔류물(7.59 g, 함량: 93.3%)에 이소프로필 아세테이트(12.5 mL)를 첨가하여 화합물 B16을 함유하는 용액을 제조하였다. 반응 용기에 상기 제조된 화합물 B16을 함유하는 용액(9.05 g) 및 이소프로필 아세테이트(28.6 mL)를 실온에서 첨가한 후, 헥사메틸디실라잔(4.14 mL)을 첨가하였다. 반응 용기를 얼음 수조에서 냉각시키고, 트리메틸실릴 트리플루오로메탄술포네이트(2.82 mL)를 교반하면서 첨가하였다. 반응 용기를 얼음 수조로부터 제거하고, 혼합물을 실온에서 4시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.4% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기를 얼음 수조에서 냉각시키고 이소프로필 아세테이트(9.5 mL) 및 5% 인산수소이칼륨 수용액(24.5 mL)을 첨가하고, 생성물을 분별 깔때기에서 혼합하였다. 분별 깔때기에 0.5 M 염산 수용액(20.0 mL)을 첨가하여 유기층을 세척하고, 수층을 배출하였다. 유기층을 5% 염화나트륨 용액(35.0 mL)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 감압하에 농축하여 화합물 B17을 함유하는 잔류물(3.89 g)을 수득하였다. 수득한 잔류물을 아세토니트릴로 희석하고 LCMS 분석(방법 1: 화합물 B17의 체류시간; 3.635분, m/z = 393.15 $[M+H]^+$)하였다. 생성된 잔류물 및 3,5-비스(트리플루오로메틸)벤조산을 DMSO-$d_6$에 용해시키고, qNMR 분석하였다(수율: 92.8%). 생성된 잔류물에 2-MeTHF(5.0 mL)를 첨가하여 화합물 B17을 함유하는 용액(8.06 g, 함량: 34.2%)을 수득하였다.

[1472] 실시예 B-24

[1473] 화합물 B4의 합성: (tert-부틸 (2S)-1-[(2S)-2-(메틸아미노)프로파노일]아제티딘-2-카르복실레이트)

[1474] [화학식 96]




B4

[1475]

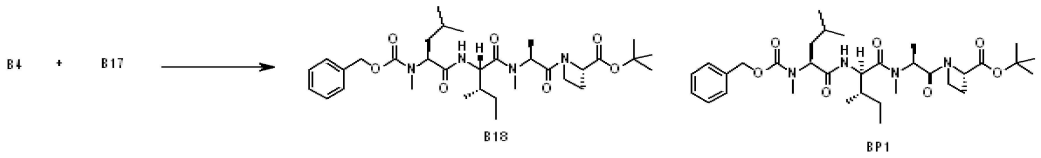
[1476] 반응 용기에 실시예 B-16에서 수득한 화합물 B3을 함유하는 용액(8.12 g) 및 2-MeTHF(18.1 mL)를 실온에서 첨가한 후, 5% Pd/C(1.70 g, 50% 수성 함량)를 첨가하였다. 질소 기체를 이용한 탈기를 교반하면서 실시한 후, 수소를 이용한 탈기를 실시하고, 혼합물을 실온에서 2.5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 혼합물을 여과지 및 멤브레인 필터를 사용하여 흡입-여과하고, 잔류물을 2-MeTHF(12.1 mL x 2)로 세척하였다. 생성된 여액을 감압하에 농축하여 화합물 B4를 함유하는 잔류물(2.13 g)을 수득하였다. 수득한 잔류물을 아세토니트릴로 희석하고 LCMS 분석(방법 2: 화합물 B4의 체류시간; 1.573분, m/z = 243.09 $[M+H]^+$)하

였다. 생성된 잔류물 및 1,3,5-트리메톡시벤젠을 DMSO-$d_6$에 용해시키고, qNMR 분석하였다(수율: 98.3%). 생성된 잔류물에 2-MeTHF(3.5 mL)를 첨가하여 화합물 B4를 함유하는 용액(4.340 g, 함량: 40.8%)을 수득하였다.

[1477] 실시예 B-25

[1478] 화합물 B18의 합성: (tert-부틸 2-[[(2S)-2-[[(2S,3S)-2-[[(2S)-2-[벤질옥시카르보닐(메틸)아미노]-4-메틸-펜타노일]아미노]-3-메틸-펜타노일]-메틸-아미노]프로파노일]아미노]아세테이트)

[1479] [화학식 97]

[1480] 

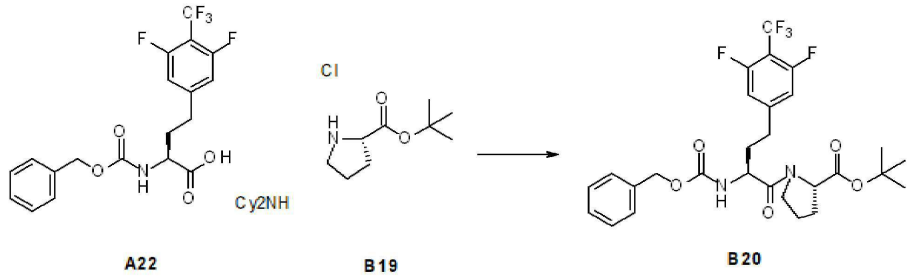

[1481] 반응 용기에 화합물 B17을 함유하는 용액(235 mg, 함량: 34.2%), 화합물 B4를 함유하는 용액(111 mg 함량: 40.8%), DIPEA(67.9 μL) 및 아세토니트릴(45 μL)을 첨가하였다. 반응 혼합물에 HATU(78.6 mg)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 7시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 2), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 97.3% 이상(반응 전환율의 계산식 4)임을 확인하였다(방법 1: 화합물 B18의 체류 시간: 4.374분, m/z = 639.37 $[M+Na]^+$). 화합물 B18 대 BP1의 비는 40.2 : 59.8이었다.

[1482] 반응 전환율의 계산식 4: 반응 전환율(%) = (화합물 B18의 면적값 + 화합물 BP1의 면적값)/(화합물 B4의 면적값 + 화합물 B18의 면적값 + 화합물 B18의 면적값) x 100

[1483] 실시예 B-26

[1484] 화합물 B20의 합성: (2S)-1-[(2Stert-부틸 ((S2SS)-2-(벤질옥시카르보닐아미노-(((벤질옥시)카르보닐)아미노)-4-[-(-[-(3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐])]부타노일]피롤리딘-2-카르복실레이트 tert-부틸)-L-프롤리네이트

[1485] [화학식 98]

[1486] 


[1487] 화합물 A22(14.26 g(23.8 mmol)) 및 화합물 B19(6.305 g(30.3 mmol))를 반응 용기에 칭량하고 2-MeTHF(71.0 mL)에 용해시켰다. DIPEA(22.5 mL) 및 2-MeTHF(30 mL)를 실온에서 교반하면서 첨가하였다. 외부 온도를 0℃로 냉각하고, T3P(2-MeTHF 중 1.6 M, 35.7 mL)를 첨가하였다. 외부 온도를 실온으로 가온하고, 혼합물을 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 2), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 3)임을 확인하였다. 외부 온도를 0℃로 냉각하고, 5% 탄산나트륨 수용액(71.2 mL)을 반응 용액에 첨가하고, 혼합물을 실온에서 10분 동안 교반하였다. 수성층을 배출하고, 유기층을 5% 황산수소나트륨 수용액(71.2 mL x 2) 및 5% 탄산나트륨 수용액(71.2 mL)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 30℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하고, 2-MeTHF(20.4 mL)를 첨가하여 화합물 B20을 함유하는 용액(35.21 g, 수율 82.2%)을 수득하였다.

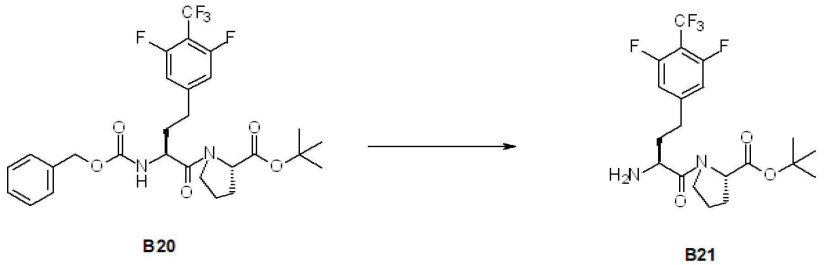
[1488] LCMS(ESI): 체류 시간: 4.244분, m/z = 593.40 $[M+Na]^+$ (LCMS 분석조건: 방법 4)

[1489] 수율: 82.2%(수득한 잔류물 및 3,5-비스(트리플루오로메틸)벤조산을 DMSO-$d_6$에 용해시키고, qNMR 분석하였다.)

[1490] 실시예 B-27

[1491] 화합물 B21의 합성: (2S)-1-[(2Sterttert-부틸 ((S2SS)-2-아미노-4-[-(-[-(3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐])])부타노일]피롤리딘-2-카르복실레이트 tert-부틸)-L-프롤리네이트

[1492] [화학식 99]



B20 B21

[1493]

[1494] 반응 용기에 실시예 B-26에서 수득한 화합물 B20을 함유하는 저장 용액(14.96 g, 31.7 wt%) 및 2-MeTHF(19.2 mL)을 실온에서 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기에 5% Pd/C(1.752 g, 50% 수성 함량)를 첨가한 후, 수소 기체로 3회 탈기시키고, 혼합물을 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.8% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 혼합물을 여과지 및 멤브레인 필터를 사용하여 여과하고, 잔류물을 2-MeTHF(5.0 mL x 2)로 세척하였다. 생성된 여액을 감압하에 농축하여 화합물 B21을 함유하는 잔류물(6.02 g, 수율 89.5%)을 수득하였다.

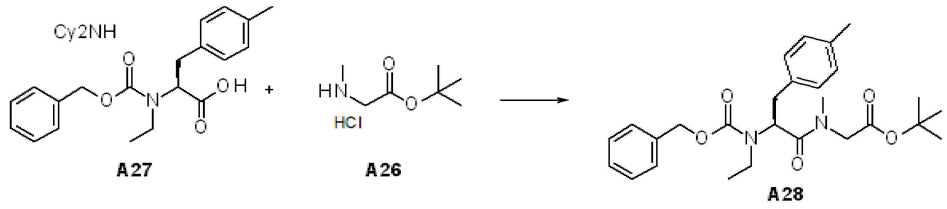
[1495] LCMS(ESI): 체류 시간: 2.958분, m/z = 437.28 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건: 방법 4)

[1496] 수율: 89.5%(수득한 잔류물 및 3,5-비스(트리플루오로메틸)벤조산을 DMSO-$d_6$에 용해시키고, qNMR 분석하였다.)

[1497] 실시예 B-28

[1498] 화합물 A28의 합성: (tert-부틸 2-[[(2S)-2-[벤질옥시카르보닐(에틸)아미노]-3-(p-톨릴)프로파노일]-메틸-아미노]아세테이트)

[1499] [화학식 100]



A27 A26 A28

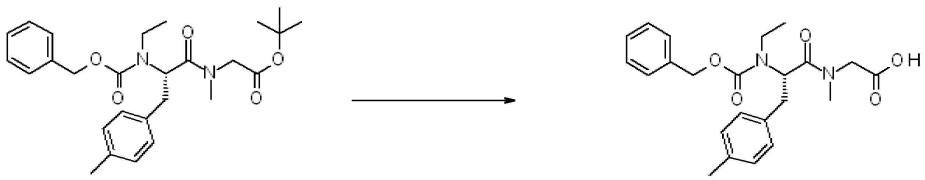
[1500]

[1501] 질소 치환 후 반응 용기에 화합물 A27(72.0 kg) 및 화합물 A26(30.0 kg)을 실온에서 첨가한 후, 2-MeTHF(360 kg)를 첨가하고 혼합물을 교반하였다. 반응 용기의 외부 온도를 10℃로 설정하고, DIPEA(96.2 kg)를 첨가한 후, T3P(50 w/w% 2-MeTHF 용액, 212 kg)를 적가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하고, 혼합물을 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 2), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.2%(반응 전환율의 계산식 3)임을 확인하였다. 반응 용기의 외부 온도를 10℃로 설정하고, 5% 탄산나트륨 수용액(430 kg)을 적가한 후, 물(110 kg)을 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하고, 혼합물을 20분 동안 교반한 후, 수성층을 반응 용기로부터 배출하였다. 생성된 유기층을 25℃의 외부 온도에서 5% 황산수소나트륨 일수화물 수용액으로 3회(각각 420 kg, 420 kg, 420 kg) 및 5% 탄산나트륨 수용액(420 kg)으로 또한 세척하였다. 생성된 유기층을 외부 온도를 55℃로 설정하여 액체 부피가 약 400 L가 될 때까지 감압하에 농축하였다. 생성된 농축 용액 및 반응 용기를 2-MeTHF(86 kg)로 세척하여 수득한 세척 용액을 취합하고 다른 반응기로 옮겼다. 그런 다음, 용액을 외부 온도를 55℃로 설정하여 액체 부피가 약 200 L가 될 때까지 감압하에 농축하여 화합물 A28을 함유하는 2-MeTHF 용액을 수득하였다.

[1502] 실시예 B-29

[1503] 화합물 B9의 합성: (S)-N-(2-[[(2S)-2-[벤질옥시카르보닐(-(((-(((벤질옥시)카르보닐) (()(에틸)아미노]-)-]-)-3-(p-톨릴)프로파노일]-메틸-아미노]아세트산)-N-메틸글리신

[1504] [화학식 101]



A28 B9

[1505]

[1506] 반응용기에 화합물 A28(29.92 g, 23.2 wt%)을 첨가하고 감압하에 농축하였다. 생성된 잔류물에, IPAc(69.4 mL)를 첨가하였다. HMDS(7.86 mL)를 실온에서 교반하면서 첨가한 후, 외부 온도를 0℃로 냉각하고, TMSOTf(5.35 mL)를 천천히 적가하였다. 외부 온도를 실온으로 가온하고, 혼합물을 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 외부 온도를 0℃로 냉각하고, 5% 인산수소이칼륨 수용액(48.6 mL) 및 0.5 M 염산 수용액(35.0 mL)을 반응 용액에 순차적으로 첨가하고, 혼합물을 실온에서 10분 동안 교반하였다. 수성층을 배출하고, 유기층을 5% 염화나트륨 용액(69.4 mL)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 30℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 B9를 함유하는 용액(17.78 g, 수율 94.8%)을 수득하였다.

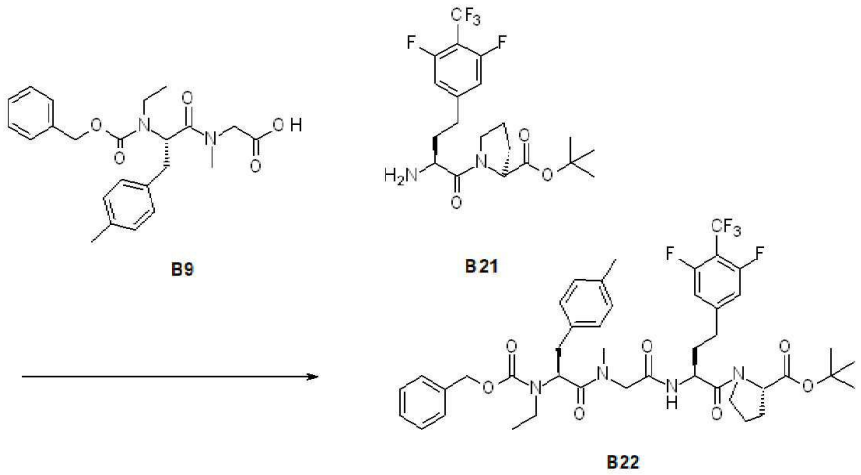
[1507] LCMS(ESI): 체류 시간: 3.220분, m/z = 413.35 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건: 방법 4)

[1508] 수율: 94.8%(수득한 잔류물 및 3,5-비스(트리플루오로메틸)벤조산을 DMSO-$d_6$에 용해시키고, qNMR 분석하였다.)

[1509] 실시예 B-30

[1510] 화합물 B22의 합성: 아세트산 N-[(1S)-2-[[2-[[(1S)-3-[3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐]-1-(피롤리딘-1-카르보닐)프로필]아미노]-2-옥소-에틸]-메틸-아미노]-2-옥소-1-(p-톨릴메틸)에틸]-N-에틸-카르바메이트; tert-부틸벤질

[1511] [화학식 102]



B9 B21 B22

[1512]

[1513] 화합물 B9(11.12 g, 33.1 wt%) 및 화합물 B21(6.80 g, 55.7 wt%)을 반응 용기에 칭량하고, 2-MeTHF(18.3 mL)를 첨가하였다. DIPEA(5.86 mL)를 실온에서 교반하면서 첨가하였다. 외부 온도를 0℃로 냉각하고, HATU(5.920 g)를 첨가하였다. 외부 온도를 실온으로 가온하고, 혼합물을 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 2), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 3)임을 확인하였다. 외부 온도를 0℃로 냉각하고, N-메틸이미다졸(0.67 mL) 및 5% 탄산나트륨 수용액(22.0 mL)을 반응 용액에 첨가하고, 혼합물을 실온에서 10분 동안 교반하였다. 2-MeTHF(10.0 mL)로 세척한 후, 수성층을 배출하고, 유기층을 2.5% 암모니아 수용액(22.0 mL), 5% 황산수소나트륨 용액(22.0 mL x 2), 및 5% 탄산나트륨 수용액(22.0 mL x 2)으로 세척하였다. 수득한 유기층을 농축하고, 30℃의 외부 온도에서 감압하에 건조하고, 실리카겔 크로마토그래피(용출액: 메탄올/디클로로메탄 5/95)로 정제하였다. 표적 물질을 함유하는 용출액을 감압하에 농축하여 화합물 B22를 함유하는 잔류물(4.88 g, 수율 65.6%)을 수득하였다.

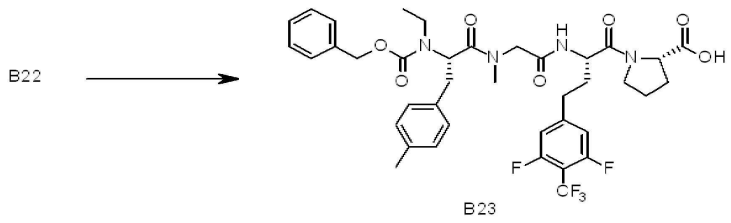
[1514] LCMS(ESI): 체류 시간: 4.992분, m/z = 831.66 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건: 방법 4)

[1515] 수율: 90.4%(수득한 잔류물 및 3,5-비스(트리플루오로메틸)벤조산을 DMSO-$d_6$에 용해시키고, qNMR 분석하였다.)

[1516] 실시예 B-31

[1517] 화합물 B23의 합성: ((2S)-1-[(2S)-2-[[2-[[(2S)-2-[벤질옥시카르보닐(에틸)아미노]-3-(p-톨릴)프로파노일]-메틸-아미노]아세틸]아미노]-4-[3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐]부타노일]피롤리딘-2-카르복실산)

[1518] [화학식 103]




B23

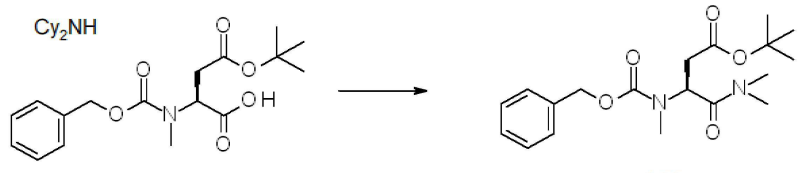
[1519]

[1520] 반응 용기에 실시예 B-29에서 수득한 화합물 B22를 함유하는 잔류물(3.85 g, 함량: 93.7%) 및 이소프로필 아세테이트(18.1 mL)를 실온에서 첨가한 후, 헥사메틸디실라잔(2.31 mL)을 첨가하였다. 반응 용기를 얼음 수조에서 냉각시키고, 트리메틸실릴 트리플루오로메탄술포네이트(1.57 mL)를 교반하면서 첨가하였다. 반응 용기를 얼음 수조로부터 제거하고, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 용기를 얼음 수조에서 냉각하고, 헥사메틸디실라잔(2.31 mL) 및 트리메틸실릴 트리플루오로메탄술포네이트(1.57 mL)를 교반하면서 첨가하였다. 반응 용기를 얼음 수조로부터 제거하고, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.7% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기를 얼음 수조에서 냉각하고, 2-MeTHF(18.1 mL) 및 5% 인산수소이칼륨 수용액(18.1 mL)을 첨가하였다. 혼합물을 10분 동안 교반하고, 수성층을 배출하였다. 유기층을 5% 인산이수소나트륨 수용액(18.1 mL) 및 5% 염화나트륨(18.1 mL)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 감압하에 농축하여 화합물 B23을 함유하는 잔류물을 수득하였다. 수득한 잔류물에 2-MeTHF(5.5 mL)를 첨가하여 화합물 B23을 함유하는 용액(8.069 g, 함량: 32.43%)을 수득하였다. 생성된 용액을 아세토니트릴로 희석하고 LCMS 분석(방법 1: 화합물 B23의 체류시간; 4.237분, m/z = 775.48 $[M+H]^+$)하였다. 수득한 백색 분말 및 3,5-비스(트리플루오로메틸)벤조산을 DMSO-$d_6$에 용해시키고, qNMR 분석하였다(수율: 77.5%).

[1521] 실시예 B-32

[1522] 화합물 A11의 합성: (tert-부틸 (3S)-3-[벤질옥시카르보닐(메틸)아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노에이트)

[1523] [화학식 104]




A10 A11

[1524]

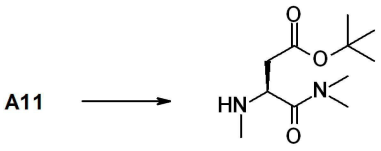
[1525] 질소 치환 후 반응 용기에 화합물 A10(4.78 kg) 및 2-MeTHF(24 kg)를 실온에서 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 10℃로 설정하고, 반응 혼합물을 교반하는 동안 DIPEA(3.22 kg) 및 디메틸아민-THF 용액(2 M, THF 용액, 5.49 kg)을 순차적으로 첨가하고, 혼합물을 30분 동안 교반하였다. T3P(50% w/w, 2-MeTHF 용액, 8.64 kg)를 첨가한 후, 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하고, 혼합물을 6시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 3), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 96.2%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 외부 온도를 10℃로 설정하고, 10% 시트르산 일수화물 수용액(29 kg)을 반응 혼합물에 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하고, 혼합물을 10분 동안 교반한 후, 교반을 정지하고, 수성층을 반응 용기로부터 배출하였다. 생성된 유기층을 10% 시트르산 일수화물 수용액(29 kg

x 2) 및 5% 탄산나트륨 수용액(29 kg x 3)으로 세척하였다. 생성된 유기층에 2-MeTHF(26.0 kg)를 첨가하고, 혼합물을 60℃의 외부 온도에서 액체 부피가 약 7 L가 될 때까지 감압하에 농축하였다. 반응 용기를 2-MeTHF(6.8 kg x 2)로 세척하여 수득한 세척 용액 및 잔류물을 취합하여 화합물 A11을 함유하는 용액(19.8 kg)을 수득하였다.

[1526] 실시예 B-33

[1527] 화합물 A12의 합성 (tert-부틸 (3S)-4-(디메틸아미노)-3-(메틸아미노)-4-옥소-부타노에이트

[1528] [화학식 105]




A12

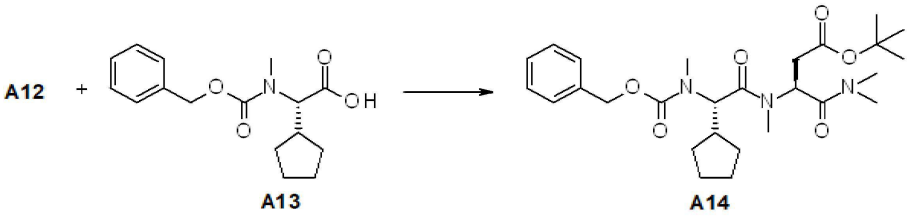
[1529]

[1530] 질소 치환 후 반응 용기에 5% Pd/C(1.31 kg, 50% 수성 함량), 실시예 B-32에서 수득한 화합물 A11을 함유하는 용액(19.8 kg), 및 2-MeTHF(6.0 kg)를 순차적으로 실온에서 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하였고, 반응 용기의 내부 압력이 0.18 MPaG이 될 때까지 반응 용기를 수소로 가압하였다. 2시간 동안 교반한 후, 내부 압력의 변동은 확인되지 않았다. 이어서, 반응 용기를 수소를 이용하여 0.18 M PaG로 가압하고, 혼합물을 추가로 1.5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 100%(출발 물질이 검출되지 않음)(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 내부를 질소로 치환한 후, 반응 혼합물을 가압 여과하였다. 반응 용기의 내부 및 여과 장치를 2-MeTHF(11.3 kg x 3)로 세척하고, 여액 및 세척액을 저장 용액으로서 저장 용기 내에 수집하였다. 질소 치환 후 반응 용기에 저장 용액 및 2-MeTHF(0.40 kg)를 첨가하고, 혼합물을 40℃의 외부 온도에서 액체 부피가 약 4 L가 될 때까지 감압하에 농축하였다. 반응 용기를 2-MeTHF(6.8 kg)로 세척하여 수득한 세척 용액 및 잔류물을 취합하여 화합물 A12를 함유하는 용액(10.4 kg)을 수득하였다.

[1531] 실시예 B-34

[1532] 화합물 A14의 합성 (tert-부틸 (3S)-3-[[(2S)-2-[벤질옥시카르보닐(메틸)아미노]-2-시클로펜틸-아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노에이트)

[1533] [화학식 106]



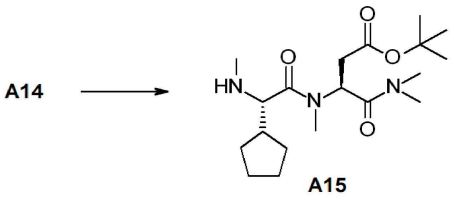

[1534]

[1535] 실시예 B-33에서 수득한 화합물 A12를 함유하는 용액(10.3 kg)을 첨가하고, 혼합물을 40℃의 외부 온도에서 교반하면서 액체 부피가 약 10 L가 될 때까지 감압하에 농축하였다. 화합물 A13(61 w/w%, 2-MeTHF 용액, 4.97 kg), 2-MeTHF(1.0 L), 및 아세토니트릴(2.8 kg)을 실온에서 첨가하였다. 외부 온도를 10℃로 냉각하고, DIPEA(4.93 kg) 및 HATU(4.95 kg)를 순차적으로 첨가한 후, 외부 온도를 25℃로 가온시켰다. 반응 혼합물을 25℃에서 4시간 동안 교반한 후, 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.3%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기에 CPME(4.0 kg), 5% 탄산칼륨 수용액(3.5 kg), 및 N-메틸이미다졸(712 g)을 순차적으로 첨가하고, 혼합물을 30분 동안 교반하였다. 이후, 2.5% 암모니아 수용액(14 kg) 및 2-MeTHF(3.9 kg)를 첨가하고, 혼합물을 10분 동안 교반한 후, 수성층을 배출하였다. 생성된 유기층을 2.5% 암모니아 수용액(18 kg), 10% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(18 kg x 3), 및 5% 탄산칼륨 수용액(18 kg)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 40℃의 외부 온도에서 액체 부피가 약 9 L가 될 때까지 감압하에 농축하였다. 반응 용기를 2-MeTHF(6.8 kg x 2)로 세척하여 수득한 세척 용액 및 잔류물을 취합하고 첨가하여 화합물 A14를 함유하는 용액(21.6 kg)을 수득하였다.

[1536] 실시예 B-35

[1537] 화합물 A15의 합성 (tert-부틸 (3S)-3-[[(2S)-2-시클로펜틸-2-(메틸아미노)아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노에이트)

[1538] [화학식 107]

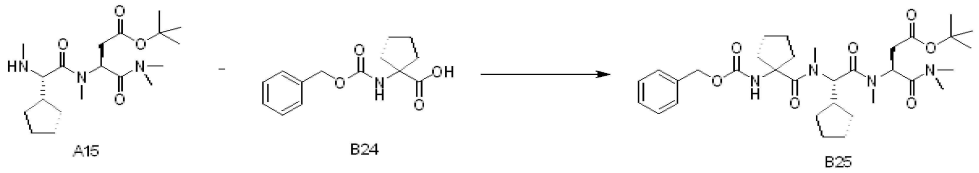
[1539] 


[1540] 질소 치환 후 반응 용기에 5% Pd/C(1.26 kg, 50% 수성 함량), 실시예 B-34에서 수득한 화합물 A14를 함유하는 용액(21.0 kg), 및 2-MeTHF(5.1 kg)를 순차적으로 실온에서 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하였고, 반응 용기의 내부 압력이 0.18 MPaG이 될 때까지 수소로 가압하였다. 40분 동안 교반한 후, 내부 압력의 변동은 확인되지 않았다. 이어서, 반응 용기를 수소를 이용하여 0.18 M PaG로 가압하고, 반응 혼합물을 추가로 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 100%(출발 물질이 검출되지 않음)(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 내부를 질소로 치환한 후, 반응 혼합물을 가압 여과하였다. 반응 용기의 내부 및 여과 장치를 2-MeTHF(11 kg x 4, 5.4 kg)로 세척하고, 여액 및 세척액을 저장 용액으로서 수집하였다. 생성된 여액 및 세척 용액을 60℃의 외부 온도에서 반응 혼합물의 액체 부피가 약 6 L가 될 때까지 감압하에 농축하였다. 반응 용기를 2-MeTHF(6.8 kg)로 세척하여 수득한 세척 용액 및 잔류물을 취합하여 화합물 A15를 함유하는 용액(11.8 kg)을 수득하였다.

[1541] 실시예 B-36

[1542] 화합물 B25의 합성: tert-부틸 (3S)-3-[[(2S)-2-[(1-(벤질옥시카르보닐아미노)시클로펜탄카르보닐)-메틸-아미노]-2-시클로펜틸-아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노에이트

[1543] [화학식 108]

[1544] 

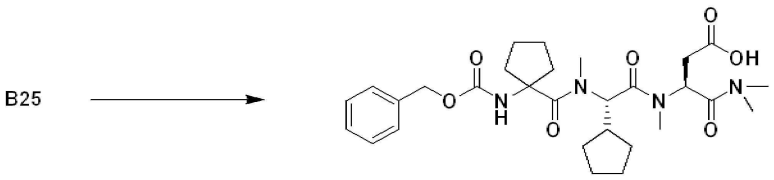

[1545] 반응 용기에 실시예 B-35와 동일한 제조 방법으로 수득한 화합물 A15를 함유하는 용액(16.0 g, 함량: 32.5%)을 실온에서 첨가하고 감압하에 농축하였다. 잔류물을 아세토니트릴(10.0 mL)에 용해시키고, 감압하의 농축 작업을 3회 반복하였다. 반응용기에 아세토니트릴(53.9 mL), 화합물 B24(9.60 g) 및 DIPEA(12.7 mL)를 실온에서 첨가하고, 혼합물을 교반하였다. 반응 용기의 외부 온도를 55℃로 설정하고, HATU(15.26 g)를 반응 혼합물에 2회 나누어 교반하면서 첨가하고, 혼합물을 6시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 2), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.6% 이상(반응 전환율의 계산식 3)임을 확인하였다. 반응 혼합물에 N-메틸이미다졸(4.3 mL)을 첨가하고, 혼합물을 5분 동안 교반한 다음, 물(27.0 mL)을 첨가하고, 혼합물을 30분 동안 교반하였다. 이어서, 반응 용기의 외부 온도를 55℃에서 25℃로 감소시키고, 반응 혼합물을 밤새 교반하였다. 반응 혼합물을 여과지를 사용하여 흡입-여과하고, 잔류물을 아세토니트릴(18.0 mL) 및 물(9.0 mL)의 혼합 용액으로 세척하였다. 여과된 결정을 진공하에 40℃에서 3시간 동안 건조하여 화합물 B25를 함유하는 백색 분말(6.96 g)을 수득하였다. 생성된 백색 분말을 아세토니트릴로 희석하고 LCMS 분석(방법 5: 화합물 B25의 체류시간: 6.914분, m/z = 637.30 $[M+Na]^+$)하였다. 생성된 분말 및 3,5-비스(트리플루오로메틸)벤조산을 DMSO-$d_6$에 용해시키고, qNMR 분석하였다(수율: 78.3%).

[1546] 실시예 B-37

[1547] 화합물 B26의 합성: (3S)-3-[[(2S)-2-[(1-벤질옥시카르보닐아미노)시클로펜탄카르보닐)-메틸-아미노]-2-시클로

펜틸-아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부탄산)

[1548] [화학식 109]




B26

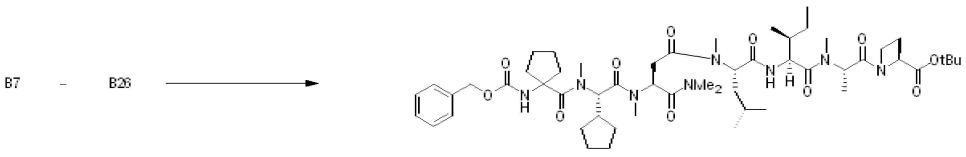
[1549]

[1550] 반응 용기에 실시예 B-36에서 수득한 화합물 B25를 함유하는 백색 분말(2.50 g, 함량: 95.9%) 및 디클로로메탄(12.0 mL)을 실온에서 첨가한 후, 헥사메틸디실라잔(2.07 mL)을 첨가하였다. 반응 용기를 얼음 수조에서 냉각시키고, 트리메틸실릴 트리플루오로메탄술포네이트(1.41 mL)를 교반하면서 첨가하였다. 반응 용기를 얼음 수조로부터 제거하고, 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기를 얼음 수조에서 냉각하고, 디클로로메탄(12.0 mL) 및 5% 인산수소이칼륨 수용액(24.0 mL)을 첨가하였다. 혼합물을 10분 동안 교반하고, 유기층을 배출하였다. 수층에 2-MeTHF(72.0 mL)를 첨가한 후, 유기층을 0.5 M 염산 수용액(12.0 mL) 및 5% 염화나트륨 수용액(24.0 mL)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 감압하에 농축하여 화합물 B26을 함유하는 백색 분말(1.98 g)을 수득하였다. 수득한 백색 분말을 아세토니트릴로 희석하고 LCMS 분석(방법 1: 화합물 B26의 체류시간; 3.307분, m/z = 581.13 $[M+Na]^+$)하였다. 수득한 백색 분말 및 3,5-비스(트리플루오로메틸)벤조산을 DMSO-$d_6$에 용해시키고, qNMR 분석하였다(수율: 81.5%).

[1551] 실시예 B-38

[1552] 화합물 B27의 합성: (tert-부틸 (2S)-1-[(2S)-2-[[(2S,3S)-2-[[(2S)-2-[[(3S)-3-[[(2S)-2-[(1-(벤질옥시카르보닐아미노)시클로펜탄카르보닐)-메틸-아미노]-2-시클로펜틸-아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노일]-메틸-아미노]-4-메틸-펜타노일]아미노]-3-메틸-펜타노일]-메틸-아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르복실레이트)

[1553] [화학식 110]




B27

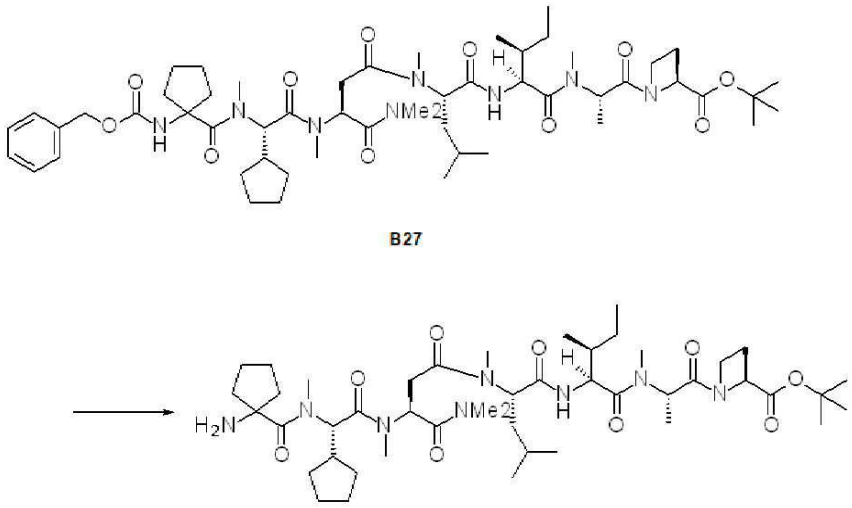
[1554]

[1555] 반응 용기에 실시예 B-21에서 수득한 화합물 B7을 함유하는 용액(2.74 g, 함량: 31.08%) 및 실시예 B-37에서 수득한 화합물 B26을 함유하는 백색 분말(1.21 g, 함량: 89.9%)에 이어서 2-MeTHF(2.13 mL) 및 DMF(2.13 mL)를 실온에서 첨가하고, 혼합물을 교반하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하고, 2-MeTHF(125 μL), DIPEA(1.23 mL) 및 HATU(1.34 g)를 반응 혼합물에 교반하면서 첨가하고, 혼합물을 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 97.5% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 혼합물에 N-메틸이미다졸(0.14 mL) 및 5% 탄산수소나트륨 수용액(5.1 mL)을 첨가하고, 혼합물을 2시간 동안 교반하였다. 이어서, 2-MeTHF(6.4 mL) 및 2.5% 암모니아 수용액(5.1 mL)을 첨가하여 유기층을 세척하고, 수성층을 배출하였다. 유기층을 2.5% 암모니아 수용액(6.8 mL) 및 5% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(6.8 mL x 2)으로 세척하였다. 아세토니트릴(2.1 mL)을 유기층에 첨가하고, 유기층을 5% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(6.8 mL x 1) 및 3% 황산수소이칼륨 수용액(6.8 mL x 1)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 감압하에 농축하여 화합물 B27을 함유하는 잔류물(2.60 g, 함량: 24.2%)을 수득하였다. 수득한 잔류물에 2-MeTHF(4.50 mL)를 첨가하여 화합물 B27을 함유하는 용액(6.21 g)을 수득하였다. 수득한 용액을 아세토니트릴로 희석하고 LCMS 분석(방법 6: 화합물 B27의 체류시간; 9.79분, m/z = 1046.33 $[M+Na]^+$)하였다. 생성된 잔류물 및 3,5-비스(트리플루오로메틸)벤조산을 DMSO-$d_6$에 용해시키고, qNMR 분석하였다(수율: 83.4%).

[1556] 실시예 B-39

[1557] 화합물 B28: tert-부틸 (2S)-1-[(2S)-2-[[(2S,3S)-2-[[(2S)-2-[[(3S)-3-[[(2S)-2-[(1-아미노시클로펜탄카르보닐)-메틸-아미노]-2-시클로펜틸-아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노일]-메틸-아미노]-4-메틸-펜타노일]아미노]-3-메틸-펜타노일]-메틸-아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르복실레이트

[1558] [화학식 111]



B27



B28

[1559]

[1560] 실시예 B-38에서 수득한 화합물 B27(4.20 g, 함량 24.18%)을 반응 용기에 첨가하였다. 다음으로, 2-MeTHF(4.4 mL) 및 5% Pd/C(0.127 g, 50% 수성 함량)를 실온에서 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기의 내부를 수소로 치환한 후, 혼합물을 실온에서 상압의 수소 분위기하에서 2시간 동안 교반한 후, 0.20 MPa의 수소 압력에서 실온에서 5시간 동안 더 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석(방법 6)을 통해 반응 전환율이 99.72%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 내부를 질소로 치환한 후, 반응 혼합물을 여과지 및 필터를 이용하여 감압하에 여과하였다. 반응 용기와 여과지 및 필터를 2-MeTHF로 세척하였다. 생성된 용액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하였다. 생성된 잔류물(1.84 g)을 HPLC로 분석하였다. 추가로, 생성된 잔류물 및 3,5-비스(트리플루오로메틸)벤조산을 DMSO-$d_6$에 용해시키고, qNMR 분석하였다(함량 50.01%, 양: 0.92 g, 수율: 정량적).

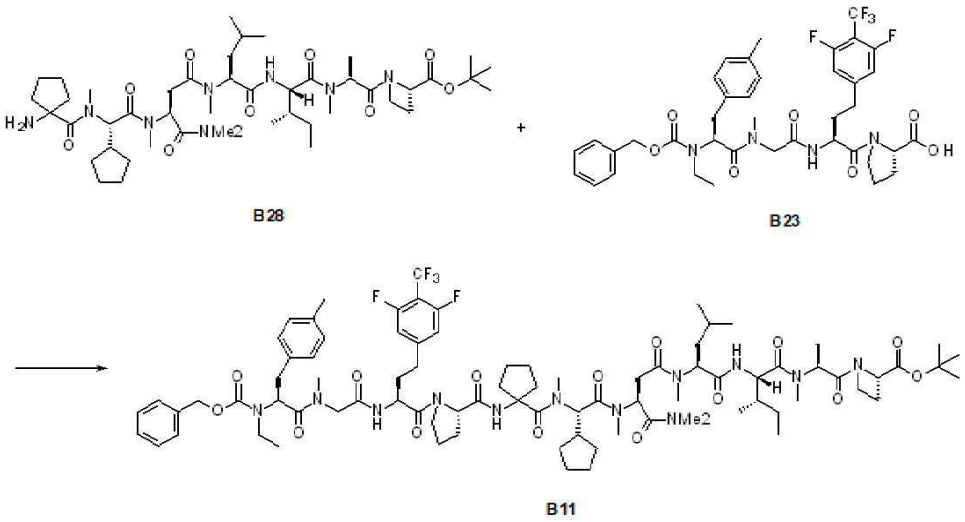
[1561] 화합물 B28의 LC 체류 시간: 6.063분(HPLC 분석 조건: 방법 6)

[1562] 화합물 B28의 LCMS(ESI): 체류 시간: 5.50분, m/z = 890 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건: 방법 6)

[1563] 실시예 B-40-1

[1564] 화합물 B11: tert-부틸 (2S)-1-[(2S)-2-[[(2S,3S)-2-[[(2S)-2-[[(3S)-3-[[(2S)-2-[[1-[[(2S)-1-[(2S)-2-[[2-[[(2S)-2-[벤질옥시카르보닐(에틸)아미노]-3-(p-톨릴)프로파노일]-메틸-아미노]아세틸]아미노]-4-[3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐]부타노일]피롤리딘-2-카르보닐]아미노]시클로펜탄카르보닐]-메틸-아미노]-2-시클로펜틸-아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노일]-메틸-아미노]-4-메틸-펜타노일]아미노]-3-메틸-펜타노일]-메틸-아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르복실레이트

[1565] [화학식 112]




[1566]

[1567] 실시예 B-39에서 합성된 화합물 B28(402.59 mg, 함량 50.01%) 및 실시예 B-31에서 합성된 화합물 B23(596.20 mg, 함량 32.43%)을 반응 용기에 첨가하고 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하였다. 반응 용기를 질소 치환하였다. 다음으로, 디메틸 카보네이트(1 mL) 및 DIPEA(0.154 mL)를 순차적으로 첨가하였다. HATU(173.93 mg)를 0℃의 외부 온도에서 교반하면서 첨가한 후, 25℃에서 6시간 동안 교반하였다. 반응 용기에 2.5% 암모니아 수용액(1.8 mL)을 첨가하고, 혼합물을 30분 동안 교반하였다. 다음으로, 2-MeTHF(2 mL)를 첨가하고, 혼합물을 5분 동안 교반한 후, 수성층을 배출하였다. 생성된 유기층을 10% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(1.8 mL x 3) 및 5% 탄산칼륨 수용액(1.8 mL x 2)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 HPLC로 분석하였다. 표준 제제를 사용하여 HPLC 분석의 결과로서, 수득한 화합물 B11의 양은 328.66 mg이었다(수율: 88%).

[1568] 화합물 B11의 LC 체류 시간: 11.367분(HPLC 분석 조건: 방법 6)

[1569] 화합물 B11의 키랄 LC 체류 시간: 61.330분(HPLC 분석 조건: 방법 8)

[1570] 화합물 B11의 LCMS(ESI) 체류 시간: 10.66분, m/z = 1668.339 $[M+Na]^+$ (LCMS 분석조건: 방법 6)

[1571] 화합물 B28 및 화합물 B23의 단편 커플링

[1572] 축합 시약으로서 HATU, COMU 또는 DMT-MM, 및 용매로서 디메틸 카보네이트, 2-MeTHF 또는 MeCN을 사용하여 화합물 B11을 합성한 결과를 표 3에 나타낸다. 실험 작업은 HATU를 축합 시약으로서 사용하고, 디메틸 카보네이트를 용매로서 사용한 경우에 따른 것이다(실시예 B-40-1). 표에서 TM은 표적 물질(화합물 B11)이다. HPLC 측정에서 표적물질(TM)과 에피머의 생성량은 면적% 비율로 나타내었다(HPLC 분석 조건: 방법 8). 수율은 표준 제제를 사용하여 HPLC 분석에 의해 계산되었다.

표 3

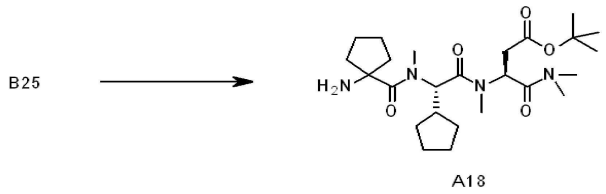
[1573]

| 용매 | 실시예 번호 | 축합 시약 | 반응 시간 (시간) | TM 및 에피머의 비(%) | | 수율(%) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | TM | 에피머 | |
| 디메틸 카보네이트 | 실시예 B-40-1 | HATU | 5 | 99.901 | 0.099 | 88 |
| | 실시예 B-40-2 | COMU | 5 | 99.724 | 0.276 | 89 |
| | 실시예 B-40-3 | DMT-MM | 5 | 99.621 | 0.379 | 88 |
| 2-MeTHF | 실시예 B-40-4 | HATU | 5 | 99.857 | 0.143 | 82 |
| | 실시예 B-40-5 | COMU | 5 | 99.883 | 0.117 | 83 |
| | 실시예 B-40-6 | DMT-MM | 5 | 99.702 | 0.298 | 81 |
| MeCN | 실시예 B-40-7 | HATU | 5 | 99.877 | 0.123 | 80 |
| | 실시예 B-40-8 | COMU | 5 | 99.819 | 0.181 | 81 |
| | 실시예 B-40-9 | DMT-MM | 5 | 99.657 | 0.343 | 84 |

[1574] 실시예 B-41

[1575] 화합물 A18의 합성 (tert-부틸 (3S)-3-[[(2S)-2-[(1-아미노시클로펜탄카르보닐)-메틸-아미노]-2-시클로펜틸-아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노에이트)

[1576] [화학식 113]



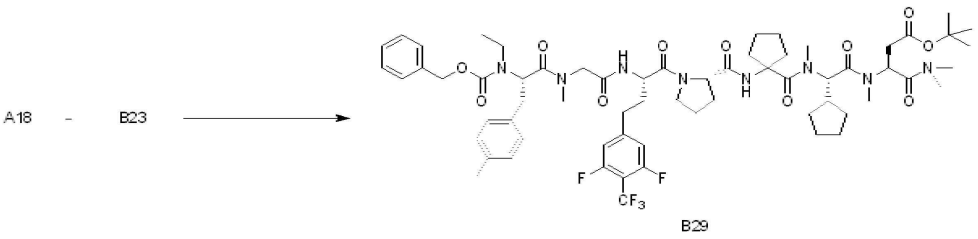

[1577]

[1578] 반응 용기에 실시예 B-36에서 수득한 화합물 B25를 함유하는 백색 분말(2.70 g, 함량: 95.9%) 및 THF(41.4 mL)에 이어서 5% Pd/C(0.899 g, 50% 수성 함량)를 실온에서 첨가하고, 혼합물을 교반하였다. 질소 기체를 이용한 탈기를 교반하면서 실시한 후, 수소를 이용한 탈기를 실시하고, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 혼합물을 여과지 및 멤브레인 필터를 사용하여 흡입-여과하고, 잔류물을 THF(10.8 mL x 2)로 세척하였다. 생성된 여액을 감압하에 농축하여 화합물 A18을 함유하는 잔류물(2.22 g)을 수득하였다. 수득한 잔류물에 2-MeTHF(3.0 mL)를 첨가하여 화합물 A18을 함유하는 용액(4.71 g, 함량: 40.1%)을 수득하였다. 수득한 용액을 아세토니트릴로 희석하고 LCMS 분석(방법 1: 화합물 A18의 체류시간; 2.687분, m/z = 503.28 $[M+Na]^+$)하였다. 수득한 잔류물 및 1,3,5-트리메톡시벤젠을 DMSO-$d_6$에 용해시키고, qNMR 분석하였다(수율: 93.4%).

[1579] 실시예 B-42

[1580] 화합물 B29의 합성 (tert-부틸 (3S)-3-[[(2S)-2-[[1-[[(2S)-1-[(2S)-2-[[2-[[(2S)-2-[벤질옥시카르보닐(에틸)아미노]-3-(p-톨릴)프로파노일]-메틸-아미노]아세틸]아미노]-4-[3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐]부타노일]피롤리딘-2-카르보닐]아미노]시클로펜탄카르보닐]-메틸-아미노]-2-시클로펜틸-아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노에이트)

[1581] [화학식 114]



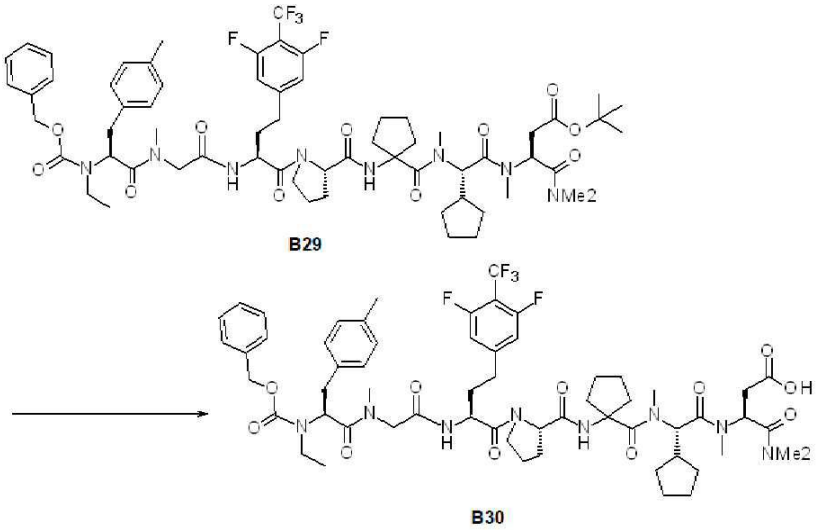

[1582]

[1583] 반응 용기에 실시예 B-41에서 수득한 화합물 A18을 함유하는 용액(1.89 g, 함량: 40.1%) 및 실시예 B-31에서 수득한 화합물 B23을 함유하는 용액(3.57 g, 함량: 32.4%)에 이어서 2-MeTHF(3.02 mL) 및 아세토니트릴(0.76 mL)을 실온에서 첨가하고, 혼합물을 교반하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하고, DIPEA(1.10 mL) 및 HATU(1.20 g)를 반응 혼합물에 교반하면서 첨가하고, 혼합물을 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 2), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.8% 이상(반응 전환율의 계산식 3)임을 확인하였다. 반응 혼합물에 N-메틸이미다졸(0.12 mL) 및 5% 탄산나트륨 수용액(4.53 mL)을 첨가하고, 혼합물을 2시간 동안 교반하였다. 이어서, 2.5% 암모니아 수용액(4.53 mL)을 첨가하여 유기층을 세척하고, 수성층을 배출하였다. 유기층을 2.5% 암모니아 수용액(6.04 mL x 2), 10% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(6.04 mL x 2), 및 3% 인산수소이칼륨 수용액(6.04 mLx1)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 감압하에 농축하여 화합물 B29를 함유하는 잔류물(2.68 g)을 수득하였다. 수득한 잔류물에 2-MeTHF(4.50 mL)를 첨가하여 화합물 B29를 함유하는 용액(6.26 g, 함량: 25.3%)을 수득하였다. 수득한 용액을 아세토니트릴로 희석하고 LCMS 분석(방법 6: 화합물 B29의 체류시간; 11.00분, m/z = 1260.53 $[M+Na]^+$)하였다. 수득한 잔류물 및 3,5-비스(트리플루오로메틸)벤조산을 DMSO-$d_6$에 용해시키고, qNMR 분석하였다(수율: 85.6%).

[1584] 실시예 B-43

[1585] 화합물 B30의 합성 (3S)-3-[[(2S)-2-[[1-[[(2S)-1-[(2S)-2-[[2-[[(2S)-2-[벤질옥시카르보닐(에틸)아미노]-3-(p-톨릴)프로파노일]-메틸-아미노]아세틸]아미노]-4-[3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐]부타노일]피롤리딘-2-카르보닐]아미노]시클로펜탄카르보닐]-메틸-아미노]-2-시클로펜틸-아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부탄산

[1586] [화학식 115]




[1587]

[1588] 반응 용기에 실시예 B-42에서 수득한 화합물 B30을 함유하는 저장 용액(3.293 g, 25.0 wt%)을 첨가하고 감압 하에 농축하고 IPAc(4.11 mL)를 생성되는 잔류물에 첨가하였다. HMDS(0.353 mL)를 실온에서 교반하면서 첨가한 후, 외부 온도를 0℃로 냉각하고, TMSOTf(0.24 mL)를 천천히 적가하였다. 외부 온도를 실온으로 가온하고, 혼합물을 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용액에 5% 인산수소이칼륨 수용액(0.58 mL)을 첨가하고, 혼합물을 10분 동안 교반하였다. 수성층을 배출하고, 유기층을 5% 염화나트륨 용액(0.82 mL)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 30℃의 외부 온도에서 감압하에 농축 건조하여 화합물 B30을 함유하는 잔류물(1.298 g, 수율 94.6%)을 수득하였다.

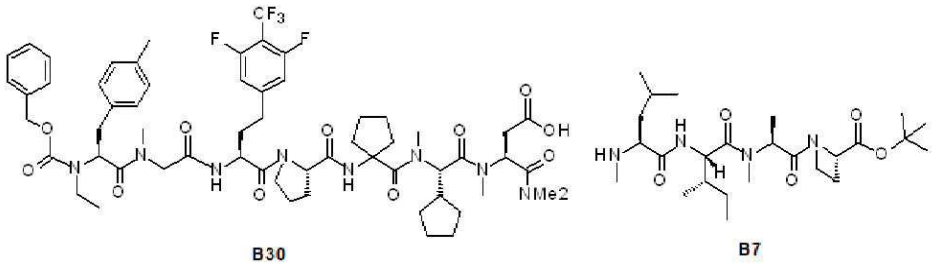
[1589] LCMS(ESI): 체류 시간: 4.320분, m/z = 1181.54 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건: 방법 4)

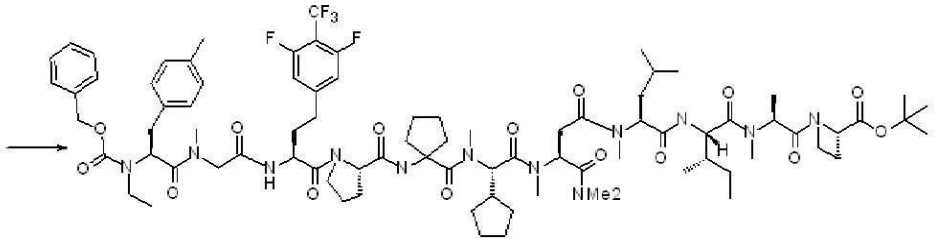
[1590] 수율: 94.6%(수득한 잔류물 및 3,5-비스(트리플루오로메틸)벤조산을 DMSO-$d_6$에 용해시키고, qNMR 분석하였다.)

[1591] 실시예 B-44

[1592] 화합물 B11의 합성: tert-부틸 (2S)-1-[(2S)-2-[[(2S,3S)-2-[[(2S)-2-[[(3S)-3-[[(2S)-2-[[1-[[(2S)-1-[(2S)-2-[[2-[[(2S)-2-[벤질옥시카르보닐(에틸)아미노]-3-(p-톨릴)프로파노일]-메틸-아미노]아세틸]아미노]-4-[3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐]부타노일]피롤리딘-2-카르보닐]아미노]시클로펜탄카르보닐]-메틸-아미노]-2-시클로펜틸-아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노일]-메틸-아미노]-4-메틸-펜타노일]아미노]-3-메틸-펜타노일]-메틸-아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르복실레이트

[1593] [화학식 116]




[1594]

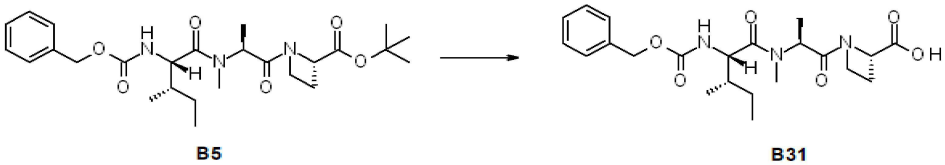
[1595] 화합물 B30을 함유하는 저장 용액(276.1 mg, 75.2 wt%) 및 화합물 B7(316.8 mg, 30.0 wt%)을 반응 용기에 칭량하고, 2-MeTHF(1.6 mL)를 첨가하였다. DIPEA(171 μL)를 실온에서 교반하면서 첨가한 데 이어서, HATU(155.9 mg)를 첨가하였다. 실온에서 3시간 동안 교반한 후, 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 2), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.6%(반응 전환율의 계산식 3)임을 확인하였다. 외부 온도를 0℃로 냉각하고, N-메틸이미다졸(14 μL (0.175 mmol)) 및 5% 탄산나트륨 수용액(2.0 mL)을 반응 용액에 첨가하고, 혼합물을 실온에서 10분 동안 교반하였다. 수성층을 배출하고, 유기층을 2.5% 암모니아 수용액(2.0 mL), 5% 황산수소나트륨 수용액(2.0 mL x 2), 및 5% 탄산나트륨 수용액(2.0 mL x 2)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 30℃의 외부 온도에서 감압하에 농축 건조하고 2-MeTHF에 용해시켜 화합물 B11을 함유하는 용액(1.24 g, 수율 96.1%)을 수득하였다.

[1596] 수율: 96.1%(생성된 잔류물 및 3,5-비스(트리플루오로메틸)벤조산을 DMSO-$d_6$에 용해시키고, qNMR 분석하였다.)

[1597] 실시예 B-45

[1598] 화합물 B31: (2S)-1-[(2S)-2-[[(2S,3S)-2-(벤질옥시카르보닐아미노)-3-메틸-펜타노일]-메틸-아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르복실산

[1599] [화학식 117]




[1600]

[1601] 화합물 B5(879.48 mg, 함량 62.67%)를 반응 용기에 첨가하였다. IPAc(5.5 mL) 및 HMDS(0.59 mL)를 실온에서 순차적으로 첨가하고 반응 용기를 질소 치환하였다. 다음으로, 반응 용기의 외부 온도를 0℃로 설정하고, TMSOTf(0.415 mL)를 교반하면서 첨가한 후, 혼합물을 50C의 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 외부 온도를 0℃로 설정하고, 2-MeTHF(5.5 mL) 및 5% 인산수소이칼륨 수용액(5.5 mL)을 반응 용액에 첨가하고, 혼합물을 실온에서 8분 동안 교반하고 수성층을 배출하였다(수성층-1). 유기층을 5% 인산이수소나트륨 수용액(5.5 mL) 및 수성층을 배출하였다(수성층-2). 수성층-1 및 수성층-2를 혼합하고, 1 N 염산 수용액(1.1 mL)을 첨가하고, 혼합물을 EtOAc(5.5 mL x 2)로 추출하였다. 수성층에, 1 N 염산 수용액(1.1 mL)을 추가로 첨가하고, 혼합물을 EtOAc(5.5 mL x 2)로 추출하였다. 생성된 유기층을 혼합하고, 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하고, MeCN(2.2 mL x 2)과 공비혼합하였다. 공비 혼합 후, 수득한 화합물 B31의 양은 853.58 mg(함량 53.84%, 수율 94%)이었다.

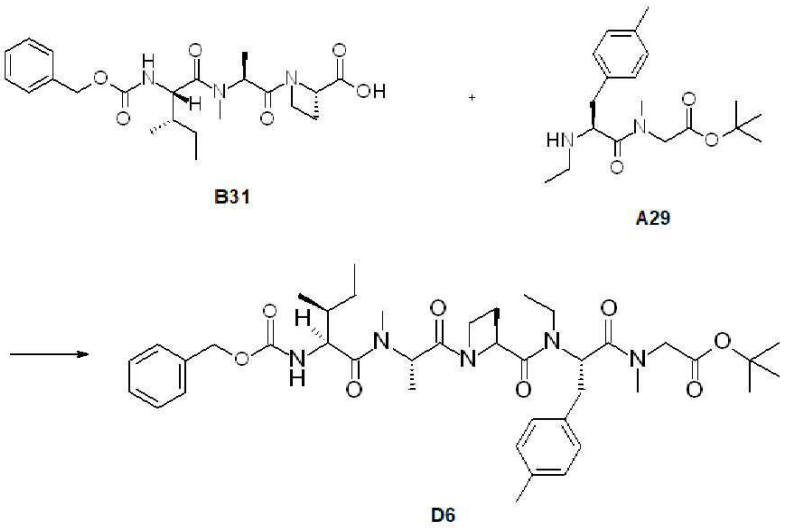
[1602] 화합물 B31의 LC 체류 시간: 2.869분(HPLC 분석 조건: 방법 4)

[1603] 화합물 B31의 LCMS(ESI): 체류 시간: 2.619분, m/z = 456 $[M+Na]^+$ (LCMS 분석조건: 방법 4)

[1604] 실시예 B-46-1

[1605] 화합물 D6: tert-부틸 2-[[(2S)-2-[[(2S)-1-[(2S)-2-[[(2S,3S)-2-(벤질옥시카르보닐아미노)-3-메틸-펜타노일]-메틸-아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르보닐]-에틸-아미노]-3-(p-톨릴)프로파노일]-메틸-아미노]아세테이트

[1606] [화학식 118]




[1607]

[1608] 화합물 B31(90.58 mg, 함량 53.84%) 및 화합물 A29(53.42 mg, 함량 85.19%)를 반응용기에 첨가하고, 반응 용기를 질소 치환하였다. 다음으로, MTHP(0.25 mL) 및 DIPEA(0.101 mL)를 25℃의 외부 온도에서 순차적으로 첨가하였다. PyOxim(183 mg)를 교반하면서 첨가한 후 혼합물을 25℃에서 4시간 동안 교반하였다. 2-MeTHF(1 mL) 및 N-메틸이미다졸(9.1 μL)을 반응 용기에 첨가하고, 5% 탄산나트륨 수용액(0.5 mL)을 교반하면서 추가로 첨가한 후, 혼합물을 30분 동안 교반하였다. 다음으로, 2.5% 암모니아 수용액(0.5 mL)을 첨가하고, 혼합물을 5분 동안 교반하였다. 수성층을 배출한 후, 생성된 유기층을 2.5% 암모니아 수용액(0.5 mL), 10% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(0.5 mL x 2), 및 3% 인산수소이칼륨 수용액(0.5 mL)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 HPLC로 분석하였다. 표준 제제를 사용하여 HPLC 분석의 결과로서, 수득한 화합물 D6의 양은 75.92 mg이었다(수율: 90%).

[1609] 화합물 D6의 LC 체류 시간: 4.325분(HPLC 분석 조건: 방법 4)

[1610] 화합물 D6의 LCMS(ESI) 체류 시간: 4.092분, m/z = 773 $[M+Na]^+$ (LCMS 분석조건: 방법 4)

[1611] 화합물 B31 및 화합물 A29의 신장 반응(고리화된 위치 B에서의 아미노산 잔기)

[1612] 축합 시약으로서 HATU 또는 COMU, 및 용매로서 MeCN을 사용하여 화합물 D6을 합성한 결과를 표 4에 나타낸다. 실험 작업은 PyOxim을 축합 시약으로서 사용하고, Me-THP를 용매로서 사용한 경우에 따른 것이다(실시예 B-46-1). 표에서 TM은 표적 물질(화합물 D6)이다. HPLC 측정에서 표적물질(TM)과 에피머의 생성량은 면적% 비율로 나타내었다(HPLC 분석 조건: 방법 4). 수율은 표준 제제를 사용하여 HPLC 분석에 의해 계산되었다.

표 4

[1613]

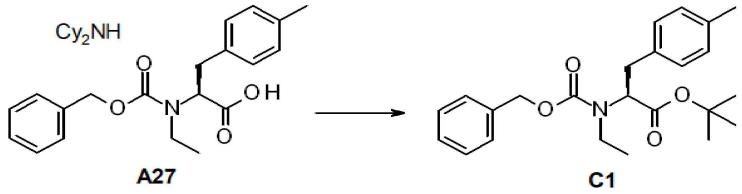
| 실시예 번호 | 축합 시약 (당량) | 염기 (당량) | 용매 (v/w) | C-말단 및 N-말단의 당량 | | 반응 시간 (시간) | 전환율(%) | TM/에피머(%) | | 수율 (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | B31 | A29 | | | TM | 에피머 | |
| B-46-1 | PyOxim (3.0) | DIPEA (5.0) | MeTHP (5) | 1.0 | 1.1 | 4 | 96.44 | 97.34 | 2.66 | 90.0 |
| B-46-2 | HATU (3.8) | DIPEA (4.6) | MeCN (200) | 1.0 | 1.0 | 2 | 72.44 | 95.37 | 4.63 | 61.9 |
| B-46-3 | COMU (3.8) | DIPEA (4.6) | MeCN (200) | 1.0 | 1.0 | 2 | 81.08 | 97.32 | 2.68 | 68.6 |
| B-46-4 | COMU (3.8) | DIPEA (4.6) | MeCN (5) | 1.1 | 1.0 | 2 | 99.02 | 97.68 | 2.32 | 61.4 |

* B-46-1에서 B-46-3으로의 전환율은 C-말단 1.0 당량(반응 전환율의 계산식 3)을 기준으로 계산하였다. B-46-4의 전환율은 N-말단 1.0 당량(반응 전환율의 계산식 1)을 기준으로 계산하였다.

[1614] 실시예 C-1

[1615] 화합물 C1의 합성: tert-부틸 (2S)-2-[벤질옥시카르보닐(에틸)아미노]-3-(p-톨릴)프로파노에이트

[1616] [화학식 119]

[1617] 

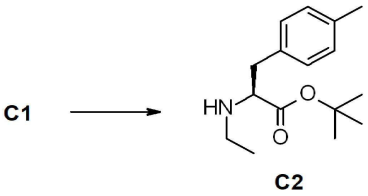

[1618] 질소 치환 후 반응 용기에 화합물 A27(15.3 g), 2-MeTHF(110 mL), 5% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(100 mL)을 순차적으로 첨가하고, 혼합물을 실온에서 교반하였다. 수성층을 배출한 후, 생성된 유기층을 5% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(100 mL x 2) 및 10% NaCl 수용액(100 mL)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하고, 생성된 잔류물을 반응 용기에 첨가하였다. 다음으로, 시클로헥산(80 mL)을 실온에서 반응 용기에 첨가하였다. tert-부틸 2,2,2-트리클로로아세트이미데이트(8.39 mL) 및 삼불화붕소 디에틸 에테르 복합체(297 μL)를 첨가한 후, 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 생성된 슬러리를 여과하고, 고체 잔류물을 시클로헥산으로 세척하였다. 생성된 여액을 10% 시트르산 수용액(80 mL x 7), 5% 탄산나트륨 수용액(80 mL x 2), 및 10% NaCl 수용액(80 mL)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수하고 여과하여 황산나트륨을 제거하였다. 생성된 여액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 C1을 함유하는 잔류물(7.66 g)을 수득하였다.

[1619] 화합물 C1의 LC 체류 시간: 4.663분(HPLC 분석 조건: 방법 1)

[1620] 실시예 C-2

[1621] 화합물 C2의 합성: tert-부틸 (2S)-2-(에틸아미노)-3-(p-톨릴)프로파노에이트

[1622] [화학식 120]

[1623] 

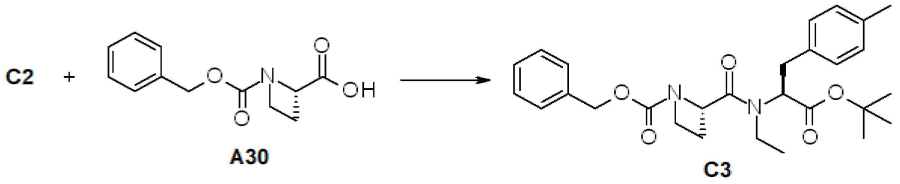

[1624] 실시예 C-1에서 수득한 화합물 C1을 함유하는 잔류물(6.70 g)을 반응 용기에 첨가하였다. 다음으로, 2-MeTHF(53 mL) 및 5% Pd/C(3.74 g, 50% 수성 함량)를 실온에서 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기의 내부를 수소로 치환하고, 혼합물을 실온에서 3.5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.1%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 내부를 질소로 치환한 후, 반응 혼합물을 여과지 및 필터를 이용하여 감압하에 여과하였다. 반응 용기와 여과지 및 필터를 2-MeTHF(25 mL x 2)로 세척하였다. 생성된 여액 및 용액을 취합하고, 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 C2를 함유하는 잔류물(4.33 g)을 수득하였다.

[1625] 화합물 C2의 LC 체류 시간: 2.714분(HPLC 분석 조건: 방법 1)

[1626] 실시예 C-3

[1627] 화합물 C3의 합성: tert-부틸 (2S)-2-[[(2S)-2-[벤질옥시카르보닐(메틸)아미노]부타노일]-에틸-아미노]-3-(p-톨릴)프로파노에이트

[1628] [화학식 121]

[1629] 


[1630] 실시예 C-2에서 수득한 화합물 C2를 함유하는 잔류물(4.33 g) 및 화합물 A30(5.83 g)를 반응 용기에 첨가하고, 반응 용기를 질소 치환하였다. 다음으로, 2-MeTHF(50 mL), DIPEA(14.4 mL), 및 T3P(50 w/w% 2-MeTHF 용액, 30.8 mL)를 순차적으로 첨가한 후, 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.7%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 5% 탄산나트륨 수용액(50 mL)을 첨가하고, 혼합물을 10분 동안 교반하였다. 수성 층을 배출한 후, 생성된 유기층을 5% 탄산나트륨 수용액(50 mL x 2), 5% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(50 mL x 2), 및 포화 NaCl 수용액(50 mL)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수하고 여과하여 황산나트륨을 제거하였다. 생성된 여액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 C3을 함유하는 용액(7.98 g)을 수득하였다.

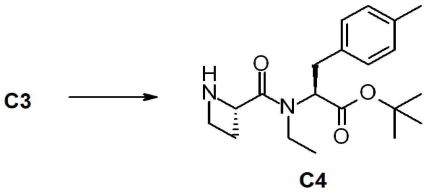
[1631] 화합물 C3의 LC 체류 시간: 4.443분(HPLC 분석 조건: 방법 1)

[1632] 화합물 C3의 LCMS(ESI) 체류 시간: 4.339분, m/z = 481.26 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건: 방법 1)

[1633] 실시예 C-4

[1634] 화합물 C4의 합성: tert-부틸 (2S)-2-[에틸-[(2S)-2-(메틸아미노)부타노일]아미노]-3-(p-톨릴)프로파노에이트

[1635] [화학식 122]

[1636] 

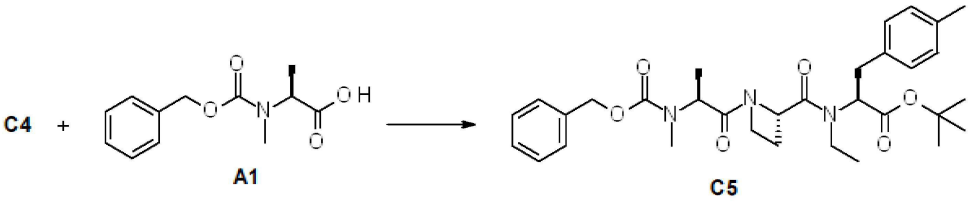

[1637] 실시예 C-3에서 수득한 화합물 C3을 함유하는 잔류물(6.93 g)을 반응 용기에 첨가하였다. 다음으로, 2-MeTHF(44 mL) 및 5% Pd/C(3.08 g, 50% 수성 함량)를 실온에서 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기의 내부를 수소로 치환하고, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 용기의 내부를 다시 수소로 치환하고, 혼합물을 실온에서 추가로 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 내부를 질소로 치환한 후, 반응 혼합물을 여과지 및 필터를 이용하여 감압하에 여과하였다. 반응 용기와 여과지 및 필터를 2-MeTHF(20 mL x 2)로 세척하였다. 생성된 여액 및 세척액을 취합하고, 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 C4를 함유하는 잔류물(4.88 g)을 수득하였다.

[1638] 화합물 C4의 LC 체류 시간: 2.918분(HPLC 분석 조건: 방법 1)

[1639] 실시예 C-5

[1640] 화합물 C5의 합성: tert-부틸 (2S)-2-[[(2S)-2-[[(2S)-2-[[벤질옥시카르보닐(메틸)아미노]프로파노일]-메틸-아미노]부타노일]-에틸-아미노]-3-(p-톨릴)프로파노에이트

[1641] [화학식 123]

[1642] 


[1643] 실시예 C-4에서 수득한 화합물 C4를 함유하는 잔류물(4.87 g) 및 화합물 A1(4.21 g)를 반응 용기에 첨가하고, 반응 용기를 질소 치환하였다. 다음으로, 2-MeTHF(43 mL), DIPEA(11.2 mL), 및 T3P(50 w/w% 2-MeTHF 용액, 22.2 mL)를 순차적으로 첨가한 후, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 5% 탄산나트륨 수용액(50 mL)을 첨가하고, 혼합물을 10분 동안 교반하였다. 수성 층을 배출한 후, 생성된 유기층을 5% 탄산나트륨 수용액(50 mL x 2), 5% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(50 mL x 2), 및 다시 5% 탄산나트륨 수용액(50 mL x 5)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수하고 여과하여 황산나트륨을 제거하였다. 생성된 여액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 C5를 함유하는 잔류물(3.64 g)을 수득하였다.

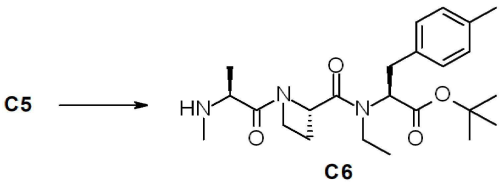
[1644] 화합물 C5의 LC 체류 시간: 4.445분(HPLC 분석 조건: 방법 1)

[1645] 화합물 C5의 LCMS(ESI) 체류 시간: 4.374분, m/z = 566.25 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건: 방법 1)

[1646] 실시예 C-6

[1647] 화합물 C6의 합성: tert-부틸 (2S)-2-[메틸-[(2S)-2-[메틸-[(2S)-2-(메틸아미노)프로파노일]아미노]부타노일]아미노]-3-(p-톨릴)프로파노에이트

[1648] [화학식 124]

[1649] 

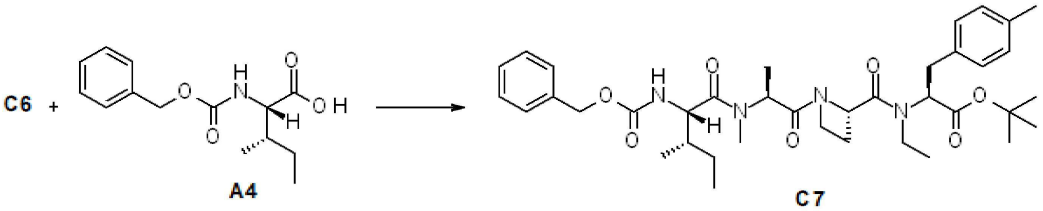

[1650] 실시예 C-5에서 수득한 화합물 C5를 함유하는 잔류물(3.13 g)을 반응 용기에 첨가하였다. 다음으로, 2-MeTHF(17 mL) 및 5% Pd/C(1.19 g, 50% 수성 함량)를 실온에서 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기의 내부를 수소로 치환하고, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 내부를 질소로 치환한 후, 반응 혼합물을 여과지 및 필터를 이용하여 감압하에 여과하였다. 반응 용기와 여과지 및 필터를 2-MeTHF(8.0 mL x 2)로 세척하였다. 생성된 여액 및 세척액을 취합하고, 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 C6을 함유하는 잔류물(2.62 g)을 수득하였다.

[1651] 화합물 C6의 LC 체류 시간: 2.892분(HPLC 분석 조건: 방법 1)

[1652] 실시예 C-7

[1653] 화합물 C7의 합성: tert-부틸 (2S)-2-[[(2S)-1-[(2S)-2-[[(2S,3S)-2-(벤질옥시카르보닐아미노)-3-메틸-펜타노일]-메틸-아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르보닐]-에틸-아미노]-3-(p-톨릴)프로파노에이트

[1654] [화학식 125]




[1655]

[1656] 실시예 C-6에서 수득한 화합물 C6을 함유하는 잔류물(2.61 g) 및 화합물 A4(1.91 g)를 반응 용기에 첨가하고, 반응 용기를 질소 치환하였다. 다음으로, 2-MeTHF(9.2 mL), 톨루엔(9.7 mL), MeCN(1.6 mL), 및 DIPEA(6.39 mL)를 실온에서 순차적으로 첨가하였다. HATU(3.60 g)를 교반하면서 첨가한 후 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. N-메틸이미다졸(0.5 mL)을 반응 용기에 첨가하고, 5% 탄산나트륨 수용액(20 mL)을 교반하면서 추가로 첨가한 후, 혼합물을 1시간 동안 교반하였다. 다음으로, 2.5% 암모니아 수용액(20 mL)을 첨가하고, 혼합물을 15분 동안 교반하였다. 수성층을 배출한 후, 생성된 유기층을 2.5% 암모니아 수용액(30 mL), 5% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(30 mL x 2), 및 3% 인산수소이칼륨 수용액(30 mL)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수하고 여과하여 황산나트륨을 제거하였다. 생성된 여액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 C7를 함유하는 잔류물(4.14 g)을 수득하였다.

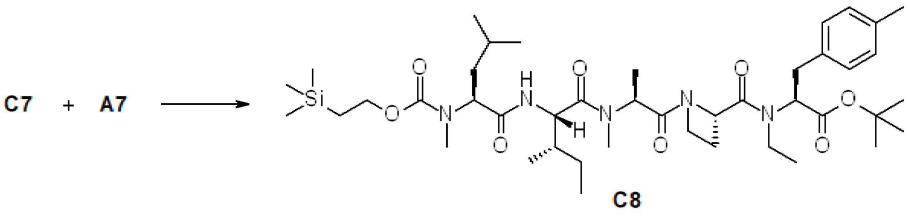
[1657] 화합물 C7의 LC 체류 시간: 4.701분(HPLC 분석 조건: 방법 1)

[1658] 화합물 C7의 LCMS(ESI) 체류 시간: 4.226분, m/z = 679.47 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건: 방법 2)

[1659] 실시예 C-8

[1660] 화합물 C8의 합성: tert-부틸 (2S)-2-[에틸-[(2S)-1-[(2S)-2-[메틸-[(2S,3S)-3-메틸-2-[[(2S)-4-메틸-2-[메틸(2-트리메틸실릴에톡시카르보닐)아미노]펜타노일]아미노]펜타노일]아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르보닐]아미노]-3-(p-톨릴)프로파노에이트

[1661] [화학식 126]




[1662]

[1663] 실시예 C-7에서 수득한 화합물 C7을 함유하는 잔류물(3.15 g) 및 이소프로필 아세테이트(5.4 mL)를 반응 용기에 첨가하였다. 다음으로, 실시예 A-4에서 수득한 화합물 A7을 함유하는 잔류물(2.54 g), 톨루엔(1.5 mL), 아세톤(15 mL), NMM(3.06 mL), 및 5% Pd/C(1.00 g, 50% 수성 함량)를 실온에서 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기의 내부를 수소로 치환하고, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 내부를 질소로 치환한 후, Pd/C를 여과지 및 필터를 이용하여 감압하에 여과하였다. 반응 용기와 여과지 및 필터를 2-MeTHF(50 mL)로 세척하였다. 생성된 여액 및 세척액을 취합하고, 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하였다. 생성된 잔류물을 MeTHF(40 mL)에 용해시키고, 5% 탄산칼륨(40 mL) 및 DMAP(586 mg)를 교반하면서 첨가한 후, 2.5시간 동안 교반하였다. 다음으로, 5% 황산수소칼륨 수용액(40 mL)을 첨가하고, 혼합물을 30분 동안 교반하였다. 수성층을 배출한 후, 생성된 유기층을 5% 황산수소칼륨 수용액(40 mL) 및 5% 탄산칼륨 수용액(40 mL x 3)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수하고 여과하여 황산나트륨을 제거하였다. 생성된 여액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 C8을 함유하는 잔류물(2.94 g)을 수득하였다.

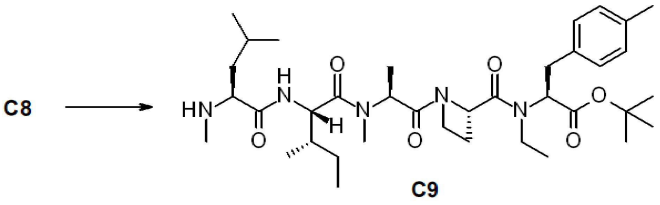
[1664] 화합물 C8의 LC 체류 시간: 5.566분(HPLC 분석 조건: 방법 1)

[1665] 화합물 C8의 LCMS(ESI) 체류 시간: 5.337분, m/z = 816.43 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건: 방법 1)

[1666] 실시예 C-9

[1667] 화합물 C9의 합성: tert-부틸 (2S)-2-[에틸-[(2S)-1-[(2S)-2-[메틸-[(2S,3S)-3-메틸-2-[[(2S)-4-메틸-2-(메틸아미노)펜타노일]아미노]펜타노일]아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르보닐]아미노]-3-(p-톨릴)프로파노에이트

[1668] [화학식 127]




[1669]

[1670] 실시예 C-8에서 수득한 화합물 C8을 함유하는 잔류물(2.21 g) 및 2-MeTHF(5.0 mL)를 실온에서 반응 용기에 첨가하고, 반응 용기를 질소 치환하였다. 다음으로, 반응 용기의 외부 온도를 50℃로 설정하고, 1 M TBAF(6.76 mL)를 교반하면서 첨가한 후, 혼합물을 50℃의 외부 온도에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 외부 온도 설정치를 0℃로 설정하고, IPAc(10 mL) 및 5% 탄산칼륨 수용액(10 mL)을 교반하면서 첨가한 후, 실온에서 15분 동안 교반하였다. 수성층을 배출한 후, 생성된 유기층을 5% 탄산칼륨 수용액(10 mL x 2)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수하고 여과하여 황산나트륨을 제거하였다. 생성물을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 C9를 함유하는 잔류물(1.71 g)을 수득하였다.

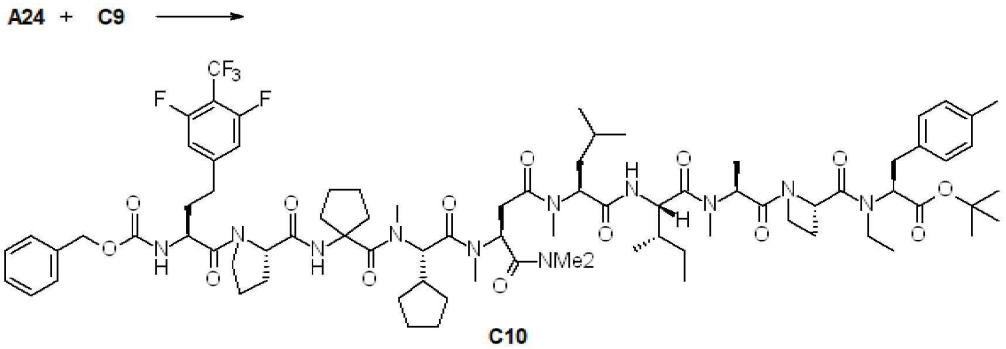
[1671] 화합물 C9의 LC 체류 시간: 3.582분(HPLC 분석 조건: 방법 1)

[1672] 화합물 C9의 LCMS(ESI) 체류 시간: 3.249분, m/z = 672.49 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건: 방법 1)

[1673] 실시예 C-10

[1674] 화합물 C10의 합성: tert-부틸 (2S)-2-[[(2S)-1-[(2S)-2-[[(2S,3S)-2-[[(2S)-2-[[(3S)-3-[[(2S)-2-[[1-[[(2S)-1-[(2S)-2-(벤질옥시카르보닐아미노)-4-[3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐]부타노일]피롤리딘-2-카르보닐]아미노]시클로펜탄카르보닐]-메틸-아미노]-2-시클로펜틸-아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노일]-메틸-아미노]-4-메틸-펜타노일]아미노]-3-메틸-펜타노일]-메틸-아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르보닐]-에틸-아미노]-3-(p-톨릴)프로파노에이트

[1675] [화학식 128]




[1676]

[1677] 실시예 A-16에서 수득한 화합물 A24를 함유하는 용액(4.01 g)을 반응 용기에 첨가하였다. 실시예 C-9에서 수득한 화합물 C9를 함유하는 잔류물(1.34 g), 2-MeTHF(36 mL), DMF(9.2 mL), 및 DIPEA(1.77 mL)를 순차적으로 실온에서 첨가하고, 반응 용기를 질소 치환하였다. 다음으로, HATU(1.59 g)를 교반하면서 첨가한 후 혼합물을 실온에서 20시간 동안 교반하였다. 이어서, 실시예 C-9에서 수득한 화합물 C9를 함유하는 잔류물(0.15 g) 및 HATU(0.83 g)를 첨가하고, 혼합물을 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 98.1%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기에 2.5% 암모니아 수용액(32 mL)을 첨가하고, 혼합물을 30분 동안 교반하였다. 수성층을 배출한 후, 생성된

유기층을 10% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(28 mL x 3) 및 5% 탄산칼륨 수용액(28 mL x 2)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수하고 여과하여 황산나트륨을 제거하였다. 생성된 여액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하고, 생성된 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(용출액 : 에틸 아세테이트/헵탄 80 : 20 내지 100 : 0)로 정제하였다. 표적 물질을 함유하는 용출액을 40℃에서 감압하에 농축하여 화합물 C10을 함유하는 잔류물(1.97 g)을 수득하였다.

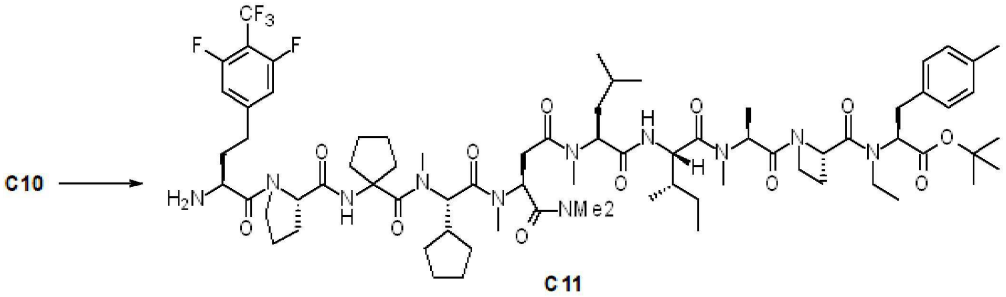
[1678] 화합물 C10의 LC 체류 시간: 22.077분(HPLC 분석 조건: 방법 3)

[1679] 화합물 C10의 LCMS(ESI) 체류 시간: 22.67분, m/z = 1575.142 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건: 방법 3)

[1680] 실시예 C-11

[1681] 화합물 C11의 합성: tert-부틸 (2S)-2-[[(2S)-1-[(2S)-2-[[(2S,3S)-2-[[(2S)-2-[[(3S)-3-[[(2S)-2-[[1-[[(2S)-1-[(2S)-2-아미노-4-[3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐]부타노일]피롤리딘-2-카르보닐]아미노]시클로펜탄카르보닐]-메틸-아미노]-2-시클로펜틸-아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노일]-메틸-아미노]-4-메틸-펜타노일]아미노]-3-메틸-펜타노일]-메틸-아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르보닐]-에틸-아미노]-3-(p-톨릴)프로파노에이트

[1682] [화학식 129]

[1683] 

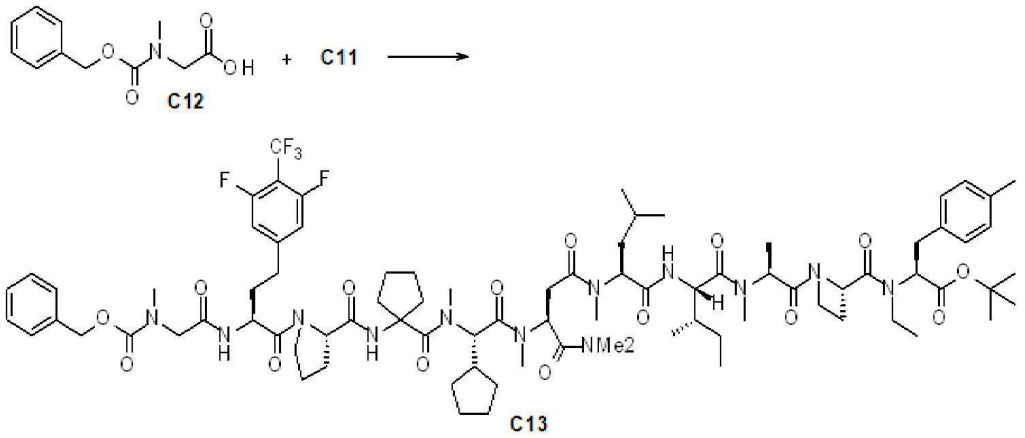

[1684] 실시예 C-10에서 수득한 화합물 C10을 함유하는 잔류물(1.44 g)을 반응 용기에 첨가하였다. 다음으로, THF(15 mL) 및 5% Pd/C(211 mg, 50% 수성 함량)를 실온에서 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기의 내부를 수소로 치환하고, 혼합물을 실온에서 교반하였다. 반응 용기의 내부를 2시간 및 4시간 후 다시 수소로 치환하고, 5% Pd/C(205 mg, 50% 수성 함량)를 5시간 후 첨가하고, 혼합물을 추가로 6시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 내부를 질소로 치환한 후, 반응 혼합물을 여과지 및 필터를 이용하여 감압하에 여과하였다. 반응 용기와 여과지 및 필터를 THF(10 mL x 2)로 세척하였다. 생성된 여액 및 세척액을 취합하고, 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 C11을 함유하는 잔류물(1.42 g)을 수득하였다.

[1685] 화합물 C11의 LC 체류 시간: 4.628분(HPLC 분석 조건: 방법 2)

[1686] 실시예 C-12

[1687] 화합물 C13의 합성: tert-부틸 (2S)-2-[[(2S)-1-[(2S)-2-[[(2S,3S)-2-[[(2S)-2-[[(3S)-3-[[(2S)-2-[[1-[[(2S)-1-[(2S)-2-[[2-[[벤질옥시카르보닐(메틸)아미노]아세틸]아미노]-4-[3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐]부타노일]피롤리딘-2-카르보닐]아미노]시클로펜탄카르보닐]-메틸-아미노]-2-시클로펜틸-아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노일]-메틸-아미노]-4-메틸-펜타노일]아미노]-3-메틸-펜타노일]-메틸-아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르보닐]-에틸-아미노]-3-(p-톨릴)프로파노에이트

[1688] [화학식 130]




[1689]

[1690] 실시예 C-11에서 수득한 화합물 C11을 함유하는 잔류물(1.42 g) 및 화합물 C12(0.271 g)를 반응 용기에 첨가하였다. 2-MeTHF(8.6 mL), DMF(2.9 mL), 및 DIPEA(0.964 mL)를 실온에서 순차적으로 첨가하고 반응 용기를 질소 치환하였다. 다음으로, HATU(0.863 g)를 교반하면서 첨가한 후 혼합물을 실온에서3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 97.2%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기에 2.5% 암모니아 수용액(10 mL)을 첨가하고, 혼합물을 15분 동안 교반하였다. 수성층을 배출한 후, 생성된 유기층을 10% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(10 mL x 3) 및 5% 탄산칼륨 수용액(10 mL x 2)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수하고 여과하여 황산나트륨을 제거하였다. 생성된 여액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하고, 생성된 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(용출액 : 에틸 아세테이트/메탄올 100 : 0 내지 90 : 10)로 정제하였다. 표적 물질을 함유하는 용출액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 C13을 함유하는 잔류물(1.04 g)을 수득하였다.

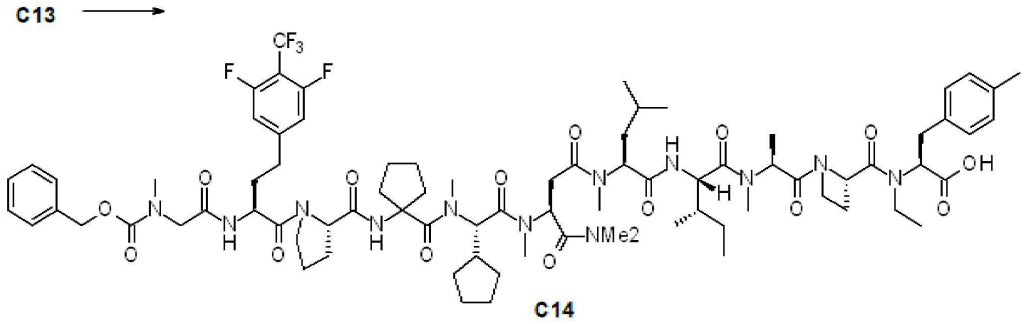
[1691] 화합물 C13의 LC 체류 시간: 21.380분(HPLC 분석 조건: 방법 3)

[1692] 화합물 C13의 LCMS(ESI) 체류 시간: 22.04분, m/z = 1668.111 $[M+Na]^+$ (LCMS 분석조건: 방법 3)

[1693] 실시예 C-13

[1694] 화합물 C14의 합성 (2S)-2-[[(2S)-1-[(2S)-2-[[(2S,3S)-2-[[(2S)-2-[[(3S)-3-[[(2S)-2-[[1-[[(2S)-1-[(2S)-2-[[2-[벤질옥시카르보닐(메틸)아미노]아세틸]아미노]-4-[3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐]부타노일]피롤리딘-2-카르보닐]아미노]시클로펜탄카르보닐]-메틸-아미노]-2-시클로펜틸-아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노일]-메틸-아미노]-4-메틸-펜타노일]아미노]-3-메틸-펜타노일]-메틸-아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르보닐]-에틸-아미노]-3-(p-톨릴)프로판산

[1695] [화학식 131]




[1696]

[1697] 실시예 C-12에서 수득한 화합물 C13을 함유하는 잔류물(0.895 g)을 반응 용기에 첨가하였다. 2-MeTHF(9.0 mL) 및 HMDS(0.570 mL)를 실온에서 순차적으로 첨가하고 반응 용기를 질소 치환하였다. 다음으로, 반응 용기의 외부 온도를 0℃로 설정하고, TMSOTf(0.393 mL)를 교반하면서 첨가한 후, 혼합물을 50C의 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 외부 온도를 0℃로 다시 설정하고, HMDS(0.570 mL) 및 TMSOTf(0.393 mL)를 교반하면서 첨가한 후, 혼합물을 실온에서 5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1),

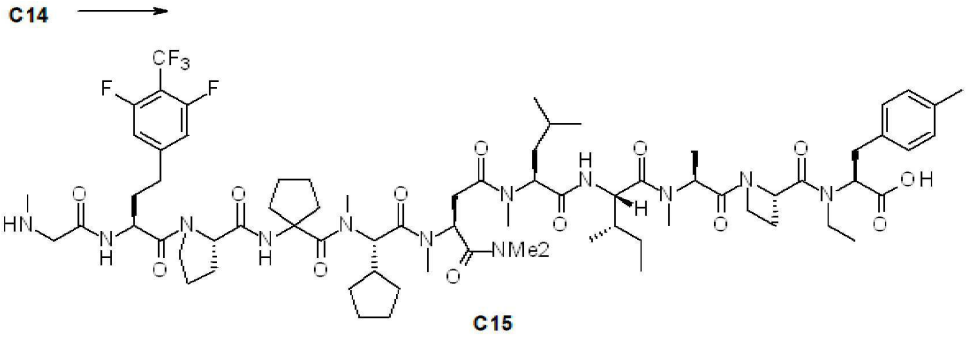
HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.0%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 외부 온도를 0℃로 설정하고, 5% 탄산수소나트륨 수용액(15 mL)을 반응 용기에 첨가하고, 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반하였다. 수성층을 배출한 후, 생성된 유기층을 5% 인산이수소나트륨 수용액(15 mL) 및 10% NaCl 수용액(15 mL)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수하고 여과하여 황산나트륨을 제거하였다. 생성된 여액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 C14를 함유하는 잔류물(0.874 g)을 수득하였다.

[1698] 화합물 C14의 LC 체류 시간: 18.926분(HPLC 분석 조건: 방법 3)

[1699] 실시예 C-14

[1700] 화합물 C15의 합성 (2S)-2-[[(2S)-1-[(2S)-2-[[(2S,3S)-2-[[(2S)-2-[[(3S)-3-[[(2S)-2-시클로펜틸-2-[[1-[[(2S)-1-[(2S)-4-[3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐]-2-[[2-(메틸아미노)아세틸]아미노]부타노일]피롤리딘-2-카르보닐]아미노]시클로펜탄카르보닐]-메틸-아미노]아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노일]-메틸-아미노]-4-메틸-펜타노일]아미노]-3-메틸-펜타노일]메틸-아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르보닐]에틸-아미노]-3-(p-톨릴)프로판산

[1701] [화학식 132]

[1702] 


[1703] 실시예 C-13에서 수득한 화합물 C14를 함유하는 잔류물(0.875 g)을 반응 용기에 첨가하였다. 다음으로, THF(6.0 mL) 및 5% Pd/C(237 mg, 50% 수성 함량)를 실온에서 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기의 내부를 수소로 치환하고, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 내부를 질소로 치환한 후, 반응 혼합물을 여과지 및 필터를 이용하여 감압하에 여과하였다. 반응 용기와 여과지 및 필터를 THF(3.0 mL)로 세척하였다. 생성된 여액 및 세척액을 취합하고, 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하였다. 생성된 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로(용출액 : 디클로로메탄/메탄올 100 : 0 내지 70 : 30)로 정제하였다. 표적 물질을 함유하는 용출액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 C15를 함유하는 잔류물(0.452 g)을 수득하였다.

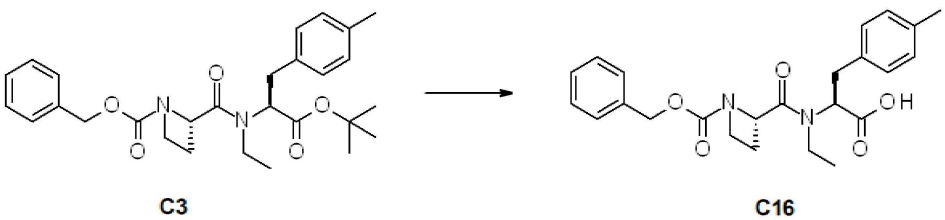
[1704] 화합물 C15의 LC 체류 시간: 13.418분(HPLC 분석 조건: 방법 3)

[1705] 화합물 C15의 LCMS(ESI) 체류 시간: 13.93분, m/z = 1456.181 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건: 방법 3)

[1706] 실시예 C-15

[1707] 화합물 C16의 합성 (2S)-2-[[(2S)-2-[벤질옥시카르보닐(메틸)아미노]부타노일]-에틸-아미노]-3-(p-톨릴)프로판산

[1708] [화학식 133]

[1709] 


[1710] 화합물 C3(7.35 g, 함량 89.84%)를 반응 용기에 첨가하였다. 2-MeTHF(66 mL) 및 HMDS(14.40 mL)를 실온에서 순

차적으로 첨가하고 반응 용기를 질소 치환하였다. 다음으로, 반응 용기의 외부 온도를 0℃로 설정하고, TMSOTf(10.13 mL)를 교반하면서 첨가한 후, 혼합물을 0℃에서 1시간 동안 교반하고, 15℃에서 6시간 동안 추가로 교반하였다. 외부 온도를 0℃로 설정하고, 5% 탄산수소나트륨 수용액(66 mL)을 반응 용기에 첨가하고, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하고 수성층을 배출하였다. 수층에 1 N 염산 수용액(33 mL)을 첨가하고, 2 N 염산 수용액(9.9 mL)을 추가로 첨가하였다. 그런 다음, 수성층을 2-MeTHF(66 mL)로 추출하였다. 생성된 유기층을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하였다. 생성된 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로(용출액 : 디클로로메탄/메탄올 100 : 0 내지 80 : 20)로 정제하였다. 생성물을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하고 용출액을 제거하여 화합물 C16을 함유하는 잔류물을 수득하였다. 추가로, 수득된 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로(용출액 : 에틸 아세테이트/메탄올 95 : 5 내지 90 : 10, 이 후 디클로로메탄/메탄올 90 : 10 내지 80 : 20)로 정제하였다. 표적 물질을 함유하는 용출액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 C16을 함유하는 잔류물을 수득하였다. 수득한 화합물 C16의 양은 4.25 g(함량 76.03%, 수율 55%)이었다.

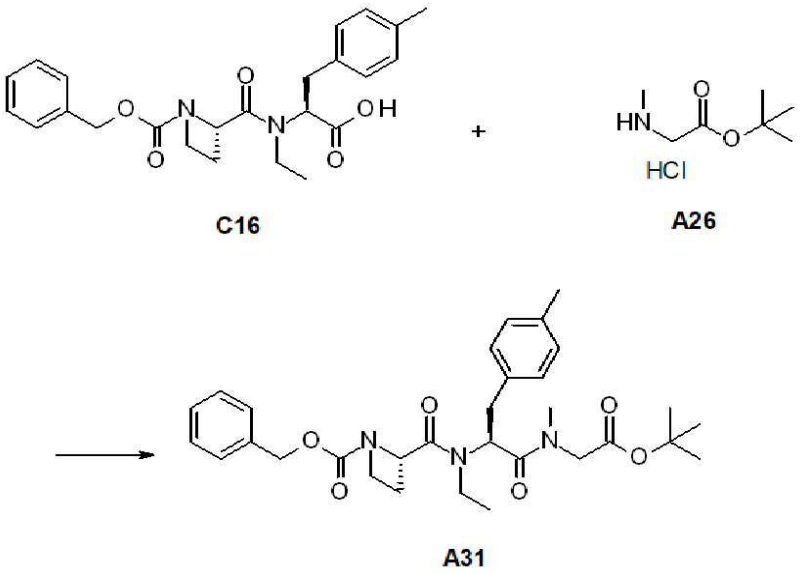
[1711] 화합물 C16의 LC 체류 시간: 3.501분(HPLC 분석 조건: 방법 4)

[1712] 화합물 C16의 LCMS(ESI): 체류 시간: 4.588분, m/z = 425.2 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건: 방법 4)

[1713] 실시예 C-16-1

[1714] 화합물 A31의 합성: 벤질 (2S)-2-[[(1S)-2-[(2-tert-부톡시-2-옥소-에틸)-메틸-아미노]-2-옥소-1-(p-톨릴메틸)에틸]-에틸-카르바모일]아제티딘-1-카르복실레이트

[1715] [화학식 134]




C16 A26

A31

[1716]

[1717] 화합물 C16(27.11 mg, 함량 76.03%) 및 화합물 A26(9.18 mg)을 반응용기에 첨가하고, 반응 용기를 질소 치환하였다. 다음으로, 디메틸 카보네이트(0.10 mL) 및 DIPEA(47.4 μL)를 순차적으로 첨가하였다. HATU(72.24 mg)를 0℃의 외부 온도에서 교반하면서 첨가한 후, 25℃에서 4시간 동안 교반하였다. 표준 제제를 사용하여 반응 용액에 대한 HPLC 분석의 결과로서, 수득한 화합물 A31의 양은 24.91 mg이었다(수율: 93%).

[1718] 화합물 A31의 LC 체류 시간: 4.217분(HPLC 분석 조건: 방법 4)

[1719] 화합물 A31의 키랄 LC 체류 시간: 15.605분(HPLC 분석 조건: 방법 9)

[1720] 화합물 A31의 LCMS(ESI) 체류 시간: 5.380분, m/z = 552.2 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건: 방법 4)

[1721] 화합물 C16 및 화합물 A26의 신장 반응(고리화된 위치 C에서의 아미노산 잔기)

[1722] 축합 시약으로서 HATU 또는 COMU, 및 용매로서 디메틸 카보네이트 또는 MeCN을 사용하여 화합물 A31을 합성한 결과를 표 5에 나타낸다. 실험 작업은 HATU를 축합 시약으로서 사용하고, 디메틸 카보네이트를 용매로서 사용한 경우에 따른 것이다(실시예 C-16-1). 표에서 TM은 표적 물질(화합물 A31)이다. HPLC 측정에서 표적물질(TM)과 에피머의 생성량은 면적% 비율로 나타내었다(HPLC 분석 조건: 방법 9). 수율은 표준 제제를 사용하여 HPLC 분석

에 의해 계산되었다.

표 5

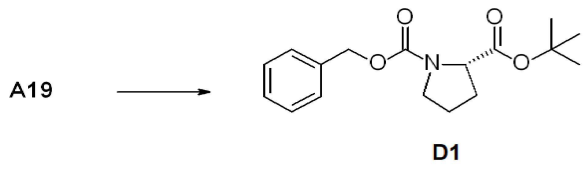
[1723]

| 실시예 번호 | 축합 시약 (당량) | 염기 (당량) | 용매(v/w) | C-말단 및 N-말단의 당량 | | 반응 시간 (시간) | 전환율(%) | TM/에피머(%) | | 수율 (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | C16 | A26 | | | TM | 에피머 | |
| C-16-1 | HATU (3.8) | DIPEA (5.6) | 디메틸 카보네이트(5) | 1.0 | 1.0 | 2 | 93.81 | 96.87 | 3.13 | 93.0 |
| C-16-2 | HATU (3.8) | DIPEA (5.6) | 디메틸 카보네이트(200) | 1.0 | 1.0 | 2 | 81.60 | 90.34 | 9.66 | 92.9 |
| C-16-3 | HATU (3.8) | DIPEA (5.6) | MeCN (5) | 1.0 | 1.0 | 2 | 93.63 | 98.86 | 1.14 | 91.8 |
| C-16-4 | HATU (3.8) | DIPEA (5.6) | MeCN (200) | 1.0 | 1.0 | 2 | 93.72 | 95.43 | 4.57 | 85.0 |
| C-16-5 | COMU (3.8) | DIPEA (5.6) | 디메틸 카보네이트(5) | 1.0 | 1.0 | 2 | 92.34 | 98.77 | 1.23 | 73.3 |
| C-16-6 | COMU (3.8) | DIPEA (5.6) | 디메틸 카보네이트(200) | 1.0 | 1.0 | 2 | 83.48 | 91.23 | 8.77 | 77.7 |

[1724] 실시예 D-1

[1725] 화합물 D1: N-벤질옥시카르보닐-L-프롤린 tert-부틸의 합성

[1726] [화학식 135]




[1727]

[1728] 화합물 A19(4.03 g)을 반응 용기에 첨가하였다. 다음으로, 디클로로메탄(20 mL) 및 시클로헥산(20 mL)을 실온에서 반응 용기에 첨가하였다. tert-부틸 2,2,2-트리클로로아세트이미데이트(5.8 mL) 및 삼불화붕소 디에틸에테르 복합체(0.33 mL)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 하여 반응 전환율이 80.3%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. tert-부틸 2,2,2-트리클로로아세트이미데이트(1.2 mL) 및 삼불화붕소 디에틸에테르 복합체(0.33 mL)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 0.5시간 동안 교반하고, 반응 용액을 16시간 동안 방치한 후, 감압하에 농축하여 디클로로메탄을 제거하였다. 생성된 슬러리를 여과하고, 고체 잔류물을 시클로헥산으로 세척하였다. 여액을 10% 시트르산 수용액(10 mL x 5), 5% 탄산나트륨 수용액(20 mL x 3), 포화 NaCl 수용액(10 mL)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수시키고 여과하여 황산나트륨을 제거한 후, 생성된 여액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 D1의 조생성물 4.89 g을 수득하였다.

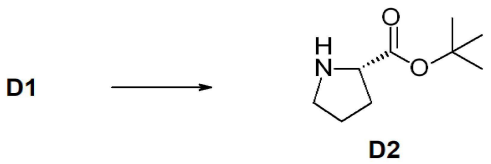
[1729] 화합물 D1의 LC 체류 시간: 3.695분(HPLC 분석 조건: 방법 1)

[1730] 화합물 D1의 LCMS(ESI) 체류 시간: 3.815분, m/z = 328 $[M+Na]^+$ (LCMS 분석조건: 방법 1)

[1731] 실시예 D-2

[1732] 화합물 D2: L-프롤린 tert-부틸의 합성

[1733] [화학식 136]




[1734]

[1735] 실시예 D-1에서 수득한 화합물 D1(2.22 g)를 반응 용기에 첨가하였다. 다음으로, 2-MeTHF(22 mL) 및 5%

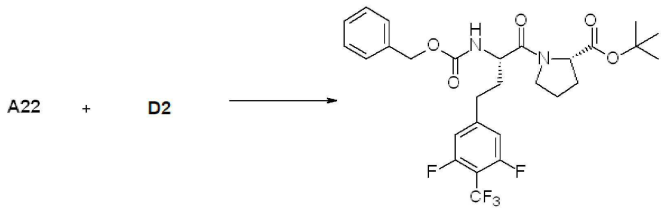
Pd/C(1.08 g, 50% 수성 함량)를 실온에서 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기의 내부를 수소로 치환하고, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 하여 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 2)임을 확인하였다. 반응 용기의 내부를 질소로 치환한 후, 반응 혼합물을 여과지 및 필터를 이용하여 감압하에 여과하였다. 반응 용기와 여과지 및 필터를 2-MeTHF로 세척하였다. 생성된 용액을 감압하에 농축하여 화합물 D2를 함유하는 잔류물(1.27 g)을 수득하였다.

[1736] 화합물 D2의 LC 체류 시간: 1.974분(HPLC 분석 조건: 방법 1)

[1737] 실시예 D-3

[1738] 화합물 B20: tert-부틸 (2S)-1-[(2S)-2-(벤질옥시카르보닐아미노)-4-[3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐]부타노일]피롤리딘-2-카르복실레이트의 합성

[1739] [화학식 137]




B20

[1740]

[1741] 실시예 D-2에서 수득한 화합물 D2를 함유하는 잔류물 및 화합물 A22(5.16 g)를 실온에서 반응 용기에 첨가하고, 반응 용기를 질소 치환하였다. 다음으로, 2-MeTHF(33 mL), DIPEA(5.5 mL), 및 T3P(10.8 mL)를 첨가한 후, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 5), HPLC 분석을 하여 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 5% 탄산칼륨 수용액(12 mL)을 교반하면서 첨가한 후, N-메틸이미다졸(0.57 mL)을 추가로 첨가하였다. 혼합물을 2시간 30분 동안 교반한 후, 수성층을 배출하였다. 생성된 유기층을 5% 탄산칼륨 수용액(12 mL x 2), 5% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(18 mL x 3), 및 5% 탄산칼륨 수용액과 아세토니트릴의 혼합 용액(부피비 2.4 : 1, 17 mL x 3)으로 세척하였다. 헵탄(30 mL)을 생성된 유기층에 첨가한 후, 5% 탄산칼륨 수용액 및 아세토나이트릴의 혼합 용액(부피비 1.2 : 1, 22 mL x 3)으로 세척하였다. MTBE(10 mL)를 생성된 유기층에 첨가한 후, 5% 탄산칼륨 수용액과 아세토나이트릴의 혼합 용액(부피비 1.2 : 1, 22 mL x 8)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수시키고 여과하여 황산나트륨을 제거한 후, 생성된 여액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하였다. 생성된 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로(용출액 : 헵탄/에틸 아세테이트 92 : 8 내지 48 : 52) 정제하여 2.63 g의 화합물 B20을 수득하였다.

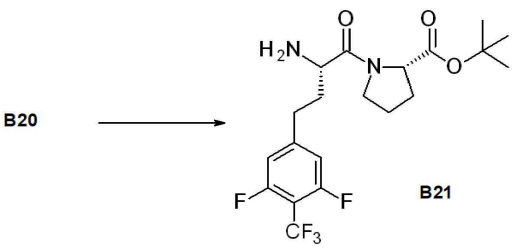
[1742] 화합물 B20의 LC 체류 시간: 4.481분(HPLC 분석 조건: 방법 1)

[1743] 화합물 B20의 LCMS(ESI) 체류 시간: 4.547분, m/z = 571 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건: 방법 1)

[1744] 실시예 D-4

[1745] 화합물 B21: tert-부틸 (2S)-1-[(2S)-2-아미노-4-[3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐]부타노일]피롤리딘-2-카르복실레이트의 합성

[1746] [화학식 138]




B21

[1747]

[1748] 실시예 D-3에서 수득한 화합물 B20(1.0 g)를 반응 용기에 첨가하였다. 다음으로, 2-MeTHF(8 mL) 및 5% Pd/C(0.29 g, 50% 수성 함량)를 실온에서 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기의 내부를 수소로 치환하고, 혼합물을 실온에서 1.5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 하여 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 내부를 질소로 치환한 후, 반응 혼합물을 여과지 및 필터를 이용하여 감압하에 여과하였다. 반응 용기와 여과지 및 필터를 2-MeTHF로 세척하였다. 생성된 용액을 감압하에 농축한 후 2-MeTHF로 희석하여 화합물 B21을 함유하는 용액을 수득하였다.

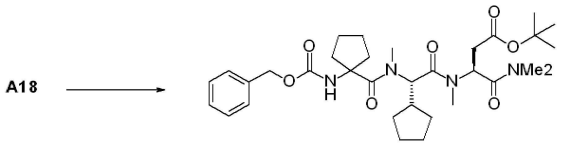
[1749] 화합물 B21의 LC 체류 시간: 3.107분(HPLC 분석 조건: 방법 1)

[1750] 화합물 B21의 LCMS(ESI) 체류 시간: 2.990분, m/z = 437 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건: 방법 1)

[1751] 실시예 D-5

[1752] 화합물 B25: tert-부틸 (3S)-3-[[(2S)-2-[(1-(벤질옥시카르보닐아미노)시클로펜탄카르보닐)-메틸-아미노]-2-시클로펜틸-아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노에이트의 합성

[1753] [화학식 139]




B25

[1754]

[1755] 실시예 A-12에서 수득한 화합물 A18을 함유하는 용액(3.61 g) 및 DMF(10 mL)를 반응 용기에 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 0℃로 설정하고, N-카르보벤족시숙신이미드(0.84 g)를 교반하면서 첨가하고, 혼합물을 추가 6시간 동안 교반한 후, 18시간 동안 방치하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 하여 반응 전환율이 99.0%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. MeTHF(30 mL), MTBE(10 mL) 및 5% 탄산나트륨 수용액(15 mL)을 첨가하고, 혼합물을 교반하였다. 하층을 배출한 후, 생성된 유기층을 5% 탄산나트륨 수용액(15 mL x 3), 5% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(15 mL x 2), 및 포화 NaCl 수용액(15 mL)으로 세척하였다. MeTHF(15 mL)를 유기층에 첨가하고, 유기층을 5% 탄산나트륨 수용액(15 mL)으로 세척하였다. 수득한 유기층을 황산나트륨으로 탈수하고 여과하여 황산나트륨을 제거하였다. 생성된 여액에 헵탄을 첨가한 후, 생성된 고체 화합물 B25를 여과로 회수하였다. 수득한 화합물 B25의 양은 1.61 g이었다.

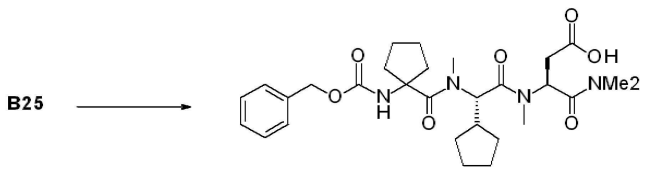
[1756] 화합물 B25의 LC 체류 시간: 4.422분(HPLC 분석 조건: 방법 1)

[1757] 화합물 B25의 LCMS(ESI) 체류 시간: 4.340분, m/z = 637 $[M+Na]^+$ (LCMS 분석조건: 방법 1)

[1758] 실시예 D-6

[1759] 화합물 B26: (3S)-3-[[(2S)-2-[(1-(벤질옥시카르보닐아미노)시클로펜탄카르보닐)-메틸-아미노]-2-시클로펜틸-아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부탄산의 합성

[1760] [화학식 140]




B26

[1761]

[1762] 실시예 D-5에서 수득한 화합물 B25(0.65 g)를 반응 용기에 첨가하고, 반응 용기를 질소 치환하였다. 다음으로, 디클로로메탄(5 mL), 이소프로필 아세테이트(6.5 mL) 및 HMDS(0.55 mL)를 반응 용기에 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 0℃로 설정하고, TMSOTf(0.38 mL)를 교반하면서 첨가한 후, 혼합물을 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 하여 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 계속 0℃의 외부 온도에서, MeTHF(10 mL), 5% 인산수소이칼륨 수용

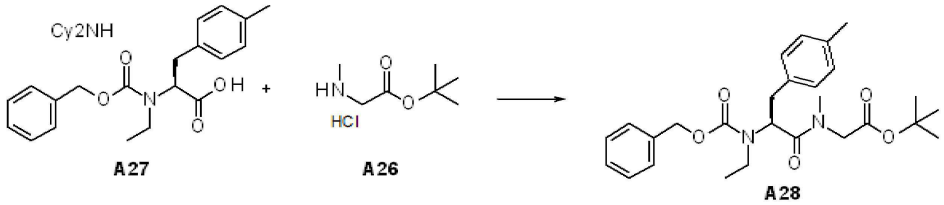
액(0.5 mL), 및 5% 인산이수소나트륨 수용액(3 mL)을 순차적으로 첨가하였다. 유기층과 수층을 분리한 후, 포화 NaCl 수용액(2 mL)을 수층에 첨가하고, MeTHF(10 mL x 2)로 추출하였다. 생성된 모든 유기층을 혼합하고 포화 NaCl 수용액(5 mL)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수하고 여과하여 황산나트륨을 제거하고, DIPEA(0.81 mL)를 첨가하였다. 그런 다음, 생성된 용액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 B26을 함유하는 잔류물을 수득하였다.

[1763] 화합물 B26의 LC 체류 시간: 3.459분(HPLC 분석 조건: 방법 1)

[1764] 실시예 D-7

[1765] 화합물 A28의 합성: (tert-부틸 2-[[(2S)-2-[벤질옥시카르보닐(에틸)아미노]-3-(p-톨릴)프로파노일]-메틸-아미노]아세테이트)

[1766] [화학식 141]




[1767]

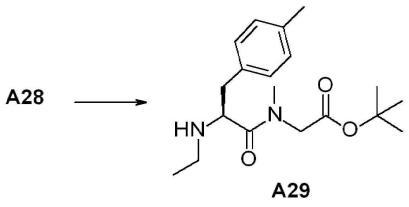
[1768] 질소 치환 후 반응 용기에 화합물 A26(270 g) 및 화합물 A27(647 g)에 이어서 2-MeTHF(3.8 L)를 첨가하고 혼합물을 교반하였다. 반응 용기의 외부 온도를 10℃로 설정하고, DIPEA(868 g)를 첨가한 후, T3P(50 w/w% 2-MeTHF 용액, 1.89 kg)를 적가하였다. 외부 온도를 25℃로 설정하고, 혼합물을 5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 2), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 98.9%(반응 전환율의 계산식 3)임을 확인하였다. 반응 용기의 외부 온도를 10℃로 설정하고, 5% 탄산나트륨 수용액(3.8 L)을 교반하면서 적가하였다. 외부 온도를 25℃로 설정하고, 혼합물을 30분 동안 교반한 후, 수성층을 배출하였다. 생성된 유기층을 또한 25℃의 외부 온도에서 5% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(3.8 L)으로 2회 및 5% 탄산나트륨 수용액(3.8 L)으로 1회 세척하였다. 생성된 유기층을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 A28을 함유하는 1.30 kg의 용액을 수득하였다.

[1769] 화합물 A28의 LC 체류 시간: 4.500분(HPLC 분석 조건: 방법 4)

[1770] 실시예 D-8

[1771] 화합물 A29의 합성: (tert-부틸 2-[[(2S)-2-(에틸아미노)-3-(p-톨릴)프로파노일]-메틸-아미노]아세테이트)

[1772] [화학식 142]




[1773]

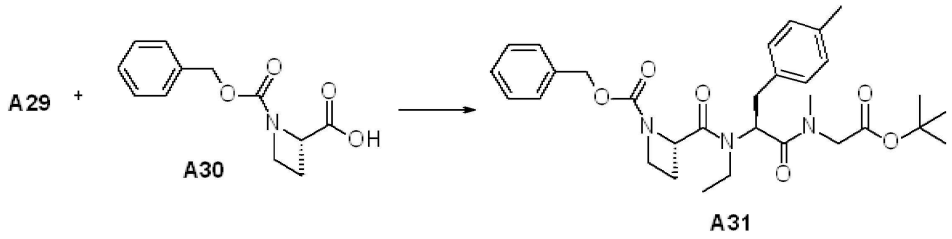
[1774] 질소 치환 후 반응 용기에 실시예 D-7에서 수득한 화합물 A28을 함유하는 2-MeTHF 용액(1.28 kg) 및 2-MeTHF(2.8 L)를 첨가한 후, 5% Pd/C(258 g, 50% 수성 함량)를 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하였고, 반응 용기의 내부 압력이 0.18 MPaG이 될 때까지 반응 용기를 수소로 가압하였다. 1시간 후, 내부 압력의 변동은 확인되지 않았으며, 이후 반응 용기를 질소 치환하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 혼합물을 압력하에 여과하였다. 반응 용기 및 여과 장치를 2-MeTHF(1.8 L)로 세척하고, 여액 및 세척액을 저장 용액으로서 저장 용기 내에 수집하였다. 생성된 여액 및 세척액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 A29를 함유하는 2-MeTHF 용액(955 g)을 수득하였다.

[1775] 화합물 A29의 LC 체류 시간: 2.389분(HPLC 분석 조건: 방법 4)

[1776] 실시예 D-9

[1777] 화합물 A31의 합성: (벤질 (2S)-2-[[(1S)-2-[(2-tert-부톡시-2-옥소-에틸)-메틸-아미노]-2-옥소-1-(p-톨릴메틸)에틸]-에틸-카르바모일]아제티딘-1-카르복실레이트)

[1778] [화학식 143]




[1779]

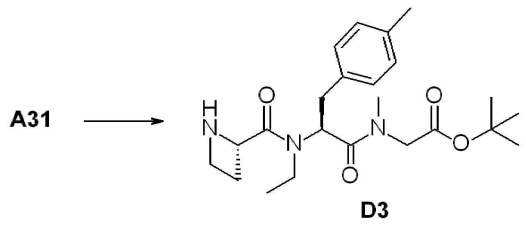
[1780] 질소 치환 후 반응 용기에 실시예 D-8에서 수득한 화합물 A29를 함유하는 2-MeTHF 용액(935 g), 화합물 A30(420 g) 및 2-MeTHF(3.0 L)를 교반하면서 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 10℃로 설정하고, DIPEA(770 g)를 교반하면서 첨가한 후, T3P(50 w/w% 2-MeTHF 용액, 2.23 kg)를 적가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하고, 반응 혼합물을 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.3%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 외부 온도를 10℃로 설정하고, 5% 탄산나트륨 수용액(3.6 L)을 반응 혼합물에 교반하면서 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하고, 혼합물을 교반한 후, 수성층을 반응 용기로부터 배출하였다. 유기층을 5% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(3.6 L)으로 2회 후 5% 탄산나트륨 수용액(3.6 L)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 A31을 함유하는 1.37 kg의 용액을 수득하였다.

[1781] 화합물 A31의 LC 체류 시간: 4.065분(HPLC 분석 조건: 방법 4)

[1782] 실시예 D-10

[1783] 화합물 D3의 합성: (tert-부틸 2-[[(2S)-2-[[(2S)-아제티딘-2-카르보닐-에틸-아미노]-3-(p-톨릴)프로파노일]-메틸-아미노]아세테이트)

[1784] [화학식 144]




[1785]

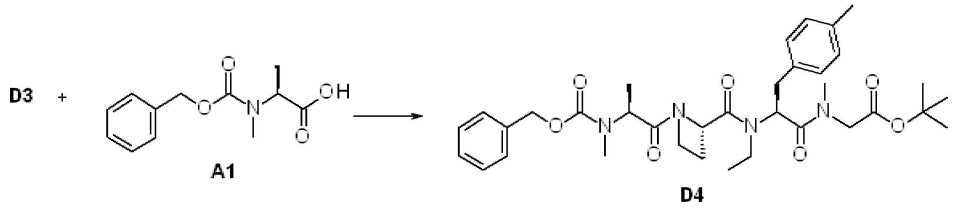
[1786] 질소 치환 후 반응 용기에 실시예 D-9에서 수득한 화합물 A31을 함유하는 2-MeTHF 용액(1.34 kg) 및 2-MeTHF(2.7 L)를 첨가한 후, 5% Pd/C(249 g, 50% 수성 함량)를 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하였고, 반응 용기의 내부 압력이 0.18 MPaG이 될 때까지 반응 용기를 수소로 가압하였다. 40시간 후, 내부 압력의 변동은 확인되지 않았으며, 이후 혼합물을 추가 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.7%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 내부를 질소로 치환한 후, 반응 혼합물을 가압 여과하였다. 반응 용기 및 여과 장치를 2-MeTHF(1.8 L)로 세척하고, 여액 및 세척액을 저장 용액으로서 저장 용기 내에 수집하였다. 생성된 여액 및 세척액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 D3을 함유하는 2-MeTHF 용액(1.28 kg)을 수득하였다.

[1787] 화합물 D3의 LC 체류 시간: 2.538분(HPLC 분석 조건: 방법 4)

[1788] 실시예 D-11

[1789] 화합물 D4의 합성: (tert-부틸 2-[[(2S)-2-[[(2S)-1-[(2S)-2-[벤질옥시카르보닐(메틸)아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르보닐]-에틸-아미노]-3-(p-톨릴)프로파노일]-메틸-아미노]아세테이트)

[1790] [화학식 145]




[1791]

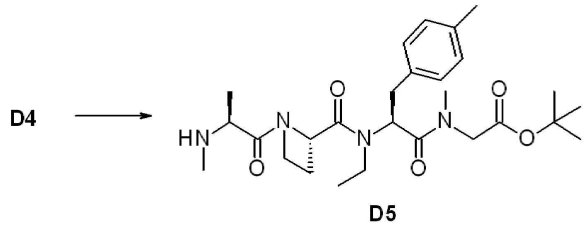
[1792] 질소 치환 후 반응 용기에 실시예 D-10에서 수득한 화합물 D3을 함유하는 2-MeTHF 용액(1.25 kg), 화합물 A1(325 g) 및 2-MeTHF(2.6 L)를 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 10℃로 설정하고, DIPEA(876 mL)를 교반하면서 첨가한 후, T3P(1.6 M 2-MeTHF 용액, 1.71 kg)를 적가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하고, 반응 혼합물을 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 96.4%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 외부 온도를 10℃로 설정하고, 5% 탄산나트륨 수용액(3.4 L)을 반응 혼합물에 교반하면서 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하고, 혼합물을 교반한 후, 수성층을 배출하였다. 유기층을 5% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(3.4 L)으로 2회 후 5% 탄산나트륨 수용액(3.4 L)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 D4를 함유하는 1.87 kg의 2-MeTHF 용액을 수득하였다.

[1793] 화합물 D4의 LC 체류 시간: 4.004분(HPLC 분석 조건: 방법 4)

[1794] 실시예 D-12

[1795] 화합물 D5의 합성: (tert-부틸 2-[[(2S)-2-[에틸-[(2S)-1-[(2S)-2-(메틸아미노)프로파노일]아제티딘-2-카르보닐]아미노]-3-(p-톨릴)프로파노일]-메틸-아미노]아세테이트)

[1796] [화학식 146]




[1797]

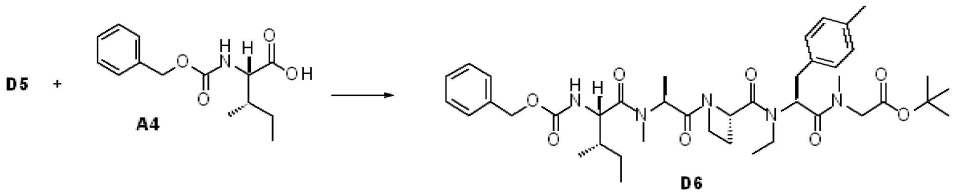
[1798] 질소 치환 후 반응 용기에 실시예 D-11에서 수득한 화합물 D4를 함유하는 용액(1.83 kg), 2-MeTHF(2.1 L) 및 5% Pd/C(238 g, 50% 수성 함량)를 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하였고, 반응 용기의 내부 압력이 0.18 MPaG이 될 때까지 반응 용기를 수소로 가압하고, 혼합물을 1시간 40분 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 내부를 질소로 치환한 후, 반응 혼합물을 가압 여과하였다. 반응 용기 및 여과 장치를 2-MeTHF(1.7 L)로 세척한 후, 생성된 여액 및 세척 용액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 D5를 함유하는 용액(1.36 kg)을 수득하였다.

[1799] 화합물 D5의 LC 체류 시간: 2.510분(HPLC 분석 조건: 방법 4)

[1800] 실시예 D-13

[1801] 화합물 D6의 합성: (tert-부틸 2-[[(2S)-2-[[(2S)-1-[(2S)-2-[[(2S,3S)-2-(벤질옥시카르보닐아미노)-3-메틸-펜타노일]-메틸-아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르보닐]-에틸-아미노]-3-(p-톨릴)프로파노일]-메틸-아미노]아세테이트)

[1802] [화학식 147]



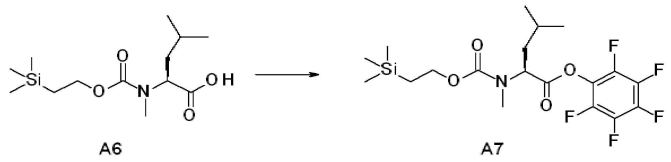

[1803]

[1804] 질소 치환 후 반응 용기에 실시예 D-12에서 수득한 화합물 D5를 함유한 용액(1.34 kg), 화합물 A4(353 g), 2-MeTHF(0.78 L), 톨루엔(1.7 L), 및 아세토니트릴(0.55 L)을 실온에서 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하고, DIPEA(845 mL) 및 HATU(629 g)를 실온에서 교반하면서 첨가하고, 혼합물을 25℃에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. N-메틸이미다졸(87 mL)을 반응 용기에 첨가하고, 5% 탄산나트륨 수용액(3.3 L)을 교반하면서 추가로 첨가한 후, 혼합물을 1시간 동안 교반하였다. 다음으로, 2.5% 암모니아 수용액(3.3 L)을 첨가하고, 혼합물을 30분 동안 교반한 후, 수성층을 배출하였다. 생성된 유기층을 2.5% 암모니아 수용액(3.3 L), 10% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(3.3 L x 2), 및 3% 인산수소이칼륨 수용액(3.3 L)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 D6을 함유하는 2.30 kg의 용액을 수득하였다. 화합물 D6의 LC 체류 시간: 4.235분(HPLC 분석 조건: 방법 4)

[1805] 실시예 D-14

[1806] 화합물 A7의 합성: ((2,3,4,5,6-펜타플루오로페닐) (2S)-4-메틸-2-[메틸(2-트리메틸실릴에톡시카르보닐)아미노]펜타노에이트)

[1807] [화학식 148]




[1808]

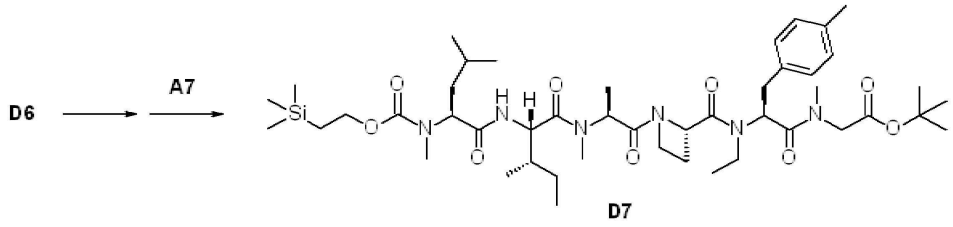
[1809] 질소 치환 후 반응 용기에 화합물 A6(379 g), 이소프로필 아세테이트(2.5 L), 및 DMF(2.5 L)를 실온에서 순차적으로 첨가하였다. 펜타플루오로페놀(302 g)을 실온에서 교반하면서 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 0℃로 설정하고, 1-(3-디메틸아미노프로필)-3-에틸카보디이미드 염산염(314 g)을 반응 용기에 첨가하였다. 반응 용액을 1시간에 걸쳐 25℃로 가온하고, 혼합물을 2시간 10분 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.6%(반응 전환율의 계산식 2)임을 확인하였다. 반응 용기의 외부 온도를 0℃로 설정하고, 0.5 M 염산 수용액(2.5 L)을 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하고, 혼합물을 10분 동안 교반하였다. 교반을 중지한 후, 수성층을 반응 용기로부터 배출하였다. 생성된 유기층을 0.5 M 염산 수용액(2.5 L)으로 세척하였다. 생성된 유기층에 5% 탄산칼륨 수용액(2.5 L), DMF(377 mL)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 10분 동안 교반하였다. 교반을 중지한 후, 수성층을 반응 용기로부터 배출하였다. 생성된 유기층을 5% 탄산칼륨 수용액(2.5 L)에 이어서 10% 염화나트륨 수용액(2.5 L)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 A7을 함유하는 1.15 kg의 용액을 수득하였다.

[1810] 화합물 A7의 LC 체류 시간: 6.175분(HPLC 분석 조건: 방법 7)

[1811] 실시예 D-15

[1812] 화합물 D7의 합성: (tert-부틸 2-[[(2S)-2-[에틸-[(2S)-1-[(2S)-2-[메틸-[(2S,3S)-3-메틸-2-[[(2S)-4-메틸-2-[메틸(2-트리메틸실릴에톡시카르보닐)아미노]펜타노일]아미노]펜타노일]아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르보닐]아미노]-3-(p-톨릴)프로파노일]-메틸-아미노]아세테이트)

[1813] [화학식 149]




[1814]

[1815] 질소 치환 후 반응 용기에 실시예 D-13에서 수득한 화합물 D6을 함유하는 용액(574 g), 실시예 D-14에서 수득한 화합물 A7을 함유하는 용액(1.14 kg), 이소프로필 아세테이트(0.31 L), 아세톤(0.81 L), 및 N-메틸모르폴린(0.36 L)을 실온에서 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하였고, 5% Pd/C(116 g, 50% 수성 함량)를 첨가한 후, 반응 용기의 내부 압력이 0.18 MPaG이 될 때까지 반응 용기를 수소로 가압하였다. 1시간 후, 내부 압력의 변동은 확인되지 않았다. 이어서, 반응 용기를 수소로 0.18 MPaG까지 가압하고, 반응 혼합물을 1시간 동안 추가로 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 내부를 질소로 치환한 후, 반응 혼합물을 가압 여과하였다. 반응 용기 및 여과 장치를 2-MeTHF(0.82 L)로 세척한 후, 여액 및 세척 용액을 함께 수집하고, 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축한 후, 생성된 잔류물을 여과하였다. 질소 치환 후 반응 용기에 상기 여액 및 2-MeTHF(0.82 L)를 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하고, 5% 탄산칼륨 수용액(1.8 L) 및 4-디메틸아미노피리딘(66.8 g)을 교반하면서 순차적으로 첨가하였다. 교반을 중지한 후, 수성층을 반응 용기로부터 배출하였다. 유기층을 5% 황산수소칼륨 수용액(1.8 L x 2) 및 5% 탄산칼륨 수용액(1.8 L x 2)으로 세척하였다. 반응 용기의 내부를 2-MeTHF(0.20 L)로 세척하여 수득한 세척 용액 및 생성된 유기층을 저장 용액(제1 배치)으로 제조하였다.

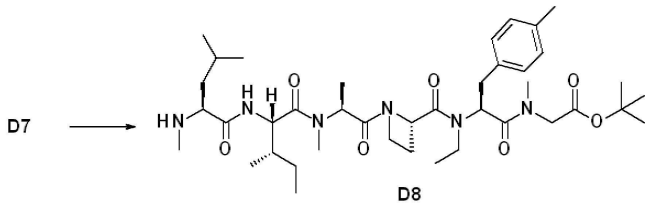
[1816] 질소 치환 후 반응 용기에 실시예 D-13에서 수득한 화합물 D6을 함유하는 용액(574 g), 실시예 D-14에서 수득한 화합물 A7을 함유하는 용액(1.14 kg), 이소프로필 아세테이트(0.31 L), 아세톤(0.81 L), 및 N-메틸모르폴린(0.36 L)을 실온에서 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하였고, 5% Pd/C(116 g, 50% 수성 함량)를 첨가한 후, 반응 용기의 내부 압력이 0.18 MPaG이 될 때까지 반응 용기를 수소로 가압하였다. 50분 후, 내부 압력의 변동은 확인되지 않았으며, 이후 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 이어서, 반응 용기를 수소로 0.18 MPaG까지 가압하고, 반응 혼합물을 1시간 동안 추가로 교반하였다. 반응 용기의 내부를 질소로 치환한 후, 반응 혼합물을 가압 여과하였다. 반응 용기 및 여과 장치를 2-MeTHF(0.82 L)로 세척한 후, 여액 및 세척 용액을 함께 수집하고, 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축한 후, 생성된 잔류물을 여과하였다. 질소 치환 후 반응 용기에 상기 여액 및 2-MeTHF(1.6 L)를 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하고, 5% 탄산칼륨 수용액(1.8 L) 및 4-디메틸아미노피리딘(66.7 g)을 교반하면서 순차적으로 첨가하였다. 교반을 중지한 후, 수성층을 반응 용기로부터 배출하였다. 유기층을 5% 황산수소칼륨 수용액(1.8 L x 2) 및 5% 탄산칼륨 수용액(1.8 L x 2)으로 세척하였다. 생성된 유기층에 상기 저장 용액(제1 배치)을 첨가하고, 혼합물을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여, 화합물 D7을 함유하는 용액(1.81 kg)을 수득하였다.

[1817] 화합물 D7의 LC 체류 시간: 5.964분(HPLC 분석 조건: 방법 7)

[1818] 실시예 D-16

[1819] 화합물 D8의 합성 (tert-부틸 2-[[(2S)-2-[에틸-[(2S)-1-[(2S)-2-[메틸-[(2S,3S)-3-메틸-2-[[(2S)-4-메틸-2-(메틸아미노)펜타노일]아미노]펜타노일]아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르보닐]아미노]-3-(p-톨릴)프로파노일]-메틸아미노]아세테이트)

[1820] [화학식 150]




[1821]

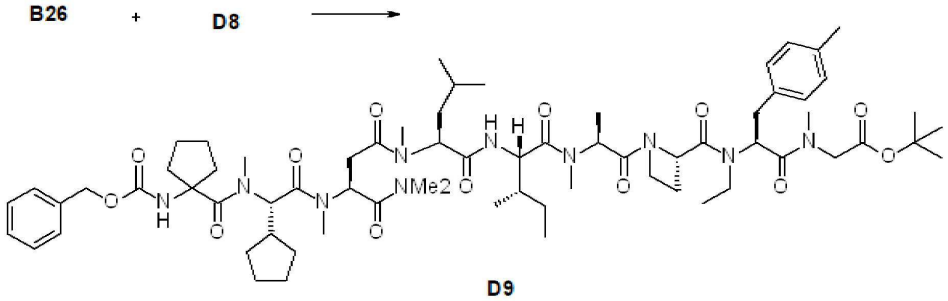
[1822] 질소 치환 후 반응 용기에 실시예 D-15에서 수득한 화합물 D7을 함유한 용액(1.79 kg), 및 2-MeTHF(1.9 L)를 실온에서 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 47℃로 설정하고, 테트라부틸암모늄 플루오라이드(1 M, THF 용액, 2.70 L)를 1시간에 걸쳐 첨가한 후, 혼합물을 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 통해 출발 물질 화합물 D7이 검출되지 않음(반응 전환율의 계산식 1)을 확인하였다. 교반을 중지한 후, 이소프로필 아세테이트(2.9 L)를 반응 용기에 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하고, 5% 탄산칼륨 수용액(2.9 L)을 교반하면서 첨가하였다. 교반을 중지한 후, 수성층을 반응 용기로부터 배출하였다. 생성된 유기층을 5% 탄산칼륨 수용액(2.9 L)으로 2회 세척하였다. 생성된 유기층을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 D8을 함유하는 용액(1.87 kg)을 수득하였다.

[1823] 화합물 D8의 LC 체류 시간: 3.057분(HPLC 분석 조건: 방법 4)

[1824] 실시예 D-17

[1825] 화합물 D9: tert-부틸 2-[[(2S)-2-[[(2S)-1-[(2S)-2-[[(2S,3S)-2-[[(2S)-2-[[(3S)-3-[[(2S)-2-[[1-(벤질옥시카르보닐아미노)시클로펜탄카르보닐]-메틸-아미노]-2-시클로펜틸-아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노일]-메틸-아미노]-4-메틸-펜타노일]아미노]-3-메틸-펜타노일]-메틸-아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르보닐]-에틸-아미노]-3-(p-톨릴)프로파노일]-메틸-아미노]아세테이트의 합성

[1826] [화학식 151]




[1827]

[1828] 실시예 D-6에서 수득한 화합물 B26의 농축된 용액을 반응 용기에 첨가하고, 반응 용기를 질소 치환하였다. 다음으로, 2-MeTHF(4 mL), DMF(1.5 mL), DIPEA(1.0 mL), 및 실시예 D-16에서 수득한 화합물 D8의 용액(2.16 g)을 첨가하였다. HATU(0.92 g)를 실온으로 첨가하고, 혼합물을 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 5), HPLC 분석을 하여 반응 전환율이 99.3%(반응 전환율의 계산식 3)임을 확인하였다. 반응 용기의 외부 온도를 0℃로 설정하고, N-메틸이미다졸(0.064 mL) 및 5% 탄산나트륨 수용액(10 mL)을 첨가하고, 혼합물을 교반하였다. 하층을 배출한 후, 생성된 유기층을 5% 탄산나트륨 수용액(10 mL), 2.5% 암모니아수(10 mL x 2), 5% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(20 mL x 3), 및 5% 탄산나트륨 수용액(20 mL x 3)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수시키고 여과하여 황산나트륨을 제거한 후, 생성된 여액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 D9를 함유한 잔류물(1.27 g)을 수득하였다.

[1829] 화합물 D9의 LC 체류 시간: 5.452분(HPLC 분석 조건: 방법 1)

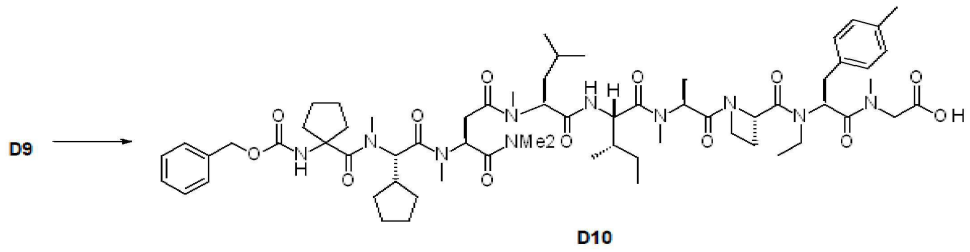
[1830] 화합물 D9의 LCMS(ESI) 체류 시간: 21.57분, m/z = 1306 $[M+Na]^+$ (LCMS 분석조건: 방법 3)

[1831] 실시예 D-18

[1832] 화합물 D10: 2-[[(2S)-2-[[(2S)-1-[(2S)-2-[[(2S,3S)-2-[[(2S)-2-[[(3S)-3-[[(2S)-2-[[1-(벤질옥시카르보닐아미노)시클로펜탄카르보닐]-메틸-아미노]-2-시클로펜틸-아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노

일]-메틸-아미노]-4-메틸-펜타노일]아미노]-3-메틸-펜타노일]-메틸-아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르보닐]-에틸-아미노]-3-(p-톨릴)프로파노일]-메틸-아미노]아세트산의 합성

[1833] [화학식 152]




D10

[1834]

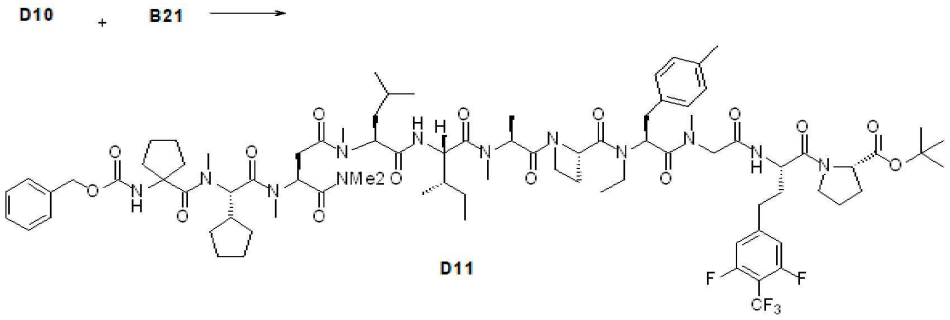
[1835] 실시예 D-17에서 수득한 화합물 D9를 함유한 잔류물(0.90 g)을 반응 용기에 첨가하고, 반응 용기를 질소 치환하였다. 다음으로, 2-MeTHF(9.0 mL) 및 HMDS(1.00 mL)를 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 0℃로 설정하고, TMSOTf(0.724 mL)를 교반하면서 첨가한 후, 혼합물을 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 하여 반응 전환율이 99.7%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 계속 0℃의 외부 온도에서, 5% 인산수소이칼륨 수용액(0.5 mL), 및 5% 탄산나트륨 수용액(3 mL)을 순차적으로 첨가하였다. 이어서, 85% 인산을 첨가하고, pH를 5로 조정하였다. 유기층과 수성층을 분리한 후, 수성층을 2-MeTHF(10 mL x 3)로 추출하였다. 생성된 모든 유기층을 혼합하고 포화 NaCl 수용액(10 mL)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수시키고 여과하여 황산나트륨을 제거한 후, 수득한 여액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 D10을 함유한 잔류물을 수득하였다.

[1836] 화합물 D10의 LC 체류 시간: 4.564분(HPLC 분석 조건: 방법 1)

[1837] 실시예 D-19

[1838] 화합물 D11: tert-부틸 (2S)-1-[(2S)-2-[[2-[[(2S)-2-[[(2S)-1-[(2S)-2-[[(2S,3S)-2-[[(2S)-2-[[(3S)-3-[[(2S)-2-[[1-(벤질옥시카르보닐아미노)시클로펜탄카르보닐]-메틸-아미노]-2-시클로펜틸-아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노일]-메틸-아미노]-4-메틸-펜타노일]아미노]-3-메틸-펜타노일]-메틸-아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르보닐]-에틸-아미노]-3-(p-톨릴)프로파노일]-메틸-아미노]아세틸]아미노]-4-[3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐]부타노일]피롤리딘-2-카르복실레이트의 합성

[1839] [화학식 153]




D11

[1840]

[1841] 실시예 D-18에서 수득한 화합물 D10을 함유한 잔류물을 반응 용기에 첨가하고, 반응 용기를 질소 치환하였다. 다음으로, 2-MeTHF (6.0 mL), MeCN (4.0 mL), DIPEA (0.737 mL), 및 실시예 D-4에서 수득한 화합물 B21의 용액(3.60 mL)을 첨가하였다. HATU(0.667 g)를 실온으로 첨가하고, 혼합물을 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 5), HPLC 분석을 하여 반응 전환율이 99.0%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 외부 온도를 0℃로 설정하고, N-메틸이미다졸(0.0560 mL) 및 5% 탄산나트륨 수용액(10 mL)을 첨가하고, 혼합물을 교반하였다. 하층을 배출한 후, 생성된 유기층을 5% 탄산나트륨 수용액(10 mL), 2.5% 암모니아수(10 mL x 2), 5% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(20 mL x 3), 5% 탄산나트륨 수용액(20 mL), 및 포화 NaCl 수용액(10 mL)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수시키고 여과하여 황산나트륨을 제거한 후, 생성된 여액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하였다. 생성된 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로(용출액 : 디클로로메탄/메탄올 98 : 2 내지 82 : 18) 정제하여 0.761 g의 화합물 D11을 수득하

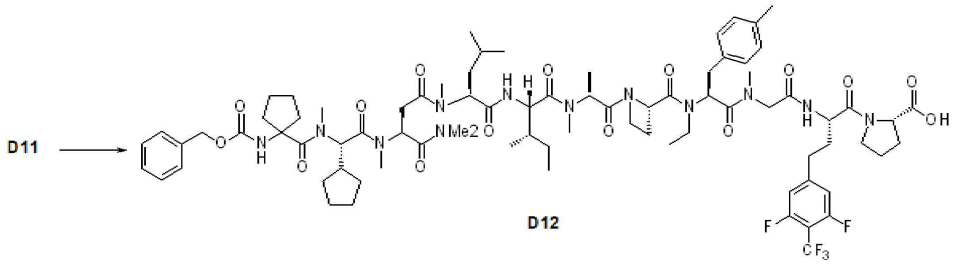
였다.

[1842] 화합물 D11의 LC 체류 시간: 21.550분(HPLC 분석 조건: 방법 3)

[1843] 실시예 D-20

[1844] 화합물 D12: (2S)-1-[(2S)-2-[[2-[[(2S)-2-[[(2S)-1-[(2S)-2-[[(2S,3S)-2-[[(2S)-2-[[(3S)-3-[[(2S)-2-[[1-(벤질옥시카르보닐아미노)시클로펜탄카르보닐]-메틸-아미노]-2-시클로펜틸-아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노일]-메틸-아미노]-4-메틸-펜타노일]아미노]-3-메틸-펜타노일]-메틸-아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르보닐]-에틸-아미노]-3-(p-톨릴)프로파노일]-메틸-아미노]아세틸]아미노]-4-[3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐]부타노일]피리딘-2-카르복실산의 합성

[1845] [화학식 154]




[1846]

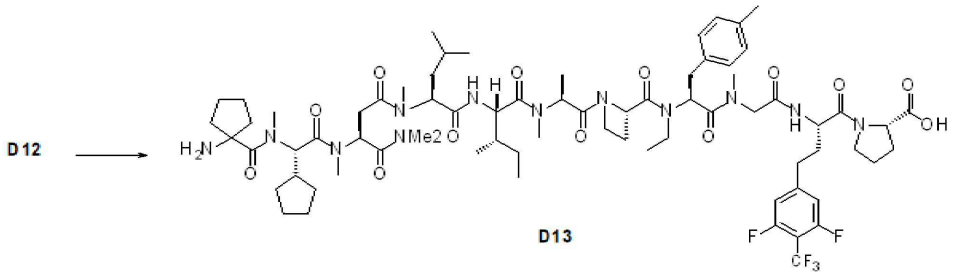
[1847] 실시예 D-19에서 수득한 화합물 D11(0.761 g)을 반응 용기에 첨가하고, 반응 용기를 질소 치환하였다. 다음으로, 2-MeTHF(7.0 mL) 및 HMDS(0.679 mL)를 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 0℃로 설정하고, TMSOTf(0.485 mL)를 교반하면서 첨가한 후, 혼합물을 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 하여 반응 전환율이 99.6%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 계속 0℃의 외부 온도에서, 5% 인산수소이칼륨 수용액(0.5 mL), 및 5% 인산이수소나트륨 수용액(3 mL)을 첨가하였다. 유기층과 수성층을 분리한 후, 수성층을 2-MeTHF(10 mL x 3)로 추출하였다. 생성된 모든 유기층을 혼합하고 포화 NaCl 수용액(10 mL)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수시키고 여과하여 황산나트륨을 제거한 후, 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하였다. 생성된 잔류물을 EtOAc(80 mL)로 희석한 후, 5% NaCl 수용액(10 mL x 3)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수시키고 여과하여 황산나트륨을 제거한 후, 생성된 여액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 D12를 함유한 잔류물(0.766 g)을 수득하였다.

[1848] 화합물 D12의 LC 체류 시간: 19.111분(HPLC 분석 조건: 방법 3)

[1849] 실시예 D-21

[1850] 화합물 D13: (2S)-1-[(2S)-2-[[2-[[(2S)-2-[[(2S)-1-[(2S)-2-[[(2S,3S)-2-[[(2S)-2-[[(3S)-3-[[(2S)-2-[(1-아미노시클로펜탄카르보닐)-메틸-아미노]-2-시클로펜틸-아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노일]-메틸-아미노]-4-메틸-펜타노일]아미노]-3-메틸-펜타노일]-메틸-아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르보닐]-에틸-아미노]-3-(p-톨릴)프로파노일]-메틸-아미노]아세틸]아미노-4-[3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐]부타노일]피롤리딘-2-카르복실산의 합성

[1851] [화학식 155]




[1852]

[1853] 실시예 D-20에서 수득한 화합물 D12를 함유하는 잔류물(0.766 g)을 반응 용기에 첨가하였다. 다음으로, 2-MeTHF(10 mL) 및 5% Pd/C(0.107 g, 50% 수성 함량)를 실온에서 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기의 내부를 수

소로 치환하고, 혼합물을 실온에서 5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 하여 반응 전환율이 17.8%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 내부를 질소로 치환한 후, 반응 혼합물을 여과지 및 필터를 이용하여 감압하에 여과하였다. 반응 용기와 여과지 및 필터를 2-MeTHF로 세척하고, 용액을 취합하고, 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하였다. 생성된 농축 용액을 반응 용기에 첨가하였다. 다음으로, 2-MeTHF(10 mL) 및 5% Pd/C(0.428 g, 50% 수성 함량)를 실온에서 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기의 내부를 수소로 치환하고, 혼합물을 실온에서 6시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 하여 반응 전환율이 99.5%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 내부를 질소로 치환한 후, 반응 혼합물을 여과지 및 필터를 이용하여 감압하에 여과하였다. 반응 용기와 여과지 및 필터를 2-MeTHF로 세척하고, 용액을 취합하고, 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하였다. 생성된 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로(용출액 : 디클로로메탄/메탄올 96 : 4 내지 56 : 44) 정제하여 D13(0.502 g)을 수득하였다.

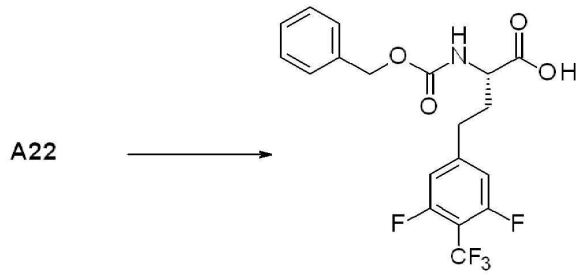
[1854] 화합물 D13의 LC 체류 시간: 12.952분(HPLC 분석 조건: 방법 3)

[1855] 화합물 D13의 LCMS(ESI) 체류 시간: 13.34분, m/z = 1456 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건 3)

[1856] 실시예 E-1

[1857] 화합물 E1: (2S)-2-(벤질옥시카르보닐아미노)-4-[3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐]부탄산의 제조

[1858] [화학식 156]




E1

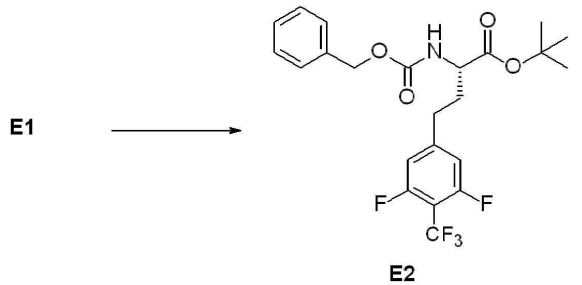
[1859]

[1860] 화합물 A22(3.14 g)을 반응 용기에 첨가하였다. 다음으로, 2-MeTHF(50 mL) 및 5% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(20 mL)을 첨가하고, 혼합물을 교반하였다. 수성층을 배출한 후, 생성된 유기층을 5% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(20 mL x 4), 물(10 mL x 2) 및 포화 NaCl 수용액(10 mL)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 E1을 함유하는 용액(2.40 g)을 수득하였다.

[1861] 실시예 E-2

[1862] 화합물 E2: tert-부틸 (2S)-2-(벤질옥시카르보닐아미노)-4-[3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐]부타노에이트의 합성

[1863] [화학식 157]




E2

[1864]

[1865] 실시예 E-1에서 수득한 화합물 E1의 용액(0.302 g)을 반응 용기에 첨가하였다. 다음으로, 디클로로메탄(0.90 mL) 및 시클로헥산(1.5 mL)을 실온에서 첨가하였다. tert-부틸 2,2,2-트리클로로아세트이미데이트(0.257 mL) 및 삼불화붕소 디에틸에테르 복합체(0.0146 mL)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 0.5시간 동안 교반한 후, 반응

혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 하여 반응 전환율이 94.7%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하고, 저장 용액으로서 사용하였다(제1 배치).

[1866] 실시예 E-1에서 수득한 화합물 E1의 용액(2.02 g)을 반응 용기에 첨가하였다. 다음으로, 디클로로메탄(6.1 mL) 및 시클로헥산(10 mL)을 실온에서 반응 용기에 첨가하였다. tert-부틸 2,2,2-트리클로로아세트이미데이트(1.74 mL) 및 삼불화붕소 디에틸에테르 복합체(0.0980 mL)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 하여 반응 전환율이 99.9% 이상(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 혼합물을 상기 저장 용액과 혼합한 후, 여과하고, 고체 잔류물을 시클로헥산으로 세척하였다. 여액을 10% 시트르산 수용액(10 mL x 10), 5% 탄산나트륨 수용액(10 mL x 4), 포화 NaCl 수용액(10 mL)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수시키고 여과하여 황산나트륨을 제거한 후, 생성된 여액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 E2의 조생성물 2.45 g을 수득하였다.

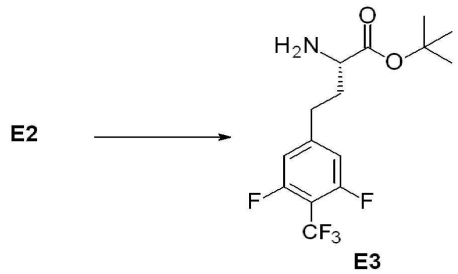
[1867] 화합물 E2의 LC 체류 시간: 4.469분(HPLC 분석 조건: 방법 1)

[1868] 화합물 E2의 LCMS(ESI): 체류 시간: 4.563분, m/z = 474 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건 1)

[1869] 실시예 E-3

[1870] 화합물 E3: tert-부틸 (2S)-2-아미노-4-[3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐]부타노에이트의 합성

[1871] [화학식 158]




E3

[1872]

[1873] 실시예 E-2에서 수득한 화합물 E2의 용액(1.02 g)을 반응 용기에 첨가하였다. 다음으로, 2-MeTHF(10 mL) 및 5% Pd/C(0.358 g, 50% 수성 함량)를 실온에서 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기의 내부를 수소로 치환하고, 혼합물을 실온에서 1.5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 하여 반응 전환율이 99.3%(반응 전환율의 계산식 2)임을 확인하였다. 반응 용기의 내부를 질소로 치환한 후, 반응 혼합물을 여과지 및 필터를 이용하여 감압하에 여과하였다. 반응 용기와 여과지 및 필터를 2-MeTHF로 세척하였다. 생성된 용액을 감압 하에 농축하고 HPLC로 분석하였다. 생성된 용액을 감압하에 농축한 후 2-MeTHF로 희석하여 화합물 E3을 함유하는 용액을 수득하였다.

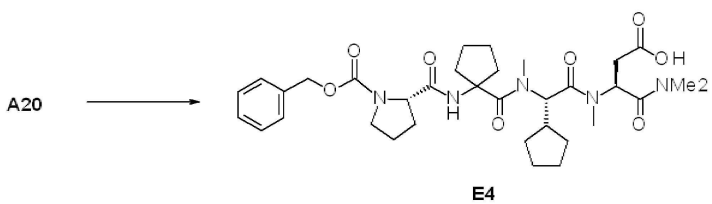
[1874] 화합물 E3의 LC 체류 시간: 2.956분(HPLC 분석 조건: 방법 1)

[1875] 화합물 E3의 LCMS(ESI): 체류 시간: 2.841분, m/z = 340 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건 1)

[1876] 실시예 E-4

[1877] 화합물 E4: (3S)-3-[[(2S)-2-[[1-[[(2S)-1-벤질옥시카르보닐피롤리딘-2-카르보닐]아미노]시클로펜탄카르보닐)-메틸-아미노]-2-시클로펜틸-아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부탄산의 합성

[1878] [화학식 159]




E4

[1879]

[1880] 실시예 A-13에서 수득한 화합물 A20의 용액(5.75 g)을 감압하에 농축하고, 생성된 잔류물을 반응 용기에 첨가한

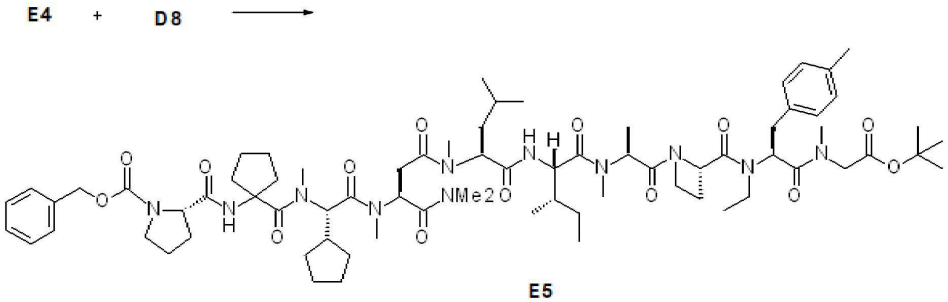
후, 이를 질소 치환하였다. 다음으로, 이소프로필 아세테이트(7.0 mL) 및 HMDS(0.983 mL)를 반응 용기에 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 0℃로 설정하고, TMSOTf(0.678 mL)를 교반하면서 첨가한 후, 혼합물을 1.5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 하여 반응 전환율이 99.6%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 계속 0℃의 외부 온도에서, 2-MeTHF(7.0 mL), 5% 인산수소이칼륨 수용액(0.50 mL), 및 5% 인산이수소나트륨 수용액(4.2 mL)을 순차적으로 첨가하였다. 유기층과 수층을 분리한 후, 포화 NaCl 수용액(2.0 mL)을 수층에 첨가하고, 2-MeTHF(10 mL x 2)로 추출하였다. 생성된 모든 유기층을 혼합하고 포화 NaCl 수용액(5.0 mL)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수하고 여과하여 황산나트륨을 제거하고, DIPEA(1.45 mL)를 첨가하였다. 그런 다음, 생성된 용액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 E4를 함유하는 잔류물을 수득하였다.

[1881] 화합물 E4의 LC 체류 시간: 3.427분(HPLC 분석 조건: 방법 1)

[1882] 실시예 E-5

[1883] 화합물 E5: 벤질 (2S)-2-[[1-[[(1S)-2-[[(1S)-3-[[(1S)-1-[[(1S,2S)-1-[[(1S)-2-[(2S)-2-[[(1S)-2-[(2-tert-부톡시-2-옥소-에틸)-메틸-아미노]-2-옥소-1-(p-톨릴메틸)에틸]-에틸-카르바모일]아제티딘-1-일]-1-메틸-2-옥소-에틸]-메틸-카르바모일]-2-메틸-부틸]카르바모일]-3-메틸-부틸]-메틸-아미노]-1-(디메틸카르바모일)-3-옥소-프로필]-메틸-아미노]-1-시클로펜틸-2-옥소-에틸]-메틸-카르바모일]시클로펜틸]카르바모일]피롤리딘-1-카르복실레이트의 합성

[1884] [화학식 160]




E5

[1885]

[1886] 실시예 E-4에서 수득한 화합물 E4의 농축된 용액을 반응 용기에 첨가하고, 반응 용기를 질소 치환하였다. 다음으로, 2-MeTHF(7.0 mL), DMF(2.5 mL), DIPEA(1.8 mL), 및 실시예 D-16에서 수득한 화합물 D8의 용액(3.87 g)을 첨가하였다. HATU(1.65 g)를 실온으로 첨가하고, 혼합물을 40분 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 5), HPLC 분석을 하여 반응 전환율이 99.9%(반응 전환율의 계산식 3)임을 확인하였다. 반응 용기의 외부 온도를 0℃로 설정하고, N-메틸이미다졸(0.115 mL) 및 5% 탄산나트륨 수용액(10 mL)을 첨가하고, 혼합물을 교반하였다. 하층을 배출한 후, 생성된 유기층을 5% 탄산나트륨 수용액(10 mL), 2.5% 암모니아수(10 mL x 2), 5% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(20 mLx2, 10 mLx2), 10% 시트르산 수용액(10 mL x 5), 및 포화 NaCl 수용액(10 mL)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수시키고 여과하여 황산나트륨을 제거한 후, 생성된 여액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하였다. 생성된 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로(용출액 : 디클로로메탄/메탄올 98 : 2 내지 82 : 18) 정제하여 1.24 g의 화합물 E5를 수득하였다.

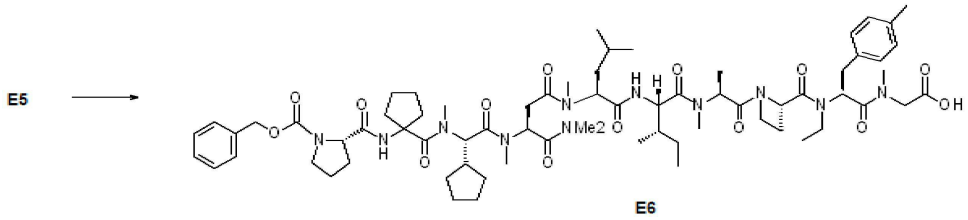
[1887] 화합물 E5의 LC 체류 시간: 5.361분(HPLC 분석 조건: 방법 1)

[1888] 화합물 E5의 LCMS(ESI) 체류 시간: 21.14분, m/z = 1403 $[M+Na]^+$ (LCMS 분석조건: 방법 3)

[1889] 실시예 E-6

[1890] 화합물 E6: 2-[[(2S)-2-[[(2S)-1-[(2S)-2-[[(2S,3S)-2-[[(2S)-2-[[(3S)-3-[[(2S)-2-[[1-[[(2S)-1-벤질옥시카르보닐피롤리딘-2-카르보닐]아미노]시클로펜탄카르보닐]-메틸-아미노]-2-시클로펜틸-아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노일]-메틸-아미노]-4-메틸-펜타노일]아미노]-3-메틸-펜타노일]-메틸-아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르보닐]-에틸-아미노]-3-(p-톨릴)프로파노일]-메틸-아미노]아세트산의 합성

[1891] [화학식 161]




[1892]

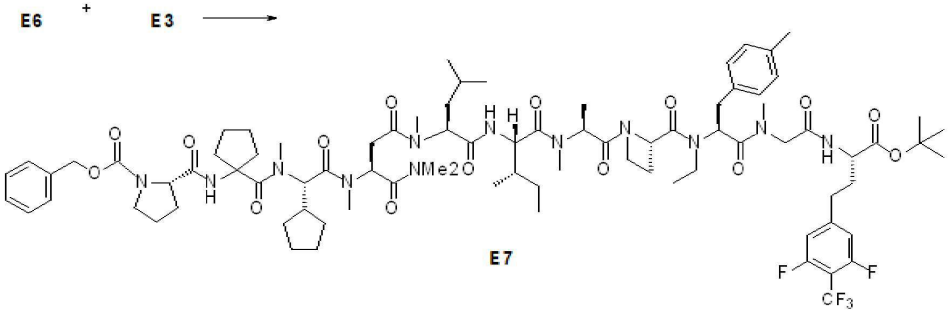
[1893] 실시예 E-5에서 수득한 화합물 E5(0.959 g)을 반응 용기에 첨가하고, 반응 용기를 질소 치환하였다. 다음으로, 2-MeTHF(10 mL) 및 HMDS(0.990 mL)를 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 0℃로 설정하고, TMSOTf(0.715 mL)를 첨가하였다. 그런 다음, 외부 온도를 실온으로 설정하고, 혼합물을 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 하여 반응 전환율이 99.2%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 외부 온도를 0℃로 설정하고, 5% 인산수소이칼륨 수용액(0.50 mL), 5% 인산이수소나트륨 수용액(4.0 mL), 포화 NaCl 수용액(2.0 mL)을 순차적으로 첨가하였다. 유기층과 수성층을 분리한 후, 수성층을 2-MeTHF(10 mL x 2)로 추출하였다. 생성된 모든 유기층을 혼합하고 포화 NaCl 수용액(10 mL)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수시키고 여과하여 황산나트륨을 제거한 후, 생성된 여액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하여 화합물 E6을 함유한 잔류물을 수득하였다.

[1894] 화합물 E6의 LC 체류 시간: 4.510분(HPLC 분석 조건: 방법 1)

[1895] 실시예 E-7

[1896] 화합물 E7: 벤질 (2S)-2-[[1-[[(1S)-2-[[(1S)-3-[[(1S)-1-[[(1S,2S)-1-[[(1S)-2-[(2S)-2-[[(1S)-2-[[2-[[(1S)-1-tert-부톡시카르보닐-3-[3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐]프로필]아미노]-2-옥소-에틸]-메틸-아미노]-2-옥소-1-(p-톨릴메틸)에틸]-에틸-카르바모일]아제티딘-1-일]-1-메틸-2-옥소-에틸]-메틸-카르바모일]-2-메틸-부틸]카르바모일]-3-메틸-부틸]-메틸-아미노]-1-(디메틸카르바모일)-3-옥소-프로필]-메틸-아미노]-1-시클로펜틸-2-옥소-에틸]-메틸-카르바모일]시클로펜틸]카르바모일]피롤리딘-1-카르복실레이트의 합성

[1897] [화학식 162]




[1898]

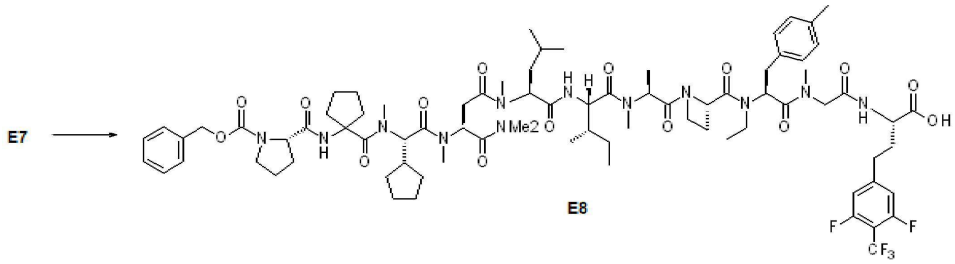
[1899] 실시예 E-6에서 수득한 화합물 E6을 함유한 잔류물을 반응 용기에 첨가하고, 반응 용기를 질소 치환하였다. 다음으로, MeCN (10 mL), DIPEA (0.558 mL), 및 실시예 E-3에서 수득한 화합물 E3의 용액(8.06 mL)을 첨가하였다. HATU(1.00 g)를 실온으로 첨가하고, 혼합물을 0.5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 5), HPLC 분석을 하여 반응 전환율이 81.9%(반응 전환율의 계산식 3)임을 확인하였다. DIPEA(0.558 mL), 및 화합물 E3(2.00 mL)를 첨가한 후, 혼합물을 실온에서 15.5시간 동안 방치하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 5), HPLC 분석을 하여 반응 전환율이 81.7%(반응 전환율의 계산식 3)임을 확인하였다. 외부 온도를 0℃로 설정하고, N-메틸이미다졸(0.0550 mL) 및 5% 탄산나트륨 수용액(10 mL)을 첨가하고, 혼합물을 교반하였다. 하층을 배출한 후, 생성된 유기층을 5% 탄산나트륨 수용액(10 mL), 2.5% 암모니아수(20 mL x 2), 5% 황산수소나트륨 일수화물 수용액(30 mL x 2), 5% 탄산나트륨 수용액(20 mL), 및 포화 NaCl 수용액(10 mL)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수시키고 여과하여 황산나트륨을 제거한 후, 생성된 여액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하였다. 생성된 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로(용출액 : 디클로로메탄/메탄올 98 : 2 내지 82 : 18) 정제하여 E7(0.731 g)을 수득하였다.

[1900] 화합물 E7의 LC 체류 시간: 21.328분(HPLC 분석 조건: 방법 3)

[1901] 실시예 E-8

[1902] 화합물 E8: (2S)-2-[[2-[[(2S)-2-[[(2S)-1-[(2S)-2-[[(2S,3S)-2-[[(2S)-2-[[(3S)-3-[[(2S)-2-[[1-[[(2S)-1-벤질옥시카르보닐피롤리딘-2-카르보닐]아미노]시클로펜탄카르보닐]-메틸-아미노]-2-시클로펜틸-아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노일]-메틸-아미노]-4-메틸-펜타노일]아미노]-3-메틸-펜타노일]-메틸-아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르보닐]-에틸-아미노]-3-(p-톨릴)프로파노일]-메틸-아미노]아세틸]아미노]-4-[3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐]부탄산의 합성

[1903] [화학식 163]




[1904]

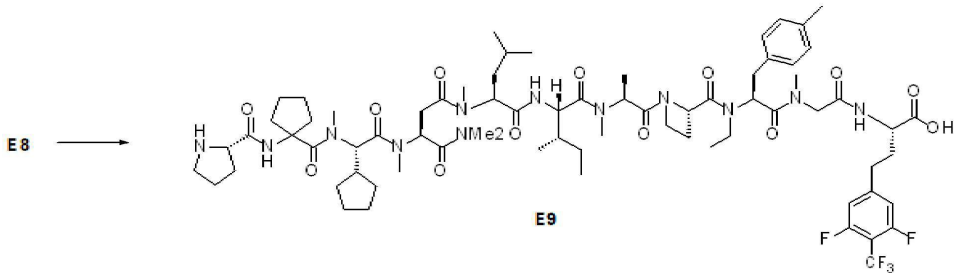
[1905] 실시예 E-7에서 수득한 화합물 E7(0.711 g)을 반응 용기에 첨가하고, 반응 용기를 질소 치환하였다. 다음으로, 2-MeTHF(7.0 mL) 및 HMDS(1.36 mL)를 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 0℃로 설정하고, TMSOTf(0.780 mL)를 첨가하였다. 외부 온도를 실온으로 설정하고, 혼합물을 1.5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 하여 반응 전환율이 98.4%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 그런 다음, 외부 온도를 0℃로 설정하고, 5% 인산수소이칼륨 수용액(0.50 mL), 5% 인산이수소나트륨 수용액(3.0 mL), 포화 NaCl 수용액(2.0 mL)을 순차적으로 첨가하였다. 유기층과 수성층을 분리한 후, 수성층을 2-MeTHF(10 mL x 3)로 추출하였다. 생성된 모든 유기층을 혼합하고 포화 NaCl 수용액(10 mL)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수시키고 여과하여 황산나트륨을 제거한 후, 생성된 여액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하였다. 생성된 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로(용출액 : 디클로로메탄/메탄올 96 : 4 내지 76 : 24) 정제하여 0.899 g의 화합물 E8을 수득하였다.

[1906] 화합물 E8의 LC 체류 시간: 19.054분(HPLC 분석 조건: 방법 3)

[1907] 실시예 E-9

[1908] 화합물 E9: (2S)-2-[[2-[[(2S)-2-[[(2S)-1-[(2S)-2-[[(2S,3S)-2-[[(2S)-2-[[(3S)-3-[[(2S)-2-시클로펜틸-2-[메틸-[1-[[(2S)-피롤리딘-2-카르보닐]아미노]시클로펜탄카르보닐]아미노]아세틸]-메틸-아미노]-4-(디메틸아미노)-4-옥소-부타노일]-메틸-아미노]-4-메틸-펜타노일]아미노]-3-메틸-펜타노일]-메틸-아미노]프로파노일]아제티딘-2-카르보닐]-에틸-아미노]-3-(p-톨릴)프로파노일]-메틸-아미노]아세틸]아미노]-4-[3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)페닐]부탄산의 합성

[1909] [화학식 164]




[1910]

[1911] 실시예 E-8에서 수득한 화합물 E8(0.687 g)를 반응 용기에 첨가하였다. 다음으로, 2-MeTHF(10 mL) 및 5% Pd/C(0.0954 g, 50% 수성 함량)를 실온에서 순차적으로 첨가하였다. 반응 용기의 내부를 수소로 치환하고, 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 샘플링하여 샘플로서 제조하였으며(샘플 제조 방법 1), HPLC 분석을 하여 반응 전환율이 95.2%(반응 전환율의 계산식 1)임을 확인하였다. 반응 용기의 내부를 질소로

치환한 후, 반응 혼합물을 여과지 및 필터를 이용하여 감압하에 여과하였다. 반응 용기와 여과지 및 필터를 2-MeTHF로 세척하고, 용액을 취합하고, 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하였다. 생성된 농축 용액에 에틸 아세테이트(20 mL)를 첨가하고, 혼합물을 물(10 mL x 3) 및 5% NaCl 수용액(10 mL)으로 세척하였다. 생성된 유기층을 황산나트륨으로 탈수시키고 여과하여 황산나트륨을 제거한 후, 생성된 여액을 40℃의 외부 온도에서 감압하에 농축하였다. 생성된 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피로(용출액 : 디클로로메탄/메탄올 96 : 4 내지 66 : 34) 정제하여 0.387 g의 화합물 E9를 수득하였다.

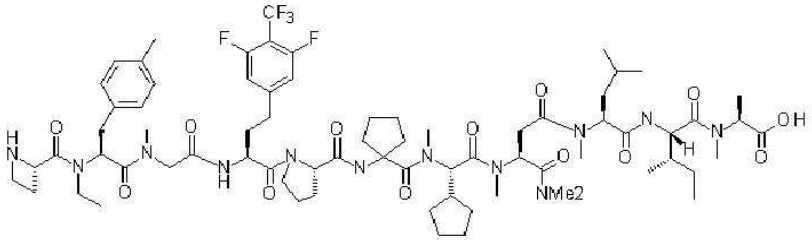
[1912] 화합물 E9의 LC 체류 시간: 13.427분(HPLC 분석 조건: 방법 3)

[1913] 화합물 E9의 LCMS(ESI): 체류 시간: 13.85분, m/z = 1456 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건 3)

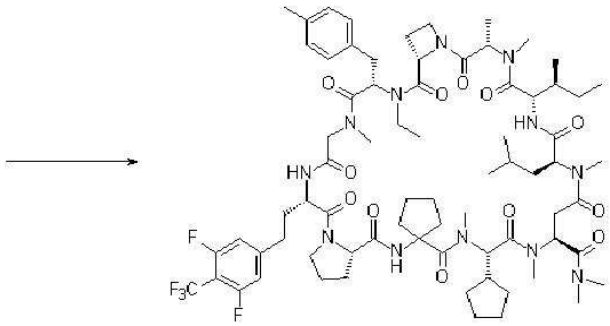
[1914] 화합물 1의 합성: 화합물 A36의 고리화 반응

[1915] 화합물 A36을 출발 물질로서 사용하여 화합물 1에 대한 고리화 반응에서의 축합 시약 및 용매를 조사하였다. 고리화 반응을 HPLC로 모니터링하였다. 수율은 내부 표준 물질로서 메틸 벤조에이트를 사용하여 HPLC 분석으로 면적% 비로부터 계산되었다.

[1916] [화학식 165]



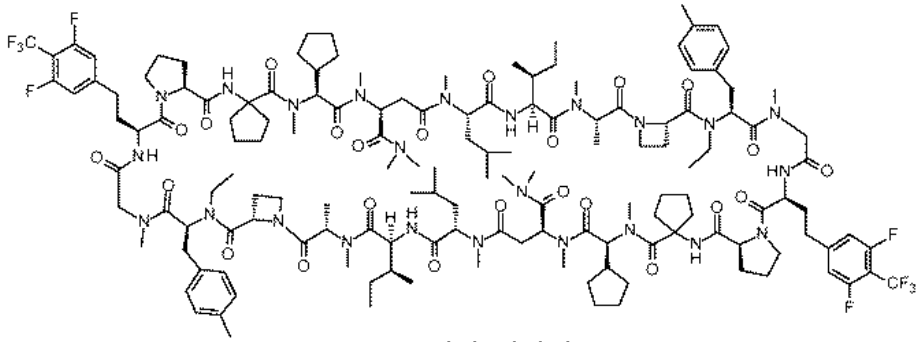
A36



1

[1917]

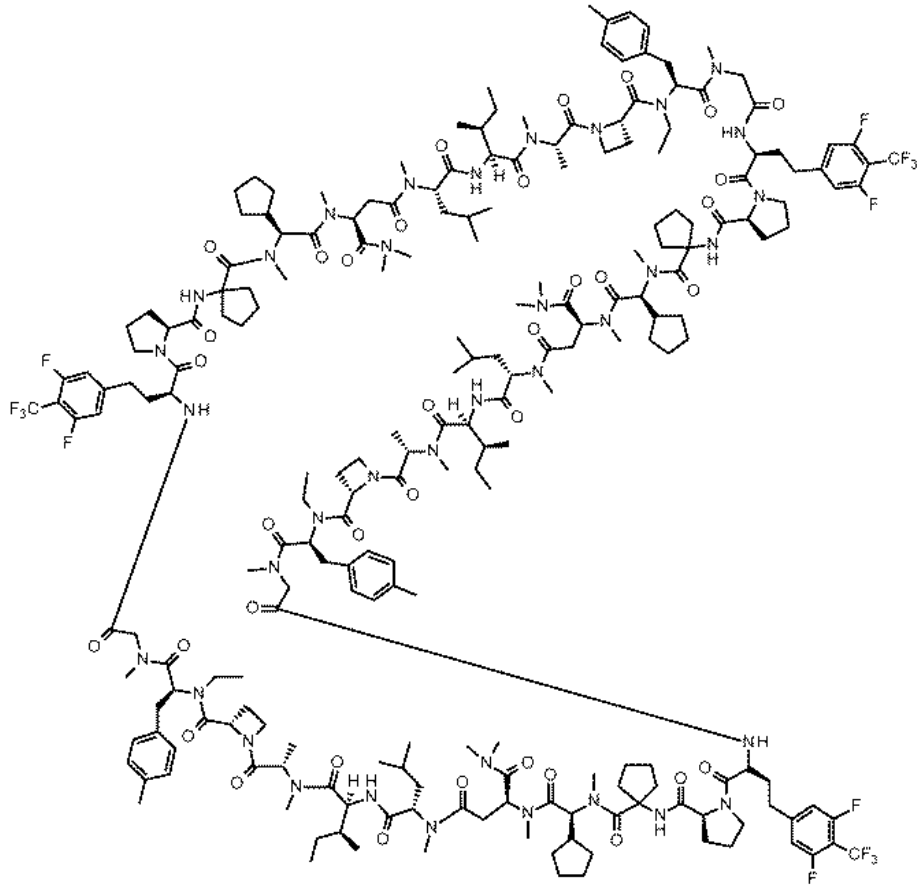
[1918] [화학식 166]



고리형 이량체

[1919]

[1920] [화학식 167]



[1921] 고리형 삼량체

[1922] 실시예 2.1.1

[1923] 화합물 1의 합성: ((5S,8S,11S,15S,18S,23aS,29S,35S,37aS)-8-((S)-sec-부틸)-18-시클로펜틸-29-(3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)펜에틸)-36-에틸-11-이소부틸-N,N,5,6,12,16,19,33-옥타메틸-35-(4-메틸벤질)-4,7,10,13,17,20,23,28,31,34,37-운데카옥소테트라트리아콘타히드로-2H,4H-스피로[아제토[2,1-u]피롤로[2,1-i][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31]운데카아자시클로테트라트리아콘틴-21,1'-시클로펜탄]-15-카르복사미드)
(축합 시약으로서 COMU를 사용하고 용매로서 아세토니트릴을 사용)

[1924] 화합물 A36(12.8 mg(6.84 μmol)) 및 내부 표준 물질(메틸 벤조에이트, 3.87 mg, 26.4 mol)을 반응 용기에 칭량하고 용매(아세토니트릴, 2 mL(200 v/w)에 용해시켰다. DIPEA(5.49 μL(31.5 μmol))를 실온에서 교반하면서 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하고, 축합 시약(COMU, 11.2 mg(26.2 μmol))을 첨가한 후, 혼합물을 30분 동안 교반하였다. 반응 용액(50 μL)을 MeCN/프로필아민(9 : 1)의 혼합 용액(100 μL)으로 희석하여 HPLC 분석용 용액을 제조하였다. 메틸 벤조에이트를 내부 표준 물질로 사용한 HPLC분석의 결과로서, 수율은 84%이었다.

[1925] 화합물 1의 LCMS(ESI): 체류 시간: 18.81분, m/z = 1439 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건: 방법 3)

[1926] 고리형 이량체(c-이량체)의 LCMS(ESI): 체류 시간: 22.86분, m/z = 2898 $[M+Na]^+$ (LCMS 분석조건: 방법 3)

[1927] 고리형 삼량체(c-삼량체)의 LCMS(ESI): 체류 시간: 24.62분, m/z = 2157 $[M+2H]^{2+}$(LCMS 분석 조건: 방법 3)

[1928] 하기의 표에 나타낸 축합 시약 및 용매를 사용하여 화합물 1의 합성 실험과 동일한 방법으로 작업을 실시하였고, 여기서 축합 시약으로서 COMU을 사용하고, 용매로서 아세토니트릴을 사용하였으며, 출발 물질(SM, 화합물 A36)의 소모량, 표적 물질(TM, 화합물 1)의 생성량 및 부산물(고리형 이량체(c-이량체) 및 고리형 삼량체(c-삼량체))의 형성을 측정하여 바람직한 반응 조건을 조사하였다. 상기 표는 출발 물질, 표적 물질, 고리형

이량체, 고리형 삼량체의 면적% 비율(면적% 비율) 및 표적 물질의 수율(수율%)을 정리하였다.

표 6

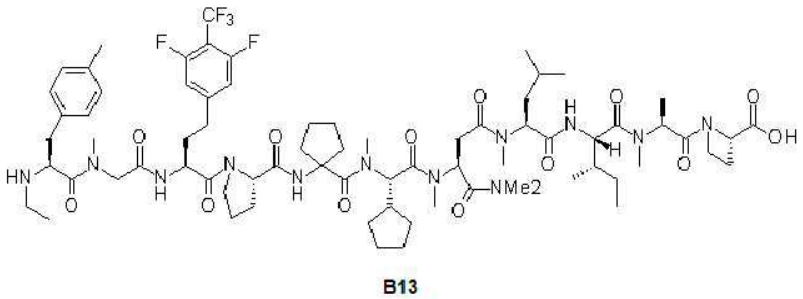
[1929]

| 축합 시약 | 실시예 번호 | 용매 | 점적 방법 | SM, TM, 에피머, c-이량체 및 c-삼량체의 비율(%) | | | | | 수율 (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | SM | TM | 에피머 | c-이량체 | c-삼량체 | |
| COMU | 실시예 2.1.1 | MeCN | 정상 | ND | 94.1 | 1.2 | 4.4 | 0.3 | 84 |
| | 실시예 2.1.2 | 디메틸 카보네이트 | 정상 | ND | 92.8 | 1.8 | 5.1 | 0.3 | 68 |
| HATU | 실시예 2.1.3 | MeCN | 정상 | 0.1 | 92.0 | 1.8 | 5.7 | 0.4 | 57 |
| | 실시예 2.1.4 | 디메틸 카보네이트 | 정상 | ND | 93.9 | 1.5 | 4.3 | 0.4 | 67 |
| DMT-MM | 실시예 2.1.5 | MeCN | 정상 | 0.1 | 90.9 | 1.0 | 7.4 | 0.6 | 74 |
| | 실시예 2.1.6 | 디메틸 카보네이트 | 정상 | 0.1 | 92.1 | 0.6 | 6.7 | 0.6 | 69 |
| PyOxim | 실시예 2.1.7 | MeCN | 정상 | 1.6 | 89.8 | 0.6 | 6.8 | 1.3 | 61 |
| | 실시예 2.1.8 | 디메틸 카보네이트 | 정상 | 0.9 | 94.1 | 1.2 | 3.8 | ND | 62 |
| PyBOP | 실시예 2.1.9 | MeCN | 정상 | ND | 88.4 | 3.9 | 7.0 | 0.8 | 84 |
| PyClop | 실시예 2.1.10 | MeCN | 정상 | 11.7 | 78.9 | 0.8 | 7.6 | 1.0 | 56 |

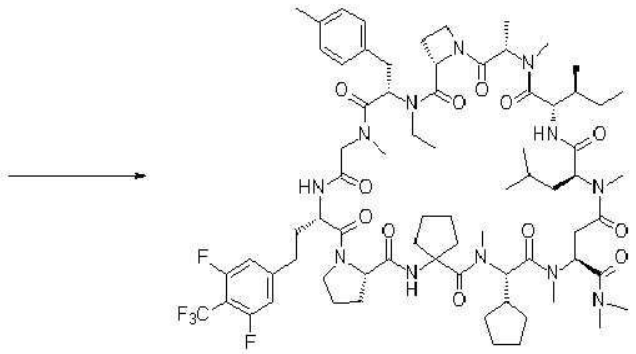
[1930] 실시예 2.2.1

[1931] 화합물 1의 합성: ((5S,8S,11S,15S,18S,23aS,29S,35S,37aS)-8-((S)-sec-부틸)-18-시클로펜틸-29-(3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)펜에틸)-36-에틸-11-이소부틸-N,N,5,6,12,16,19,33-옥타메틸-35-(4-메틸벤질)-4,7,10,13,17,20,23,28,31,34,37-운데카옥소테트라트리아콘타히드로-2H,4H-스피로[아제토[2,1-u]피롤로[2,1-i][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31]운데카아자시클로테트라트리아콘틴-21,1'-시클로펜탄]-15-카르복사미드)
(축합 시약으로서 COMU를 사용하고 용매로서 아세토니트릴을 사용)

[1932] [화학식 168]




B13




1

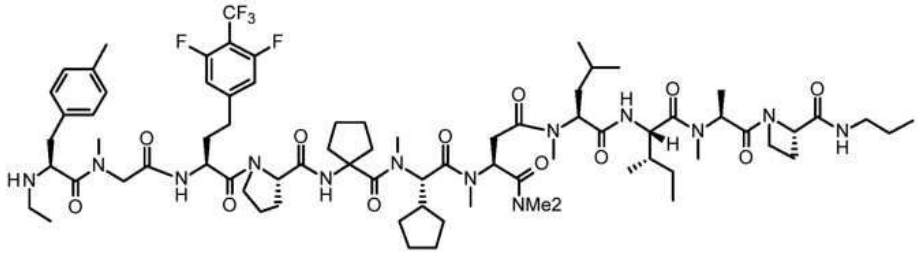
[1933]

[1934] 화합물 B13(11.66 mg, 함량 88.5%) 및 내부 표준 물질(메틸 벤조에이트, 3.11 mg)을 반응 용기에 칭량하고 아세토니트릴(2 mL)에 용해시켰다. DIPEA(5.69 μL)를 실온에서 교반하면서 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를

25℃로 설정하고, COMU(11.61 mg)를 첨가한 후, 혼합물을 2시간 동안 교반하였다. 반응 용액의 총량을 MeCN/프로필아민(9 : 1)의 혼합 용액(10 mL)으로 희석하여 HPLC 분석용 용액을 제조하였다. 메틸 벤조에이트를 내부 표준 물질로 사용한 HPLC분석의 결과로서, 수율은 86%이었다(HPLC 분석 조건: 방법 3).

[1935] 화합물 B13의 프로필아미드 유도체의 LCMS(ESI): 체류 시간: 13.74분, m/z = 1498 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건: 방법 3)

[1936] [화학식 169]




화합물 B13의 프로필아미드 유도체

[1937]

[1938] 유사-고-희석의 고리화 반응을 실시예 2.2.1의 반응 조건하에서 실시하였다. 축합 시약의 용액에, 출발 물질과 염기의 용액을 장시간 동안 적가하였다.

[1939] 실시예 2.2.2

[1940] 화합물 1의 합성: ((5S,8S,11S,15S,18S,23aS,29S,35S,37aS)-8-((S)-sec-부틸)-18-시클로펜틸-29-(3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)펜에틸)-36-에틸-11-이소부틸-N,N,5,6,12,16,19,33-옥타메틸-35-(4-메틸벤질)-4,7,10,13,17,20,23,28,31,34,37-운데카옥소테트라트리아콘타히드로-2H,4H-스피로[아제토[2,1-u]피롤로[2,1-i][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31]운데카아자시클로테트라트리아콘틴-21,1'-시클로펜탄]-15-카르복사미드)
(축합 시약으로서 COMU를 사용하고 용매로서 아세토니트릴을 사용, 역 적가)

[1941] 화합물 B13(11.71 mg, 함량 88.5%) 및 내부 표준 물질(메틸 벤조에이트, 3.04 mg)을 반응 용기에 칭량하고 아세토니트릴(1 mL)에 용해시켰다. DIPEA(5.69 μL)를 실온에서 교반하면서 첨가하여 화합물 B13을 함유하는 용액을 수득하였다. 질소 치환 후 다른 반응 용기에 COMU(11.64 mg) 및 아세토니트릴(1 mL)을 첨가하였다. COMU 용액을 함유하는 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하고, 화합물 B13을 함유하는 용액을 3시간에 걸쳐 반응 혼합물에 적가하였다. 아세토니트릴(0.05 mL)로 세척을 실시한 후, 헹굼 용액을 첨가하고, 혼합물을 2시간 동안 교반하였다. 반응 용액의 총량을 MeCN/프로필아민(9 : 1)의 혼합 용액(10 mL)으로 희석하여 HPLC 분석용 용액을 제조하였다. 메틸 벤조에이트를 내부 표준 물질로 사용한 HPLC분석의 결과로서, 수율은 83%이었다(HPLC 분석 조건: 방법 3).

[1942] 화합물 B13의 고리화 반응(실시예 2.2.1에서의 반응 조건 조사)

[1943] 다양한 축합 시약 및 용매를 사용하여 화합물 1을 합성한 결과를 표 7에 나타낸다. 실험 작업은 COMU를 축합 시약으로서 사용하고, 아세토니트릴을 용매로서 사용한 경우에 따른 것이다(실시예 2.2.1). 표의 점적 방법에 관하여, 출발물질, 염기 및 용매의 용액에 축합 시약을 첨가하는 방법은 "정상"이고, 출발물질 및 염기의 용액을 축합 시약의 용액에 장시간 점적하는 방법은 "역"이다. 표에서 SM은 화합물 B13을 나타내고, SM-NHPr은 화합물 B13의 프로필아미드 유도체를 나타낸다. 표에서 TM은 표적 물질(화합물 1)이고 에피머는 화합물 1의 에피머이다. c-이량체 및 c-삼량체는 각각 부산물인 고리형 이량체 및 고리형 삼량체이다. 이들의 생성량은 HPLC 측정에 의한 면적% 비율로 나타내었다(HPLC 분석 조건: 방법 3). 수율은 내부 표준 물질로서 메틸 벤조에이트를 사용하여 HPLC 분석으로 계산되었다.

표 7

[1944]

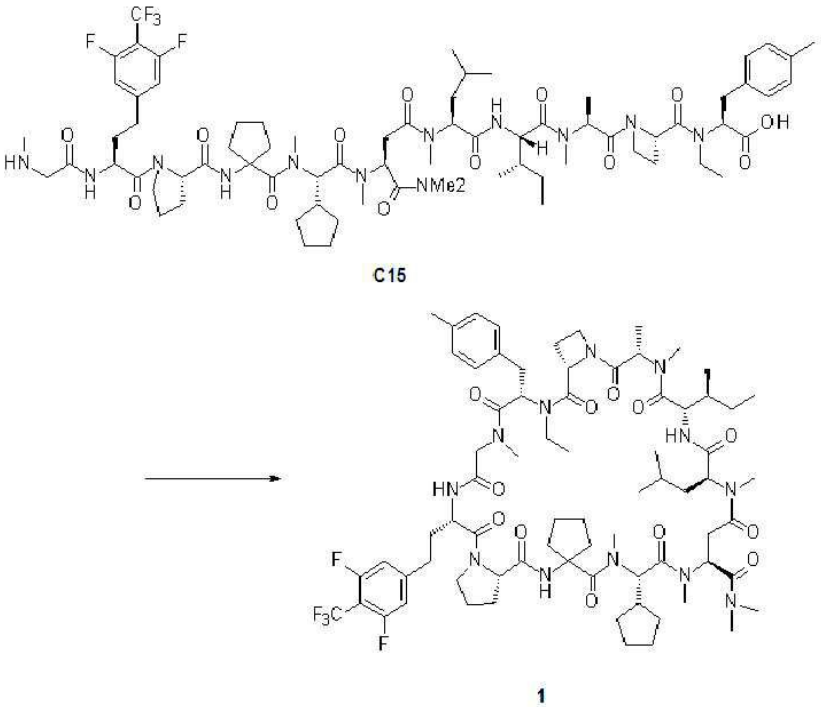
| 용매 | 실시예 번호 | 축합 시약 | 점적 방법 | SM, SM-NHPr, TM, 에피머, c-이량체 및 c-삼량체의 비율(%) | | | | | | 수율(%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | SM | SM-NHPr | TM | 에피머 | c-이량체 | c-삼량체 | |

| | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| MeCN | 실시예 2.2.1 | COMU | 정상 | 0.01 | 0.08 | 97.9 | 0.5 | 1.5 | ND | 86 |
| | 실시예 2.2.2 | COMU | 역 | 0.06 | 0.07 | 99.2 | 0.6 | 0.2 | ND | 83 |
| | 실시예 2.2.3 | HATU | 정상 | 0.5 | 1.1 | 94.8 | 0.8 | 2.8 | ND | 94 |
| | 실시예 2.2.4 | PyBOP | 정상 | 0.2 | 81.2 | 18.4 | 0.1 | 0.1 | ND | 15 |
| | 실시예 2.2.5 | PyOxime | 정상 | 39.7 | 0.6 | 58.5 | 0.3 | 0.9 | ND | 44 |
| | 실시예 2.2.6 | PyClop | 정상 | 0.2 | 47.4 | 51.9 | ND | 0.5 | ND | 49 |
| | 실시예 2.2.7 | DMT-MM | 정상 | 1.4 | 0.1 | 96.6 | 0.7 | 1.1 | ND | 62 |
| | 실시예 2.2.8 | DEPBT | 정상 | 27.9 | 19.5 | 51.3 | 0.3 | 1.0 | ND | 47 |
| | 실시예 2.2.9 | FDPP | 정상 | 4.2 | 45.0 | 50.6 | 0.1 | 0.03 | ND | 47 |
| | 실시예 2.2.10 | T3P | 정상 | 6.8 | 22.1 | 70.1 | 0.6 | 0.4 | ND | 63 |
| | 실시예 2.2.11 | BEP-BF4 | 정상 | 45.9 | 0.3 | 52.9 | ND | 0.9 | ND | 48 |
| 디메틸 카보네이트 | 실시예 2.2.12 | HATU | 정상 | 6.9 | 0.6 | 90.7 | 0.7 | 1.1 | ND | 96 |
| | 실시예 2.2.13 | COMU | 정상 | ND | 0.7 | 96.3 | 0.8 | 2.3 | ND | 85 |
| 2-MeTHF | 실시예 2.2.14 | HATU | 정상 | 21.0 | 7.9 | 70.0 | 0.3 | 0.7 | ND | 52 |

[1945] 실시예 2.3.1

[1946] 화합물 1의 합성: ((5S,8S,11S,15S,18S,23aS,29S,35S,37aS)-8-((S)-sec-부틸)-18-시클로펜틸-29-(3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)펜에틸)-36-에틸-11-이소부틸-N,N,5,6,12,16,19,33-옥타메틸-35-(4-메틸벤질)-4,7,10,13,17,20,23,28,31,34,37-운데카옥소테트라트리아콘타히드로-2H,4H-스피로[아제토[2,1-u]피롤로[2,1-i][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31]운데카아자시클로테트라트리아콘틴-21,1'-시클로펜탄]-15-카르복사미드)
(축합 시약으로서 HATU를 사용하고 용매로서 디메틸 카보네이트를 사용)

[1947] [화학식 170]



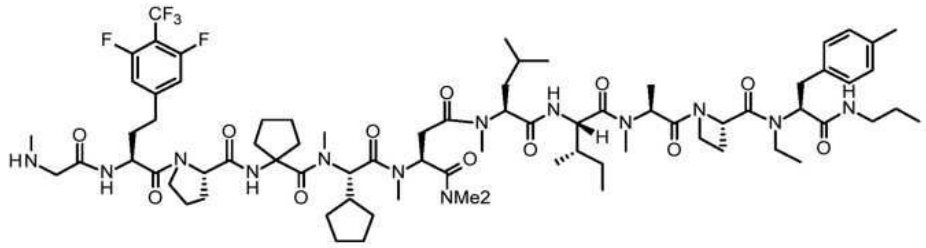

C15 1

[1948]

[1949] 화합물 C15(11.22 mg, 함량 88.1%) 및 내부 표준 물질(메틸 벤조에이트, 3.03 mg)을 반응 용기에 칭량하고 디메틸 카보네이트(2 mL)에 용해시켰다. DIPEA(5.69 μL)를 실온에서 교반하면서 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하고, HATU(10.82 mg)를 첨가한 후, 혼합물을 2시간 동안 교반하였다. 반응 용액의 총량을 MeCN/프로필아민(9 : 1)의 혼합 용액(10 mL)으로 희석하여 HPLC 분석용 용액을 제조하였다. 메틸 벤조에이트를 내부 표준 물질로 사용한 HPLC분석의 결과로서, 수율은 84%이었다(HPLC 분석 조건: 방법 3).

[1950] 화합물 C15의 프로필아미드 유도체의 LCMS(ESI): 체류 시간: 15.04분, m/z = 1498 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건: 방법 3)

[1951] [화학식 171]



화합물 C15의 프로필아미드 유도체

[1952]

[1953] 유사-고-희석의 고리화 반응을 실시예 2.3.1의 반응 조건하에서 실시하였다. 축합 시약의 용액에, 출발 물질과 염기의 용액을 장시간 동안 적가하였다.

[1954] 실시예 2.3.2

[1955] 화합물 1의 합성: ((5S,8S,11S,15S,18S,23aS,29S,35S,37aS)-8-((S)-sec-부틸)-18-시클로펜틸-29-(3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)펜에틸)-36-에틸-11-이소부틸-N,N,5,6,12,16,19,33-옥타메틸-35-(4-메틸벤질)-4,7,10,13,17,20,23,28,31,34,37-운데카옥소테트라트리아콘타히드로-2H,4H-스피로[아제토[2,1-u]피롤로[2,1-i][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31]운데카아자시클로테트라트리아콘틴-21,1'-시클로펜탄]-15-카르복사미드)
(축합 시약으로서 HATU를 사용하고 용매로서 디메틸 카보네이트를 사용, 역 적가)

[1956] 화합물 C15(11.52 mg, 함량 88.1%) 및 내부 표준 물질(메틸 벤조에이트, 3.04 mg)을 반응 용기에 칭량하고 디메틸 카보네이트(1 mL)에 용해시켰다. DIPEA(5.69 μL)를 실온에서 교반하면서 첨가하여 화합물 C15를 함유하는 용액을 수득하였다. 질소 치환 후 다른 반응 용기에 HATU(10.52 mg) 및 디메틸 카보네이트(1 mL)를 첨가하였다. HATU 용액을 함유하는 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하고, 화합물 C15를 함유하는 용액을 3시간에 걸쳐 반응 혼합물에 적가하였다. 디메틸 카보네이트(0.05 mL)로 세척을 실시한 후, 헹굼 용액을 첨가하고, 혼합물을 2시간 동안 교반하였다. 반응 용액의 총량을 MeCN/프로필아민(9 : 1)의 혼합 용액(10 mL)으로 희석하여 HPLC 분석용 용액을 제조하였다. 메틸 벤조에이트를 내부 표준 물질로 사용한 HPLC분석의 결과로서, 수율은 82%이었다(HPLC 분석 조건: 방법 3).

[1957] 화합물 C15의 고리화 반응(실시예 2.3.1에서의 반응 조건 조사)

[1958] 다양한 축합 시약 및 용매를 사용하여 화합물 1을 합성한 결과를 표 8에 나타낸다. 실험 작업은 HATU를 축합 시약으로서 사용하고, 디메틸 카보네이트를 용매로서 사용한 경우에 따른 것이다(실시예 2.3.1). 표의 점적 방법에 관하여, 출발물질, 염기 및 용매의 용액에 축합 시약을 첨가하는 방법은 "정상"이고, 출발물질 및 염기의 용액을 축합 시약의 용액에 장시간 점적하는 방법은 "역"이다. 표에서 SM은 화합물 C15를 나타내고, SM-NHPr은 화합물 C15의 프로필아미드 유도체를 나타낸다. 표에서 TM은 표적 물질(화합물 1)이고 에피머는 화합물 1의 에피머이다. c-이량체 및 c-삼량체는 각각 부산물인 고리형 이량체 및 고리형 삼량체이다. 이들의 생성량은 HPLC 측정에 의한 면적% 비율로 나타내었다(HPLC 분석 조건: 방법 3). 수율은 내부 표준 물질로서 메틸 벤조에이트를 사용하여 HPLC 분석으로 계산되었다.

표 8

[1959]

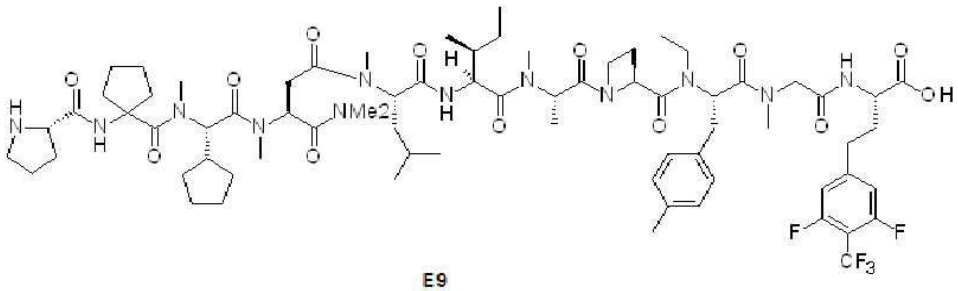
| 용매 | 실시예 번호 | 축합 시약 | 점적 방법 | SM, SM-NHPr, TM, 에피머, c-이량체 및 c-삼량체의 비율(%) | | | | | | 수율(%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | SM | SM-NHPr | TM | 에피머 | c-이량체 | c-삼량체 | |
| 디메틸 카보네이트 | 실시예 2.3.1 | HATU | 정상 | 0.5 | 0.1 | 95.5 | 2.3 | 1.3 | 0.3 | 84 |
| | 실시예 2.3.2 | HATU | 역 | 0.2 | ND | 96.9 | 2.7 | 0.3 | 0.01 | 82 |
| | 실시예 2.3.3 | COMU | 정상 | 0.1 | 0.3 | 92.6 | 3.3 | 3.2 | 0.6 | 86 |

| | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| MeCN | 실시예 2.3.4 | HATU | 정상 | 0.2 | 0.5 | 87.9 | 3.9 | 6.7 | 0.7 | 74 |
| | 실시예 2.3.5 | COMU | 정상 | ND | ND | 88.5 | 7.2 | 4.0 | 0.3 | 72 |
| | 실시예 2.3.6 | PyBOP | 정상 | 2.8 | 1.0 | 78.8 | 11.1 | 5.9 | 0.5 | 55 |
| | 실시예 2.3.7 | PyOxime | 정상 | 1.1 | ND | 84.5 | 8.0 | 5.8 | 0.7 | 54 |
| | 실시예 2.3.8 | PyClop | 정상 | 0.1 | 4.2 | 61.0 | 9.9 | 18.3 | 6.5 | 66 |
| | 실시예 2.3.9 | DMT-MM | 정상 | 0.5 | 0.8 | 86.1 | 10.8 | 1.3 | 0.5 | 63 |
| | 실시예 2.3.10 | DEPBT | 정상 | 4.0 | 0.1 | 71.8 | 21.1 | 2.8 | 0.2 | 59 |

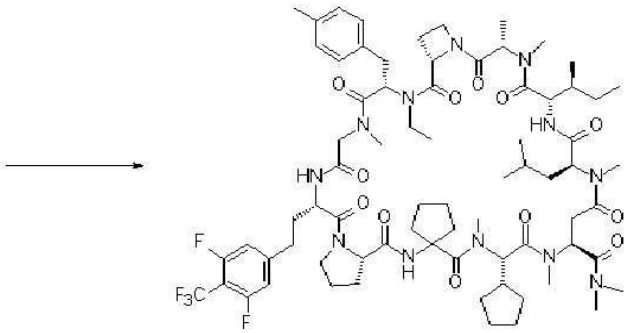
[1960] 실시예 2.4.1

[1961] 화합물 1의 합성: ((5S,8S,11S,15S,18S,23aS,29S,35S,37aS)-8-((S)-sec-부틸)-18-시클로펜틸-29-(3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)펜에틸)-36-에틸-11-이소부틸-N,N,5,6,12,16,19,33-옥타메틸-35-(4-메틸벤질)-4,7,10,13,17,20,23,28,31,34,37-운데카옥소테트라트리아콘타히드로-2H,4H-스피로[아제토[2,1-u]피롤로[2,1-i][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31]운데카아자시클로테트라트리아콘틴-21,1'-시클로펜탄]-15-카르복사미드) (축합 시약으로서 COMU를 사용하고 용매로서 디메틸 카보네이트를 사용)

[1962] [화학식 172]



E9



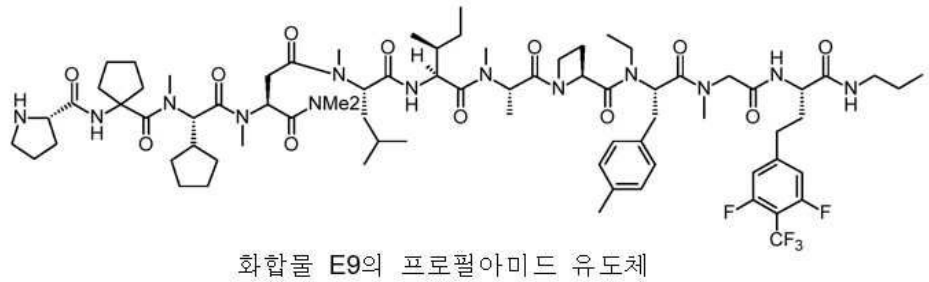
1

[1963]

[1964] 화합물 E9(11.77 mg, 함량 86.0%) 및 내부 표준 물질(메틸 벤조에이트, 4.82 mg)을 반응 용기에 칭량하고 디메틸 카보네이트(2 mL)에 용해시켰다. DIPEA(5.60 μL)를 실온에서 교반하면서 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하고, COMU(11.96 mg)를 첨가한 후, 혼합물을 2시간 동안 교반하였다. 반응 용액의 총량을 MeCN/프로필아민(9 : 1)의 혼합 용액(10 mL)으로 희석하여 HPLC 분석용 용액을 제조하였다. 메틸 벤조에이트를 내부 표준 물질로 사용한 HPLC분석의 결과로서, 수율은 82%이었다(HPLC 분석 조건: 방법 3).

[1965] 화합물 E9의 프로필아미드 유도체의 LCMS(ESI): 체류 시간: 14.63분, m/z = 1498 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건: 방법 3)

[1966] [화학식 173]



화합물 E9의 프로필아미드 유도체

[1967]

[1968] 유사-고-희석의 고리화 반응을 실시예 2.4.1의 반응 조건하에서 실시하였다. 축합 시약의 용액에, 출발 물질과 염기의 용액을 장시간 동안 적가하였다.

[1969] 실시예 2.4.2

[1970] 화합물 1의 합성: ((5S,8S,11S,15S,18S,23aS,29S,35S,37aS)-8-((S)-sec-부틸)-18-시클로펜틸-29-(3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)펜에틸)-36-에틸-11-이소부틸-N,N,5,6,12,16,19,33-옥타메틸-35-(4-메틸벤질)-4,7,10,13,17,20,23,28,31,34,37-운데카옥소테트라트리아콘타히드로-2H,4H-스피로[아제토[2,1-u]피롤로[2,1-i][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31]운데카아자시클로테트라트리아콘틴-21,1'-시클로펜탄]-15-카르복사미드)
(축합 시약으로서 COMU를 사용하고 용매로서 디메틸 카보네이트를 사용, 역 적가)

[1971] 화합물 E9(12.34 mg, 함량 86.0%) 및 내부 표준 물질(메틸 벤조에이트, 4.89 mg)을 반응 용기에 칭량하고 디메틸 카보네이트(1 mL)에 용해시켰다. DIPEA(5.84 μL)를 실온에서 교반하면서 첨가하여 화합물 E9를 함유하는 용액을 수득하였다. 질소 치환 후 다른 반응 용기에 COMU(13.77 mg) 및 디메틸 카보네이트(1 mL)를 첨가하였다. COMU 용액을 함유하는 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하고, 화합물 E9를 함유하는 용액을 3시간에 걸쳐 반응 혼합물에 적가하였다. 디메틸 카보네이트(0.05 mL)로 세척을 실시한 후, 헹굼 용액을 첨가하고, 혼합물을 2시간 동안 교반하였다. 반응 용액의 총량을 MeCN/프로필아민(9 : 1)의 혼합 용액(10 mL)으로 희석하여 HPLC 분석용 용액을 제조하였다. 메틸 벤조에이트를 내부 표준 물질로 사용한 HPLC분석의 결과로서, 수율은 88%이었다(HPLC 분석 조건: 방법 3).

[1972] 화합물 E9의 고리화 반응(실시예 2.4.1에서의 반응 조건 조사)

[1973] 다양한 축합 시약 및 용매를 사용하여 화합물 1을 합성한 결과를 표 9에 나타낸다. 실험 작업은 COMU를 축합 시약으로서 사용하고, 디메틸 카보네이트를 용매로서 사용한 경우에 따른 것이다(실시예 2.4.1). 표의 점적 방법에 관하여, 출발물질, 염기 및 용매의 용액에 축합 시약을 첨가하는 방법은 "정상"이고, 출발물질 및 염기의 용액을 축합 시약의 용액에 장시간 점적하는 방법은 "역"이다. 표에서 SM은 화합물 E9를 나타내고, SM-NHPr은 화합물 E9의 프로필아미드 유도체를 나타낸다. 표에서 TM은 표적 물질(화합물 1)이고 에피머는 화합물 1의 에피머이다. c-이량체 및 c-삼량체는 각각 부산물인 고리형 이량체 및 고리형 삼량체이다. 이들의 생성량은 HPLC 측정에 의한 면적% 비율로 나타내었다(HPLC 분석 조건: 방법 3). 수율은 내부 표준 물질로서 메틸 벤조에이트를 사용하여 HPLC 분석으로 계산되었다.

표 9

[1974]

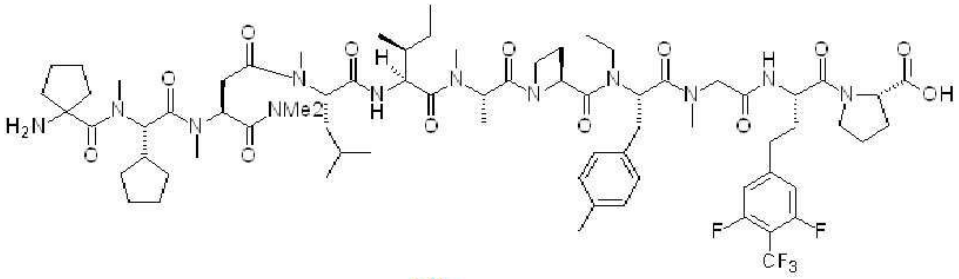
| 용매 | 실시예 번호 | 축합 시약 | 점적 방법 | SM, SM-NHPr, TM, 에피머, c-이량체 및 c-삼량체의 비율(%) | | | | | | 수율 (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | SM | SM-NHPr | TM | 에피머 | c-이량체 | c-삼량체 | |
| 디메틸 카보네이트 | 실시예 2.4.1 | COMU | 정상 | 0.14 | ND | 95.02 | 0.19 | 3.98 | 0.66 | 82 |
| | 실시예 2.4.2 | COMU | 역 | 0.2 | ND | 98.14 | 0.51 | 1.15 | ND | 88 |
| MeCN | 실시예 2.4.3 | HATU | 정상 | 0.16 | 0.15 | 73.18 | 1.11 | 20.5 | 4.91 | 54 |
| | 실시예 2.4.4 | COMU | 정상 | ND | ND | 91.93 | 0.24 | 6.89 | 0.94 | 72 |
| | 실시예 2.4.5 | PyBOP | 정상 | ND | 3.17 | 49.7 | 33.68 | 11.92 | 1.53 | 30 |
| | 실시예 2.4.6 | PyOxim | 정상 | ND | 0.21 | 87.58 | 0.22 | 10.13 | 1.85 | 66 |
| | 실시예 2.4.7 | PyClop | 정상 | ND | 30.7 | 49.3 | 7.68 | 10.77 | 1.55 | 25 |
| | 실시예 2.4.8 | DMT-MM | 정상 | ND | ND | 79.11 | 0.23 | 16.71 | 3.94 | 58 |
| 2-MeTHF | 실시예 2.4.9 | COMU | 정상 | 0.31 | ND | 89.38 | 5.99 | 3.59 | 0.73 | 82 |

| | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 아니솔 | 실시예 2.4.10 | COMU | 정상 | 1.79 | ND | 86.88 | 0.35 | 9.46 | 1.52 | 64 |

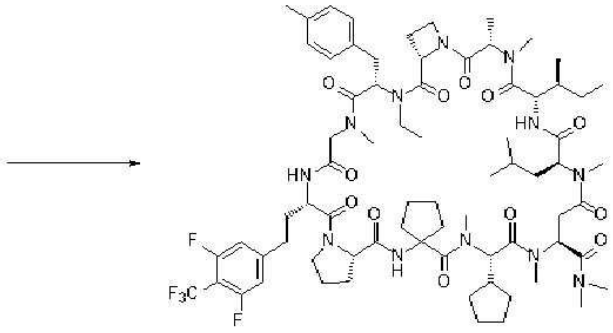
[1975] 실시예 2.5.1

[1976] 화합물 1의 합성: ((5S,8S,11S,15S,18S,23aS,29S,35S,37aS)-8-((S)-sec-부틸)-18-시클로펜틸-29-(3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)펜에틸)-36-에틸-11-이소부틸-N,N,5,6,12,16,19,33-옥타메틸-35-(4-메틸벤질)-4,7,10,13,17,20,23,28,31,34,37-운데카옥소테트라트리아콘타히드로-2H,4H-스피로[아제토[2,1-u]피롤로[2,1-i][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31]운데카아자시클로테트라트리아콘틴-21,1'-시클로펜탄]-15-카르복사미드)
(축합 시약으로서 COMU를 사용하고 용매로서 디메틸 카보네이트를 사용)

[1977] [화학식 174]



D13



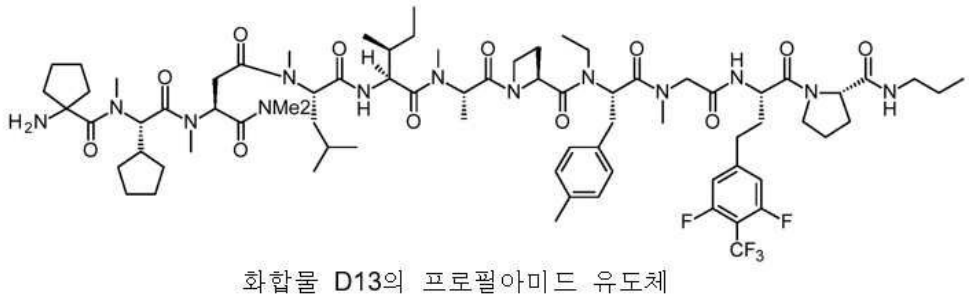
1

[1978]

[1979] 화합물 D13(10.90 mg, 함량 95.15%) 및 내부 표준 물질(메틸 벤조에이트, 4.74 mg)을 반응 용기에 칭량하고 디메틸 카보네이트(2 mL)에 용해시켰다. DIPEA(5.70 μL)를 실온에서 교반하면서 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하고, COMU(12.45 mg)를 첨가한 후, 혼합물을 2시간 동안 교반하였다. 반응 용액의 총량을 MeCN/프로필아민(9 : 1)의 혼합 용액(10 mL)으로 희석하여 HPLC 분석용 용액을 제조하였다. 메틸 벤조에이트를 내부 표준 물질로 사용한 HPLC분석의 결과로서, 수율은 71%이었다(HPLC 분석 조건: 방법 3).

[1980] 화합물 D13의 프로필아미드 유도체의 LCMS(ESI): 체류 시간: 13.26분, m/z = 1498 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건: 방법 3)

[1981] [화학식 175]



화합물 D13의 프로필아미드 유도체

[1982]

[1983] 유사-고-희석의 고리화 반응을 실시예 2.5.1의 반응 조건하에서 실시하였다.

[1984] 축합 시약의 용액에, 출발 물질과 염기의 용액을 장시간 동안 적가하였다.

[1985] 실시예 2.5.2

[1986] 화합물 1의 합성: ((5S,8S,11S,15S,18S,23aS,29S,35S,37aS)-8-((S)-sec-부틸)-18-시클로펜틸-29-(3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)펜에틸)-36-에틸-11-이소부틸-N,N,5,6,12,16,19,33-옥타메틸-35-(4-메틸벤질)-4,7,10,13,17,20,23,28,31,34,37-운데카옥소테트라트리아콘타히드로-2H,4H-스피로[아제토[2,1-u]피롤로[2,1-i][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31]운데카아자시클로테트라트리아콘틴-21,1'-시클로펜탄]-15-카르복사미드) (축합 시약으로서 COMU를 사용하고 용매로서 디메틸 카보네이트를 사용, 역 적가)

[1987] 화합물 D13(13.62 mg, 함량 95.15%) 및 내부 표준 물질(메틸 벤조에이트, 4.44 mg)을 반응 용기에 칭량하고 디메틸 카보네이트(1.3 mL)에 용해시켰다. DIPEA(7.13 μL)를 실온에서 교반하면서 첨가하여 화합물 D13을 함유하는 용액을 수득하였다. 질소 치환 후 다른 반응 용기에 COMU(16.30 mg) 및 디메틸 카보네이트(1.3 mL)를 첨가하였다. COMU 용액을 함유하는 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하고, 화합물 D13을 함유하는 용액을 3시간에 걸쳐 반응 혼합물에 적가하였다. 디메틸 카보네이트(0.05 mL)로 세척을 실시한 후, 헹굼 용액을 첨가하고, 혼합물을 2시간 동안 교반하였다. 반응 용액의 총량을 MeCN/프로필아민(9 : 1)의 혼합 용액(10 mL)으로 희석하여 HPLC 분석용 용액을 제조하였다. 메틸 벤조에이트를 내부 표준 물질로 사용한 HPLC분석의 결과로서, 수율은 83%이었다(HPLC 분석 조건: 방법 3).

[1988] 화합물 D13의 고리화 반응(실시예 2.5.1에서의 반응 조건 조사)

[1989] 다양한 축합 시약 및 용매를 사용하여 화합물 1을 합성한 결과를 표 10에 나타낸다. 실험 작업은 COMU를 축합 시약으로서 사용하고, 디메틸 카보네이트를 용매로서 사용한 경우에 따른 것이다(실시예 2.5.1). 표의 점적 방법에 관하여, 출발물질, 염기 및 용매의 용액에 축합 시약을 첨가하는 방법은 "정상"이고, 출발물질 및 염기의 용액을 축합 시약의 용액에 장시간 점적하는 방법은 "역"이다. 표에서 SM은 화합물 D13을 나타내고, SM-NHPr은 화합물 D13의 프로필아미드 유도체를 나타낸다. 표에서 TM은 표적 물질(화합물 1)이고 에피머는 화합물 1의 에피머이다. c-이량체 및 c-삼량체는 각각 부산물인 고리형 이량체 및 고리형 삼량체이다. 이들의 생성량은 HPLC 측정에 의한 면적% 비율로 나타내었다(HPLC 분석 조건: 방법 3). 수율은 내부 표준 물질로서 메틸 벤조에이트를 사용하여 HPLC 분석으로 계산되었다.

*표 10*

[1990]

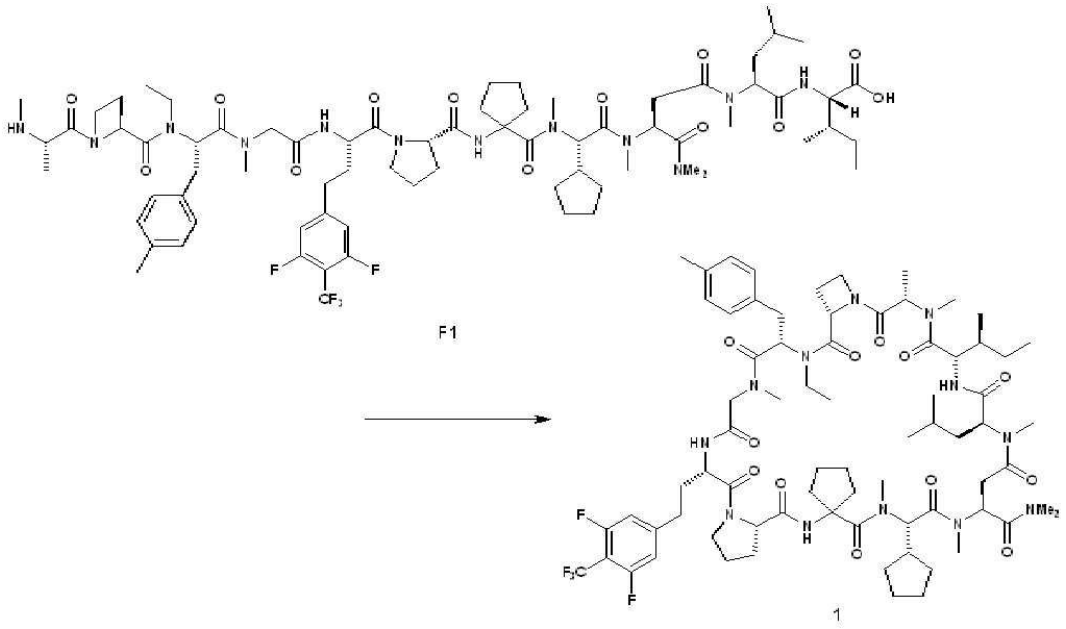
| 용매 | 실시예 번호 | 축합 시약 | 점적 방법 | SM, SM-NHPr, Epimer, TM, c-이량체 및 c-삼량체의 비율(%) | | | | | | 수율 (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | SM | SM-NHPr | 에피머 | TM | c-이량체 | c-삼량체 | |
| 디메틸 카보네이트 | 실시예 2.5.1 | COMU | 정상 | 0.31 | 0.18 | 0.03 | 82.91 | 13.33 | 3.24 | 71 |
| | 실시예 2.5.2 | COMU | 역 | 0.67 | 0.37 | 0.07 | 96.73 | 2.06 | 0.09 | 83 |
| MeCN | 실시예 2.5.3 | HATU | 정상 | 0.26 | 0.25 | 0.03 | 77.15 | 18.57 | 3.73 | 58 |
| | 실시예 2.5.4 | COMU | 정상 | 0.60 | 0.28 | 0.03 | 84.52 | 12.49 | 2.08 | 71 |
| | 실시예 2.5.5 | PyBOP | 정상 | ND | 1.63 | 1.74 | 75.55 | 17.35 | 3.74 | 57 |
| | 실시예 2.5.6 | PyOxim | 정상 | 0.19 | 0.52 | 0.38 | 81.50 | 14.37 | 3.04 | 68 |
| | 실시예 2.5.7 | PyClop | 정상 | ND | 0.87 | 0.75 | 66.63 | 23.03 | 8.69 | 30 |
| | 실시예 2.5.8 | DMT-MM | 정상 | 0.25 | 4.90 | 0.15 | 84.06 | 9.30 | 1.33 | 66 |
| 2-MeTHF | 실시예 2.5.9 | COMU | 정상 | 0.25 | 0.47 | 0.02 | 78.28 | 16.91 | 4.06 | 64 |
| 아니솔 | 실시예 2.5.10 | COMU | 정상 | 0.38 | 0.11 | 0.08 | 82.62 | 12.01 | 2.64 | 70 |

[1991] 실시예 3(고리화된 위치들의 비교)

[1992] 비교 실시예 3.1

[1993] 화합물 1의 합성: ((5S,8S,11S,15S,18S,23aS,29S,35S,37aS)-8-((S)-sec-부틸)-18-시클로펜틸-29-(3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)펜에틸)-36-에틸-11-이소부틸-N,N,5,6,12,16,19,33-옥타메틸-35-(4-메틸벤질)-4,7,10,13,17,20,23,28,31,34,37-운데카옥소테트라트리아콘타히드로-2H,4H-스피로[아제토[2,1-u]피롤로[2,1-i][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31]운데카아자시클로테트라트리아콘틴-21,1'-시클로펜탄]-15-카르복사미드) (화합물 F1의 고리화 반응)

[1994] [화학식 176]

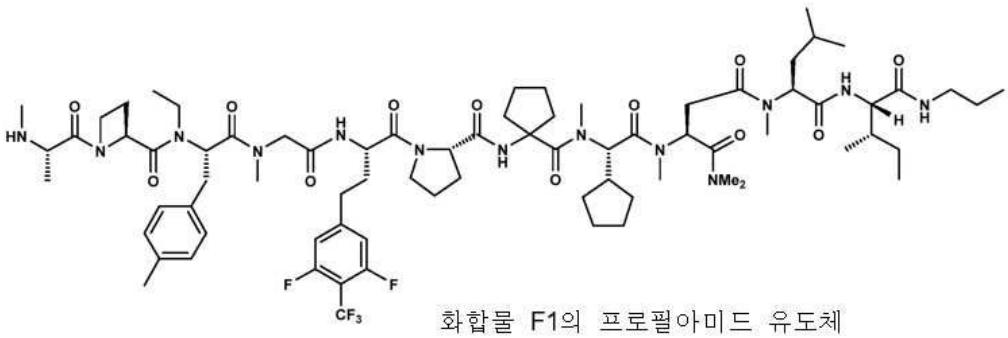



[1995]

[1996] 화합물 F1(15.03 mg, 함량 92.83%)을 반응 용기에 칭량하고 MeCN(3.0 mL)에 용해시켰다. DIPEA(8.28 μL)를 실온에서 교반하면서 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하고, HATU(15.01 mg)를 첨가한 후, 혼합물을 8시간 동안 교반하였다. 반응 용액(30 μL)을 MeCN/프로필아민(9 : 1)의 혼합 용액(60 μL)으로 희석하여 HPLC 분석용 용액을 제조하였다. HPLC 분석의 결과는 하기의 표 11에 나타내었다. 상기 표에서 SM은 출발물질(화합물 F1), TM은 표적 물질(화합물 1), 에피머는 화합물 1의 에피머, c-이량체는 고리형 이량체, 그리고 c-삼량체는 고리형 삼량체를 나타낸다. HPLC 측정에 의한 이들의 면적% 비율이 표시된다. 그 결과, 반응 8시간 후 SM이 거의 사라지고, TM과 에피머가 주로 형성되었는데, 이의 면적비는 38.4%, 에피머는 60.8%이었다. 화합물 F1은 화합물 D4, 화합물 A23, 화합물 A4 및 화합물 A6을 사용하여 기존의 방법들로 합성되었음을 주목한다.

[1997] 화합물 F1의 프로필아미드 유도체의 LCMS(ESI): 체류 시간: 13.98분, m/z = 1498 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건: 방법 3)

[1998] [화학식 177]



화합물 F1의 프로필아미드 유도체

[1999]

표 11

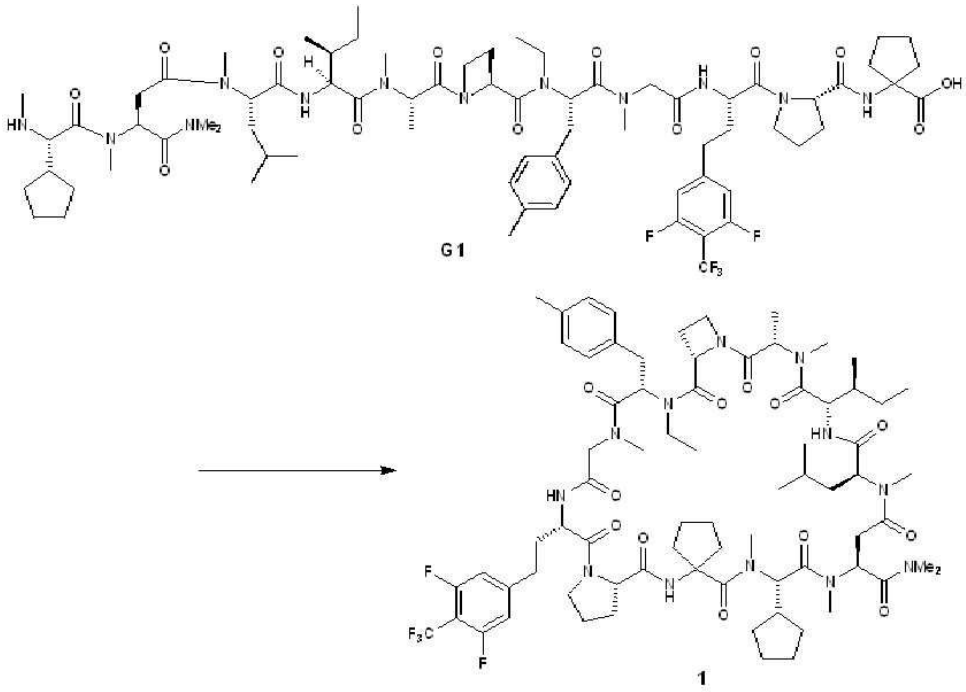
| SM, SM-NHPr, TM, 에피머, c-이량체 및 c-삼량체의 비율(%) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| SM | SM-NHPr | TM | 에피머 | c-이량체 | c-삼량체 |
| 0.6 | NA | 38.4 | 60.8 | 0.2 | NA |

[2000]

[2001] 실시예 3.2

[2002] 화합물 1의 합성: ((5S,8S,11S,15S,18S,23aS,29S,35S,37aS)-8-((S)-sec-부틸)-18-시클로펜틸-29-(3,5-디플루오로-4-(트리플루오로메틸)펜에틸)-36-에틸-11-이소부틸-N,N,5,6,12,16,19,33-옥타메틸-35-(4-메틸벤질)-4,7,10,13,17,20,23,28,31,34,37-운데카옥소테트라트리아콘타히드로-2H,4H-스피로[아제토[2,1-u]피롤로[2,1-i][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31]운데카아자시클로테트라트리아콘틴-21,1'-시클로펜탄]-15-카르복사미드) (화합물 G1의 고리화 반응)

[2003] [화학식 178]

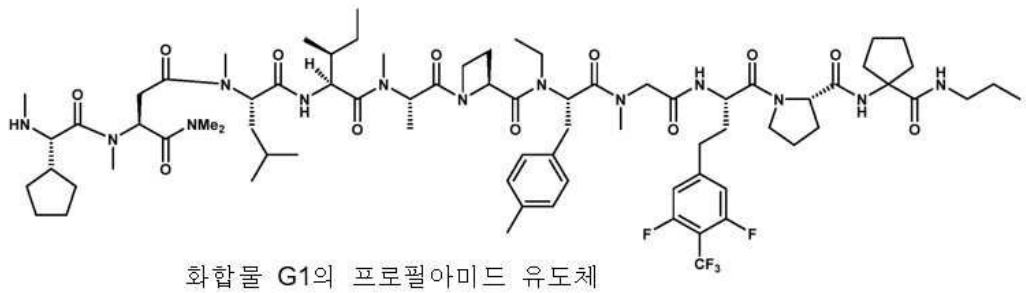



[2004]

[2005] 화합물 G1(10.01 mg, 함량 90.79%)을 반응 용기에 칭량하고 MeCN(1.56 mL)에 용해시켰다. DIPEA(5.52 μL)를 실온에서 교반하면서 첨가하였다. 반응 용기의 외부 온도를 25℃로 설정하고, HATU(0.059 M, 441 μL)의 MeCN 용액을 첨가한 후, 혼합물을 2시간 동안 교반하였다. 반응 용액(25 μL)을 MeCN/프로필아민(9 : 1)의 혼합 용액(125 μL)으로 희석하여 HPLC 분석용 용액을 제조하였다. HPLC 분석의 결과는 하기의 표 12에 나타내었다. 상기 표에서 SM은 출발물질(화합물 G1), TM은 표적 물질(화합물 1), SM-NHPr은 화합물 G1의 프로필아미드 유도체, c-이량체는 고리형 이량체, 그리고 c-삼량체는 고리형 삼량체를 나타낸다. HPLC 측정에 의한 이들의 면적% 비율이 표시된다. 그 결과, 고리화 반응이 거의 진행되지 않았고, SM-NHPr은 99.8%이었다. 화합물 G1은 화합물 A14, 화합물 D7, 화합물 A16(또는 화합물 B24), 화합물 A19 및 화합물 A22를 사용하여 기존의 방법들로 합성되었음을 주목한다.

[2006] 화합물 G1의 프로필아미드 유도체의 LCMS(ESI): 체류 시간: 13.70분, m/z = 1498 $[M+H]^+$ (LCMS 분석 조건: 방법 3)

[2007] [화학식 179]



화합물 G1의 프로필아미드 유도체

[2008]

표 12

| SM, SM-NHPr, TM, c-이량체 및 c-삼량체의 비율(%) | | | | |
|---|---|---|---|---|
| SM | SM-NHPr | TM | c-이량체 | c-삼량체 |
| 0.5 | 96.3 | 3.2 | NA | NA |

[2009]

## 산업상 이용가능성

[2010] 본 발명에 따르면, 약학적으로 유용한 고리형 펩티드 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 생성 방법, 및 고리형 펩티 화합물 또는 이의 염 또는 이의 용매화물의 생산에 사용되는 펩티드 화합물의 생성 방법이 제공된다.