(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0081211
(43) 공개일자 2015년07월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 7/06 (2006.01) *A61K 38/08* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2014-0000945
(22) 출원일자 2014년01월03일
심사청구일자 2014년01월03일

(71) 출원인
이화여자대학교 산학협력단
서울특별시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교)
(72) 발명자
유재상
서울 강남구 남부순환로 3032, 106동 402호 (대치동, 미도아파트)
이경림
서울 종로구 경희궁길 57, 106동 304호 (사직동, 광화문풍림스페이스본)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
이원희

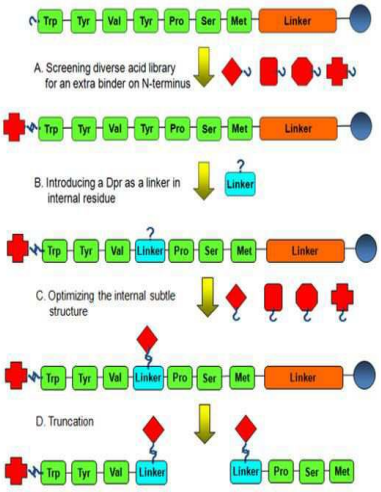
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 **화학식 4의 구조를 포함하는 펩티도미메틱 화합물 및 이를 포함하는 알레르기성 질환 치료용 약학조성물**

(57) 요 약

본 발명은 알레르기성 질환에 대하여 예방 또는 치료 활성을 나타내는 신규 펩티도미메틱 화합물, 및 이를 포함하는 알레르기성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

대 표 도 - 도1



(72) 발명자

박윤정

서울 서대문구 거북골로 154, 104동 402호 (북가좌동, 삼호아파트)

김미영

서울 용산구 이촌로71길 10, 213동 2002호 (이촌동, 한가람아파트)

김효영

전라남도 담양군 담양읍 강쟁길 28

명 세 서

청구범위

청구항 1

서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 펩타이드의 단편에서,

상기 단편은 상기 서열번호 1의 N-말단부터 네 개의 아미노산으로 이루어지는 단편이고,

상기 서열번호의 첫번째 아미노산인 트립토판 자리에 아실기가 도입되고 상기 서열번호의 네번째 아미노산에 해당하는 타이로신이 아실기(acyl group)가 연결된 디아미노프로피오닉 산(Diaminopropionic acid, Dpr)으로 치환되며,

알레르기성 질환에 대하여 예방 또는 치료 활성을 나타내는 펩티도미메틱 화합물.

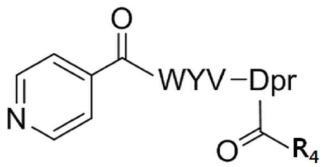
청구항 2

제1항에 있어서, 서열번호의 첫번째 아미노산인 트립토판 자리에 이소니코티닐기가 도입된 것인 펩티도미메틱 화합물.

청구항 3

제2항에 있어서, 하기 화학식 4의 구조를 포함하는, 펩티도미메틱 화합물.

[화학식 4]



Dpr 은 디아미노프로피오닉 산(Diaminopropionic acid)이고,

R_4는 탄소수 1 내지 20의 비치환된 또는 치환된 선형, 가지형 또는 고리형 알킬이거나, 탄소수 1 내지 10의 비치환된 또는 치환된 알콕시이거나, 비치환 또는 치환된 아릴이거나, N, O 또는 S를 포함하는 비치환 또는 치환된 헤테로아릴이거나, N, O 또는 S를 포함하는 비치환 또는 치환된 헤테로사이클로이고,

W는 트립토판(Tryptophan, W)이고,

Y는 타이로신(Tyrosine, Y)이고,

V는 발린(Valine, V)이다.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 화학식 4의 펩티도미메틱 화합물은,

이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(오로틸), 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(3,5-디메틸벤조일), 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(7-메톡시-1-벤조퓨란-2-카복실일), 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-(2-시아노페닐티오)벤조일), 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr((R)-(+)-트롤록실), 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(1-시아노-1-사이클로프로판카복실일), 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(로다닌-3-아세틸), 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-플루오로페닐아세틸), 이소니코티닐-

트립토판-타이로신-발린-Dpr(4-펜틸바이사이클로[2.2.2]옥탄-1-카복실일), 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(퀴나딜), 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(타이글라일), 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(5-클로로인돌-2-카복실일), 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(5-니트로-3-피라졸카복실일) 또는 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-(4-메틸페닐설폰아미도)아세틸)인, 화합물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 알레르기성 질환은 천식, 비염, 담마진, 아나필락시스, 알레르기성 기관지 확장증, 알레르기성 결막염, 두드러기 또는 아토피성 피부염인 것인, 펩티도미메틱 화합물.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항의 화합물을 포함하는, 알레르기성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 알레르기성 질환은 천식, 비염, 담마진, 아나필락시스, 알레르기성 기관지 확장증, 알레르기성 결막염, 두드러기 또는 아토피성 피부염인 것인, 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 알레르기성 질환에 대하여 예방 또는 치료 활성을 나타내는 신규 펩티도미메틱 화합물, 및 이를 포함하는 알레르기성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 비만세포 및 혈중 호염구는 여러가지 알레르기 질환, 즉, 알레르기성 비염, 알레르기성 아토피성 피부염, 알레르기성 결막염, 알레르기성 천식, 음식 알레르기 및 아나필락틱 쇼크(anaphylactic shock) 등을 유발하는 체내 세포로 알려져 있다. 이들 세포는 세포 표면에 알레르기를 유발하는 항체에 대한 수용체를 가지고 있으며, 자극을 받으면 자신이 가지고 있는 다양한 알레르기를 유발하는 물질을 세포 바깥으로 분비한다.

[0003] 알레르기를 치료하기 위한 다양한 시도가 이루어지고 있으나, 현재 대부분의 알레르기 치료는 그 원인을 없애기보다는 증상을 완화시키는 방향으로 진행되고 있다. 대표적으로 알레르겐에 의해 비만세포 등에서 분비된 히스타민이나 류코트리엔 등 수용체에 대한 길항약들이 주를 이루고 있다. 그러나, 이러한 약물은 환자에게 투여 후 단기간 내에 내성을 보이기 때문에 일정기간 지난 후 혹은 반복 투여 시 환자들의 증상을 호전시키지 못하는 경우가 많다. 따라서, 항히스타민제 등의 부작용이 없는 알레르기 치료제의 개발이 요구되고 있는 실정이다.

[0004] 또한, 다른 치료 방법으로 IgE가 비만 세포의 수용체에 결합하는 것을 차단하는 방법, 알레르기를 유발하는 사이토카인인 인터루킨-4(IL-4)에 대한 항체 치료법 등의 치료적 접근법 등이 있으나, 이러한 접근법들은 비용이 많이 들거나 아직 그 치료효과가 완전히 규명되지 않은 문제가 있다.

[0005] 생체에는 생리활성에 관여하는 펩타이드(peptide)가 많이 존재하고 있으며 대부분의 생리활성 펩타이드는 생체 내 효소나 산에 의해 쉽게 가수분해되고 분자량이 일반적으로 커서 약으로 사용하기 어렵다는 문제점이 있다. 이를 극복하기 위해서 펩타이드의 곁가지 사슬이나 골격구조를 변형시키거나 특정 구조를 유도하는 주형으로 사용하는 방법들이 제시되고 있으며, 이러한 모든 물질을 총칭하여 펩티도미메틱 화합물(peptidomimetic compound)이라고 명명한다. 이러한 화합물은 질병유발 바이오마커 외에도 유해미생물 검출, 환경 호르몬 등 분자진단용으로 사용될 수 있으며, 신약설계, 나노복합체 및 새로운 약물 전달체 등으로 이용될 수 있다.

[0006] 그러나, 알레르기성 질환을 치료하기 위한 펩티도미메틱 화합물에 대한 연구는 아직 이루어지지 않았으며, 부작용 없이 알레르기를 치료할 수 있는 치료제의 개발에 대한 요구가 절실한 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 목적은 알레르기성 질환에 대하여 예방 또는 치료 활성을 신규한 펩티도미메틱 화합물을 제공하는 것이다.

[0008] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 화합물을 포함하는, 알레르기성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것이다.

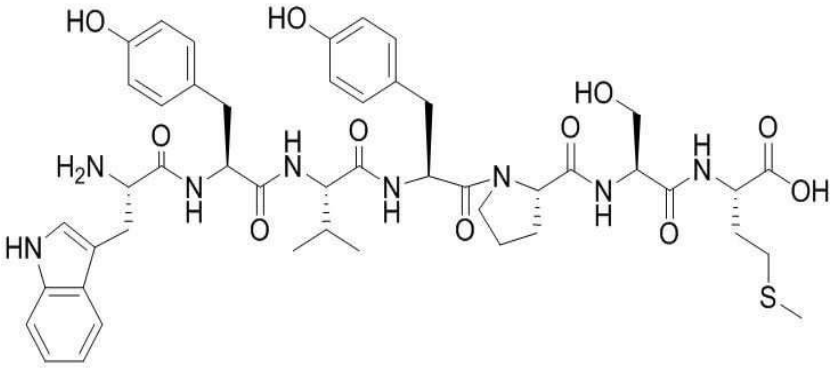
과제의 해결 수단

[0009] 상기 목적을 달성하기 위한 하나의 일구현예로서, 본 발명은 알레르기성 질환에 대하여 예방 또는 치료 활성을 나타내는 신규한 펩티도미메틱 화합물에 관한 것이다.

[0010] 보다 상세하게, 본 발명은 서열번호 1의 아미노산 서열(Trp-Tyr-Val-Tyr-Pro-Ser-Met) 로 이루어진 펩타이드 또는 이의 단편에서, 상기 서열번호의 첫번째 아미노산인 트립토판 또는 네번째 아미노산인 타이로신 자리에 아실기가 도입되며, 알레르기성 질환에 대하여 예방 또는 치료 활성을 나타내는 신규한 펩티도미메틱 화합물에 관한 것이다.

[0011] 상기 서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 펩타이드는, dTBP2 [dTCTP(dimerized translationally controlled tumor protein) binding peptide 2] 라는 명칭으로도 알려져 있는 헵타머(heptamer)이다. 상기 펩타이드는 dTCTP 에 높은 친화력으로 결합하여 dTCTP와 그의 수용체 간의 상호작용을 억제함으로써 이들의 상호작용으로 인한 알러지 관련 정보의 전달을 억제하는 것으로 알려져 있다. 또한, 인터루킨(IL)-8, IL-5 등을 포함하는 사이토카인 및 히스타민의 분비를 억제함으로써 이들에 의해 유도될 수 있는 다양한 알레르기성 질환들을 완화시키는 데 관여하는 것으로 알려져 있다.

[0012] [dTBP2 의 화학구조]



[0013]

[0014] 이에, 본 발명자들은 dTCTP와 그의 수용체 간의 결합을 억제하는 것을 목적으로 하여 NH_2 말단을 다양한 산(acids)으로 아실화(acylation)한 펩티도미메틱 화합물 및 dTBP2에 다양한 변화를 시도한 펩티도미메틱 화합물을 합성하였으며, 이들 화합물들에 대해서 생물학적 활성을 측정하여 효능을 확인하였다.

[0015] 상기 펩티도미메틱 화합물을 합성하기에 앞서, 우선 dTBP2 의 아미노산 잔기들을 하나씩 알라닌으로 치환한 변이체들을 제조하여 그 활성을 평가함으로써(alanine scanning mutagenesis), dTCTP-dTBP2 결합에 있어서 dTBP2 의 필수적 잔기가 무엇인지 확인하였다.

표 1

[0016]

Residue number	AA substitution	IL-8 releasibility block activity	comment
dTBP2	WYVYPSM	++	Original one
dTBP-M1	AYVYPSM	++	insignificant, deletion of W : ↓activity
dTBP-M2	WAVYPSM	--	
dTBP-M3	WYAYPSM	-	
dTBP-M4	WYVAPSM	++	
dTBP-M5-1	WYVYKSM	--	Ala substitution: ↓solubility
dTBP-M6	WYVYPAM	--	
dTBP-M7	WYVYPSA	--	

[0017] 상기 표 1에 나타난 결과에서 알 수 있는 바와 같이, 첫번째 아미노산인 트립토판과 네번째 아미노산인 타이로신의 경우 알라닌으로 치환하더라도 dTBP2 의 활성이 동등하게 유지되었다. 따라서, 본 발명에서는 위 트립토판 또는 타이로신을 변형시켜, 그 활성 및 생체이용능이 보다 증진된 dTBP2의 펩티도미메틱 화합물을 설계하였다.

[0018] 우선, N 말단의 아미노산인 트립토판에 아실기를 도입하고, 이 중 효과가 잘 나타나는 화합물을 선택하였다. 상기 화합물들은 dTCTP에 대한 결합력이 증가하였다. 또한, 본 발명자들은 알라닌 스캐닝 돌연변이화(alanine scanning mutagenesis)로부터 가장 필수적이지 않은 것으로 밝혀진 네번째 아미노산 자리에 위치한 타이로신을 디아미노산 잔기[diamino-acid, 예컨대, Diaminopropionic acid (Dpr)]로 변경 후 산(acid)과 커플링 시켰다(도 1).

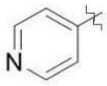
[0019] 이와 같이 새로 도입된 기능성 그룹은 추가적인 결합 부위를 제공할 수 있고, 내부의 타이로신과 같은 느슨한 결합 잔기를 단단한 결합으로 바꿈으로써 dTCTP-dTBP2의 결합력을 현저히 증가시킨 것을 확인할 수 있었다(실험예 1 내지 4).

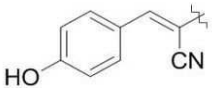
[0020] 따라서, 본 발명에서 제공하는 신규 펩티도미메틱 화합물의 일예는, 본 발명은 서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 펩타이드 또는 이의 단편에서, 상기 서열번호의 첫번째 아미노산인 트립토판에 아실기가 도입된 펩티도미메틱 화합물일 수 있다.

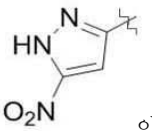
[0021] 보다 바람직하게, 하기 화학식 1의 구조를 포함하는 펩티도미메틱 화합물일 수 있다.

[0022] [화학식 1]

[0023]

[0024] R_1은 , 

, 

또는 

이고,

[0025] W는 트립토판(Tryptophan, W)이고,

[0026] Y는 타이로신(Tyrosine, Y)이고,

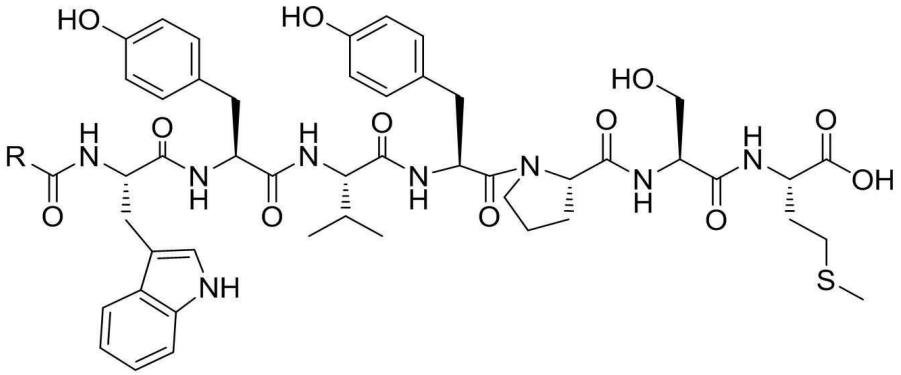
[0027] V는 발린(Valine, V)이며,

[0028] P는 프롤린(Proline, P)이며,

[0029] S는 세린(Serine, S)이고,

[0030] M은 메티오닌(Methionine, M)이다.

[0031] 상기 화학식 1 은 구체적으로 다음의 화학구조로 나타낼 수 있다:



[0032]

[0033] 더욱 구체적으로, 상기 화합물은 2-메틸헥사노일-트립토판-타이로신-발린-타이로신-프롤린-세린-메티오닌, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-타이로신-프롤린-세린-메티오닌, 알파-시아노-4-하이드록시신나밀-트립토판-타이로신-발린-타이로신-프롤린-세린-메티오닌, 또는 5-니트로-3-피라졸카복실일-트립토판-타이로신-발린-타이로신-프롤린-세린-메티오닌일 수 있다.

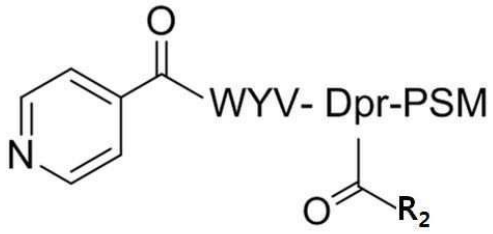
[0034] 다른 일예로, 본 발명은 서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 펩타이드에서, 상기 서열번호의 첫번째 아미노산인 트립토판 자리에 아실기가 도입되고 상기 서열번호의 네번째 아미노산인 타이로신이 아실기(acyl 그룹)가 연결된 디아미노프로피오닉 산(Diaminopropionic acid, Dpr)으로 치환되며, 알레르기성 질환에 대하여 예방 또는 치료 활성을 나타내는 펩티도미메틱 화합물일 수 있다.

[0035] 보다 바람직하게, 서열번호의 첫번째 아미노산인 트립토판 자리에는 이소니코티닐기가 도입된 것일 수 있다.

[0036] 또한, 상기 Dpr 은 벤조일기, 신나밀기, 카르복실기, 아세틸기, 헥시노일기, 오로틸기, 나프토일기, 니코티닐기, 헥사디엔오일기, 글리옥실기, 푸로일기, 헥사노일기, 퀴나딜기, 타이글라일기, 트롤록실기, 헤테로알킬 및 아릴헤테로알킬로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 아실기-함유 치환기와 연결될 수 있다.

[0037] 보다 바람직하게, 하기 화학식 2의 구조를 포함하는 펩티도미메틱 화합물일 수 있다.

[0038] [화학식 2]



[0039]

[0040] Dpr 은 디아미노프로피오닉 산(Diaminopropionic acid)이고,

[0041] R_2는 탄소수 1 내지 20의 비치환된 또는 치환된 선형, 가지형 또는 고리형 알킬이거나, 탄소수 1 내지 10의 비치환된 또는 치환된 알콕시이거나, 비치환 또는 치환된 아릴이거나, N, O 또는 S를 포함하는 비치환 또는 치환된 헤테로아릴이거나, N, O 또는 S를 포함하는 비치환 또는 치환된 헤테로사이클이고,

[0042] W는 트립토판(Tryptophan, W)이고,

[0043] Y는 타이로신(Tyrosine, Y)이고,

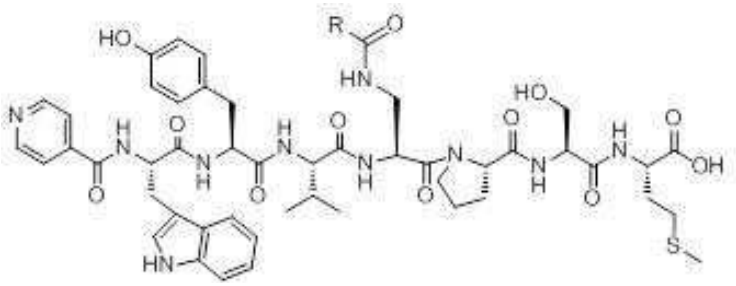
[0044] V는 발린(Valine, V)이며,

[0045] P는 프롤린(Proline, P)이며,

[0046] S는 세린(Serine, S)이고,

[0047] M은 메티오닌(Methionine, M)이다.

[0048] 상기 화학식 2는 구체적으로 다음의 화학구조로 나타낼 수 있다:

[0049] 

[0050] 더욱 구체적으로, 상기 화합물은 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(3,5-디메틸벤조일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(3,5-디메틸벤조일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(알파-시아노-4-하이드록시신나밀)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(알파-시아노-4-하이드록시신나밀)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(4-펜틸바이사이클로[2.2.2]옥테인-1-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(4-펜틸바이사이클로[2.2.2]옥테인-1-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-(2-시아노페닐티오)벤조일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-(2-시아노페닐티오)벤조일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(페녹시아세틸)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(페녹시아세틸)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-헥시노일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-헥시노일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(오로틸)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(오로틸)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(4-벤질옥시벤조일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(4-벤질옥시벤조일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-나프토일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-나프토일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-피라진카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-피라진카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-클로로니코티닐)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-클로로니코티닐)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2,4-헥사디엔오일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2,4-헥사디엔오일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(바이페닐-4-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(바이페닐-4-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(페닐글리옥실일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(페닐글리옥실일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-플루오로페닐아세틸)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-플루오로페닐아세틸)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(트랜스-신나밀)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(트랜스-신나밀)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(1-나프토일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(1-나프토일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(5-니트로-2-푸로일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(5-니트로-2-푸로일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(베타-나프톡시아세틸)-프

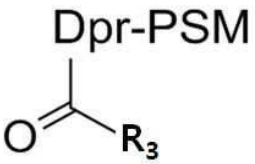
롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(베타-나프톡시아세틸)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(3-페녹시벤조일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(3-페녹시벤조일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(7-메톡시-1-벤조퓨란-2-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(7-메톡시-1-벤조퓨란-2-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-메톡시헥사노일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-메톡시헥사노일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(3-클로로벤조[b]티오펜-2-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(3-클로로벤조[b]티오펜-2-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(퀴나딜)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(퀴나딜)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(타이글라일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(타이글라일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(이소니코티닐)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(이소니코티닐)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(5-클로로인돌-2-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(5-클로로인돌-2-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(5-페닐-2-푸로일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(5-페닐-2-푸로일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(5-니트로-3-피라졸카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(5-니트로-3-피라졸카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr((R)-(+)-트롤록실)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr((R)-(+)-트롤록실)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr((R)-(+)-2-피롤리돈-5-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr((R)-(+)-2-피롤리돈-5-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(1-시아노-1-사이클로프로페인카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(1-시아노-1-사이클로프로페인카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(로다닌-3-아세틸)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(로다닌-3-아세틸)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(7-하이드록시쿠마린-4-아세틸)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(7-하이드록시쿠마린-4-아세틸)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-(4-메틸페닐설폰아미도)아세틸)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-(4-메틸페닐설폰아미도)아세틸)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(1-아세틸피페리딘-4-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(1-아세틸피페리딘-4-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(1-페닐-5-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-4-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(1-페닐-5-(트리플루오로메틸)-1H-피라졸-4-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-티오펜아세틸)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-티오펜아세틸)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(벤조트리아졸-5-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(벤조트리아졸-5-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(4-옥소-4H-크로멘-3-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(4-옥소-4H-크로멘-3-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(4-메틸-2-옥소-2H-크로멘-7-일옥시)아세틸)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 또는 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(4-메틸-2-옥소-2H-크로멘-7-일옥시)아세틸)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형인 것인, 화합물일 수 있다.

[0051] 다른 일예로, 본 발명은 서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 펩타이드 단편에서, 상기 단편은 네 개의 아미노산으로 이루어지며 C-말단이 메티오닌인 펩타이드 단편이고, 상기 서열번호의 네번째 아미노산에 해당하는 타이로신 자리이 아실기(acyl group)가 연결된 디아미노프로피오닉 산(Diaminopropionic acid, Dpr)으로 치환되며, 알레르기성 질환에 대하여 예방 또는 치료 활성을 나타내는 펩티도미메틱 화합물일 수 있다.

[0052] 보다 바람직하게, 상기 Dpr 은 벤조일기, 신나밀기, 카르복실기, 아세틸기, 오로틸기, 퀴나딜기, 타이글라일기, 트롤록실기, 헤테로알킬 및 아릴헤테로알킬로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 아실기-함유 치환기와 연결될 수 있다.

[0053] 보다 바람직하게, 본 발명은 하기 화학식 3의 구조를 포함하는 펩티도미메틱 화합물일 수 있다.

[0054] [화학식 3]

[0055] 

[0056] Dpr 은 디아미노프로피오닉 산(Diaminopropionic acid)이고,

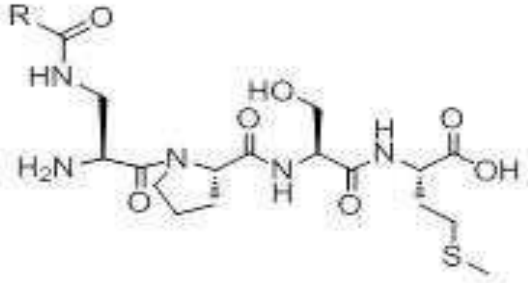
[0057] R_3는 탄소수 1 내지 20의 비치환된 또는 치환된 선형, 가지형 또는 고리형 알킬이거나, 탄소수 1 내지 10의 비치환된 또는 치환된 알콕시이거나, 비치환 또는 치환된 아릴이거나, N, O 또는 S를 포함하는 비치환 또는 치환된 헤테로아릴이거나, N, O 또는 S를 포함하는 비치환 또는 치환된 헤테로사이클이고,

[0058] P는 프롤린(Proline, P)이며,

[0059] S는 세린(Serine, S)이고,

[0060] M은 메티오닌(Methionine, M)이다.

[0061] 상기 화학식 3은 구체적으로 다음의 화학구조로 나타낼 수 있다:

[0062] 

[0063] 상기 화학식 3의 구조를 포함하는 펩티도미메틱 화합물은 바람직하게 Dpr(4-펜틸바이사이클로[2.2.2]옥탄-1-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, Dpr(4-펜틸바이사이클로[2.2.2]옥탄-1-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, Dpr(타이글라일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, Dpr(타이글라일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, Dpr(5-클로로인돌-2-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, Dpr(5-클로로인돌-2-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, Dpr(2-(2-시아노페닐티오)벤조일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, Dpr(2-(2-시아노페닐티오)벤조일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, Dpr(퀴나딜)-프롤린-세린-메티오닌 산화형, Dpr(퀴나딜)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형, Dpr(2-플루오로페닐아세틸)-프롤린-세린-메티오닌, Dpr(7-메톡시-1-벤조퓨란-2-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌, Dpr(오로틸)-프롤린-세린-메티오닌, Dpr(1-시아노-1-사이클로프로판카복실일)-프롤린-세린-메티오닌, Dpr(알파-시아노-4-하이드록시신나밀)-프롤린-세린-메티오닌, Dpr(3,5-디메틸벤조일)-프롤린-세린-메티오닌, Dpr((R)-(+)-트롤록실)-프롤린-세린-메티오닌, Dpr(2-(4-메틸페닐설폰아미도)아세틸)-프롤린-세린-메티오닌 또는 Dpr(5-니트로-3-피라졸카복실일)-프롤린-세린-메티오닌일 수 있다.

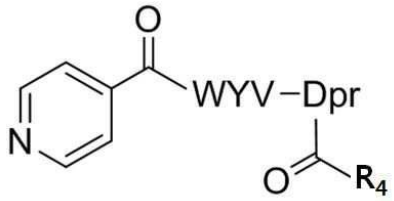
[0064] 다른 일예로, 본 발명은 서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 펩타이드 단편에서, 상기 단편은 상기 서열번호 1의 N-말단부터 네 개의 아미노산으로 이루어지는 단편이고, 상기 서열번호의 첫번째 아미노산인 트립토판 자리에 아실기가 도입되고 상기 서열번호의 네번째 아미노산에 해당하는 타이로신이 아실기(acyl group)가 연결된 디아미노프로피오닉 산(Diaminopropionic acid, Dpr)으로 치환되며, 알레르기성 질환에 대하여 예방 또는 치료 활성을 나타내는 펩티도미메틱 화합물일 수 있다.

[0065] 보다 바람직하게, 서열번호의 첫번째 아미노산인 트립토판 자리에는 이소니코티닐기가 도입된 것일 수 있다.

[0066] 또한, 상기 Dpr 은 벤조일기, 카르복실기, 아세틸기, 오로틸기, 퀴나딜기, 타이글라일기, 트롤록실기, 헤테로알킬 및 아릴헤테로알킬로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 아실기-함유 치환기와 연결될 수 있다.

[0067] 보다 바람직하게, 본 발명은 하기 화학식 4의 구조를 포함하는 펩티도미메틱 화합물일 수 있다.

[0068] [화학식 4]



[0069]

[0070] Dpr 은 디아미노프로피오닉 산(Diaminopropionic acid)이고,

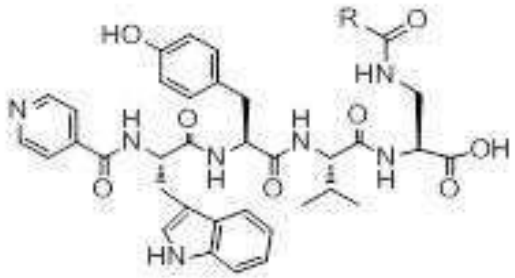
[0071] R_4는 탄소수 1 내지 20의 비치환된 또는 치환된 선형, 가지형 또는 고리형 알킬이거나, 탄소수 1 내지 10의 비치환된 또는 치환된 알콕시이거나, 비치환 또는 치환된 아릴이거나, N, O 또는 S를 포함하는 비치환 또는 치환된 헤테로아릴이거나, N, O 또는 S를 포함하는 비치환 또는 치환된 헤테로사이클이고,

[0072] W는 트립토판(Tryptophan, W)이고,

[0073] Y는 타이로신(Tyrosine, Y)이고,

[0074] V는 발린(Valine, V)이다.

[0075] 상기 화학식 4 는 구체적으로 다음의 화학구조로 나타낼 수 있다:



[0076]

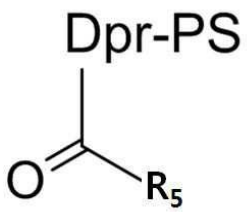
[0077] 상기 화학식 4의 구조를 포함하는 펩티도미메틱 화합물은 바람직하게 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(오로틸), 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(3,5-디메틸벤조일), 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(7-메톡시-1-벤조퓨란-2-카복실일), 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-(2-시아노페닐티오)벤조일), 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr((R)-(+)-트롤록실), 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(1-시아노-1-사이클로프로판카복실일), 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(로다닌-3-아세틸), 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-플루오로페닐아세틸), 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(4-펜틸바이사이클로[2.2.2]옥탄-1-카복실일), 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(퀴나딜), 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(타이글라일), 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(5-클로로인돌-2-카복실일), 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(5-니트로-3-피라졸카복실일) 또는 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-(4-메틸페닐설폰아미도)아세틸)일 수 있다.

[0078] 다른 일예로, 본 발명은 서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어진 펩타이드 단편에서, 상기 단편은 세 개 또는 네 개의 아미노산으로 이루어지며 C-말단이 세린인 펩타이드 단편이고, 상기 서열번호의 네번째 아미노산에 해당하는 타이로신이 아실기(acyl group)가 연결된 디아미노프로피오닉 산(Diaminopropionic acid, Dpr)으로 치환되며, 알레르기성 질환에 대하여 예방 또는 치료 활성을 나타내는 펩티도미메틱 화합물일 수 있다.

[0079] 보다 바람직하게, 상기 Dpr 은 벤조일기, 카르복실기, 아세틸기, 오로틸기, 헤테로알킬 및 아릴헤테로알킬로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 아실기-함유 치환기와 연결될 수 있다.

[0080] 보다 바람직하게, 하기 화학식 5 또는 화학식 6의 구조를 포함하는 펩티도미메틱 화합물일 수 있다.

[0081] [화학식 5]



[0082]

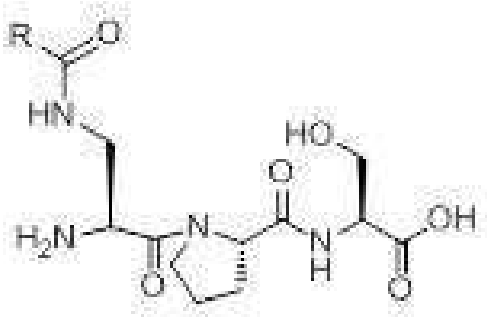
[0083] Dpr 은 디아미노프로피오닉 산(Diaminopropionic acid)이고,

[0084] R_5는 탄소수 1 내지 20의 비치환된 또는 치환된 선형, 가지형 또는 고리형 알킬이거나, 탄소수 1 내지 10의 비치환된 또는 치환된 알콕시이거나, 비치환 또는 치환된 아릴이거나, N, O 또는 S를 포함하는 비치환 또는 치환된 헤테로아릴이거나, N, O 또는 S를 포함하는 비치환 또는 치환된 헤테로사이클이고,

[0085] P는 프롤린(Proline, P)이며,

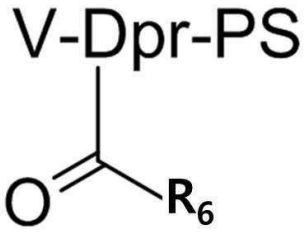
[0086] S는 세린(Serine, S)이다.

[0087] 상기 화학식 5 는 구체적으로 다음의 화학구조로 나타낼 수 있다:



[0088]

[0089] [화학식 6]



[0090]

[0091] Dpr 은 디아미노프로피오닉 산(Diaminopropionic acid)이고,

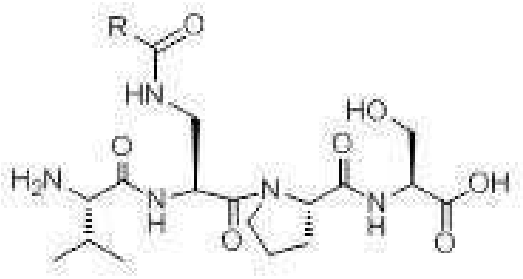
[0092] R_6는 벤조일기, 카르복실기, 아세틸기, 오로틸기, 헤테로알킬 및 아릴헤테로알킬로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하고,

[0093] V 는 발린(Valine, V)이고,

[0094] P는 프롤린(Proline, P)이며,

[0095] S는 세린(Serine, S)이다.

[0096] 상기 화학식 6 은 구체적으로 다음의 화학구조로 나타낼 수 있다:



[0097]

[0098] 상기 화학식 5 또는 화학식 6의 구조를 포함하는 펩티도미메틱 화합물은 바람직하게 발린-Dpr(오로틸)-프롤린-세린, 발린-Dpr(7-메톡시-1-벤조퓨란-2-카복실일)-프롤린-세린, 발린-Dpr(3,5-디메틸벤조일)-프롤린-세린, 발린-Dpr(5-클로로인돌-2-카복실일)-프롤린-세린, 발린-Dpr(2-플루오로페닐아세틸)-프롤린-세린, Dpr(오로틸)-프롤린-세린, Dpr(7-메톨시-1-벤조퓨란-2-카복실일)-프롤린-세린, Dpr(3,5-디메틸벤조일)-프롤린-세린, Dpr(5-클로로인돌-2-카복실일)-프롤린-세린, 또는 Dpr(2-플루오로페닐아세틸)-프롤린-세린일 수 있다.

[0099] 본 발명에 따른 화합물의 치환기에 대한 정의에서, 용어 '알킬' 은 지방족 탄화수소 그룹을 의미한다. 알킬은 알켄이나 알킨 부위를 포함하지 않는 "포화 알킬(saturated alkyl)" 이거나, 적어도 하나의 알켄이나 알킨 부위를 포함하는 "불포화 알킬(unsaturated alkyl)" 일 수 있다. "알켄" 은 적어도 하나의 탄소-탄소 이중결합을 포함하는 그룹을 의미하며, "알킨" 은 적어도 하나의 탄소-탄소 삼중 결합을 포함하는 그룹을 의미한다. 알킬은 단독으로 또는 알콕시와 같이 조합하여 사용되는 경우에 각각 분지형 또는 직쇄형일 수 있다.

[0100] 알킬 그룹은 달리 정의하지 않는 한 1 내지 20 개의 탄소원자를 가질 수 있다. 알킬 그룹은 1 내지 10 개의 탄소원자들을 가지는 중간 크기의 알킬일 수도 있다. 알킬 그룹은 1 내지 6 개의 탄소원자들을 가지는 저급 알킬일 수도 있다. 전형적인 알킬 그룹에는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, 이소부틸, t-부틸, 펜틸, 헥실, 에테닐, 프로페닐, 부테닐 등이 포함되지만, 이들 만으로 한정되는 것은 아니다. 예를 들어, C_1-C_4-알킬은 알킬쇄에 1 내지 4 개의 탄소원자를 가지며, 메틸, 에틸, 프로필, 이소-프로필, n-부틸, 이소-부틸, sec-부틸 및 t-부틸로 이루어진 그룹에서 선택된다.

[0101] 용어 '알콕시'는 달리 정의하지 않는 한 1 내지 10 개의 탄소원자를 가지는 알킬옥시를 의미한다.

[0102] 용어 '사이클로알킬'은 달리 정의하지 않는 한 포화 지방족 3~10원 환을 의미한다. 전형적인 사이클로알킬 그룹에는 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로헥실 등이 포함되지만, 이들 만으로 한정되는 것은 아니다.

[0103] 용어 '아릴'은 공유 파이 전자계를 가지는 적어도 하나의 링을 포함하며, 예를 들어 모노사이클릭 또는 융합환 폴리사이클릭(즉, 탄소원자들의 인접한 쌍들을 나눠 가지는 링들) 그룹을 포함한다. 즉, 본 명세서에서 아릴은 달리 정의하지 않는 한 페닐, 나프틸 등을 포함하는 4~10원, 바람직하게는 6~10원 방향족 모노사이클릭 또는 멀티사이클릭환을 의미한다.

[0104] 용어 '헤테로아릴'은 달리 정의하지 않는 한 N, O 및 S로 이루어진 그룹에서 선택된 1 내지 3 개의 헤테로 원자를 포함하고, 벤조 또는 C_3-C_8 사이클로알킬과 융합될 수 있는 방향족 3~10원 환, 바람직하게는 4~8원 환, 더욱 바람직하게는 5~6원 환을 의미한다. 모노사이클릭 헤테로아릴의 예로는 티아졸, 옥사졸, 티오펜, 퓨란, 피롤, 이미다졸, 이소옥사졸, 이소티아졸, 피라졸, 트리아졸, 트리아진, 티아디아졸, 테트라졸, 옥사디아졸, 피리딘, 피리다진, 피리미딘, 피라진 및 이와 유사한 그룹을 들 수 있으나 이들로 제한되는 것은 아니다. 비사이클릭 헤테로아릴의 예로는 인돌, 인돌린, 벤조티오펜, 벤조퓨란, 벤즈이미다졸, 벤족사졸, 벤즈이속사졸, 벤즈티아졸, 벤즈티아디아졸, 벤즈트리아졸, 퀴놀린, 이소퀴놀린, 퓨린, 퓨로피리딘 및 이와 유사한 그룹을 들 수 있으나 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0105] 용어 '헤테로사이클'은 달리 정의하지 않는 한 N, O 및 S로 이루어진 그룹에서 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 포함하며, 벤조 또는 C_3-C_8 사이클로알킬과 융합될 수 있고, 포화되거나 1 또는 2 개의 이중결합을 포함하는 3~10원 환, 바람직하게는 4~8원 환, 더욱 바람직하게는 5~6원 환을 의미한다. 헤테로사이클의 예로는 피롤린, 피롤리딘, 이미다졸린, 이미다졸리딘, 피라졸린, 피라졸리딘, 피란, 피페리딘, 모폴린, 티오모폴린, 피페라진, 하이드로퓨란 등을 들 수 있지만, 이들만으로 한정되는 것은 아니다.

[0106] 기타 본 명세서에서 사용된 용어와 약어들은 달리 정의되지 않는 한 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자에게 통상적으로 이해되는 의미로서 해석될 수 있다.

[0107] 또 다른 본 발명의 일구현예로서, 본 발명은 상기 신규한 펩티도미메틱 화합물을 포함하는 알레르기성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물에 관한 것이다.

[0108] 본 발명에서 제공하는 신규한 펩티도미메틱 화합물은 dTBP2 의 생물학적 활성을 나타내면서, 그 활성 및 생체이용능이 증진된 특징이 있으므로, dTBP2 에 의하여 완화, 개선, 예방, 억제 또는 치료가 가능한 모든 알레르기성 질환에 대한 의약 용도로 적용될 수 있다. 일예로, 본 발명의 펩티도미메틱 화합물은 dTCTP와 그의 수용체 간의 상호작용을 억제함으로써 완화, 개선, 예방, 억제 또는 치료가 가능한 모든 알레르기성 질환들 에 대한 의약 용도로 적용될 수 있다. 다른 일예로, 본 발명의 펩티도미메틱 화합물은 IL-8, IL-5 등을 포함하는 사이토카인 및 히스타민의 분비를 억제함으로써 완화, 개선, 예방, 억제 또는 치료가 가능한 모든 알레르기성 질환들에 대하여 치료적 목적으로 사용될 수 있다.

[0109] 구체적으로, 상기 알레르기성 질환은 천식, 비염, 담마진, 아나필락시스, 알레르기성 기관지 확장증, 알레르기성 결막염, 두드러기 또는 아토피성 피부염일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니며, dTCTP와 그의 수용체 간의 상호작용, 또는 IL-8, IL-5 등을 포함하는 사이토카인 및 히스타민의 분비에 의해 유도될 수 있는 모든 알레르기성 질환이 본 발명의 범위에 포함된다.

[0110] 또한, 본 발명의 약학 조성물은 아동, 청소년 및 성인에게 투여될 수 있으며, 경구 및 비경구 투여 경로 모두 가능하다. 바람직하게는 비경구 투여될 수 있다.

[0111] 본 발명에서 용어, "투여"는 어떠한 적절한 방법으로 질환의 치료를 필요로하는 개체에게 본 발명의 약학 조성물을 도입하는 것을 의미하며, 본 발명의 조성물의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 경구 또는 비경구의 다양한 경로를 통하여 투여될 수 있다.

[0112] 본 명세서에서 사용된 용어 "약학적 유효량"은 목적하는 약학적 효과가 얻어질 수 있는 유효성분의 양을 의미하며, 경우에 따라서는 목적하는 약학적 효과 발휘를 위한 약학 조성물 내의 유효성분의 농도 또는 투여량을 의미할 수 있다.

[0113] 본 발명의 목적상, 특정 환자에 대한 구체적인 약학적 유효량은 달성하고자 하는 반응의 종류와 정도, 경우에 따라 다른 제제가 사용되는지의 여부를 비롯한 구체적 조성물, 환자의 연령, 체중, 일반 건강 상태, 성별 및 식이, 투여 시간, 투여 경로 및 조성물의 분비율, 치료 기간, 구체적 조성물과 함께 사용되거나 동시 사용되는 약물을 비롯한 다양한 인자와 의약 분야에 잘 알려진 유사 인자에 따라 다르게 적용하는 것이 바람직하다.

[0114] 또한, 비경구 투여로서, 주사용 제형으로는 등장성 수용액 또는 현탁액 등이 있으며, 적합한 분산제 또는 습윤제 및 현탁화제를 사용하여 당업계에 공지된 기술에 따라 제조할 수 있다. 예를 들면, 각 성분을 식염수 또는 완충액에 용해시켜 주사용으로 제형화 할 수 있다. 또한, 경구 투여용 제형으로는 이에 한정되지는 않으나, 분말, 과립, 정제, 환약, 에멀젼, 시럽 및 캡슐 등이 있다.

[0115] 또한, 본 발명의 알레르기 질환의 예방 또는 치료용 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체를 더 포함할 수 있다.

[0116] 본 발명에서 용어, "약학적으로 허용가능한 담체"란 생물체를 상당히 자극하지 않고 투여 화합물의 생물학적 활성 및 특성을 저해하지 않는 담체 또는 희석제를 말한다. 약학적으로 허용되는 담체로는 예를 들면, 락토스, 전분, 셀룰로스 유도체, 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산 등과 같은 경구 투여용 담체, 및 물, 적합한 오일, 식염수, 수성 글루코스 및 글리콜 등과 같은 비경구 투여용 담체 등이 있다. 이러한 약학적으로 허용 가능한 담체는 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 덱스트로즈 용액, 말토 덱스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분 또는 1 성분 이상을 혼합하여 사용할 수 있으며, 필요에 따라 부형제로서 안정화제, 보존제, 항산화제, 완충액 및 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다.

발명의 효과

[0117] 본 발명의 펩티도미메틱 화합물은 IL-8, IL-5 등을 포함하는 사이토카인 및 히스타민의 분비를 억제하는 등 알레르기 동물 모델에서 우수한 항알레르기 효과를 나타내며, 종래의 증상회복 위주의 치료와 달리 알레르기를 유발하는 경로를 차단함으로써 다양한 부작용을 제거할 수 있어 보다 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0118] 도 1은 펩티도미메틱 화합물을 합성하기 위한 단계적 모식도를 나타낸 것이다.

도 2는 HPLC로 확인한 Mtt 보호기의 선택적 제거를 나타낸 것이다.

도 3은 제조예 3을 통해 제조된 화합물을 Dpr site 를 중심으로 NH2 말단의 테트라머(tetramer) 와 COOH 말단의 테트라머(tetramer), 2개의 부분으로 나누는 모식도를 나타낸 것이다.

도 4는 제조예 3을 통해 제조된 화합물 중, dTBP2 보다 효과적으로 나온 화합물 총 15종을 선정하여 나타낸 것이다.

도 5는 제조예 2에서 제조한 화합물의 인터루킨-8 분비 억제 정도를 나타낸 것이다.

도 6은 제조예 3에서 제조한 화합물의 인터루킨-8 분비 억제 정도를 나타낸 것이다.

도 7은 제조예 4에서 제조한 화합물과 제조예 5에서 제조한 화합물 사이의 상대적인 활성을 비교한 것이다.

도 8은 제조예 6에서 제조한 화합물의 인터루킨-8 분비 억제 정도를 나타낸 것이다.

도 9는 제조예 2를 통하여 제조된 화합물의 in situ 경합측정(competition assay) 결과를 나타낸 것이다.

도 10A는 dTBP2를 처리한 경우 증상점수(symptom score)가 감소한 것을 나타낸 것이며, 도 10B는 dTBP2를 처리한 경우의 호산구 변화를 나타낸 것이다.

도 11은 122, 123 및 129번 화합물을 처리하고, 기관지 폐포세척액 검사 (bronchoalveolar lavage fluid) 에서 인터루킨-5의 분비가 억제되는 것을 나타낸 것이다.

도 12는 122, 123 및 129번 화합물을 처리하고, Periodic Acid-Schiff (PAS) 시약으로 염색하여 폐 조직의 점막두께를 관찰한 것이다.

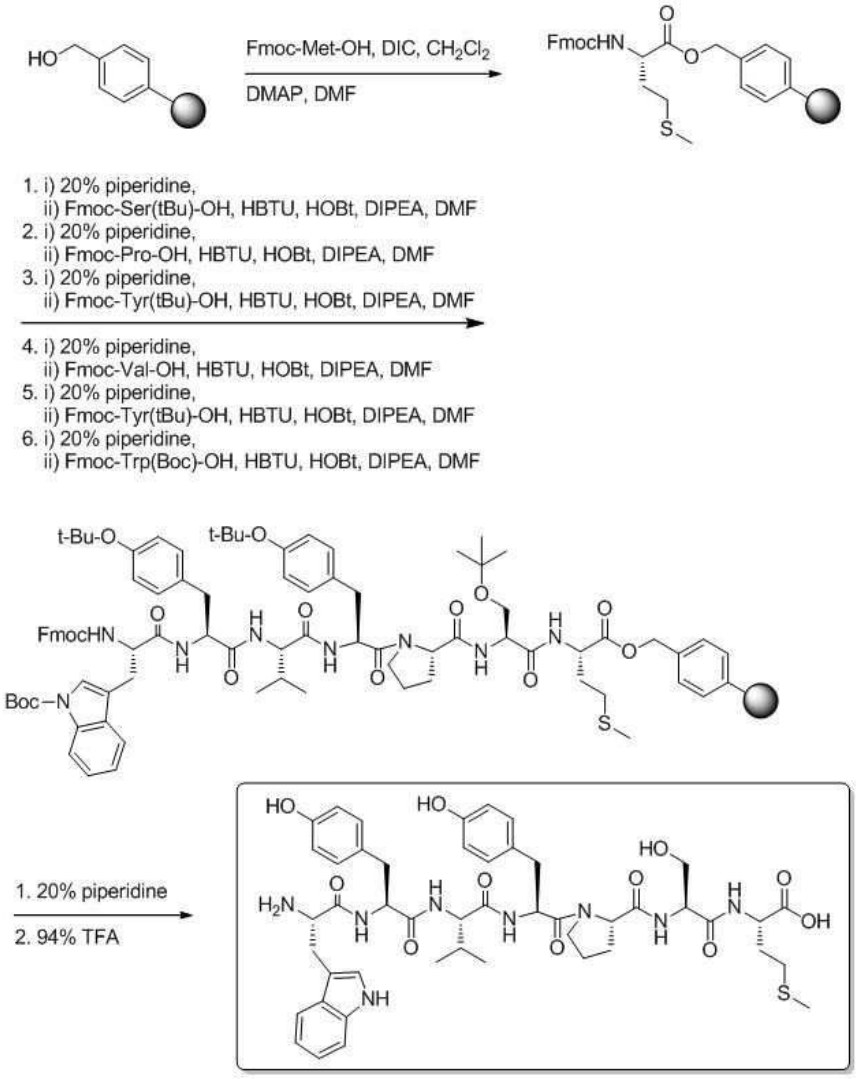
도 13은 97 및 121번 화합물을 처리하고, 기관지 폐포세척액 검사 (bronchoalveolar lavage fluid) 에서 인터루킨-5의 분비가 억제되는 것을 나타낸 것이다.

도 14는 97 및 121번 화합물을 처리하고, 폐 조직의 점막을 Hematoxylin and eosin (H&E) 시약으로 염색하여 변화를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0119] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명이 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0120] 제조예 1. Trp-Tyr-Val-Tyr-Pro-Ser-Met 서열로 이루어진 펩타이드 (dTBP2)의 합성



[0121]

[0122] 1-1. 왕 레진 (Wang Resin)LL 에서의 Fmoc-Met-OH 로딩(loading)

[0123] 필터가 설치된 20 mL TORVIQ PP 시린지(syringe)에 왕 레진(Wang resin) LL (100-200 mesh, 300 mg, 0.44 mmol/g, 0.13 mmol)을 넣고 무수 다이메틸포름아마이드(dimethylformamide, DMF)를 넣어 30분간 팽윤시킨 후 배수하였다.

[0124] Fmoc(Fluorenylmethyloxycarbonyl chloride)-Met-OH (10.0 당량, 483.0 mg, 1.3 mmol)을 50 mL pear형 플라스크(flask)에 넣고 아르곤 가스로 치환한 후, 무수 다이클로로메탄(CH_2Cl_2) (7 mL)와 무수 다이메틸포름아마이드 (DMF, 약 20방울)를 첨가하였다. DIC (5.0 당량, 0.1 mL, 0.65 mmol)를 상기 혼합물에 첨가한 후 0℃에서 20분간 교반하였다. 상온에서 감압 증류한 후 남은 현탁액(suspension)을 최소량의 무수 DMF (7.0 mL)에 녹이고, DMAP (0.1 당량, 1.6 mg, 0.013 mmol)을 무수 DMF (0.1 mL)에 녹여서 두 용액을 순서대로 팽윤시킨 레진에 첨가하여 상온에서 1시간 동안 회전형 진탕기(orbital shaker, 130 r.p.m.)를 사용하여 혼합하고 용매를 배수한 후 무수 다이메틸포름아마이드(DMF), 이소프로필알콜(iPrOH) 및 무수 다이클로로메탄(CH_2Cl_2)으로 세척하였다(각각 10 mL > 1 min >3). UV 분광측정(Spectrometry)을 이용하여 standard Fmoc 정량(quantification)을 실시하여 로딩량을 확인하였다 (99.9%).

[0125] 1-2. Fmoc-base solid phase peptide synthesis (SPPS)

[0126] Fmoc(Fluorenylmethyloxycarbonyl chloride) 그룹을 제거하기 위해 상기 레진(300 mg, 0.13 mmol)을 무수 DMF

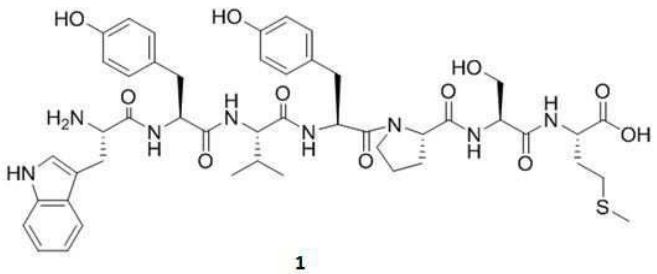
에 30분간 팽윤시킨 후, 20% 피페리딘(piperidine)/무수 DMF (6.0 mL, resin 100 mg당 2 mL)를 첨가하여 10분간 상온에서 회전형 진탕기(orbital shaker, 130 r.p.m.)를 사용하여 혼합하고 용매를 배수한 후 DMF, iPrOH와 CH_2Cl_2으로 세척하였다 (10 mL > 1 min >3). 30분간 흡출기(aspirator)를 사용하여 건조시킨 후 카이저 테스트(Kaiser test)를 이용하여 반응이 완결되었음을 확인하였다. 세린(Serine)을 메티오닌(Methionine)과 커플링 시키기 위해, HBTU(o-(benzotriazol-1-yl)-N,N,N′ ,N′ -tetramethyluronium hexafluorophosphate) (8.0 당량, 394.5 mg, 1.04 mmol), HOBt(Hydroxybenzotriazole).H_2O (8.0 당량, 159.3 mg, 1.04 mmol), Fmoc-Ser(tBu)-OH (8.0 당량, 398.8 mg, 1.04 mmol)와 DIPEA (8.0 당량, 0.18 mL, 1.04 mmol)를 무수 DMF (6.0 mL)에 녹인 후 3분간 교반하여, DMF에 30분간 팽윤시킨 레진(300 mg, 0.13 mmol)에 첨가한 후 회전형 진탕기(orbital shaker, 130 r.p.m.)를 사용하여 2시간 동안 혼합시켰다. 2 시간 경과 후, 용매를 배수하고 DMF, iPrOH와 CH_2Cl_2으로 세척하였다 (각각 10 mL > 1min > 3). 30분간 흡출기(aspirator)를 이용하여 건조시킨 후 카이저 테스트를 이용하여 반응이 완결되었음을 확인하였다.

[0127] 상기 보호기 제거 및 커플링 방법으로, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Tyr(tBu)-OH, Fmoc-Val-OH, Fmoc-Tyr(tBu)-OH, 그리고 Fmoc-Trp(Boc)-OH을 순서대로 커플링 하여 dTBP2, Trp-Tyr-Val-Tyr-Pro-Ser-Met을 합성하였다. 프롤린(Proline)의 보호기인 Fmoc 그룹을 제거했을 때와 프롤린에 타이로신(tyrosine)을 커플링 하였을 때에는 클로라닐 테스트(Chloranil test)로 반응이 완결되었음을 확인하였다.

[0128] <u>1-3. 절단(Cleavage)</u>

[0129] 상기 1-2에서 만들어진 펩타이드 (30 mg, 0.013 mmol) 를 1 mL Micro Bio-Spin chromatography column 에 넣은 후, 20% piperidine/무수 DMF (0.6 mL)를 사용하여 Fmoc 그룹을 제거하고, 가스를 제거한 94% TFA(trifluoroacetic acid) cocktail (TFA:H_2O:EDT:TIS, 94%:2.5%:2.5%:1%, 0.6 mL)를 첨가하여 상온에서 1시간 동안 반응시킨 후 여과하여 여액을 받았다. 레진을 다시 TFA 용액으로 세척하여 (0.3 mL > 2) 그 여액을 받았다. 위 여액들을 합하여 증발기(evaporator)를 이용하여 TFA를 제거한 후, 차가운 에테르(ether)를 사용하여 3회 디캔테이션(decantation)하였다. 이때 생성된 화합물의 손실을 막기 위해 원심 분리기를 이용하였으며, 건조시킨 후 semi-preparative HPLC (binary solvent system, solvent A: 0.1% TFA/H_2O, solvent B: 0.1% TFA/CH_3CN, 5-73% B over 30 min)를 이용하여 분리하고 동결 건조한 후 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0130] Trp-Tyr-Val-Tyr-Pro-Ser-Met (dTBP2)



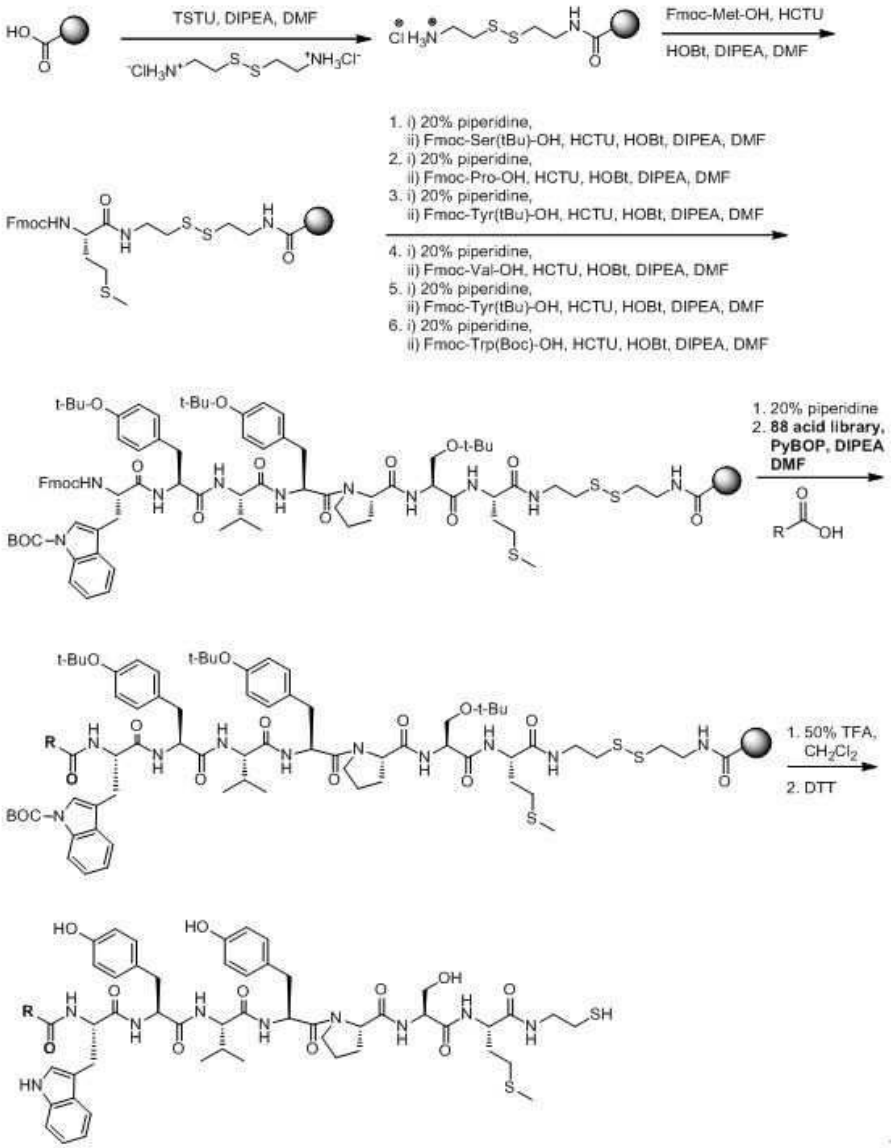
[0131]

[0132] 99.9% purity. R_t 19.9 min. MALDI m/z calculated for $C_{47}H_{61}N_8O_{11}S^+$ $[M+H]^+$ 945.42, found 945.58.

[0133] <u>제조예 2. Acyl-Trp-Tyr-Val-Tyr-Pro-Ser-Met의 합성</u>

[0134] 결합 부위에 있어, NH_2 말단과 중앙에 위치한 타이로신(tyrosine) 주변의 공간을 확인하기 위해 산 라이브러리(acid library)를 만들어서, NH_2 말단을 아실화한 후 in situ로 스크리닝 하였고, 합성 방법으로는 solid phase protocol을 사용하였다. HOOC-TentaGel resin과 dTBP2는 S-S linker로 연결하여 합성하였고, 이러한 방법은 S-

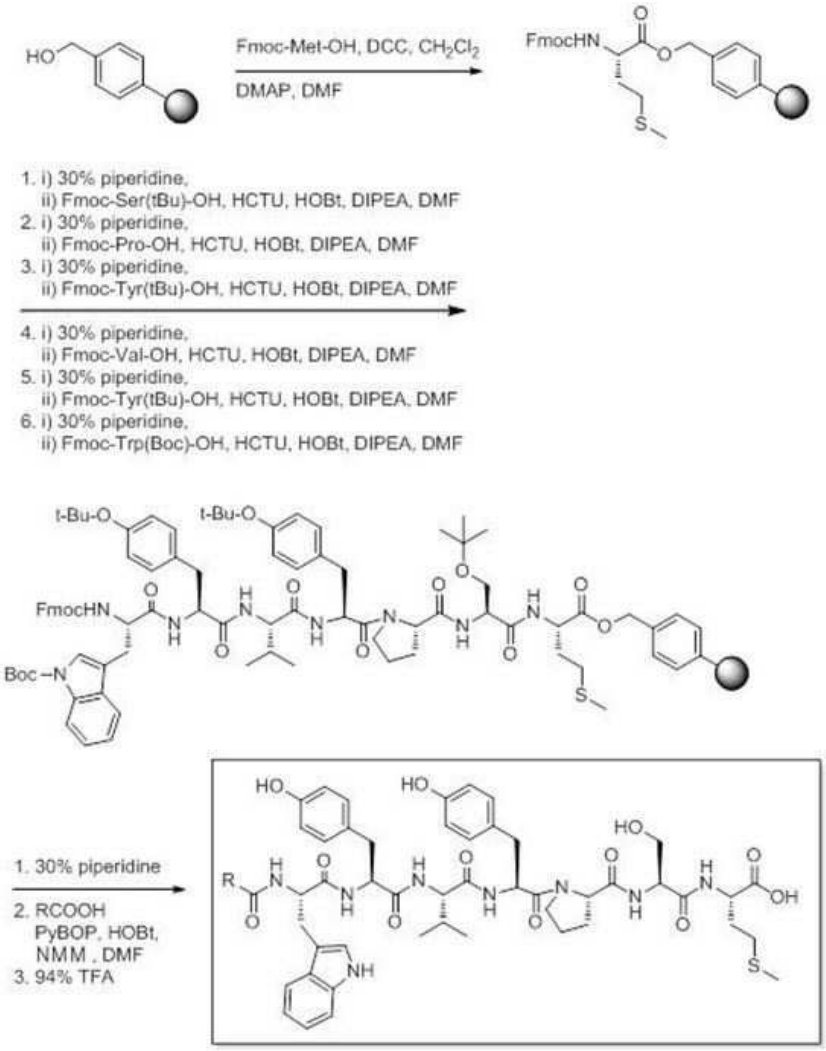
S linker 가 DTT-Tris (Dithiothreitol-Tris(2-carboxyethyl)phosphine HCl) 버퍼로 쉽게 끊어지고 또한 정제 과정 없이 바로 스크리닝(screening) 할 수 있기 때문에 유용하고 효과적인 실험 방법이다. 상기 방법을 이용하여 88 개의 NH_2 말단이 아실화된 펩티도미메틱 화합물들을 96 웰-필터플레이트(filter plate) 에서 아래와 같이 합성하였다.



[0135]

[0136] 상기와 같은 합성에 의해 제조된 화합물의 COOH 말단에는 S-S 결합이 끊어진 후 $NHCH_2CH_2SH$ 가 붙어있고 또한 cleavage cocktail과 혼합된 상태로 측정했기 때문에, 화합물에 대한 확인이 필요했다. 그리하여 경합측정(competition assay)의 결과를 토대로, 화합물 4개를 선정하여 $NHCH_2CH_2SH$ 가 붙어있지 않게 하는 방법으로, 즉 Fmoc-based solid phase peptide synthesis (SPPS) 프로토콜에 따라 개별적으로 재합성하여 정제하였다.

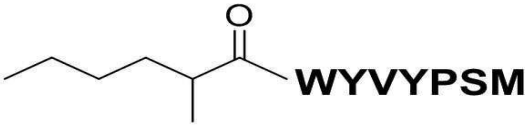
[0137] 고체 지지대(Solid support) 로서, 폴리스티렌 상의 왕 레진 LL(Wang resin LL on polystyrene)을 선택하였고, 다이클로로메탄(dichloromethane, DCC)을 사용하여 Fmoc-Met-OH 을 Fomc-methionine 무수물(anhydride)로 만든 후, DMAP(4-dimethlyaminopyridin)을 촉매로 한 에스터화로 Fmoc-methionine 을 왕 레진(Wang resin)에 로딩하였다.



[0138]

[0139] 이어서, 1H-Benzotriazolium 1-[bis(dimethylamino)methylene]-5chloro-,hexafluorophosphate (1-),3-oxide (HCTU) 를 이용하여 dTBP2의 나머지 아미노산들을 순차적으로 붙여나갔으며, 각각의 커플링 전에 30% 피페리딘 ㅇ으을ri 포함하는 DMF를 사용하여 Fmoc 보호기를 제거하였다. Fmoc 보호기의 제거와 아미노산 커플링 반응이 잘 진행되었는지를, 매 단계마다 카이저 테스트 또는 클로라닐 테스트로 확인하였다. 4개의 산들(isonicotinic acid, 2-methylhexanoic acid, α-cyano-4-hydroxy cinnamic acid,및 5-nitro-3-pyrazolecarboxylic acid) 의 커플링 반응에는 benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphonium hexafluorophosphate (PyBOP) 을 이용하였으며, 1,2-ethanedithiol 및 triisopropylsilane (TIS) 을 함유하는 94% TFA 를 사용하여 아미노산 잔기들의 보호기 (side-chain protecting 그룹) 들과 왕 레진(Wang resin) 을 제거하였다. 마지막으로 HPLC 를 사용하여 분석하고 (analysis) 분리한 (purification) 후, 동결 건조하여 MALDI-TOF 로 물질을 확인하였다.

[0140] <u>2-1. 2-메틸헥사노일- 트립토판-타이로신-발린-타이로신-프롤린-세린-메티오닌(2-Methylhexanoyl-Trp-Tyr-Val-Tyr-Pro-Ser-Met)의 합성</u>

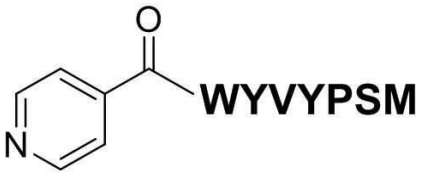


2

[0141]

[0142] 상기 제조예 1의 dTBP2와 동일한 방법으로 Trp-Tyr-Val-Tyr-Pro-Ser-Met을 고체상으로 합성한 후, 펩타이드-레진(50 mg, 0.022 mmol) 를 30% piperidine/무수 DMF (1.0 mL)를 사용하여 Fmoc 그룹을 제거하고, PyBOP (10.0 당량, 114.5 mg, 0.22 mmol), HOBt.H_2O (10.0 당량, 33.7 mg, 0.22 mmol), 2-Methylhexanoic acid **(10.0 당량, 28.6 mg, 0.22 mmol)** 와 NMM (20 당량, 48.4 uL, 0.44 mmol)를 무수 DMF (0.6 mL)에 녹인 후 3분간 교반하여, DMF에 30분간 팽윤시킨 resin (500 mg, 0.22 mmol)에 첨가한 후 orbital shaker (130 r.p.m.)를 사용하여 2시간 동안 혼합시켰다. 2 시간 경과 후, 2-Methylhexanoic acid 를 커플링 하였다. 이렇게 만들어진 레진 (50 mg, 0.022 mmol)을 필터가 설치된 3 mL TORVIQ PP syringe에 넣은 후, degassed 94% TFA cocktail (TFA:H_2O:EDT:TIS, 94%:2.5%:2.5%:1%, 1.0 mL)를 첨가하여 상온에서 1시간 동안 반응시킨 후 여과하여 여액을 받았다. Resin을 다시 TFA 용액으로 세척하여(0.5 m > 2) 그 여액을 받았다. 위 여액들을 합하여 evaporator를 이용하여 TFA를 제거한 후, 차가운 에테르를 사용하여 3회 데칸테이션(decantation)하였다. 이때 생성된 화합물의 손실을 막기 위해 원심 분리기를 이용하였으며, 건조시킨 후 semi-preparative HPLC (binary solvent system, solvent A: 0.1% TFA/H_2O, solvent B: 0.1% TFA/CH_3CN, 5-100% B over 30 min)를 이용하여 분리하고 동결 건조한 후 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다 (84.1% Purity. R_t 20.5 min. MALDI m/z calcd for $C_{54}H_{72}N_8NaO_{12}S^+$ $[M+Na]^+$ 1079.49, found 1079.50.).

[0143] <u>2-2. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-타이로신-프롤린-세린-메티오닌(Isonicotinyl-Trp- Tyr-Val-Tyr-Pro-Ser-Met) 의 합성</u>

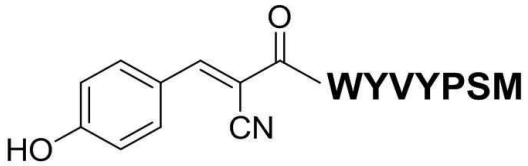


3

[0144]

[0145] 상기 2-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 산(acid)으로 이소니코티닉산(isonicotinic acid)을 사용하여 커플링 하였으며, 합성 후 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다 (94.3% Purity. R_t 15.9 min. MALDI m/z calculated for $C_{53}H_{63}N_9NaO_{12}S^+$ $[M+Na]^+$ 1072.42, found 1072.41.).

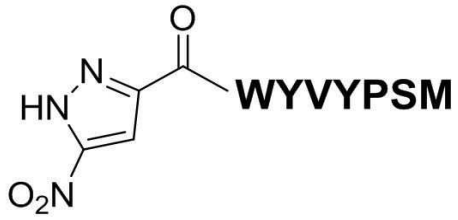
[0146] <u>2-3. 알파-시아노-4-하이드록시신나밀- 트립토판-타이로신-발린-타이로신-프롤린-세린-메티오닌(α-Cyano-4-hydroxycinnamyl-Trp-Tyr-Val-Tyr-Pro-Ser-Met) 의 합성</u>



[0147] **4**

[0148] 상기 2-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 산(acid)으로 알파-시아노-4-하이드록시신남산(α-Cyano-4-hydroxycinnamic acid)을 사용하여 커플링 하였으며, 합성 후 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다 (99.2 % Purity. R_t 19.3 min. MALDI m/z calculated for $C_{57}H_{65}N_9NaO_{13}S^+$ $[M+Na]^+$ 1138.43, found 1138.37.).

[0149] <u>2-4. 5-니트로-3-피라졸카복실일-- 트립토판-타이로신-발린-타이로신-프롤린-세린-메티오닌(5-Nitro-3-pyrazolecarboxylyl-Trp-Tyr-Val-Tyr-Pro-Ser-Met)의 합성</u>



[0150] **5**

[0151] 상기 2-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 산(acid)으로 5-니트로-3-피라졸카복실산(5-nitro-3-pyrazolecarboxylic acid)을 사용하여 커플링 하였으며, 합성 후 질량분석계(mass spectometry, MS)로 화합물을 확인하였다 (85.3% Purity. R_t 19.0 min. MALDI m/z calculated for $C_{51}H_{61}N_{11}NaO_{14}S^+$ $[M+Na]^+$ 1106.41, found 1106.40.).

[0152] <u>제조예 3. Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(acyl)-Pro-Ser-Met의 합성</u>

[0153] NH_2 말단의 추가 바인더(binder)를 확인한 후, 알라닌 스캐닝 돌연변이유발(alanine scanning mutagenesis) 의 결과에 따라 약한 결합력을 갖는 타이로신(tyrosine) 부분에 변화를 주었다. 결합력을 높이기 위해 타이로신(tyrosine) 위치에 링커(linker)를 도입하기로 결정하고, 이를 디아민(Diamine) 중 하나의 아민(amine)이 4-메틸트리틸(4-Methyltrityl, Mtt) 그룹으로 보호되어 있는 디아미노프로피오닉 산(Diaminopropionic acid) (Fmoc-Dpr(Mtt)-OH) 으로 바꾸었다. 4-메틸트리틸(4-Methyltrityl, Mtt) 그룹은 1% TFA를 포함하는 CH_2Cl_2 과 같은 온화한 산 조건에서 쉽게 제거될 수 있다. 제거 조건을 확립하기 위해, 동일 조건의 탈보호 과정을 5회 반복하면서 각각의 여과액에 남아있는 Mtt-OH 의 양을 HPLC 로 확인하였다(도 2). 이때 내부 표준 물질 (internal standard)로서 디부틸에테르(Butylated hydroxytoluene, BHT, 2,6-di-*tert*-butyl-4-methylphenol)를 첨가하였다. 5회 절단하였을 때, Mtt-OH 는 각각 61.7%, 28.6%, 8.5%, 1.1%, 0.1%가 제거되었음을 확인할 수 있었으며, 제거율은 내부표준(internal standard), BHT의 면적에 대한 비율로서 측정하였다 (표 2). 그 결과 1%TFA 로 3번 처리하면 아미노산 잔기들의 보호기 (protecting 그룹)들은 유지하면서 98.8%의 Mtt 그룹이 선택적으로 제거됨을 확인할 수 있었다. 이때 떨어져 나온 Mtt 그룹 의 양이온(cation)을 안정화하기 위해 1% TFA 용액에 TIS (triisopropylsilane. Sigma-Aldrich)를 넣어주었다.

표 2

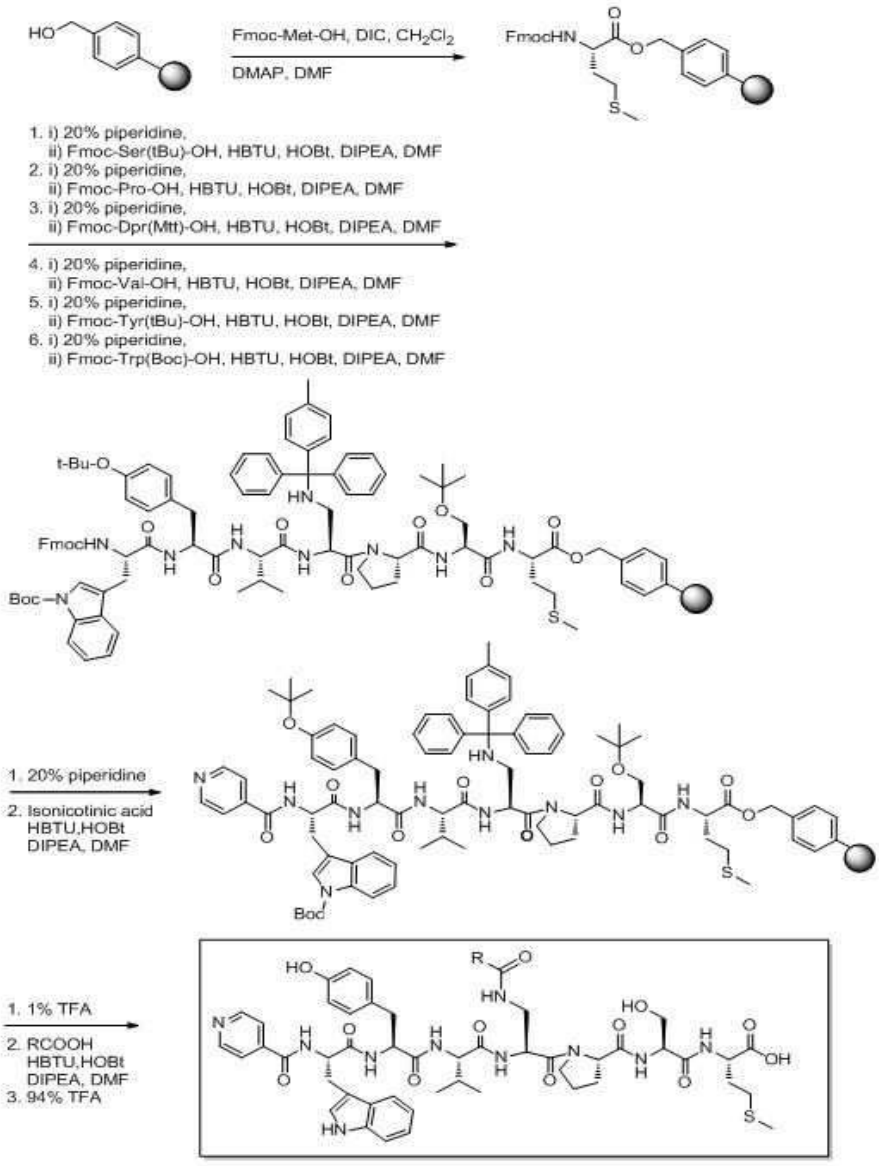
	Mtt-OH[a]	Internal STD (BHT)	% of Removed Mtt-OH
1st	3.97	1	**61.7%**
2nd	1.84	1	**28.6%**
3rd	0.55	1	**8.5%**
4th	0.07	1	1.1%
5th	0.005	1	0.1%
total	6.44		100.0%

[a] Intergration was calculated based on internal standard (BHT)

[0154]

[0155] Mtt 보호기의 선택적 제거 방법을 확립한 후, 왕 레진(Wang resin) 을 이용한 Fmoc-based SPPS 방법으로 합성하였다. 생산성을 높이기 위해 일부 실험 조건, 즉 커플링 반응물, 이들의 당량 및 반응 시간 등을 조정하였다. 특히 HCTU 또는 PyBOP 대신에 HBTU 사용하였는데, HBTU를 사용하였을 때 부산물이 적게 생기는 것을 HPLC 시스템 상에서 확인할 수 있었기 때문이다.

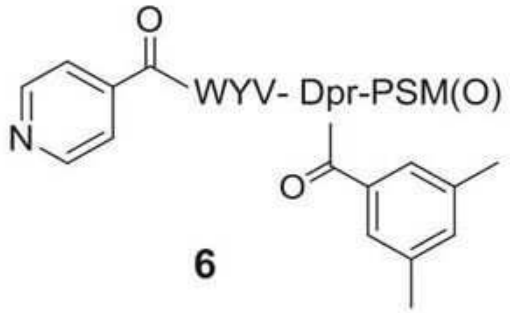
[0156] 메티오닌(Met), 세린(Ser), 프롤린(Pro), Fmoc-Dpr(Mtt)-OH, 발린(Val),타이로신(Tyr), 트립토판(Trp) 및 이소니코티닉산(isonicotinic acid) 8개의 잔기들을 순차적으로 왕 레진(Wang resin)에 로딩(loading)한 후, Dpr 잔기의 Mtt 그룹을 1% TFA & 5% TIS 가 포함된 CH_2Cl_2 로 처리하여 제거하고, 보호기가 제거된 아민을 44개의 산으로 아실화하였다. 이어서 펩타이드의 모든 보호기와 레진을 94% TFA로 처리하여 제거한 후, 합성된 화합물들을 HPLC 로 분석하였다. HPLC 상에서 두 개의 피크(peak)가 관찰되었고, MALDI-TOF 로 확인한 결과, 앞의 피크는 메티오닌의 황이 산화된 화합물의 것이고, 뒤의 피크는 산화되지 않은 화합물이었다.



[0157]

[0158] 상기와 같은 방법으로 모두 82개의 화합물을 합성하였으며(6 내지 87), 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였고, 일부 화합물에 대해서는 ^{1}H NMR를 이용하여 추가로 확인하였다.

[0159] <u>3-1. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(3,5-디메틸벤조일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(3,5-dimethylbenzoyl)- Pro-Ser-Met(O))</u>



6

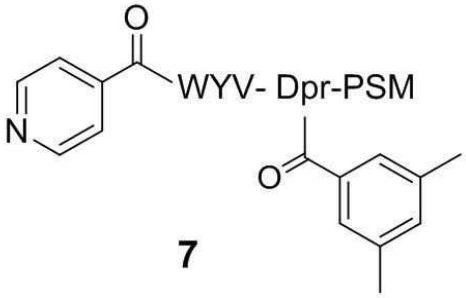
[0160]

[0161] 제조예 1의 dTBP2 합성과 동일한 방법으로 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(3,5-디메틸벤조일)-프롤린-세린-메티오닌을 고체상으로 합성한 후, Diaminopropionic acid 의 보호기를 제거하기 위해 필터가 설치된 1 mL Micro Bio-Spin chromatography column에 resin (25mg, 0.011 mmol)을 넣고 CH_2Cl_2 에 30분간 팽윤시킨 후, 아르곤 가스 압력을 이용하여 CH_2Cl_2 을 제거하고, 여기에 가스를 제거한 1% TFA (TFA:TIS:DCM, 1:5:94, 0.66 mL)를 첨가한 후 2분간 회전형 진탕기(orbital shaker, 130 r.p.m.)를 사용하여 혼합하고, 아르곤 가스 압력을 이용하여 1% TFA 용액을 제거하였으며, 이 과정을 3회 반복하였다. 반응이 끝난 레진을 CH_2Cl_2으로 3회, 무수 DMF로 1회 세척한 후, 무수 DMF로 30분간 팽윤시켰다.

[0162] 디아미노프로피오닉 산(Diaminopropionic acid) 의 Mtt 그룹이 제거된 아민에 3,5-디메틸벤조산(3,5-dimethylbenzoic acid)을 커플링 시키기 위해, HBTU (8.0 당량, 33.4 mg, 0.088 mmol), HOBt.H_2O (8.0 당량, 13.5 mg, 0.088 mmol), 3,5-디메틸벤조산(3,5-dimethylbenzoic acid) (8.0 당량, 13.2 mg, 0.088mmol), DIPEA (8.0 당량, 15.4μL, 0.088 mmol)와 무수 DMF (0.5 mL)혼합액을 사용하여 제조예 1-2 방법에 따라 커플링 하였다. 이렇게 만들어진 펩타이드 (25 mg, 0.011 mmol)에 가스를 제거한 94% TFA cocktail (0.5 mL)를 첨가하여 상온에서 1시간 동안 혼합한 후 여과하여 여액을 받고, 다시 TFA (0.3 mL > 2)로 세척하여 그 여액을 받았다. 위 여액들을 합하여 evaporator를 이용하여 TFA를 제거한 후, cold ether를 사용하여 3회 decantation하였다. 이 때 생성된 화합물의 손실을 막기 위해 원심 분리기를 이용하였으며, 고압건조 후 semi-preparative HPLC (binary solvent system, solvent A: 0.1% TFA/H_2O, solvent B: 0.1% TFA/CH_3CN, 5-100% B over 42 min)를 이용하여 분리 및 정제하고 동결 건조한 후 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였고, ^{1}H NMR를 이용하여 추가로 확인하였다.

[0163] 97.0% Purity. R_t 22.6 min. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 10.73 (d, 1H, J = 2.0), 9.10 (s, 1H), 8.78 (d, 1H, J = 8.4), 8.67 (dd, 2H, J = 4.4, J = 1.6), 8.33 (t, 1H, J = 6.0), 8.21 (d, 2H, J = 8.0), 8.06 (dd, 1H, J = 7.6, J = 3.6), 8.00 (dd, 1H, J = 7.6, J = 3.2), 7.80 (d, 1H, J = 8.4), 7.65 (d, 1H, J = 8.0), 7.63 (dd, 2H, J = 4.4, J = 1.6), 7.45 (s, 2H), 7.29 (d, 1H, J = 8.0), 7.14 (d, 1H, J = 2.0), 7.13 (s, 1H), 7.03 (t, 1H, J = 8.0), 7.01 (d, 2H, J = 8.4), 6.95 (t, 1H, J = 8.0), 6.57 (d, 2H, J = 8.4), 4.75-4.67 (m, 2H), 4.52 (td, 1H, J = 8.4, J = 4.0), 4.42 (m, 1H), 4.31-4.25 (m, 2H), 4.21 (dd, 1H, J = 8.4, J = 7.2), 3.68-3.54 (m, 4H), 3.47 (m, 1H), 3.38-3.23 (m, 2H), 3.15 (dd, 1H, J = 14.4, J = 4.0), 3.05 (dd, 1H, J = 14.4, J = 10.4), 2.91 (dd, 1H, J = 13.6, J = 4.0), 2.80-2.57 (m, 3H), 2.51 (s, 3H), 2.27 (s, 6H), 2.13-1.86 (m, 5H), 1.84-1.79 (m, 2H), 0.84 (d, 3H, J = 6.8), 0.81 (d, 3H, J = 6.8). MALDI m/z calculated for $C_{56}H_{68}N_{10}NaO_{13}S^+$ $[M+Na]^+$ 1143.46, found 1143.43.

[0164] <u>3-2. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(3,5-디메틸벤조일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(3,5-dimethylbenzoyl)- Pro-Ser-Met)</u>



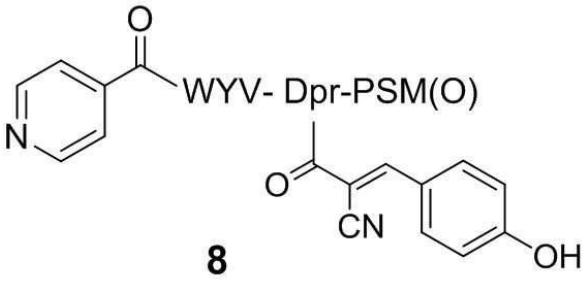
7

[0165]

[0166] 상기 3-1과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였고, ^{1}H NMR를 이용하여 추가로 확인하였다.

[0167] 98.0% Purity. R_t 24.8 min. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 12.70 (brs, 1H), 10.73 (d, 1H, J = 2.0), 9.10 (brs, 1H), 8.82 (d, 1H, J = 8.8), 8.70 (d, 2H, J = 5.6), 8.32 (t, 1H, J = 6.4), 8.22 (d, 1H, J = 8.0), 8.20 (d, 1H, J = 6.8), 8.08 (d, 1H, J = 8.0), 7.93 (d, 1H, J = 8.0), 7.79 (d, 1H, J = 8.4), 7.68 (dd, 2H, J = 5.6, J = 1.6), 7.66 (d, 1H, J = 8.0), 7.45 (s, 2H), 7.29 (d, 1H, J = 8.0), 7.14 (d, 1H, J = 2.0), 7.13 (s, 1H), 7.03 (t, 1H, J = 8.0), 7.01 (d, 2H, J = 8.4), 6.95 (t, 1H, J = 8.0), 6.57 (d, 2H, J = 8.4), 4.73 (m, 1H), 4.66 (q, 1H, J = 6.8), 4.52 (td, 1H, J = 8.8, J = 4.0), 4.43 (dd, 1H, J = 8.0, J = 4.0), 4.34-4.28 (m, 2H), 4.20 (dd, 1H, J = 8.4, J = 7.2), 3.63-3.43 (m, 7H), 3.16 (dd, 1H, J = 14.8, J = 4.0), 3.05 (dd, 1H, J = 14.8, J = 10.8), 2.91 (dd, 1H, J = 14.0, J = 4.0), 2.72 (dd, 1H, J = 14.0, J = 9.6), 2.52-2.38 (m, 2H), 2.27 (s, 6H), 2.07-1.75 (m, 7H), 2.00 (s, 3H), 0.84 (d, 3H, J = 6.8), 0.82 (d, 3H, J = 6.8). MALDI m/z calculated for $C_{56}H_{68}N_{10}NaO_{12}S^{+}$ $[M+Na]^{+}$ 1127.46, found 1127.43.

[0168] <u>3-3. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(알파-시아노-4-하이드록시신나밀)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr (α-cyano -4-hydroxycinnamyl)-Pro-Ser-Met(O))</u>



8

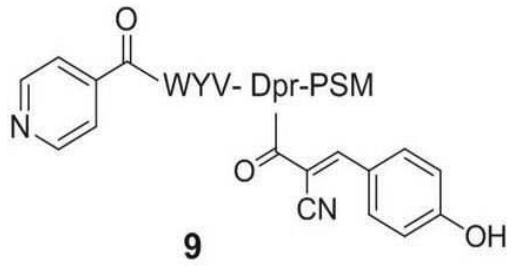
[0169]

[0170] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 알파-시아노-4-하이드록시신남산(α-cyano-4-hydroxycinnamic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였고, ^{1}H NMR를 이용하여 추가로 확인하였다.

[0171] 99.9% Purity. R_t 17.2 min. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 12.84 (brs, 1H), 10.73 (s, 1H), 10.59 (brs, 1H), 9.10 (brs, 1H), 8.80 (d, 1H, J = 8.4), 8.69 (dd, 2H, J = 4.4, J = 1.6), 8.28-8.22 (m, 2H), 8.19 (d, 1H, J = 6.8), 8.10 (s, 1H), 8.05-8.01 (m, 2H), 7.86 (d, 2H, J = 8.8), 7.80 (d, 1H, J = 8.8), 7.67 (dd, 2H, J = 4.4, J = 1.6), 7.65 (d, 1H, J = 8.0), 7.29 (d, 1H, J = 8.0), 7.14 (d, 1H, J = 2.0), 7.04 (t, 1H, J = 8.0), 7.03 (d, 2H, J = 8.0), 6.95 (t, 1H, J = 8.0), 6.91 (d, 2H, J = 8.8), 6.56 (d, 2H, J = 8.0), 4.75-4.65 (m, 2H), 4.52 (td, 1H, J = 8.4, J = 4.0), 4.42-4.32 (m, 2H), 4.28-4.18 (m, 2H), 3.64-3.45 (m, 7H), 3.15 (dd, 1H, J = 14.4, J = 4.0), 3.05 (m, 1H), 2.93 (dd, 1H, J = 14.4, J = 4.0), 2.80-2.60 (m, 3H), 2.53 (s, 3H), 2.15-1.75 (m, 7H), 0.85 (d, 3H, J = 6.8), 0.82 (d, 3H, J = 6.8).

MALDI m/z calculated for $C_{57}H_{65}N_{11}NaO_{14}S^{+}$ $[M+Na]^{+}$ 1182.43, found 1182.32.

[0172] 3-4. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(알파-시아노-4-하이드록시신나밀)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr (α-cyano -4-hydroxycinnamyl)-Pro-Ser-Met)



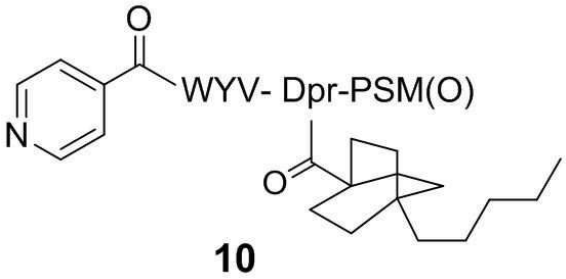
9

[0173]

[0174] 상기 3-3과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였고, ^{1}H NMR를 이용하여 추가로 확인하였다.

[0175] 99.9% Purity. R_t 19.3 min. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 12.73 (brs, 1H), 10.73 (s, 1H), 10.59 (brs, 1H), 9.10 (brs, 1H), 8.80 (d, 1H, J = 8.0), 8.69 (d, 2H, J = 4.4), 8.28-8.22 (m, 2H), 8.18 (d, 1H, J = 6.8), 8.10 (s, 1H), 8.04 (d, 1H, J = 7.6), 7.91 (d, 1H, J = 7.6), 7.86 (d, 2H, J = 8.8), 7.81 (d, 1H, J = 8.8), 7.67-7.65 (m, 3H), 7.29 (d, 1H, J = 8.0), 7.14 (d, 1H, J = 2.0), 7.04 (t, 1H, J = 8.0), 7.01 (d, 2H, J = 8.4), 6.95 (t, 1H, J = 8.0), 6.91 (d, 2H, J = 8.8), 6.57 (d, 2H, J = 8.4), 4.75-4.67 (m, 2H), 4.52 (m, 1H), 4.40 (dd, 1H, J = 8.0, J = 3.6), 4.34 (m, 1H), 4.27 (m, 1H), 4.20 (dd, 1H, J = 8.8, J = 6.8), 3.64-3.35 (m, 7H), 3.15 (dd, 1H, J = 15.2, J = 3.6), 3.05 (dd, 1H, J = 15.2, J = 10.4), 2.92 (dd, 1H, J = 14.0, J = 4.4), 2.73 (dd, 1H, J = 14.0, J = 10.4), 2.52-2.38 (m, 2H), 2.03 (s, 3H), 2.02-1.93 (m, 3H), 1.91-1.75 (m, 4H), 0.85 (d, 3H, J = 6.8), 0.82 (d, 3H, J = 6.8). MALDI m/z calculated for $C_{57}H_{65}N_{11}NaO_{13}S^{+}$ $[M+Na]^{+}$ 1166.44, found 1166.38.

[0176] 3-5. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(4-펜틸바이사이클로[2.2.2]옥테인-1-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val- Dpr(4-pentylbicyclo [2.2.2] octane-1-carboxylyl)-Pro-Ser-Met(O))



10

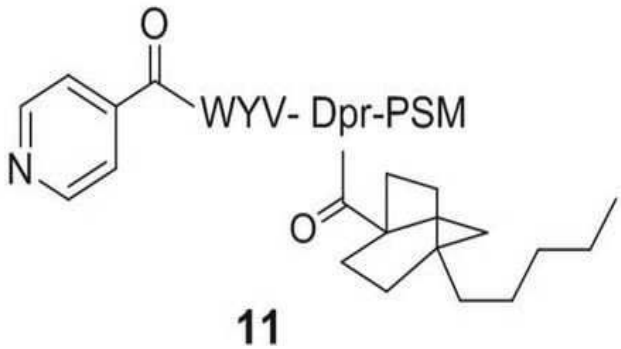
[0177]

[0178] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 4-펜틸바이사이클로[2.2.2]옥테인-1-카복실산(4-pentylbicyclo [2.2.2] octane-1-carboxylic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였고, ^{1}H NMR를 이용하여 추가로 확인하였다.

[0179] 99.9% Purity. R_t 27.2 min. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 12.86 (brs, 1H), 10.73 (s, 1H), 9.09 (brs, 1H), 8.82 (d, 1H, J = 8.4), 8.70 (dd, 2H, J = 4.4, J = 1.6), 8.23 (d, 1H, J = 8.0), 8.08 (d, 1H, J = 6.4), 8.03 (d, 1H, J = 6.4), 7.92 (dd, 1H, J = 8.0, J = 4.0), 7.79 (d, 1H, J = 8.8), 7.68 (dd, 2H, J = 4.4,

J = 1.6), 7.66 (d, 1H, *J* = 8.0), 7.29 (d, 1H, *J* = 8.0), 7.27 (t, 1H. *J* = 6.0). 7.14 (d, 1H, *J* = 2.4), 7.04 (t, 1H, *J* = 8.0), 7.03 (d, 2H, *J* = 8.4), 6.96 (t, 1H, *J* = 8.0), 6.57 (d, 2H, *J* = 8.4), 4.73 (m, 1H), 4.60-4.51 (m, 2H), 4.38-4.30 (m, 2H), 4.25 (m, 1H), 4.19 (dd, 1H, *J* = 8.8, *J* = 6.4), 3.62-3.37 (m, 7H), 3.16 (dd, 1H, *J* = 14.4, *J* = 7.6), 3.05 (dd, 1H, *J* = 14.4, *J* = 10.4), 2.93 (dd, 1H, *J* = 13.6, *J* = 4.0), 2.83-2.60 (m, 3H), 2.52 (s, 3H), 2.12 (m, 1H), 2.02-1.80 (m, 6H), 1.60-1.56 (m, 6H), 1.29-1.20 (m, 8H), 1.18-1.06 (m, 4H), 1.00-0.96 (m, 2H), 0.84 (d, 3H, *J* = 6.8), 0.83 (t, 3H, *J* = 6.8), 0.82 (d, 3H, *J* = 6.8). MALDI m/z calculated for $C_{61}H_{82}N_{10}NaO_{13}S^{+}$ $[M+Na]^{+}$ 1217.57, found 1217.38.

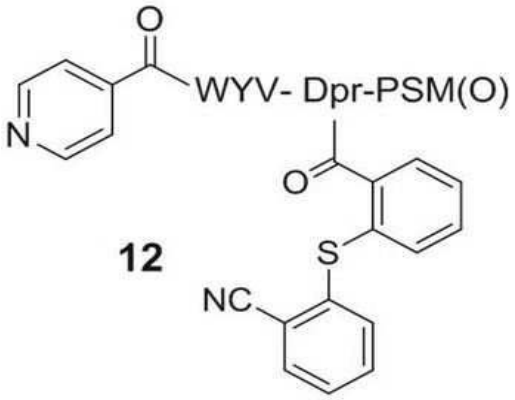
[0180] 3-6. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(4-펜틸바이사이클로[2.2.2]옥테인-1-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val- Dpr(4-pentylbicyclo [2.2.2] octane-1-carboxylyl)-Pro-Ser-Met)

[0181] 

[0182] 상기 3-5와 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였고, ^{1}H NMR를 이용하여 추가로 확인하였다.

[0183] 99.9% Purity. R_t 29.9 min. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 12.76 (brs, 1H), 10.73 (d, 1H, *J* = 2.0), 9.10 (brs, 1H), 8.81 (d, 1H, *J* = 8.0), 8.70 (dd, 2H, *J* = 4.4, *J* = 1.6), 8.23 (d, 1H, *J* = 8.0), 8.08 (d, 1H, *J* = 6.4), 7.94 (d, 2H, *J* = 8.0), 7.79 (d, 1H, *J* = 8.8), 7.68 (dd, 2H, *J* = 4.4, *J* = 1.6), 7.66 (d, 1H, *J* = 7.6), 7.29 (d, 1H, *J* = 7.6), 7.26 (t, 1H, *J* = 6.4), 7.14 (d, 1H, *J* = 2.0), 7.04 (t, 1H, *J* = 7.6), 7.03 (d, 2H, *J* = 8.8), 6.95 (t, 1H, *J* = 7.6), 6.58 (d, 2H, *J* = 8.8), 4.73 (m, 1H), 4.58-4.51 (m, 2H), 4.38-4.31 (m, 2H), 4.26 (m, 1H), 4.19 (dd, 1H, *J* = 8.4, *J* = 6.4), 3.64-3.35 (m, 7H), 3.16 (dd, 1H, *J* = 14.8, *J* = 3.2), 3.05 (dd, 1H, *J* = 14.8, *J* = 10.4), 2.93 (dd, 1H, *J* = 14.4, *J* = 3.6), 2.74 (dd, 1H, *J* = 14.4, *J* = 10.4), 2.52-2.40 (m, 2H), 2.02 (s, 3H), 2.00-1.78 (m, 7H), 1.61-1.57 (m, 6H), 1.29-1.22 (m, 8H), 1.19-1.05 (m, 4H), 1.01-0.97 (m, 2H), 0.84 (d, 3H, *J* = 6.8), 0.83 (t, 3H, *J* = 7.2), 0.82 (d, 3H, *J* = 6.8). MALDI m/z calculated for $C_{61}H_{82}N_{10}NaO_{12}S^{+}$ $[M+Na]^{+}$ 1201.57, found 1201.43.

[0184] 3-7. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-(2-시아노페닐티오)벤조일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val- Dpr(2-(2-cyanophenylthio)benzoyl)-Pro-Ser-Met(O))

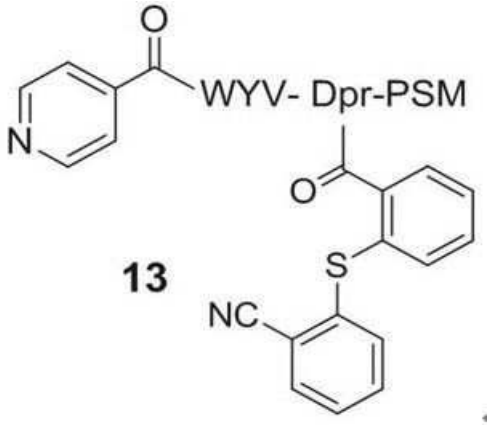


[0185]

[0186] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 2-(2-시아노페닐티오)벤조산(2-(2-cyanophenylthio)benzoic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였고, ^{1}H NMR를 이용하여 추가로 확인하였다.

[0187] 99.9% Purity. R_t 23.4 min. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 12.89 (brs, 1H), 10.73 (d, 1H, J = 2.0), 9.10 (brs, 1H), 8.83 (d, 1H, J = 8.0), 8.70 (d, 2H, J = 6.0), 8.45 (t, 1H, J = 6.0), 8.25 (d, 2H, J = 8.0), 8.05 (d, 1H, J = 8.4), 7.98 (dd, 1H, J = 8.0, J = 2.0), 7.93 (dd, 1H, J = 8.0, J = 0.8), 7.81 (d, 1H, J = 8.8), 7.68 (dd, 2H, J = 6.0, J = 2.0), 7.66-7.64 (m, 2H), 7.63 (d, 1H, J = 7.2), 7.53 (t, 1H, J = 8.0), 7.45 (dd, 1H, J = 8.0, J = 0.8), 7.39-7.32 (m, 2H), 7.29 (d, 1H, J = 8.0), 7.14 (d, 1H, J = 2.0), 7.03 (t, 1H, J = 8.0), 7.02 (d, 2H, J = 8.4), 6.97-6.93 (m, 2H), 6.58 (d, 2H, J = 8.4), 4.81-4.71 (m, 2H), 4.53 (td, 1H, J = 8.8, J = 4.0), 4.40 (m, 1H), 4.34 (m, 1H), 4.29-4.23 (m, 2H), 3.69-3.30 (m, 7H), 3.17 (dd, 1H, J = 14.8, J = 4.0), 3.06 (dd, 1H, J = 14.8, J = 10.4), 2.93 (dd, 1H, J = 14.4, J = 4.0), 2.82-2.59 (m, 3H), 2.51 (s, 3H), 2.11 (m, 1H), 2.03-1.93 (m, 3H), 1.91-1.77 (m, 3H), 0.85 (d, 3H, J = 6.8), 0.83 (d, 3H, J = 6.8). MALDI m/z calculated for $C_{61}H_{67}N_{11}NaO_{13}S^{2+}$ $[M+Na]^+$ 1248.43, found 1248.44.

[0188] <u>3-8. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-(2-시아노페닐티오)벤조일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val- Dpr(2-(2-cyanophenylthio)benzoyl)-Pro-Ser-Met)</u>



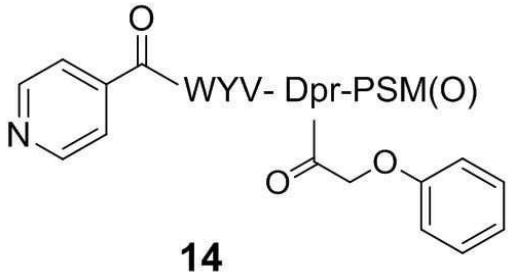
[0189]

[0190] 상기 3-7과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였고, ^{1}H NMR를 이용하여 추가로 확인하였다.

[0191] 99.9% Purity. R_t 25.4 min. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 12.73 (brs, 1H), 10.73 (d, 1H, J = 2.0), 9.09 (brs, 1H), 8.82 (d, 1H, J = 8.4), 8.70 (d, 2H, J = 6.0), 8.44 (t, 1H, J = 6.0), 8.30-8.22 (m, 2H),

8.00 (d, 1H, *J* = 8.0), 7.95 (d, 1H, *J* = 8.0), 7.93 (d, 1H, *J* = 8.0), 7.81 (d, 1H, *J* = 8.8), 7.67 (dd, 2H, *J* = 6.0, *J* = 1.6), 7.66-7.64 (m, 2H), 7.63 (td, 1H, *J* = 7.6, *J* = 1.6), 7.53 (td, 1H, *J* = 8.0, *J* = 1.2), 7.44 (d, 1H, *J* = 8.0), 7.37 (td, 1H, *J* = 7.6, *J* = 1.6), 7.33 (dd, 1H, *J* = 8.0, *J* = 1.2), 7.29 (d, 1H, *J* = 8.0), 7.14 (d, 1H, *J* = 2.0), 7.04 (t, 1H, *J* = 8.0), 7.03 (d, 2H, *J* = 8.0), 6.99-6.93 (m, 2H), 6.58 (d, 2H, *J* = 8.0), 4.80-4.71 (m, 2H), 4.53 (td, 1H, *J* = 8.8, *J* = 4.0), 4.40 (dd, 1H, *J* = 8.4, *J* = 3.6), 4.33 (m, 1H), 4.29-4.23 (m, 2H), 3.68-3.63 (m, 2H), 3.62-3.45 (m, 5H), 3.17 (dd, 1H, *J* = 14.8, *J* = 3.6), 3.06 (dd, 1H, *J* = 14.8, *J* = 10.4), 2.93 (dd, 1H, *J* = 14.4, *J* = 3.6), 2.73 (dd, 1H, *J* = 14.4, *J* = 10.0), 2.52-2.39 (m, 2H), 2.36-1.94 (m, 3H), 2.01 (s, 3H), 1.88-1.76 (m, 4H), 0.85 (d, 3H, *J* = 6.8), 0.83 (d, 3H, *J* = 6.8). MALDI m/z calculated for $C_{61}H_{67}N_{11}NaO_{12}S_2^+$ $[M+Na]^+$ 1232.43, found 1232.53.

[0192] 3-9. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(페녹시아세틸)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(phenoxyacetyl)-Pro-Ser-Met(O))



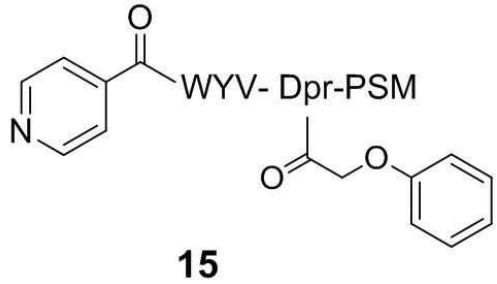
14

[0193]

[0194] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 페녹시아세트산(phenoxyacetic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0195] 99.9% Purity. R_t 15.8 min (5-100% B over 36 min). MALDI m/z calculated for $C_{55}H_{66}N_{10}NaO_{14}S^+$ $[M+Na]^+$ 1145.44, found 1145.03.

[0196] 3-10. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(페녹시아세틸)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(phenoxyacetyl) -Pro-Ser-Met)



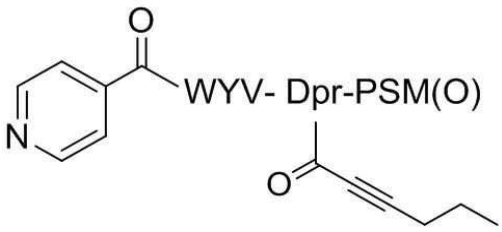
15

[0197]

[0198] 상기 3-9와 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0199] 99.9% Purity. R_t 17.7 min (5-100% B over 36 min). MALDI m/z calculated for $C_{55}H_{66}N_{10}NaO_{13}S^+$ $[M+Na]^+$ 1129.44, found 1129.08.

[0200] 3-11. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-헥시노일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(2-hexynoyl)-Pro-Ser-Met(O))

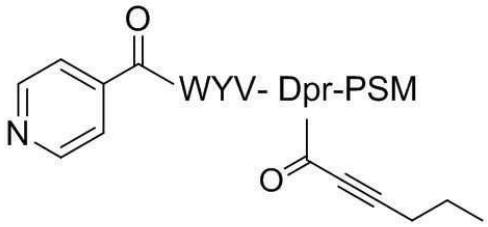


[0201] **16**

[0202] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 2-헥신산(2-hexynoic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0203] 97.4% Purity. R_t 15.5 min (5-100% B over 36 min). MALDI m/z calculated for $C_{53}H_{66}N_{10}NaO_{13}S^+$ $[M+Na]^+$ 1105.44, found 1105.15.

[0204] <u>3-12. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-헥시노일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(2-hexynoyl)-Pro-Ser-Met)</u>

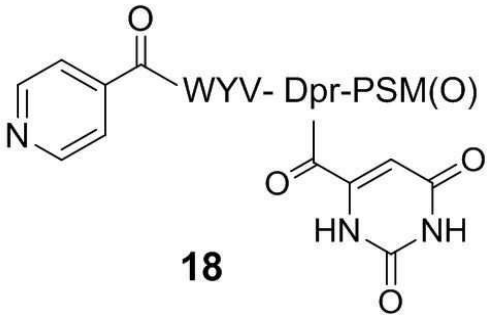


[0205] **17**

[0206] 상기 3-11과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0207] 99.9% Purity. R_t 17.4 min (5-100% B over 36 min). MALDI m/z calculated for $C_{53}H_{66}N_{10}NaO_{12}S^+$ $[M+Na]^+$ 1089.45, found 1089.51.

[0208] <u>3-13. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(오로틸)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(orotyl)-Pro-Ser-Met(O))</u>



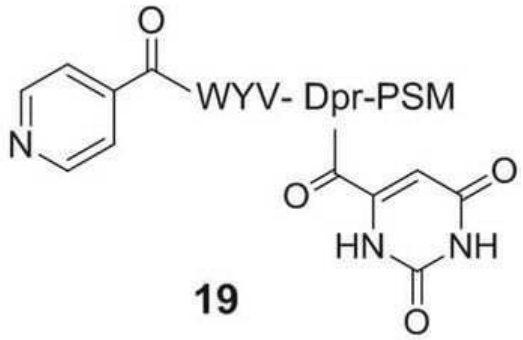
[0209] **18**

[0210] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 오로트산(orotic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0211] 88.0% Purity. R_t 12.9 min (5-100% B over 36 min). MALDI m/z calculated for $C_{52}H_{62}N_{12}NaO_{15}S^+$ $[M+Na]^+$

1149.41, found 1149.37.

[0212] 3-14. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(오로틸)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(orotyl)-Pro-Ser-Met)

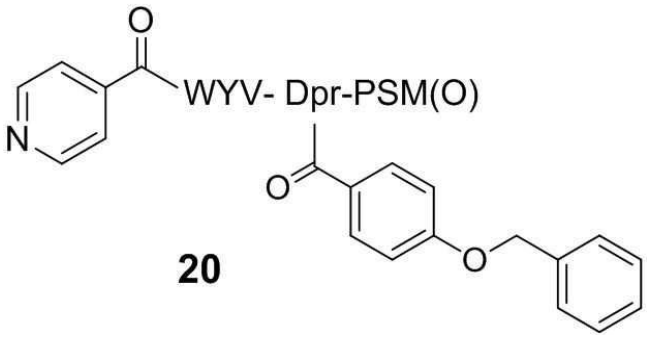


[0213]

[0214] 상기 3-13과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0215] 93.6% Purity. R_t 14.8 min (5-100% B over 36 min). MALDI m/z calculated for $C_{52}H_{62}N_{12}NaO_{14}S^+$ $[M+Na]^+$ 1133.41, found 1133.39.

[0216] 3-15. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(4-벤질옥시벤조일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(4-benzyloxybenzoyl) -Pro-Ser-Met(O))

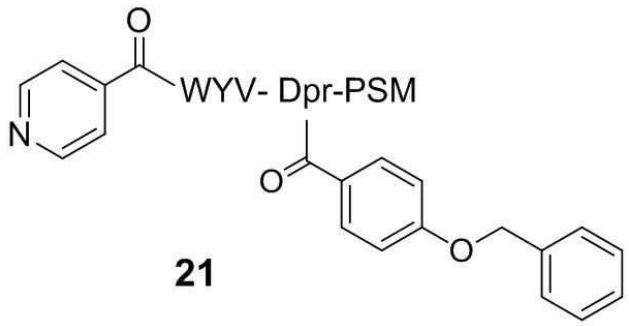


[0217]

[0218] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 4-벤질옥시벤조산(4-benzyloxybenzoic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0219] 99.9% Purity. R_t 17.9 min (5-100% B over 36 min). MALDI m/z calculated for $C_{61}H_{70}N_{10}NaO_{14}S^+$ $[M+Na]^+$ 1221.47, found 1221.41.

[0220] 3-16. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(4-벤질옥시벤조일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(4-benzyloxybenzoyl) -Pro-Ser-Met)

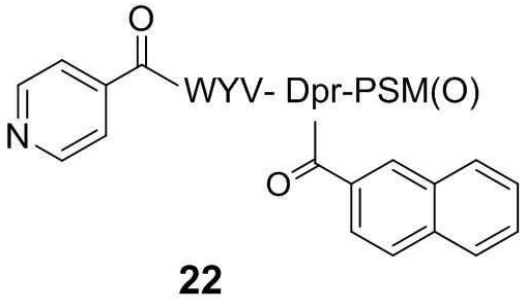


[0221]

[0222] 상기 3-15와 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0223] 99.9% Purity. R_t 19.7 min (5-100% B over 36 min). MALDI m/z calculated for $C_{61}H_{70}N_{10}NaO_{13}S^+$ $[M+Na]^+$ 1205.47, found 1205.42.

[0224] 3-17. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-나프토일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(2-naphthoyl)-Pro-Ser-Met(O))

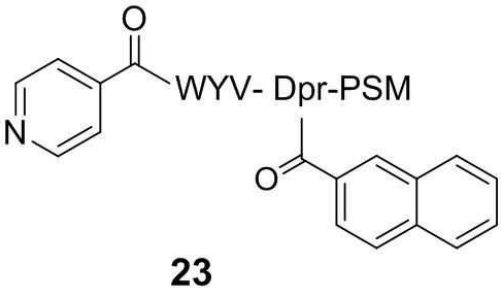


[0225]

[0226] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 2-나프토에산(2- naphthoic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0227] 99.9% Purity. R_t 16.5 min (5-100% B over 36 min). MALDI m/z calculated for $C_{58}H_{66}N_{10}NaO_{13}S^+$ $[M+Na]^+$ 1165.44, found 1165.42.

[0228] 3-18. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-나프토일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(2-naphthoyl)-Pro-Ser-Met)



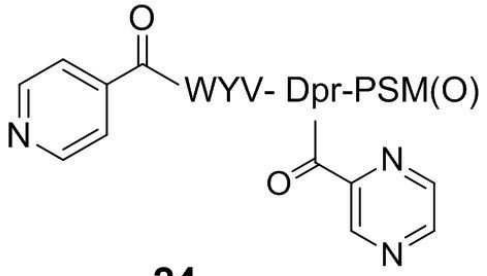
[0229]

[0230] 상기 3-17과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0231] 99.9% Purity. R_t 18.3 min (5-100% B over 36 min). MALDI m/z calculated for $C_{58}H_{66}N_{10}NaO_{12}S^+$ $[M+Na]^+$

1149.45, found 1149.40.

[0232] 3-19. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-피라진카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(2-pyrazine carboxylyl) -Pro-Ser-Met(O))



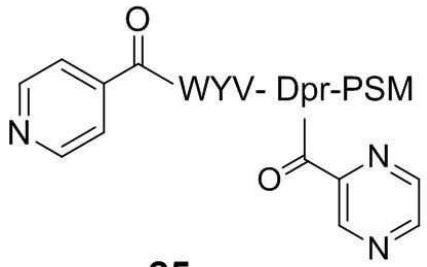
24

[0233]

[0234] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 2-피라진카복실산(2-pyrazine carboxylic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0235] 99.9% Purity. R_t 13.7 min (5-100% B over 36 min). MALDI m/z calculated for $C_{52}H_{62}N_{12}NaO_{13}S^+$ $[M+Na]^+$ 1117.42, found 1117.39.

[0236] 3-20. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-피라진카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(2-pyrazine carboxylyl) -Pro-Ser-Met)



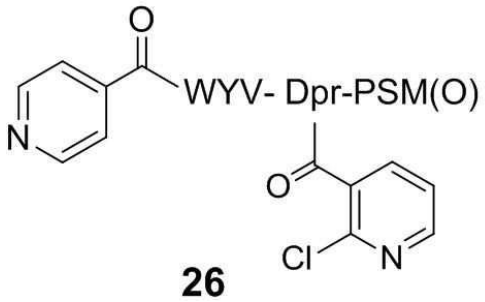
25

[0237]

[0238] 상기 3-19와 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0239] 99.9% Purity. R_t 15.5 min (5-100% B over 36 min). MALDI m/z calculated for $C_{52}H_{62}N_{12}NaO_{12}S^+$ $[M+Na]^+$ 1101.42, found 1101.39.

[0240] 3-21. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-클로로니코티닐)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(2-chloronicotinyl) -Pro-Ser-Met(O))



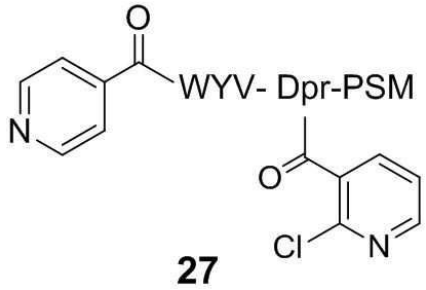
26

[0241]

[0242] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 2-클로로니코틴산(2-chloronicotinic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0243] 99.9% Purity. R_t 16.1 min. MALDI m/z calculated for $C_{53}H_{62}ClN_{11}NaO_{13}S^+$ $[M+Na]^+$ 1150.38, found 1150.24.

[0244] 3-22. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-클로로니코티닐)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(2-chloronicotinyl) -Pro-Ser-Met)

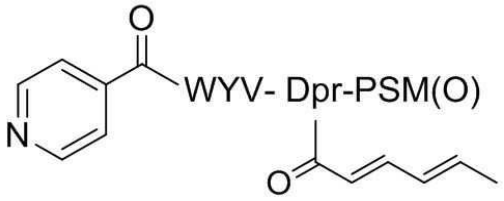


[0245] **27**

[0246] 상기 3-21과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0247] 99.9% Purity. R_t 18.2 min. MALDI m/z calculated for $C_{53}H_{62}ClN_{11}NaO_{12}S^+$ $[M+Na]^+$ 1134.39, found 1134.28.

[0248] 3-23. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2,4-헥사디엔오일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(2,4-hexadienoyl) -Pro-Ser-Met(O))

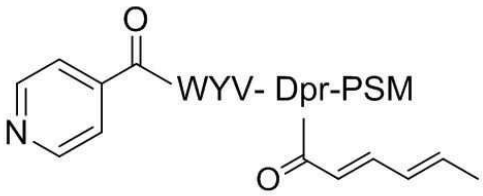


[0249] **28**

[0250] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 2,4-소르브산(sorbic acid, 2,4-hexadienoic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0251] 99.9% Purity. R_t 17.5 min. MALDI m/z calculated for $C_{53}H_{66}N_{10}NaO_{13}S^+$ $[M+Na]^+$ 1105.44, found 1105.40.

[0252] 3-24. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2,4-헥사디엔오일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(2,4-hexadienoyl) -Pro-Ser-Met)

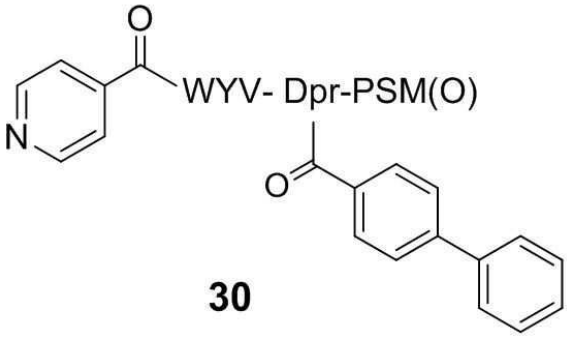


[0253] **29**

[0254] 상기 3-23과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0255] 99.9% Purity. R_t 19.6 min. MALDI m/z calculated for $C_{53}H_{66}N_{10}NaO_{12}S^+$ $[M+Na]^+$ 1089.45, found 1089.43.

[0256] 3-25. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(바이페닐-4-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(biphenyl-4-carboxylyl) -Pro-Ser-Met(O))

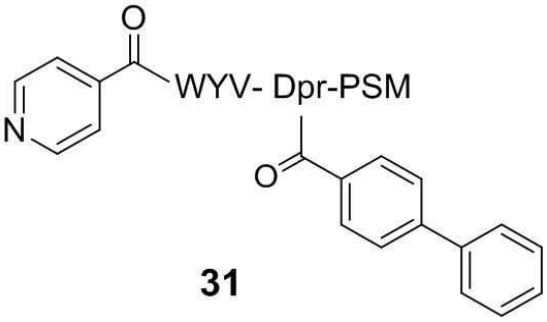


[0257] **30**

[0258] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 바이페닐-4-카복실산(biphenyl-4-carboxylic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0259] 99.9% Purity. R_t 24.8 min. MALDI m/z calculated for $C_{60}H_{68}N_{10}NaO_{13}S^+$ $[M+Na]^+$ 1191.46, found 1191.46.

[0260] 3-26. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(바이페닐-4-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(biphenyl -4-carboxylyl)-Pro-Ser-Met)

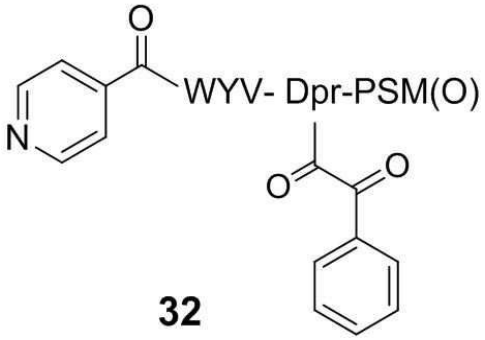


[0261] **31**

[0262] 상기 3-25와 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0263] 99.9% Purity. R_t 27.0 min. MALDI m/z calculated for $C_{60}H_{68}N_{10}NaO_{12}S^+$ $[M+Na]^+$ 1175.46, found 1175.46.

[0264] 3-27. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(페닐글리옥실일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(phenylglyoxylyl) -Pro-Ser-Met(O))



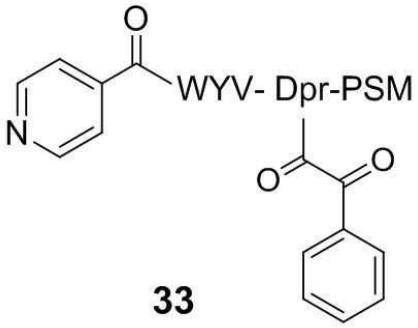
32

[0265]

[0266] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 페닐글리옥실산(phenylglyoxylic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0267] 99.9% Purity. R_t 21.5 min. MALDI m/z calculated for $C_{55}H_{64}N_{10}NaO_{14}S^+$ $[M+Na]^+$ 1143.42, found 1143.44.

[0268] 3-28. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(페닐글리옥실일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(phenylglyoxylyl) -Pro-Ser-Met)



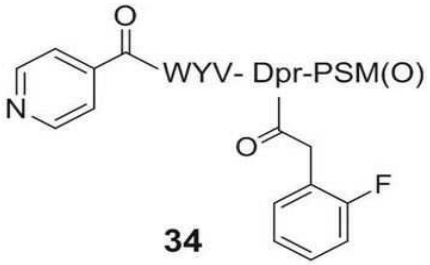
33

[0269]

[0270] 상기 3-27과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0271] 99.9% Purity. R_t 23.8 min. MALDI m/z calculated for $C_{55}H_{64}N_{10}NaO_{13}S^+$ $[M+Na]^+$ 1127.43, found 1127.51.

[0272] 3-29. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-플루오로페닐아세틸)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(2-fluorophenylacetyl) -Pro-Ser-Met(O))



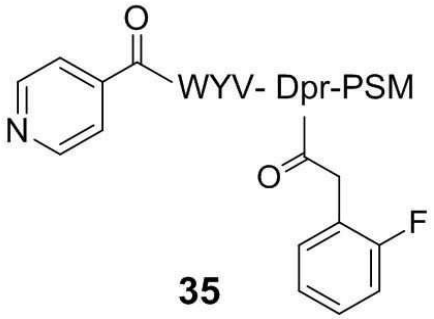
34

[0273]

[0274] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 2-플루오로페닐아세트산(2-fluorophenylacetic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0275] 99.9% Purity. R_t 21.5 min. MALDI m/z calculated for $C_{55}H_{65}FN_{10}NaO_{13}S^+$ $[M+Na]^+$ 1147.43, found 1147.51.

[0276] 3-30. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-플루오로페닐아세틸)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr (2-fluorophenylacetyl)-Pro-Ser-Met)



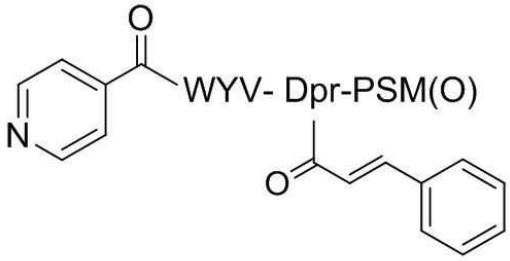
35

[0277]

[0278] 상기 3-29와 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0279] 99.9% Purity. R_t 23.5 min. MALDI m/z calculated for $C_{55}H_{65}FN_{10}NaO_{12}S^+$ $[M+Na]^+$ 1131.44, found 1131.53.

[0280] 3-31. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(트랜스-신나밀)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(*trans*-cinnamyl) -Pro-Ser-Met(O))



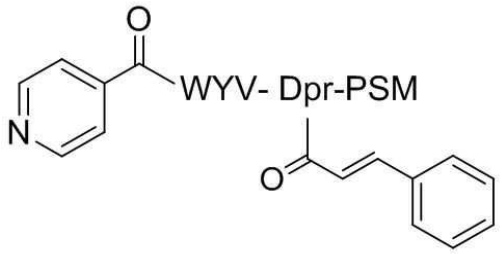
36

[0281]

[0282] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 트랜스-신남산(*trans*-cinnamic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0283] 99.9% Purity. R_t 22.2 min. MALDI m/z calculated for $C_{56}H_{66}N_{10}NaO_{13}S^+$ $[M+Na]^+$ 1141.44, found 1141.51.

[0284] 3-32. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(트랜스-신나밀)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(*trans*-cinnamyl) -Pro-Ser-Met)



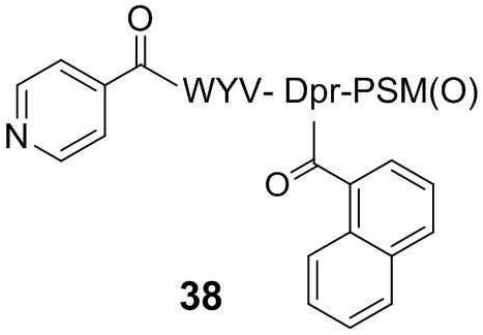
37

[0285]

[0286] 상기 3-31과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0287] 99.9% Purity. R_t 24.3 min. MALDI m/z calculated for $C_{56}H_{66}N_{10}NaO_{12}S^+$ $[M+Na]^+$ 1125.45, found 1125.57.

[0288] 3-33. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(1-나프토일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(1-naphthoyl)-Pro-Ser-Met(O))



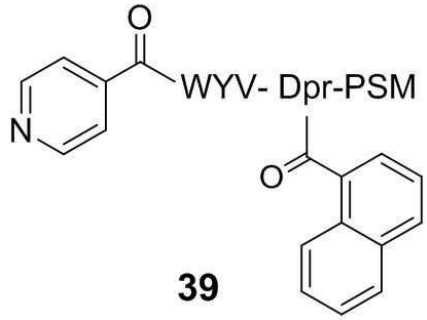
38

[0289]

[0290] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 1-나프토에산(1-naphtoic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0291] 99.9% Purity. R_t 21.9 min. MALDI m/z calculated for $C_{58}H_{66}N_{10}NaO_{13}S^+$ $[M+Na]^+$ 1165.44, found 1165.53.

[0292] 3-34. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(1-나프토일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(1-naphthoyl)-Pro-Ser-Met)



39

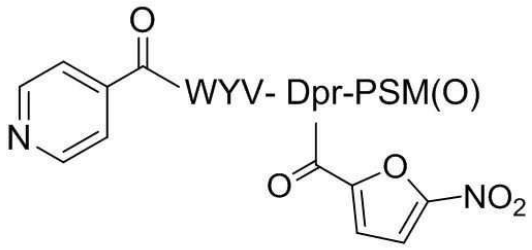
[0293]

[0294] 상기 3-33과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0295] 99.9% Purity. R_t 24.4 min. MALDI m/z calculated for $C_{58}H_{66}N_{10}NaO_{12}S^+$ $[M+Na]^+$ 1149.45, found 1149.64.

[0296] 3-35. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(5-니트로-2-푸로일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형

(Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(5-nitro-2-furoyl) -Pro-Ser-Met(O))



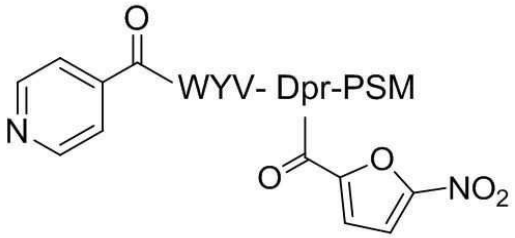
40

[0297]

[0298] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 5-니트로-2-푸로산(5-nitro-2-furoic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0299] 93.1% Purity. R_t 20.9 min. MALDI m/z calculated for $C_{52}H_{61}N_{11}NaO_{16}S^+$ $[M+Na]^+$ 1150.39, found 1150.17.

[0300] 3-36. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(5-니트로-2-푸로일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(5-nitro-2-furoyl) -Pro-Ser-Met)



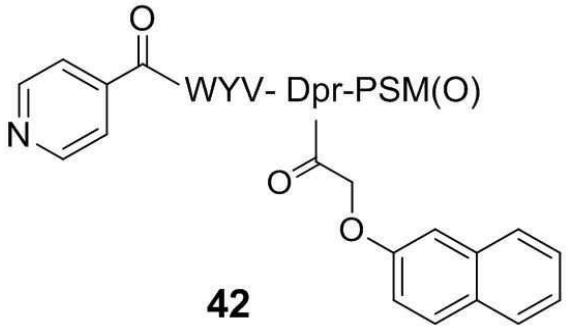
41

[0301]

[0302] 상기 3-35와 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0303] 99.9% Purity. R_t 22.9 min. MALDI m/z calculated for $C_{52}H_{61}N_{11}NaO_{15}S^+$ $[M+Na]^+$ 1134.40, found 1134.23.

[0304] 3-37. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(베타-나프톡시아세틸)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(β-naphthoxyacetyl) -Pro-Ser-Met(O))



42

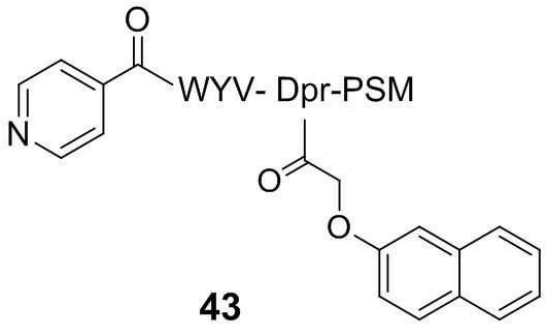
[0305]

[0306] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 베타-나프톡시아세트산(β-

naphthoxyacetic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0307] 99.9% Purity. R_t 23.7 min. MALDI m/z calculated for $C_{59}H_{68}N_{10}NaO_{14}S^+$ $[M+Na]^+$ 1195.45, found 1195.18.

[0308] 3-38. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(베타-나프톡시아세틸)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(β-naphthoxyacetyl) -Pro-Ser-Met)

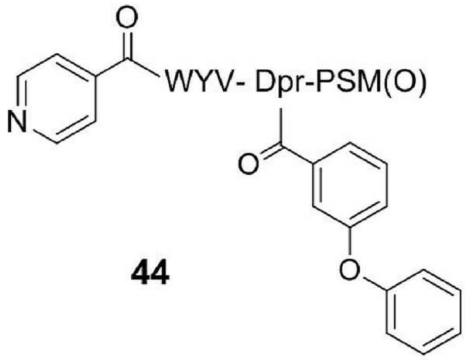


[0309]

[0310] 상기 3-37과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0311] 99.9% Purity. R_t 25.7 min. MALDI m/z calculated for $C_{59}H_{68}N_{10}NaO_{13}S^+$ $[M+Na]^+$ 1179.46, found 1179.32.

[0312] 3-39. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(3-페녹시벤조일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(3-phenoxybenzoyl)-Pro-Ser-Met(O))

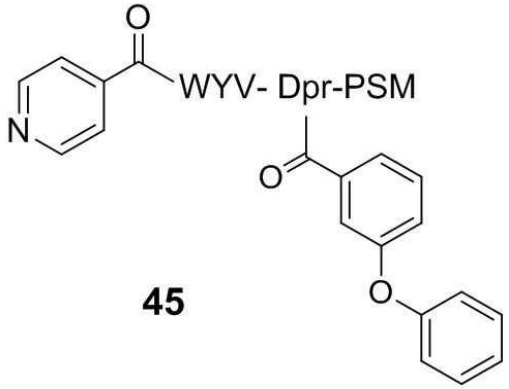


[0313]

[0314] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 3-페녹시벤조산(3-phenoxybenzoic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0315] 97.3% Purity. R_t 24.3 min. MALDI m/z calculated for $C_{60}H_{68}N_{10}NaO_{14}S^+$ $[M+Na]^+$ 1207.45, found 1207.24.

[0316] 3-40. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(3-페녹시벤조일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(3-phenoxybenzoyl)-Pro-Ser-Met)

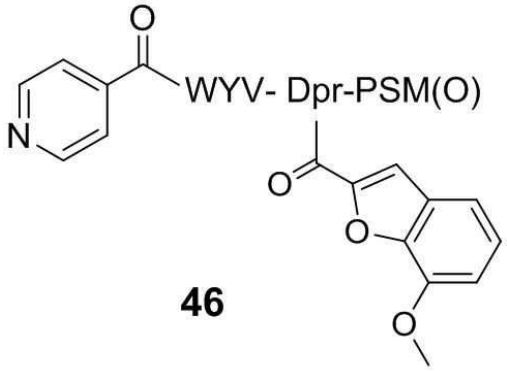


[0317]

[0318] 상기 3-39와 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0319] 98.2% Purity. R_t 26.3 min. MALDI m/z calculated for $C_{60}H_{68}N_{10}NaO_{13}S^+$ $[M+Na]^+$ 1191.46, found 1191.30.

[0320] 3-41. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(7-메톡시-1-벤조퓨란-2-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr (7-methoxy-1-benzofuran-2-carboxylyl)-Pro-Ser-Met(O))

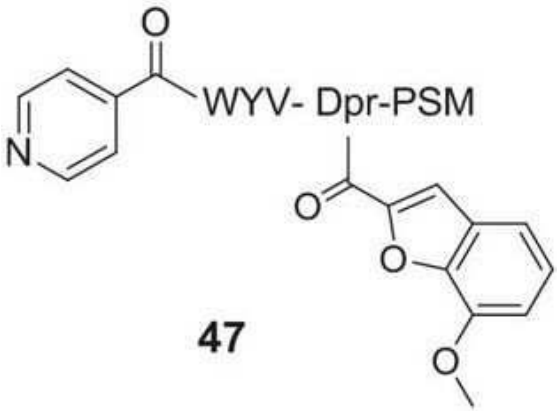


[0321]

[0322] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 7-메톡시-1-벤조퓨란-2-카복실산(7-methoxy-1-benzofuran-2-carboxylic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0323] 97.6% Purity. R_t 22.3 min. MALDI m/z calculated for $C_{57}H_{66}N_{10}NaO_{15}S^+$ $[M+Na]^+$ 1185.43, found 1185.34.

[0324] 3-42. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(7-메톡시-1-벤조퓨란-2-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr (7-methoxy-1-benzofuran-2-carboxylyl)-Pro-Ser-Met)



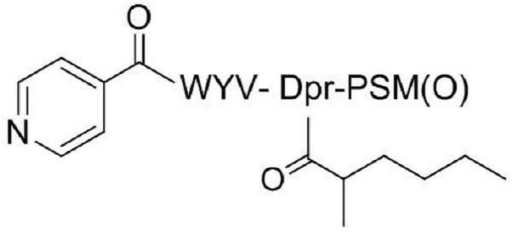
47

[0325]

[0326] 상기 3-41과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0327] 99.9% Purity. R_t 24.4 min. MALDI m/z calculated for $C_{57}H_{66}N_{10}NaO_{14}S^+$ $[M+Na]^+$ 1169.44, found 1169.40.

[0328] 3-43. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-메톡시헥사노일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(2-methylhexanoyl)-Pro-Ser-Met(O))



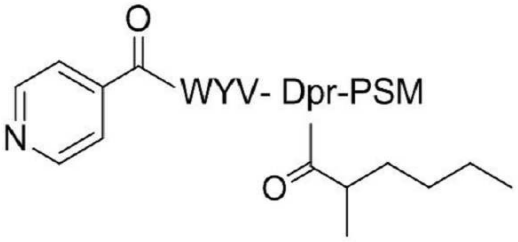
48

[0329]

[0330] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 2-메톡시 헥사노익산(2-methylhexanoic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0331] 95.7% Purity. R_t 22.4 min. MALDI m/z calculated for $C_{54}H_{72}N_{10}NaO_{13}S^+$ $[M+Na]^+$ 1123.49, found 1123.53.

[0332] 3-44. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-메톡시헥사노일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(2-methylhexanoyl) -Pro-Ser-Met)



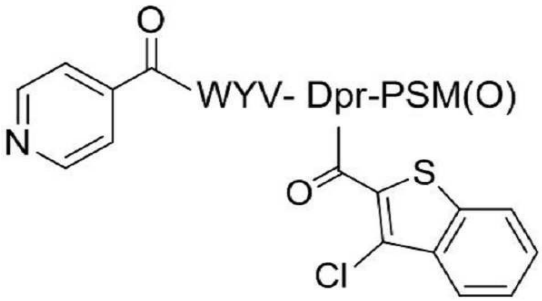
49

[0333]

[0334] 상기 3-43과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0335] 99.9% Purity. R_t 24.8 min. MALDI m/z calculated for $C_{54}H_{72}N_{10}NaO_{12}S^+$ $[M+Na]^+$ 1107.49, found 1107.53.

[0336] 3-45. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(3-클로로벤조[b]티오펜-2-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr (3-chlorobenzo[b]thiophene-2-carboxylyl)-Pro-Ser-Met(O))



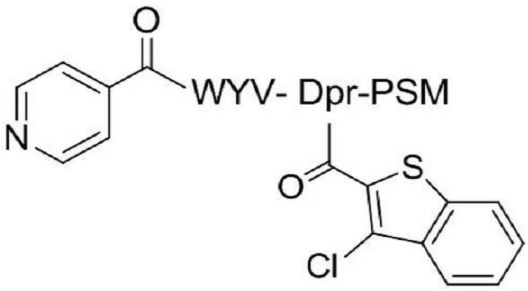
50

[0337]

[0338] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 3-클로로벤조[b]티오펜-2-카복실산(3-chlorobenzo[b]thiophene-2-carboxylic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0339] 99.9% Purity. R_t 23.1 min. MALDI m/z calculated for $C_{56}H_{63}ClN_{10}NaO_{13}S_2^+$ $[M+Na]^+$ 1205.36, found 1205.36.

[0340] 3-46. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(3-클로로벤조[b]티오펜-2-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr (3-chlorobenzo[b]thiophene-2-carboxylyl)-Pro-Ser-Met)



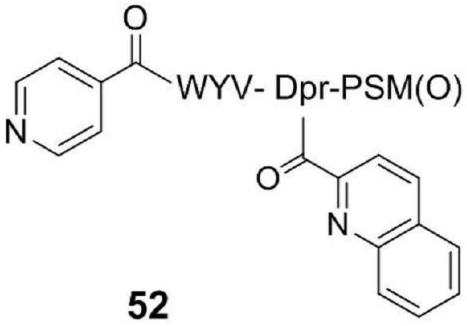
51

[0341]

[0342] 상기 3-45와 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0343] 99.9% Purity. R_t 25.1 min. MALDI m/z calculated for $C_{56}H_{63}ClN_{10}NaO_{12}S_2^+$ $[M+Na]^+$ 1189.36, found 1189.47.

[0344] 3-47. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(퀴나딜)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(quinaldyl)-Pro-Ser-Met(O))



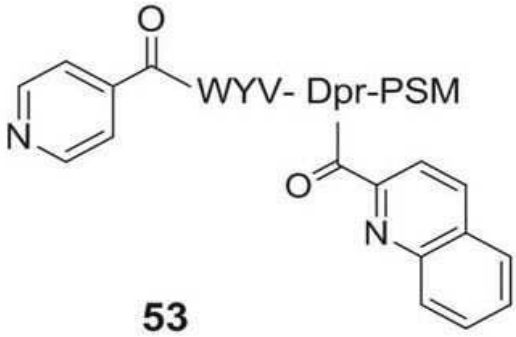
52

[0345]

[0346] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 퀴나딜산(quinaldic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0347] 99.9% Purity. R_t 22.3 min. MALDI m/z calculated for $C_{57}H_{65}N_{11}NaO_{13}S^+$ $[M+Na]^+$ 1166.44, found 1166.47.

[0348] 3-48. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(퀴나딜)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(quinaldyl)-Pro-Ser-Met)



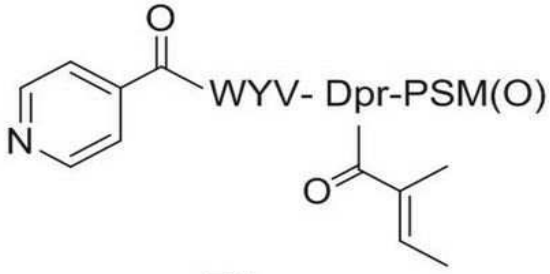
53

[0349]

[0350] 상기 3-47과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0351] 99.9% Purity. R_t 24.0 min. MALDI m/z calculated for $C_{57}H_{65}N_{11}NaO_{12}S^+$ $[M+Na]^+$ 1150.44, found 1150.47.

[0352] 3-49. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(타이글라일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(tiglyl)-Pro-Ser-Met(O))



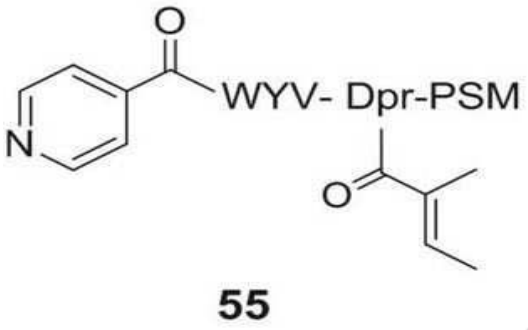
54

[0353]

[0354] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 티글린산(tiglic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0355] 99.2% Purity. R_t 20.4 min. MALDI m/z calculated for $C_{52}H_{67}N_{10}O_{13}S^+$ $[M+H]^+$ 1071.46, found 1071.56.

[0356] 3-50. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(타이글라일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(tiglyl)-Pro-Ser-Met)

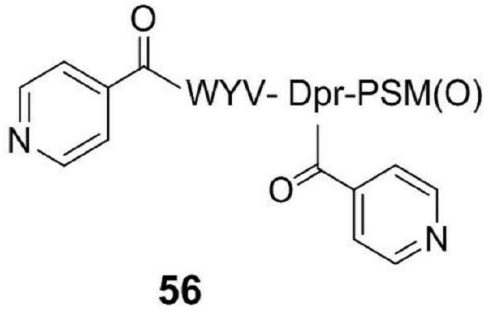


[0357]

[0358] 상기 3-49와 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0359] 99.9% Purity. R_t 22.3 min. MALDI m/z calculated for $C_{52}H_{66}N_{10}NaO_{12}S^+$ $[M+Na]^+$ 1077.45, found 1077.51.

[0360] 3-51. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(이소니코티닐)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(isonicotinyl)-Pro-Ser-Met(O))

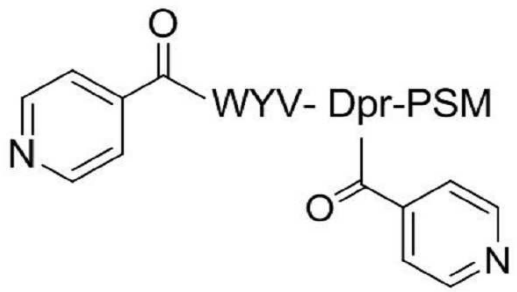


[0361]

[0362] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 이소니코틴산(isonicotinic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0363] 99.9% Purity. R_t 18.0 min. MALDI m/z calculated for $C_{53}H_{63}N_{11}NaO_{13}S^+$ $[M+Na]^+$ 1116.42, found 1116.49.

[0364] 3-52. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(이소니코티닐)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(isonicotinyl)-Pro-Ser-Met)



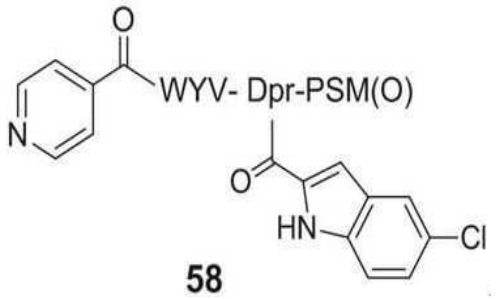
57

[0365]

[0366] 상기 3-51과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0367] 99.9% Purity. R_t 19.9 min. MALDI m/z calculated for $C_{53}H_{63}N_{11}NaO_{12}S^+$ $[M+Na]^+$ 1100.43, found 1100.48.

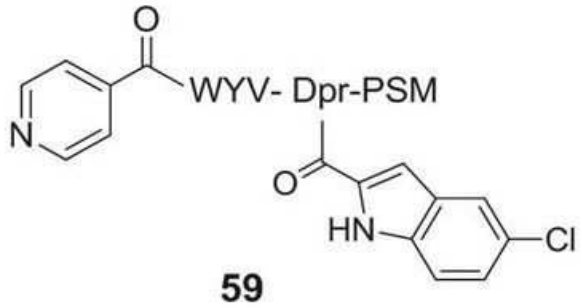
[0368] 3-53. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(5-클로로인돌-2-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr (5-chloroindole-2-carboxylyl)-Pro-Ser-Met(O))



58

[0369]

[0370] 3-54. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(5-클로로인돌-2-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr (5-chloroindole-2-carboxylyl)-Pro-Ser-Met)



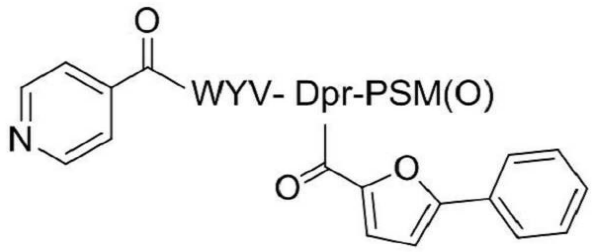
59

[0371]

[0372] 상기 3-53과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0373] 99.9% Purity. R_t 25.6 min. MALDI m/z calculated for $C_{56}H_{64}ClN_{11}NaO_{12}S^+$ $[M+Na]^+$ 1172.40, found 1172.47.

[0374] 3-55. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(5-페닐-2-푸로일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(5-phenyl-2-furoyl) -Pro-Ser-Met(O))

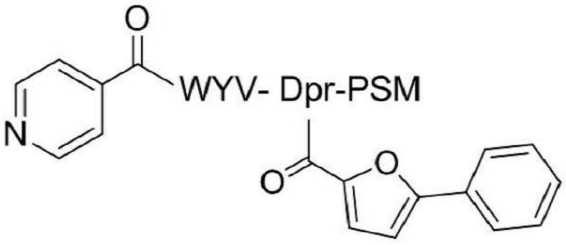


[0375] **60**

[0376] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 5-페닐-2-푸로산(5-phenyl-2-furoic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0377] 99.9% Purity. R_t 23.0 min. MALDI m/z calculated for $C_{58}H_{66}N_{10}NaO_{14}S^+$ $[M+Na]^+$ 1181.44, found 1181.44.

[0378] <u>3-56. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(5-페닐-2-푸로일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(5-phenyl-2-furoyl) -Pro-Ser-Met)</u>

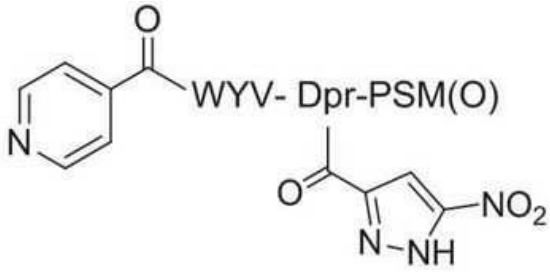


[0379] **61**

[0380] 상기 3-55와 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0381] 99.9% Purity. R_t 25.2 min. MALDI m/z calculated for $C_{58}H_{66}N_{10}NaO_{13}S^+$ $[M+Na]^+$ 1165.44, found 1165.48.

[0382] <u>3-57. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(5-니트로-3-피라졸카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(5-nitro-3- pyrazolecarboxylyl)-Pro-Ser-Met(O))</u>

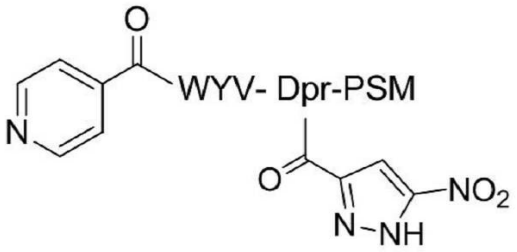


[0383] **62**

[0384] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 5-니트로-3-피라졸카복실산(5-nitro-3- pyrazolecarboxylic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0385] 99.9% Purity. R_t 20.4 min. MALDI m/z calculated for $C_{51}H_{61}N_{13}NaO_{15}S^+$ $[M+Na]^+$ 1150.40, found 1150.54.

[0386] 3-58. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(5-니트로-3-피라졸카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(5-nitro-3- pyrazolecarboxylyl)-Pro-Ser-Met)

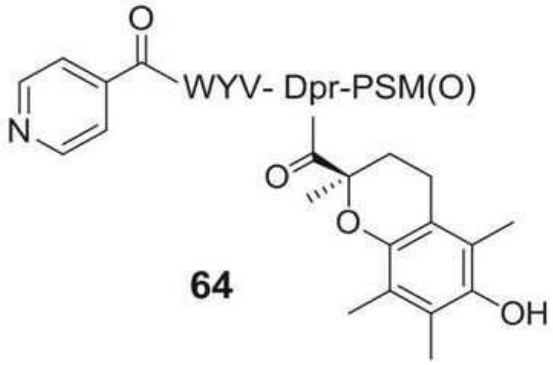


[0387] 63

[0388] 상기 3-57과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0389] 99.9% Purity. R_t 22.3 min. MALDI m/z calculated for $C_{51}H_{61}N_{13}NaO_{14}S^+$ $[M+Na]^+$ 1134.41, found 1134.51.

[0390] 3-59. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr((R)-(+)-트롤록실)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr((*R*)-(+)-troloxyl) -Pro-Ser-Met(O))



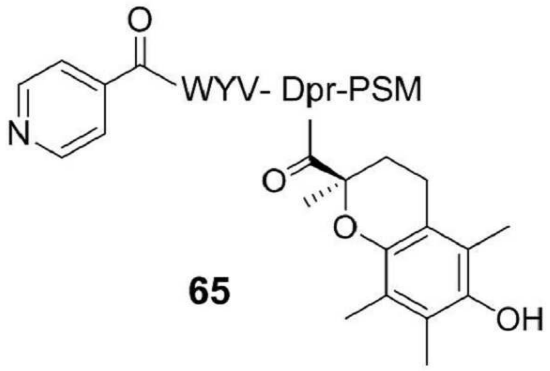
64

[0391]

[0392] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 6-히드록시-2,5,7,8-테트라메칠 크로만-2-카복실산 (trolox)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0393] 99.9% Purity. R_t 22.6 min. MALDI m/z calculated for $C_{61}H_{76}N_{10}NaO_{15}S^+$ $[M+Na]^+$ 1243.51, found 1243.49.

[0394] 3-60. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr((R)-(+)-트롤록실)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr((*R*)-(+)-troloxyl) -Pro-Ser-Met)

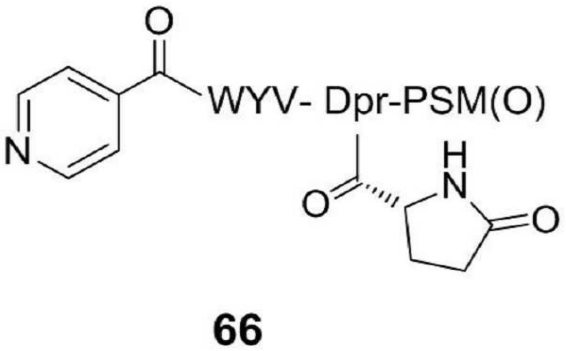


[0395]

[0396] 상기 3-59와 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0397] 99.9% Purity. R_t 24.7 min. MALDI m/z calculated for $C_{61}H_{76}N_{10}NaO_{14}S^+$ $[M+Na]^+$ 1227.52, found 1227.51.

[0398] <u>3-61. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr((*R*)-(+)-2-피롤리돈-5-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr((*R*)-(+)-2- pyrrolidone-5-carboxylyl)-Pro-Ser-Met(O))</u>

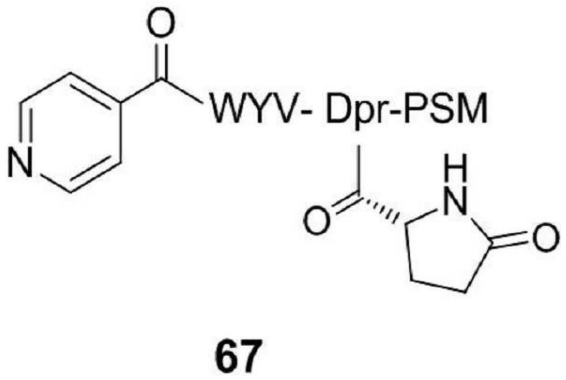


[0399]

[0400] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 (*R*)-(+)-2-피롤리돈-5-카복실산((*R*)-(+)-2-pyrrolidone-5-carboxylic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0401] 99.9% Purity. R_t 18.4 min. MALDI m/z calculated for $C_{52}H_{65}N_{11}NaO_{14}S^+$ $[M+Na]^+$ 1122.43, found 1122.34.

[0402] <u>3-62. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr((*R*)-(+)-2-피롤리돈-5-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr((*R*)-(+)-2- pyrrolidone-5-carboxylyl)-Pro-Ser-Met)</u>

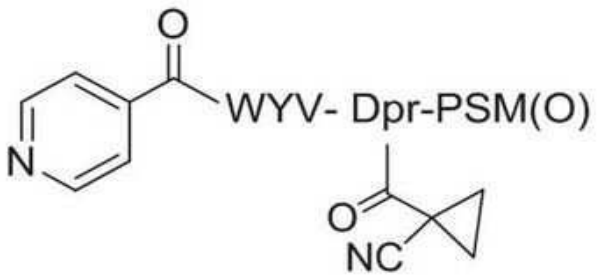


[0403]

[0404] 상기 3-61과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0405] 99.9% Purity. R_t 20.5 min. MALDI m/z calculated for $C_{52}H_{65}N_{11}NaO_{13}S^+$ $[M+Na]^+$ 1106.44, found 1106.45.

[0406] 3-63. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(1-시아노-1-사이클로프로페인카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr (1-cyano-1-cyclopropanecarboxylyl)-Pro-Ser-Met(O))

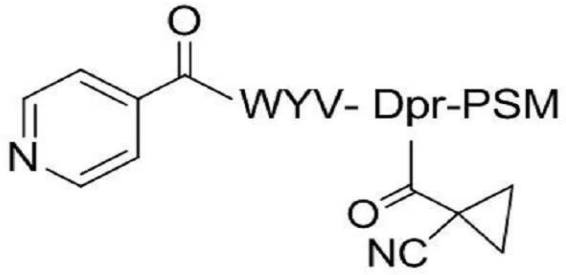


[0407] **68**

[0408] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 1-시아노-1-사이클로프로페인카복실산 (1-cyano-1-cyclopropanecarboxylic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0409] 99.9% Purity. R_t 19.9 min. MALDI m/z calculated for $C_{52}H_{63}N_{11}NaO_{13}S^+$ $[M+Na]^+$ 1104.42, found 1104.43.

[0410] 3-64. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(1-시아노-1-사이클로프로페인카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr (1-cyano-1-cyclopropanecarboxylyl)-Pro-Ser-Met

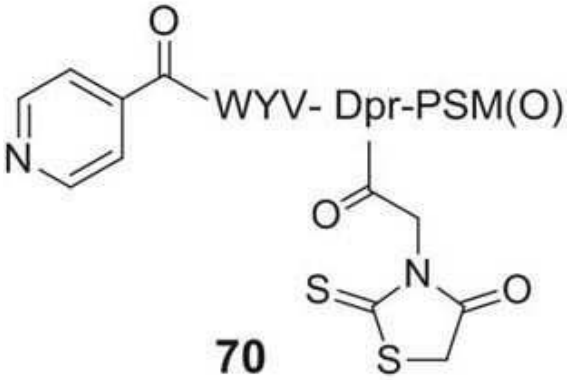


[0411] **69**

[0412] 상기 3-63과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0413] 99.9% Purity. R_t 22.3 min. MALDI m/z calculated for $C_{52}H_{63}N_{11}NaO_{12}S^+$ $[M+Na]^+$ 1088.43, found 1088.47.

[0414] 3-65. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(로다닌-3-아세틸)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(rhodanine-3-acetyl) -Pro-Ser-Met(O))

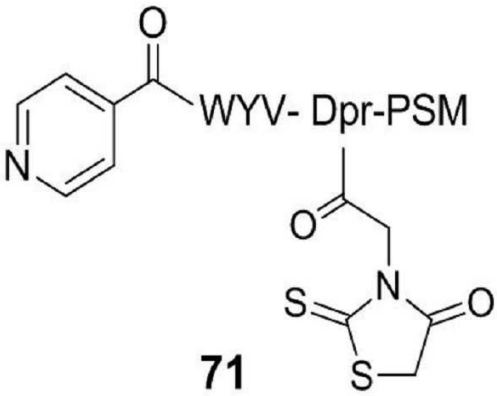


[0415]

[0416] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 로다닌-3-아세트산 (rhodanine-3-acetic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0417] 99.9% Purity. R_t 20.6 min. MALDI m/z calculated for $C_{52}H_{63}N_{11}NaO_{14}S_3^+$ $[M+Na]^+$ 1184.36, found 1184.36.

[0418] 3-66. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(로다닌-3-아세틸)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(rhodanine-3-acetyl) -Pro-Ser-Met)

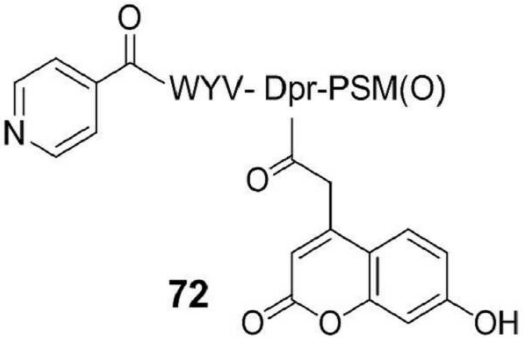


[0419]

[0420] 상기 3-65와 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0421] 99.9% Purity. R_t 23.1 min. MALDI m/z calculated for $C_{52}H_{63}N_{11}NaO_{13}S_3^+$ $[M+Na]^+$ 1168.37, found 1168.43.

[0422] 3-67. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(7-하이드록시쿠마린-4-아세틸)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr (7-hydroxycoumarine-4-acetyl)-Pro-Ser-Met(O))

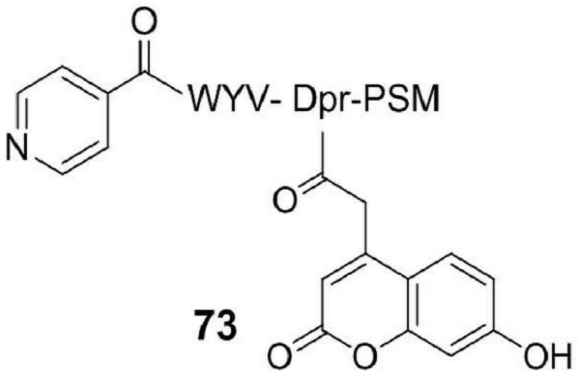


[0423]

[0424] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 7-하이드록시쿠마린-4-아세트산(7-hydroxycoumarine-4-acetic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0425] 98.0% Purity. R_t 20.0 min. MALDI m/z calculated for $C_{58}H_{66}N_{10}NaO_{16}S^+$ $[M+Na]^+$ 1213.43, found 1213.35.

[0426] 3-68. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(7-하이드록시쿠마린-4-아세틸)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr (7-hydroxycoumarine-4-acetyl)-Pro-Ser-Met)

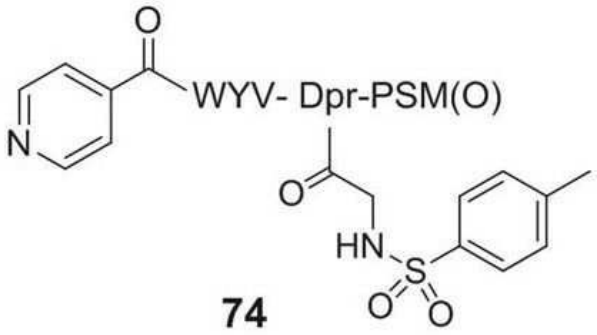


[0427]

[0428] 상기 3-67과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0429] 96.3% Purity. R_t 22.0 min. MALDI m/z calculated for $C_{58}H_{66}N_{10}NaO_{15}S^+$ $[M+Na]^+$ 1197.43, found 1197.43.

[0430] 3-69. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-(4-메틸페닐설폰아미도)아세틸)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(2- (4-methylphenylsulfonamido)acetyl)-Pro-Ser-Met(O)

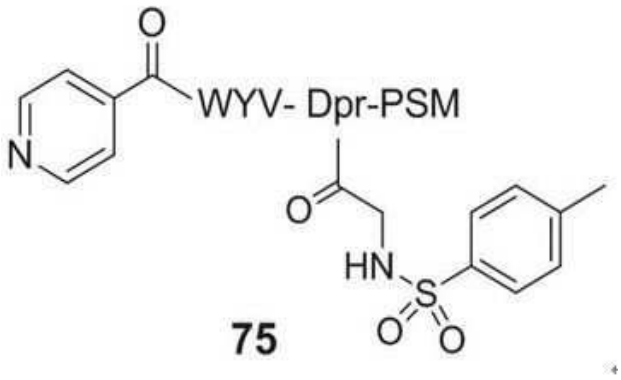


[0431]

[0432] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 2-(4-메틸페닐설폰아미도)아세트산 (2-(4-methylphenylsulfonamido)acetic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

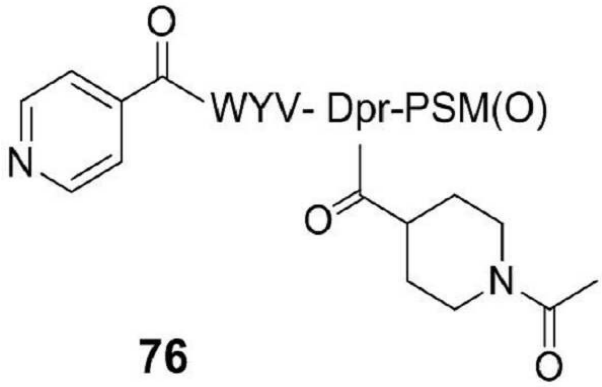
[0433] 96.7% Purity. R_t 21.9 min. MALDI m/z calculated for $C_{56}H_{69}N_{11}NaO_{15}S_2^+$ $[M+Na]^+$ 1222.43, found 1222.45.

[0434] 3-70. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-(4-메틸페닐설폰아미도)아세틸)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(2- (4-methylphenylsulfonamido)acetyl)-Pro-Ser-Met)



[0435]

[0436] 3-71. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(1-아세틸피페리딘-4-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr (1-acetylpiperidine-4-carboxylyl)-Pro-Ser-Met(O))

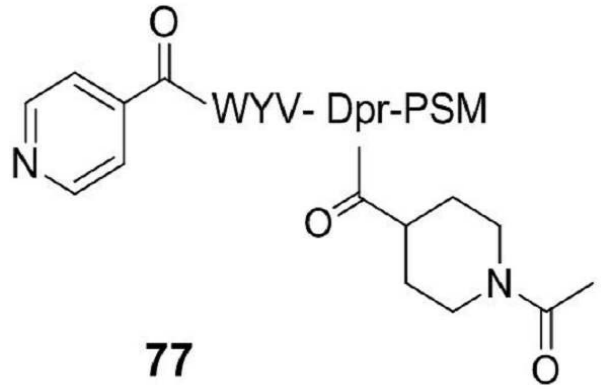


[0437]

[0438] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 1-아세틸피페리딘-4-카복실산 (1-acetylpiperidine-4-carboxylic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0439] 98.1% Purity. R_t 18.7 min. MALDI m/z calculated for $C_{55}H_{71}N_{11}NaO_{14}S^+$ $[M+Na]^+$ 1164.48, found 1164.57.

[0440] 3-72. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(1-아세틸피페리딘-4-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr (1-acetylpiperidine-4-carboxylyl)-Pro-Ser-Met)

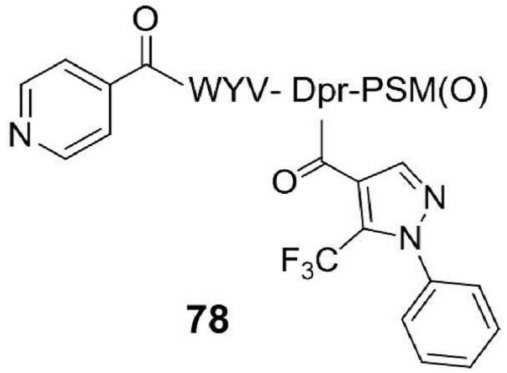


[0441]

[0442] 상기 3-71과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0443] 99.9% Purity. R_t 20.7 min. MALDI m/z calculated for $C_{55}H_{71}N_{11}NaO_{13}S^+$ $[M+Na]^+$ 1148.48, found 1148.57.

[0444] 3-73. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(1-페닐-5-(트리플루오로메틸)-1*H*-피라졸-4-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr -Val-Dpr(1-phenyl-5-(trifluoromethyl)-1*H*-pyrazole-4-carboxylyl)-Pro-Ser-Met(O))

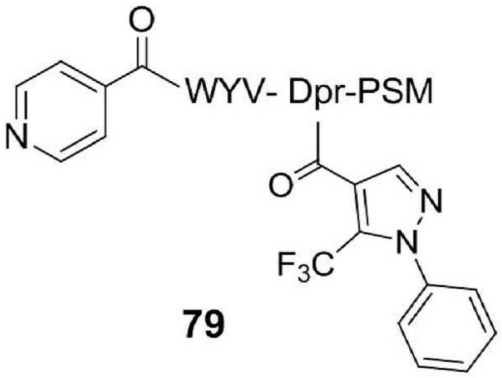


[0445]

[0446] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 1-페닐-5-(트리플루오로메틸)-1*H*-피라졸-4-카복실산 (1-phenyl-5-(trifluoromethyl)-1*H*-pyrazole-4-carboxylic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0447] 94.9% Purity. R_t 23.0 min. MALDI m/z calculated for $C_{58}H_{65}F_3N_{12}NaO_{13}S^+$ $[M+Na]^+$ 1249.44, found 1249.50.

[0448] 3-74. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(1-페닐-5-(트리플루오로메틸)-1*H*-피라졸-4-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr -Val-Dpr(1-phenyl-5-(trifluoromethyl)-1*H*-pyrazole-4-carboxylyl)-Pro-Ser-Met(O))

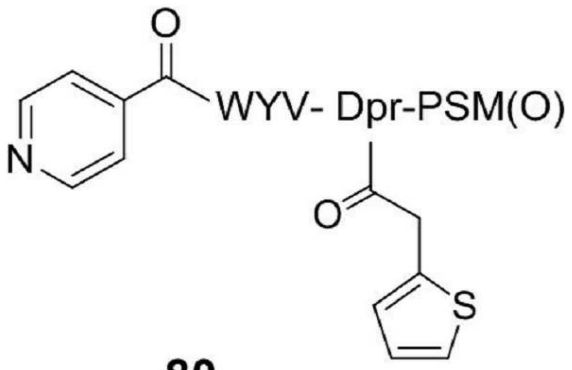


[0449]

[0450] 상기 3-73과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0451] 99.9% Purity. R_t 25.3 min. MALDI m/z calculated for $C_{58}H_{65}F_3N_{12}NaO_{12}S^+$ $[M+Na]^+$ 1233.44, found 1233.52.

[0452] 3-75. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-티오펜아세틸)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(2-thiopheneacetyl) -Pro-Ser-Met(O))



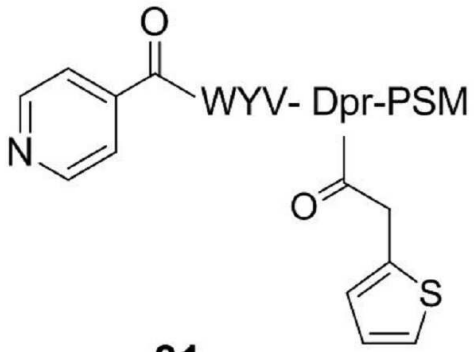
80

[0453]

[0454] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 2-티오펜아세트산 (2-thiopheneacetic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0455] 95.6% Purity. R_t 20.9 min. MALDI m/z calculated for $C_{53}H_{64}N_{10}NaO_{13}S_2^+$ $[M+Na]^+$ 1135.40, found 1135.40.

[0456] 3-76. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-티오펜아세틸)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(2-thiopheneacetyl) -Pro-Ser-Met)



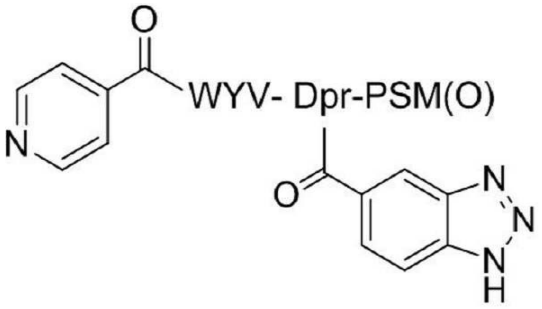
81

[0457]

[0458] 상기 3-75와 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0459] 97.0% Purity. R_t 23.1 min. MALDI m/z calculated for $C_{53}H_{64}N_{10}NaO_{12}S_2^+$ $[M+Na]^+$ 1119.40, found 1119.41.

[0460] 3-77. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(벤조트리아졸-5-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(benzotriazole-5- carboxylyl)-Pro-Ser-Met(O))



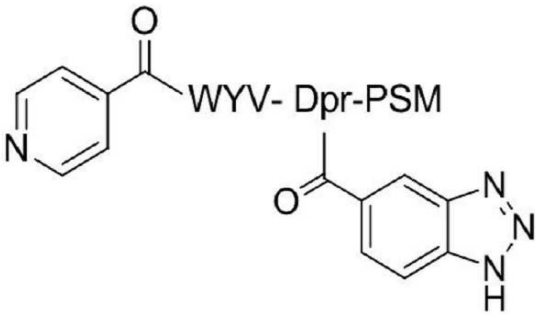
82

[0461]

[0462] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 벤조트리아졸-5-카복실산(benzotriazole-5-carboxylic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0463] 97.4% Purity. R_t 19.0 min. MALDI m/z calculated for $C_{54}H_{63}N_{13}NaO_{13}S^+$ $[M+Na]^+$ 1156.43, found 1156.55.

[0464] 3-78. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(벤조트리아졸-5-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(benzotriazole-5- carboxylyl)-Pro-Ser-Met)



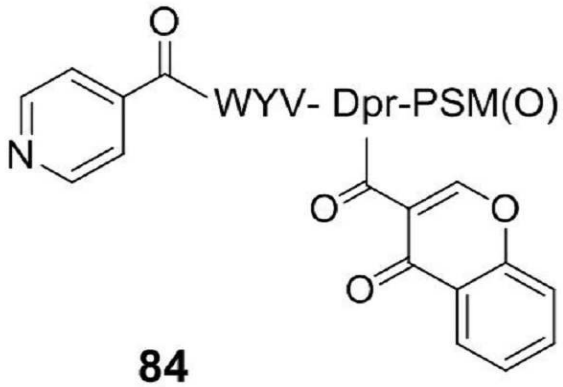
83

[0465]

[0466] 상기 3-77과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0467] 99.9% Purity. R_t 21.2 min. MALDI m/z calculated for $C_{54}H_{63}N_{13}NaO_{12}S^+$ $[M+Na]^+$ 1140.43, found 1140.50.

[0468] 3-79. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(4-옥소-4*H*-크로멘-3-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(4-oxo-4*H*- chromene-3-carboxylyl)-Pro-Ser-Met(O))



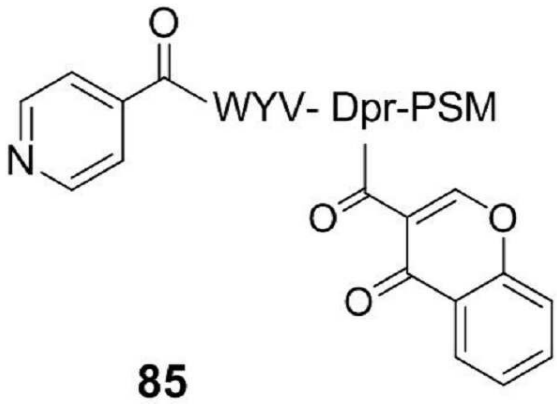
84

[0469]

[0470] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 4-옥소-4*H*-크로멘-3-카복실산(4-oxo-4*H*-chromene-3-carboxylic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0471] 98.4% Purity. R_t 21.4 min. MALDI m/z calculated for $C_{57}H_{64}N_{10}NaO_{15}S^+$ $[M+Na]^+$ 1183.42, found 1183.48.

[0472] 3-80. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(4-옥소-4*H*-크로멘-3-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(4-oxo-4*H*- chromene-3-carboxylyl)-Pro-Ser-Met)

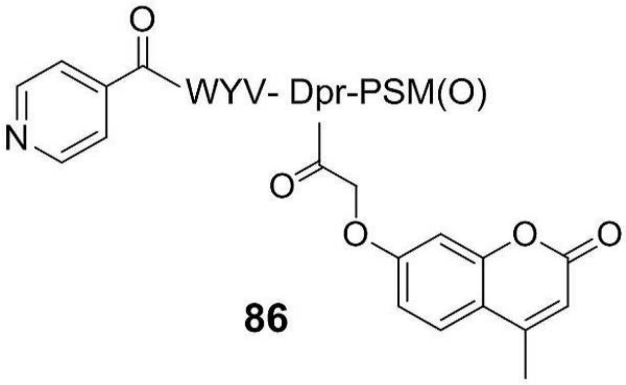


[0473]

[0474] 상기 3-79와 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0475] 99.9% Purity. R_t 23.5 min. MALDI m/z calculated for $C_{57}H_{64}N_{10}NaO_{14}S^+$ $[M+Na]^+$ 1167.42, found 1167.57.

[0476] 3-81. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(4-메틸-2-옥소-2*H*-크로멘-7-일옥시)아세틸)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr ((4-methyl-2-oxo-2*H*-chromen-7-yloxy)acetyl)-Pro-Ser-Met(O))

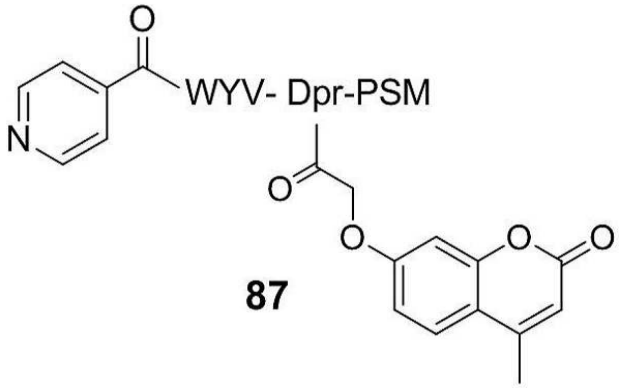


[0477]

[0478] 상기 3-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였으며, 커플링을 위한 산(acid)으로 4-메틸-2-옥소-2*H*-크로멘-7-일옥시)아세트산 (4-methyl-2-oxo-2*H*-chromen-7-yloxy)acetic acid)을 사용하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0479] 99.9% Purity. R_t 21.0 min. MALDI m/z calculated for $C_{59}H_{68}N_{10}NaO_{16}S^+$ $[M+Na]^+$ 1227.44, found 1227.51.

[0480] 3-82. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(4-메틸-2-옥소-2*H*-크로멘-7-일옥시)아세틸)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr ((4-methyl-2-oxo-2*H*-chromen-7-yloxy)acetyl)-Pro-Ser-Met)



[0481]

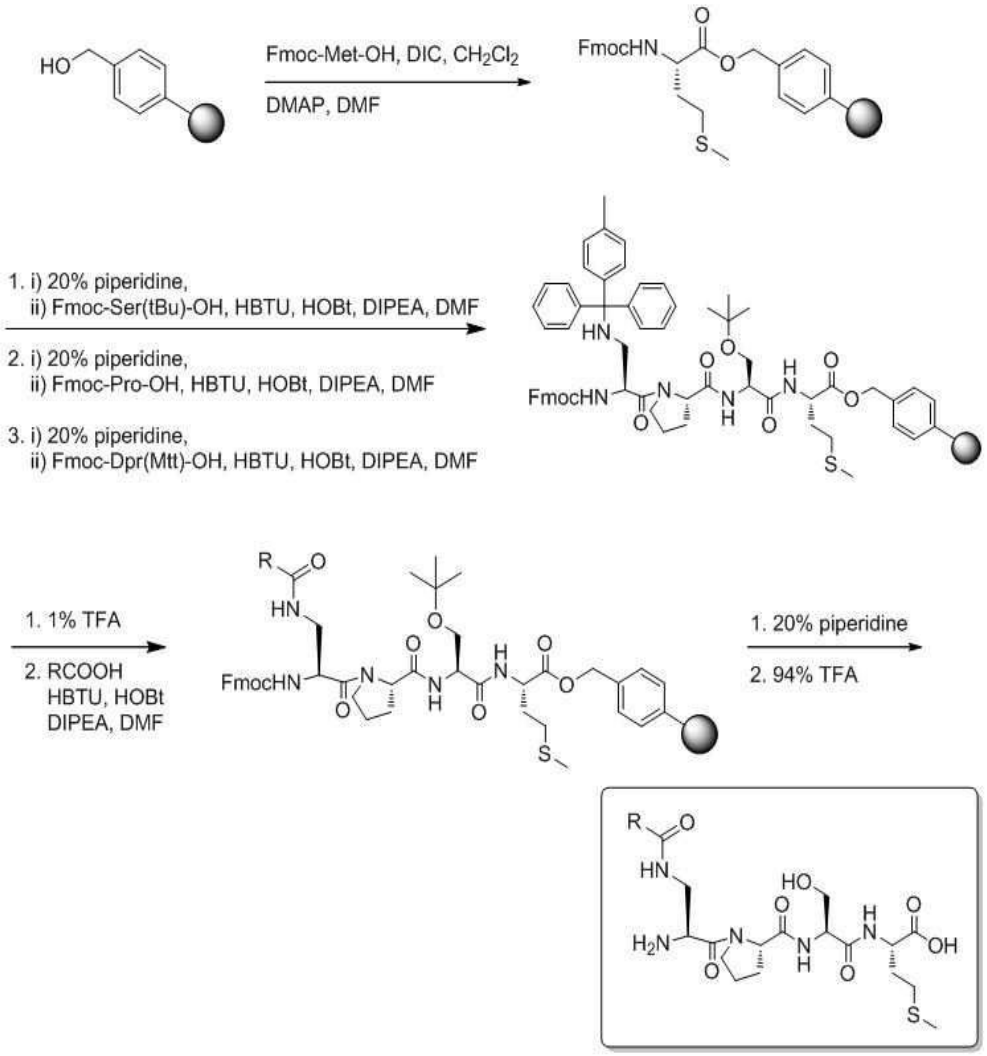
[0482] 상기 3-81과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0483] 96.4% Purity. R_t 23.0 min. MALDI m/z calculated for $C_{59}H_{68}N_{10}NaO_{15}S^+$ $[M+Na]^+$ 1211.45, found 1211.54.

[0484] <u>제조예 4. Dpr(acyl)-Pro-Ser-Met의 합성</u>

[0485] 상기 제조예 3을 통해 제조된 화합물들의 7개 아미노산 잔기들이 모두 동일한 결합강도로 또는 필수적으로 peptide-dTCTP binding 에 기여하는 것은 아니므로, 단단한 결합잔기(tight binding residues)는 남겨두고 느슨한 결합잔기(loose binding residues)는 잘라낸다면, 활성에 큰 영향 없이 화합물의 크기를 최소화 할 수 있을 것이라는 판단하에, 이를 위해 Dpr site 를 중심으로 NH_2 말단의 테트라머(tetramer) 와 COOH 말단의 테트라머(tetramer), 2개의 부분으로 나누었다 (도 3).

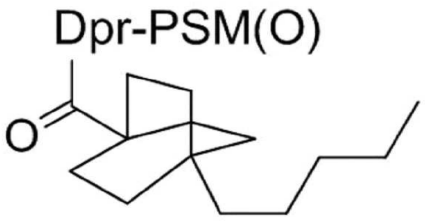
[0486] 제조예 3을 통해 제조된 화합물 중, dTBP2 보다 효과적으로 나온 화합물들을 살펴보면, 4개의 acid 구조는 공통적이었고, 나머지 11개의 구조는 어느 한쪽에서 효과적인 것으로 나타났다(도 4). 따라서 15개의 acids 를 선정하여 제조예 4 및 5의 화합물을 합성하였다.



[0487]

[0488] 왕 레진(Wang resin)에 Fmoc-based SPPS을 이용하여 15개의 산(acid)이 커플링된 COOH 말단의 테트라머(tetramer)를 합성하였으나, rhodanine-3-acetic acid를 제외한 14개의 화합물과 메티오닌 잔기의 황(sulfur)이 산화된 5개의 화합물이 만들어졌다. 산화형과 비산화형의 생성 비율은 1:2.3 에서부터 1:5.6까지 다양하게 나타났다. 결과적으로 총 19개의 화합물이 합성되었다 (88-106).

[0489] <u>4-1. Dpr(4-펜틸바이사이클로[2.2.2]옥탄-1-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Dpr(4-pentylbicyclo[2.2.2]octane-1-carboxylyl)-Pro-Ser-Met(O))</u>



88

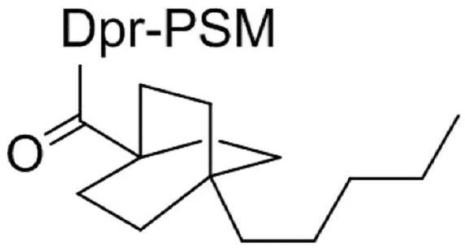
[0490]

[0491] 상기 제조예 3과 동일한 방법으로 Dpr(4-펜틸바이사이클로[2.2.2]옥탄-1-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌을 고

체상으로 합성한 후, 레진 (25 mg, 0.011 mmol)를 필터가 설치된 1 mL Micro Bio-Spin chromatography column에 넣고, 20% 피페리딘/무수 DMF (0.5 mL)를 사용하여 Fmoc 그룹을 제거하고, 가스를 제거한 94% TFA cocktail (0.5 mL)을 첨가하여 상온에서 1시간 동안 혼합한 후 여과하여 여액을 받고, 다시 TFA 용액 (0.3 mL >2)으로 세척하여 그 여액을 받았다. 위 여액들을 합하여 증발기를 이용하여 TFA를 제거한 후, 차가운 에테르를 사용하여 3회 데칸테이션(decantation) 하였다. 이때 생성된 화합물의 손실을 막기 위해 원심 분리기를 이용하였으며, 건조시킨 후 semi-preparative HPLC (binary solvent system, solvent A: 0.1% TFA/H_2O, solvent B: 0.1% TFA/CH_3CN, 5-100% B over 42 min)를 이용하여 분리 및 정제하고 동결 건조한 후 질량분석계(mass spectometry, MS)로 확인하였다.

[0492] 99.9% Purity. R_t 24.8 min. MALDI m/z calculated for $C_{30}H_{52}N_5O_8S^+$ $[M+H]^+$ 642.35, found 642.38

[0493] 4-2. Dpr(4-펜틸바이사이클로[2.2.2]옥탄-1-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Dpr(4-pentylbicyclo[2.2.2]octane-1-carboxylyl)-Pro-Ser-Met)



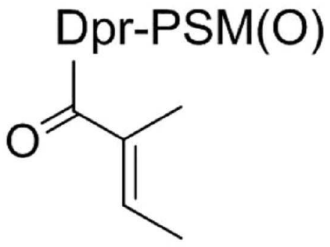
89

[0494]

[0495] 상기 4-1과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였고, ^{1}H NMR과 ^{13}C NMR을 이용하여 추가로 확인하였다.

[0496] 99.9% Purity. R_t 27.4 min. ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): δ 4.62-4.56 (m, 2H), 4.52-4.47 (m, 2H), 3.97-3.89 (m, 2H), 3.80-3.73 (m, 2H), 3.67-3.59 (m, 2H), 2.66-2.52 (m, 2H), 2.40 (m, 1H), 2.21 (m, 1H), 2.10 (s, 3H), 2.07-1.92 (m, 4H), 1.79-1.70 (m, 6H), 1.46-1.39 (m, 6H), 1.32-1.08 (m, 8H), 0.85 (t, 3H, J = 6.8). ^{13}C NMR (100 MHz, D_2O): δ 182.2, 175.2, 173.2, 171.5, 167.0, 61.3, 60.8, 56.0, 52.1, 51.1, 48.3, 41.4, 40.0, 39,4, 33.0, 30.8, 30.6, 30.3, 29.9, 29.7, 28.6, 24.8, 23.5, 22.7, 14.8, 14.0. MALDI m/z calculated for $C_{30}H_{52}N_5O_7S^+$ $[M+H]^+$ 626.36, found 626.38.

[0497] 4-3. Dpr(타이글라일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Dpr(tiglyl)-Pro-Ser -Met(O))



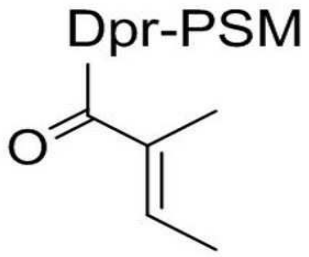
90

[0498]

[0499] 상기 제조예 3과 동일한 방식으로 Dpr(타이글라일)-프롤린-세린-메티오닌 을 고체상으로 합성한 후, 상기 제조예 4-1과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0500] 99.9% Purity. R_t 12.2 min. MALDI m/z calculated for $C_{21}H_{36}N_5O_8S^+$ $[M+H]^+$518.23, found 518.27.

[0501] <u>4-4. Dpr(타이글라일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Dpr(tiglyl)-Pro-Ser -Met)</u>



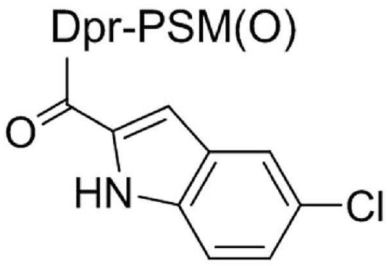
91

[0502]

[0503] 상기 4-3과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였고, ^{1}H NMR과 ^{13}C NMR을 이용하여 추가로 확인하였다.

[0504] 99.9% Purity. R_t 16.8 min. ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): δ6.57 (q, 1H, J = 7.2), 4.63-4.55 (m, 3H), 4.46 (t, 1H, J = 5.6), 3.97-3.88 (m, 3H), 3.81 (m, 1H), 3.75-3.68 (m, 2H), 2.74-2.53 (m, 2H), 2.40 (m, 1H), 2.22 (m, 1H), 2.13 (s, 3H), 2.12-1.98 (m, 4H), 1.86 (s, 3H), 1.81 (d, 3H, J = 7.2). ^{13}C NMR (125 MHz, D_2O): δ175.7, 173.8, 173.7, 171.6, 166.6, 135.2, 130.0, 61.1, 60.8, 56.0, 52.3, 52.2, 48.2, 39.5, 30.4, 29.7, 29.5, 24.9, 14.3, 13.7, 11.6. MALDI m/z calculated for $C_{21}H_{36}N_5O_7S^+$ $[M+H]^+$ 502.23, found 502.30.

[0505] <u>4-5. Dpr(5-클로로인돌-2-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Dpr(5-chloroindole-2-carboxylyl)-Pro-Ser-Met(O))</u>



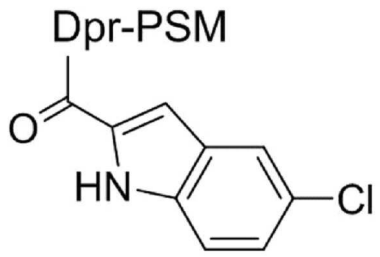
92

[0506]

[0507] 상기 제조예 3과 동일한 방식으로 Dpr(5-클로로인돌-2-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌을 고체상으로 합성한 후, 상기 제조예 4-1과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0508] 99.9% Purity. R_t 19.4 min. MALDI m/z calculated for $C_{25}H_{34}ClN_6O_8S^+$ $[M+H]^+$ 613.18, found 613.22.

[0509] 4-6. Dpr(5-클로로인돌-2-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Dpr(5-chloroindole-2-carboxylyl)-Pro-Ser-Met)



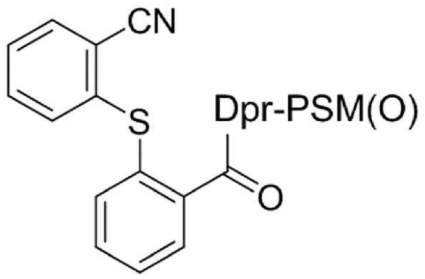
93

[0510]

[0511] 상기 4-5와 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였고, ^{1}H NMR과 ^{13}C NMR을 이용하여 추가로 확인하였다.

[0512] 97.3% Purity. R_t 22.5 min. ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): δ7.74 (d, 1H, *J* = 2.0), 7.50 (dd, 1H, *J* = 8.8, *J* = 0.4), 7.33 (dd, 1H, *J* = 8.8, *J* = 2.0), 7.07 (s, 1H), 4.70-4.63 (m, 2H), 4.48-4.42 (m, 2H), 4.00 (td, 1H, *J* = 14.8, *J* = 5.6), 3.96 (td, 1H, *J* = 14.8, *J* = 5.6), 3.91 (d, 2H, *J* = 5.6), 3.83 (m, 1H), 3.72 (m, 1H), 2.51-2.37 (m, 3H), 2.12-2.01 (m, 4H), 1.99 (s, 3H), 1.94 (m, 1H). ^{13}C NMR (125 MHz, D_2O): δ 175.7, 173.8, 171.5, 166.8, 164.3, 135.4, 130.8, 128.1, 125.8, 125.3, 121.4, 113.8, 104.6, 61.0, 60.9, 56.0, 52.4, 52.0, 48.4, 39.2, 30.3, 29.7, 29.5, 24.9, 14.2. MALDI m/z calculated for $C_{25}H_{34}ClN_6O_7S^+$ $[M+H]^+$ 597.19, found 597.26.

[0513] 4-7. Dpr(2-(2-시아노페닐티오)벤조일)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Dpr(2-(2-cyanophenylthio)benzoyl)-Pro-Ser-Met(O))



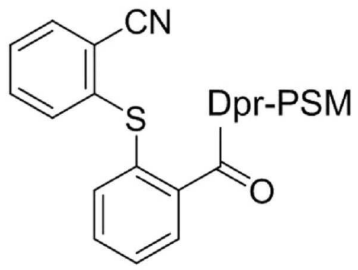
94

[0514]

[0515] 상기 제조예 3과 동일한 방식으로 Dpr(2-(2-시아노페닐티오)벤조일)-프롤린-세린-메티오닌을 고체상으로 합성한 후, 상기 제조예 4-1과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0516] 99.9% Purity. R_t 19.0 min. MALDI m/z calculated for $C_{30}H_{37}N_6O_8S_2^+$ $[M+H]^+$ 673.21, found 673.31.

[0517] 4-8. Dpr(2-(2-시아노페닐티오)벤조일)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Dpr(2-(2-cyanophenylthio)benzoyl)-Pro-Ser-Met)



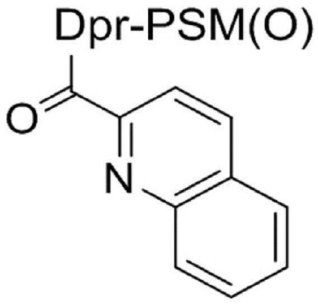
95

[0518]

[0519] 상기 4-7와 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였고, ^{1}H NMR과 ^{13}C NMR을 이용하여 추가로 확인하였다.

[0520] 99.9% Purity. R_t 22.1 min. ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): δ 7.85 (d, 1H, J = 8.0), 7.67-7.35 (m, 7H), 4.66 (t, 1H, J = 5.2), 4.60 (t, 1H, J = 7.2), 4.47 (dd, 1H, J = 8.8, J = 4.8), 4.38 (t, 1H, J = 5.6), 3.92-3.71 (m, 6H), 2.59-2.34 (m, 4H), 2.15 (m, 1H), 2.07 (s, 3H), 2.06-1.93 (m, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, D_2O): δ 175.4, 173.6, 172.1, 171.5, 166.5, 138.7, 136.1, 134.7, 134.4, 133.8, 133.2, 132.5, 132.1, 128.9, 128.8, 128.5, 117.9, 114.5, 61.1, 60.9, 55.9, 52.1, 52.0, 48.4, 39.6, 30.3, 29.6, 29.5, 24.9, 14.3. MALDI m/z calculated for $C_{30}H_{37}N_6O_7S_2^+$ $[M+H]^+$ 657.22, found 657.33.

[0521] 4-9. Dpr(퀴나딜)-프롤린-세린-메티오닌 산화형 (Dpr(quinaldyl) -Pro-Ser-Met(O))



96

[0522]

[0523] 상기 제조예 3과 동일한 방식으로 Dpr(퀴나딜)-프롤린-세린-메티오닌을 고체상으로 합성한 후, 상기 제조예 4-1과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0524] 99.9% Purity. R_t 16.2 min. MALDI m/z calculated for $C_{26}H_{35}N_6O_8S^+$ $[M+H]^+$ 591.22, found 591.25.

[0525] 4-10. Dpr(퀴나딜)-프롤린-세린-메티오닌 비산화형 (Dpr(quinaldyl) -Pro-Ser-Met)

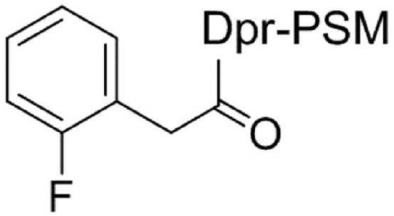
97

[0526]

[0527] 상기 4-9와 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0528] 99.9% Purity. R_t 19.8 min. ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): δ 8.61 (d, 1H, J = 8.8), 8.15 (d, 1H, J = 8.4), 8.12 (d, 1H, J = 8.8), 8.09 (d, 1H, J = 8.4), 7.95 (t, 1H, J = 8.4), 7.79 (t, 1H, J = 8.4), 4.74 (t, 1H, J = 5.6), 4.63 (m, 1H), 4.44-4.39 (m, 2H), 4.08-4.06 (m, 2H), 3.87-3.83 (m, 4H), 2.49-2.33 (m, 3H), 2.12-2.00 (m, 4H), 1.98 (s, 3H), 1.90 (m, 1H). ^{13}C NMR (125 MHz, D_2O): δ 175.1, 173.6, 171.5, 167.8, 166.7, 148.3, 145.6, 140.0, 131.8, 129.7, 129.3, 128.5, 128.3, 118.8, 61.0, 55.9, 52.1, 51.8, 51.7, 48.4, 39.4, 30.1, 29.7, 29.4, 24.9, 14.2. MALDI m/z calculated for $C_{26}H_{35}N_6O_7S^+$ $[M+H]^+$ 575.23, found 575.28.

[0529] 4-11. Dpr(2-플루오로페닐아세틸)-프롤린-세린-메티오닌 (Dpr (2-fluorophenylacetyl)-Pro-Ser-Met)



98

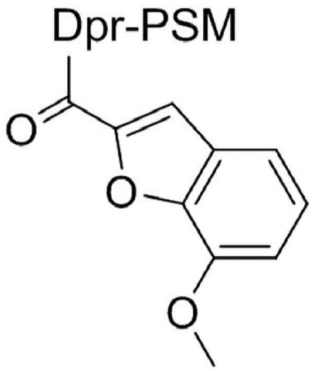
[0530]

[0531] 상기 제조예 3과 동일한 방식으로 Dpr(2-플루오로페닐아세틸)-프롤린-세린-메티오닌을 고체상으로 합성한 후, 상기 제조예 4-1과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였고, ^{1}H NMR과 ^{13}C NMR을 이용하여 추가로 확인하였다.

[0532] 99.9% Purity. R_t 19.1 min. ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): δ 7.43-7.33 (m, 2H), 7.24-7.17 (m, 2H), 4.61-4.54 (m, 3H), 4.46 (t, 1H, J = 5.6), 3.94-3.61 (m, 8H), 2.66-2.51 (m, 2H), 2.38 (m, 1H), 2.21 (m, 1H), 2.09 (s, 3H), 2.07-1.94 (m, 4H). ^{13}C NMR (100 MHz, D_2O): δ 175.3, 173.7, 171.6, 166.6, 162.3, 159.9, 132.0 (d, J_{C-F} = 3.7), 129.9 (d, J_{C-F} = 8.8), 124.8 (d, J_{C-F} = 3.6), 121.5 (d, J_{C-F} = 16.1), 115.6 (d, J_{C-F} = 21.3),

61.1, 60.9, 55.9, 51.9, 48.3, 39.5, 35.7, 35.6, 30.1, 29.6, 29.5, 24.9, 14.2. MALDI m/z calculated for $C_{24}H_{35}FN_5O_7S^+$ $[M+H]^+$ 556.22, found 556.29.

[0533] 4-12. Dpr(7-메톡시-1-벤조퓨란-2-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 (Dpr (7-methoxy-1-benzofuran-2-carboxylyl)-Pro-Ser-Met)



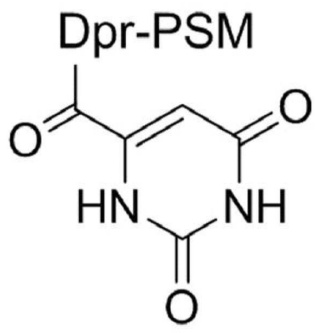
99

[0534]

[0535] 상기 제조예 3과 동일한 방식으로 Dpr(7-메톡시-1-벤조퓨란-2-카복실일)-프롤린-세린-메티오닌을 고체상으로 합성한 후, 상기 제조예 4-1과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였고, ^{1}H NMR과 ^{13}C NMR을 이용하여 추가로 확인하였다.

[0536] 99.9% Purity. R_t 20.5 min. ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): δ 7.57 (s, 1H), 7.39 (dd, 1H, *J* = 8.0, *J* = 0.8), 7.34 (t, 1H, *J* = 8.0), 7.14 (dd, 1H, *J* = 8.0, *J* = 0.8), 4.70 (dd, 1H, *J* = 6.0, *J* = 4.8), 4.62 (dd, 1H, *J* = 8.8, *J* = 5.6), 4.45 (d, 1H, *J* = 6.0), 4.44 (dd, 1H, *J* = 5.2, *J* = 2.0), 4.05 (s, 3H), 4.02-3.95 (m, 2H), 3.89 (d, 2H, *J* = 5.6), 3.86-3.77 (m, 2H), 2.52-2.37 (m, 3H), 2.15-2.05 (m, 4H), 2.02 (s, 3H), 1.91 (m, 1H). ^{13}C NMR (100 MHz, D_2O): δ 174.9, 173.4, 171.2, 166.3, 161.8, 146.8, 144.9, 144.3, 128.5, 124.9, 115.2, 112.2, 109.6, 60.8, 60.7, 56.1, 55.6, 51.8, 51.6, 48.1, 38.8, 29.9, 29.3, 29.1, 24.6, 13.9. MALDI m/z calculated for $C_{26}H_{36}N_5O_9S^+$ $[M+H]^+$ 594.22, found 594.35.

[0537] 4-13. Dpr(오로틸)-프롤린-세린-메티오닌 (Dpr(orotyl)-Pro-Ser-Met)



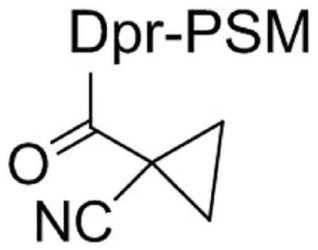
100

[0538]

[0539] 상기 제조예 3과 동일한 방식으로 Dpr(오로틸)-프롤린-세린-메티오닌을 고체상으로 합성한 후, 상기 제조예 4-1과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였고, ^{1}H NMR과 ^{13}C NMR을 이용하여 추가로 확인하였다.

[0540] 99.9% Purity. R_t 13.8 min. ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): δ6.37 (s, 1H), 4.69 (dd, 1H, J = 6.0, J = 3.2), 4.62 (dd, 1H, J = 8.4, J = 6.4), 4.59 (dd, 1H, J = 9.2, J = 4.4), 4.48 (dd, 1H, J = 6.4, J = 5.2), 4.11(dd, 1H, J = 15.2, J = 4.4), 3.96-3.81 (m, 4H), 3.74 (m, 1H), 2.65-2.50 (m, 2H), 2.41 (m, 1H), 2.26-2.13 (m, 2H), 2.11 (s, 3H), 2.10-1.95 (m, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, D_2O): δ175.5, 173.9, 171.6, 166.9, 166.0, 162.6, 152.3, 144.8, 101.6, 61.0, 60.8, 56.2, 52.2, 52.1, 48.2, 39.1, 30.4, 29.6, 29.5, 25.0, 14.2. MALDI m/z calculated for $C_{21}H_{32}N_7NaO_9S^+$ $[M+Na]^+$ 580.18, found 580.22.

[0541] 4-14. Dpr(1-시아노-1-사이클로프로판카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 (Dpr(1-cyano-1-cyclopropanecarboxylyl)-Pro-Ser-Met)



101

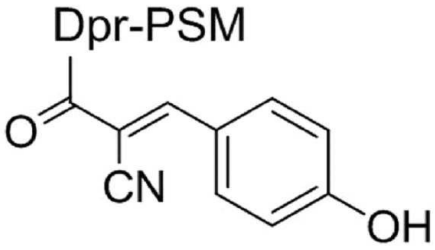
[0542]

[0543] 상기 제조예 3과 동일한 방식으로 Dpr(1-시아노-1-사이클로프로판카복실일)-프롤린-세린-메티오닌을 고체상으로 합성한 후, 상기 제조예 4-1과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였고, ^{1}H NMR과 ^{13}C NMR을 이용하여 추가로 확인하였다.

[0544] 99.9% Purity. R_t 15.8 min. ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): δ4.63-4.56 (m, 3H), 4.51 (t, 1H, J = 6.0), 3.97 (dd,

1H, J = 14.8, J = 3.6), 3.93 (m, 1H), 3.90 (dd, 1H, J = 11.6, J = 6.0), 3.83-3.72 (m, 2H), 3.67 (dd, 1H, J = 14.8, J = 7.2), 2.69-2.54 (m, 2H), 2.40 (ddd, 1H, J = 11.6, J = 8.0, J = 6.0), 2.23 (m, 1H), 2.13 (s, 3H), 2.12-1.95 (m, 4H), 1.79-1.69 (m, 4H). ^{13}C NMR (100 MHz, D_2O): δ 177.9, 176.0, 174.0, 172.2, 168.5, 122.5, 63.4, 63.0, 58.2, 54.5, 54.4, 50.5, 42.2, 32.6, 31.9, 31.8, 27.2, 20.9, 20.8, 16.5, 16.4. MALDI m/z calculated for $C_{21}H_{33}N_6O_7S^+$ $[M+H]^+$ 513.21, found 513.23.

[0545] 4-15. Dpr(알파-시아노-4-하이드록시신나밀)-프롤린-세린-메티오닌 (Dpr(α-cyano-4-hydroxycinnamyl)-Pro-Ser-Met)



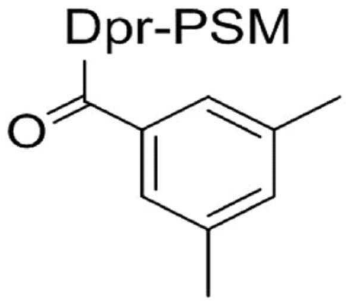
102

[0546]

[0547] 상기 제조예 3과 동일한 방식으로 Dpr(알파-시아노-4-하이드록시신나밀)-프롤린-세린-메티오닌을 고체상으로 합성한 후, 상기 제조예 4-1과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였고, ^{1}H NMR과 ^{13}C NMR을 이용하여 추가로 확인하였다.

[0548] 83.7% Purity. R_t 18.4 min. ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): δ 8.12 (s, 1H), 7.94 (d, 2H, J = 8.8), 7.03 (d, 2H, J = 8.8), 4.80-4.60 (m, 2H), 4.53-4.46 (m, 2H), 3.99 (dd, 1H, J = 15.2, J = 4.4), 3.91-3.87 (m, 2H), 3.86-3.75 (m, 3H), 2.55-2.39 (m, 3H), 2.14-2.07 (m, 2H), 2.06 (s, 3H), 2.04-1.96 (m, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, D_2O): δ 173.6, 171.6, 166.5, 165.6, 161.1, 153.9, 134.0, 123.9, 117.1, 116.5, 116.1, 99.6, 61.0, 60.9, 55.9, 51.9, 51.8, 48.3, 39.8, 30.2, 29.6, 29.4, 24.9, 14.2. MALDI m/z calculated for $C_{26}H_{35}N_6O_8S^+$ $[M+H]^+$ 591.22, found 591.22.

[0549] 4-16. Dpr(3,5-디메틸벤조일)-프롤린-세린-메티오닌 (Dpr (3,5-dimethyl benzoyl)-Pro-Ser-Met)



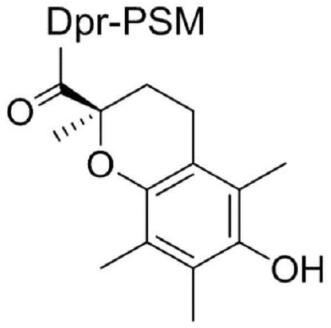
103

[0550]

[0551] 상기 제조예 3과 동일한 방식으로 Dpr(3,5-디메틸벤조일)-프롤린-세린-메티오닌을 고체상으로 합성한 후, 상기 제조예 4-1과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0552] 99.9% Purity. R_t 21.1 min. MALDI m/z calculated for $C_{25}H_{38}N_5O_7S^+$ $[M+H]^+$ 552.25, found 552.28.

[0553] 4-17. Dpr((R)-(+)-트롤록실)-프롤린-세린-메티오닌 (Dpr ((R)-(+)-troloxyl) -Pro-Ser-Met)



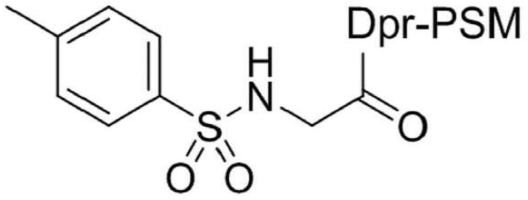
104

[0554]

[0555] 상기 제조예 3과 동일한 방식으로 Dpr((R)-(+)-트롤록실)-프롤린-세린-메티오닌을 고체상으로 합성한 후, 상기 제조예 4-1과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0556] 99.9% Purity. R_t 21.3 min. MALDI m/z calculated for $C_{30}H_{46}N_5O_9S^+$ $[M+H]^+$ 652.30, found 652.40.

[0557] 4-18. Dpr(2-(4-메틸페닐설폰아미도)아세틸)-프롤린-세린-메티오닌 (Dpr(2-(4-methylphenylsulfonamido)acetyl)-Pro-Ser-Met)



105

[0558]

[0559] 상기 제조예 3과 동일한 방식으로 Dpr(2-(4-메틸페닐설폰아미도)아세틸)-프롤린-세린-메티오닌을 고체상으로 합성한 후, 상기 제조예 4-1과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0560] 99.9% Purity. R_t 20.0 min. MALDI m/z calculated for $C_{25}H_{39}N_6O_9S_2^+$ $[M+H]^+$ 631.22, found 631.34.

[0561] 4-19. Dpr(5-니트로-3-피라졸카복실일)-프롤린-세린-메티오닌 (Dpr(5-nitro-3-pyrazolecarboxylyl)-Pro-Ser-

Met)

106

[0562]

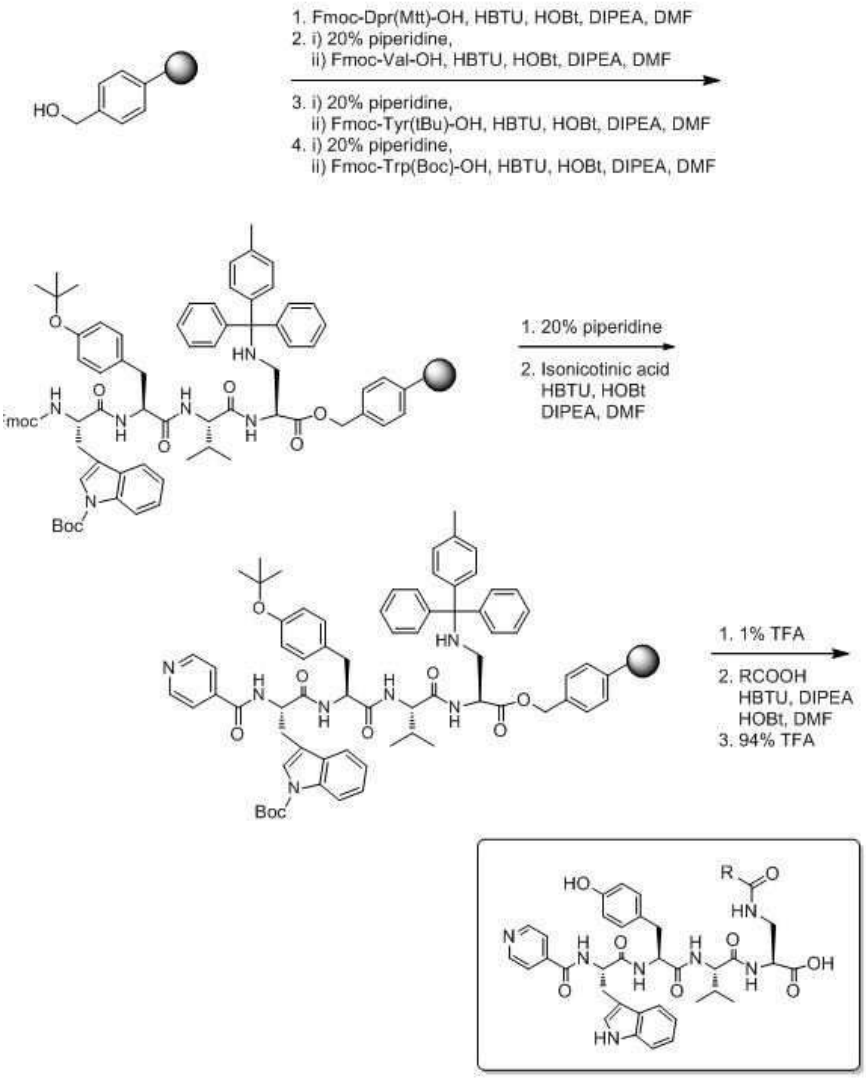
[0563] 상기 제조예 3과 동일한 방식으로 Dpr(5-니트로-3-피라졸카복실일)-프롤린-세린-메티오닌을 고체상으로 합성한 후, 상기 제조예 4-1과 동일한 방법으로 합성하였으며, 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였고, ^{1}H NMR과 ^{13}C NMR을 이용하여 추가로 확인하였다.

[0564] 99.9% Purity. R_t 17.2 min. ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): δ 7.56 (s, 1H), 4.71 (dd, 1H, J = 6.4, J = 4.0), 4.65 (dd, 1H, J = 8.8, J = 6.0), 4.53 (dd, 1H, J = 8.8, J = 4.4), 4.49 (t, 1H, J = 5.6), 4.09 (dd, 1H, J = 14.8, J = 4.0), 3.96-3.82 (m, 4H), 3.75 (m, 1H), 2.63-2.48 (m, 2H), 2.35 (m, 1H), 2.18 (m, 1H), 2.09 (s, 3H), 2.07-1.97 (m, 4H). ^{13}C NMR (125 MHz, D_2O): δ 175.9, 173.9, 171.4, 166.3, 160.5, 155.8, 138.6, 102.6, 61.1, 60.8, 56.1, 52.6, 52.1, 48.3, 38.9, 30.5, 29.7, 29.5, 25.0, 14.2. MALDI m/z calculated for $C_{20}H_{31}N_8O_9S^+$ $[M+H]^+$ 559.19, found 559.18.

[0565] 제조예 5. Isonicotinic-Trp-Tyr-Val-Dpr(acyl)의 합성

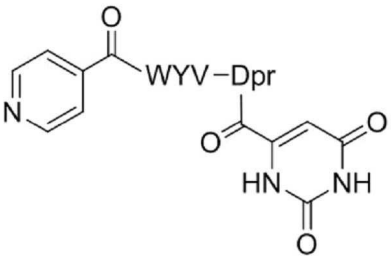
[0566] 전반적으로 Isonicotinic-Trp-Tyr-Val-Dpr(acyl)의 합성은 상기 제조예 4의 조건을 따랐으나, Mtt 보호기의 사이즈가 크기 때문에, DMAP/DIC를 이용하여 Fmoc-Dpr(Mtt) 무수물(anhydride)을 만들어서 레진에 로딩하는 것(79.2%) 보다는 HBTU를 커플링 반응물로 사용하여 2번에 걸쳐 로딩하는 것 (85.8%) 이 더욱 효과적이어서 후자의 방법으로 로딩하였다.

[0567] Isonicotinic-Trp-Tyr-Val-Dpr(acyl)의 합성 역시 왕 레진(Wang resin)에 Fmoc-based SPPS를 이용하였고, 15개의 acid 중에서 α-cyano-4-hydroxy cinnamic acid 를 제외한 14개의 산(acid)이 커플링 된 화합물을 얻었다(107-120).



[0568]

[0569] <u>5-1. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(오로틸) (Isonicotinyl-Trp- Tyr-Val-Dpr(orotyl)</u>



107

[0570]

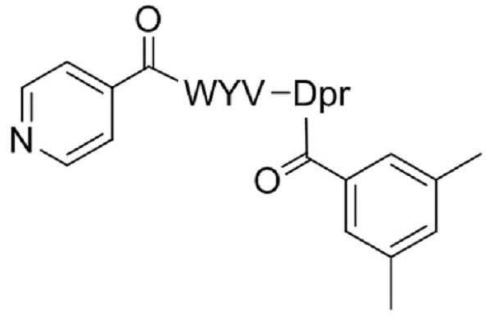
[0571] 필터가 설치된 20 mL TORVIQ PP syringe에 왕 레진(Wang resin) LL(100-200 mesh, 500 mg, 0.44 mmol/g, 0.22 mmol)을 넣고 무수 DMF를 넣어 30분간 팽윤시킨 후 배수시켰다. Fmoc-Dpr(Mtt)-OH(5.0 당량, 614.0 mg, 1.1 mmol), HBTU(5.0 당량, 417 mg, 1.1 mmol), HOBt.H_2O (5.0 당량, 169 mg, 1.1 mmol), DIPEA (10.0 당량, 0.38

mL, 2.2 mmol) 를 무수 DMF(10.0 mL)에 녹인 후 3분간 교반하여 팽윤한 레진에 첨가한 후 3시간 동안 회전형 진탕기(orbital shaker, 130 r.p.m.)를 사용하여 혼합하고 용매를 배수한 후 DMF, iPrOH 및 CH_2Cl_2으로 세척하였다 (각각 15 mL > 1m > 3). UV 흡광계(Spectroptometry)를 이용하여 Fmoc 정량(quantification)한 결과, 로딩레벨(loading level)은 71.7%로 나타났다. 로딩레벨을 높이기 위해 상기 반응을 2회 반복하였다(85.8%).

[0572] 로딩레벨을 90%로 계산하여 레진의 농도를 0.4 mmol이라 가정하고, 상기 제조예 3과 동일한 방법으로 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(오로틸)을 고체상으로 합성한 후, 이렇게 만들어진 레진 (35 mg, 0.0154 mmol)에 가스를 제거한 94% TFA cocktail (0.7 mL)를 첨가하여 상온에서 1시간 동안 혼합한 후 여과하여 여액을 받고, 다시 TFA 용액으로 세척하여 (0.4 mL > 2) 그 여액을 받았다. 위 여액들을 합하여 증발기를 이용하여 TFA를 제거한 후, 차가운 에테르를 사용하여 3회 데칸테이션(decantation)하였다. 이때 생성된 화합물의 손실을 막기 위해 원심 분리기를 이용하였으며, 고압건조 후 semi-preparative HPLC (binary solvent system, solvent A: 0.1% TFA/H_2O, solvent B: 0.1% TFA/CH_3CN, 5-100% B over 42 min)를 이용하여 분리 및 정제하고 동결 건조한 후 질량분석계(mass spectrometry) 로 확인하였고 ^{1}H NMR과 ^{13}C NMR를 이용하여 추가로 확인하였다.

[0573] 99.9% Purity. R_t 19.2 min. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 11.34 (brs, 1H), 10.75 (brs, 1H), 10.74 (brs, 1H), 8.81 (d, 1H, J = 8.4), 8.77 (t, 1H, J = 5.6), 8.71 (brs, 2H), 8.27 (d, 1H, J = 7.6), 8.24 (d, 1H, J = 8.4), 7.92 (d, 1H, J = 8.0), 7.69 (d, 2H, J = 5.2), 7.65 (d, 1H, J = 7.6), 7.29 (d, 1H, J = 7.6), 7.15 (d, 1H, J = 2.0), 7.05 (m, 1H), 7.03 (d, 2H, J = 8.4), 6.95 (t, 1H, J = 7.6), 6.57 (d, 2H, J = 8.4), 6.04 (s, 1H), 4.74 (m, 1H), 4.57 (m, 1H), 4.46 (td, 1H, J = 7.6, J = 6.8), 4.18 (t, 1H, J = 8.0), 3.65-3.55 (m, 2H, identified from HSQC), 3.17 (dd, 1H, J = 14.4, J = 3.6), 3.06 (dd, 1H, J = 14.4, J = 10.4), 2.94 (dd, 1H, J = 14.0, J = 3.6), 2.73 (dd, 1H, J = 14.0, J = 8.4), 2.00 (m, 1H), 0.89 (d, 3H, J = 6.4), 0.86 (d, 3H, J = 6.4). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 171.4, 171.3, 171.2, 170.9, 164.4, 164.3, 160.5, 155.7, 150.8, 149.5, 145.0, 141.6, 136.0, 130.2, 127.8, 127.2, 123.6, 121.7, 120.9, 118.5, 118.2, 114.8, 111.3, 110.3, 100.1, 57.8, 54.2, 54.1, 51.3, 40.3, 36.3, 30.6, 27.3, 19.1, 18.1. MALDI m/z calculated for $C_{39}H_{41}N_9NaO_{10}^+$ $[M+Na]^+$ 818.29, found 818.58.

[0574] <u>5-2.이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(3,5-디메틸벤조일) (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(3,5-dimethyl benzoyl))</u>



108

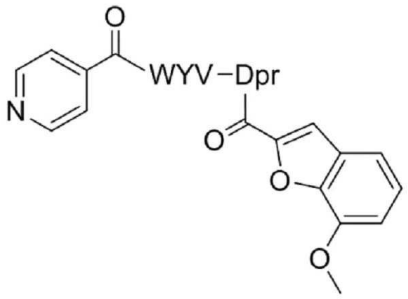
[0575]

[0576] 상기 제조예 3과 동일한 방식으로 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(3,5-디메틸벤조일)을 고체상으로 합성하였으며, 상기 제조예 5-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였고, ^{1}H NMR과 ^{13}C NMR을 이용하여 추가로 확인하였다.

[0577] 99.9% Purity. R_t 24.7 min. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 10.74 (d, 1H, J = 2.0), 8.87 (d, 1H, J = 8.0), 8.74 (brs, 2H), 8.40 (t, 1H, J = 5.6), 8.29 (d, 1H, J = 6.8), 8.21 (d, 1H, J = 8.0), 7.86 (d, 1H, J =

8.8), 7.72 (d, 2H, J = 5.6), 7.66 (d, 1H, J = 7.6), 7.41 (s, 2H), 7.29 (d, 1H, J = 7.6), 7.15 (d, 1H, J = 2.0), 7.13 (s, 1H), 7.04 (t, 1H, J = 7.6), 7.01 (d, 2H, J = 8.4), 7.00 (t, 1H, J = 7.6), 6.57 (d, 2H, J = 8.4), 4.75 (m, 1H), 4.55 (m, 1H), 4.43 (q, 1H, J = 6.8), 4.23 (dd, 1H, J = 8.8, J = 6.8), 3.64-3.57 (m, 2H), 3.17 (dd, 1H, J = 14.8, J = 4.0), 3.06 (dd, 1H, J = 14.8, J = 10.4), 2.93 (dd, 1H, J = 14.0, J = 4.0), 2.73 (dd, 1H, J = 14.0, J = 9.6), 2.29 (s, 6H), 2.00 (m, 1H), 0.88 (d, 3H, J = 6.4), 0.85 (d, 3H, J = 6.4). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 171.7, 171.2, 171.0, 170.8, 167.1, 164.3, 155.7, 149.1, 141.9, 137.4, 136.0, 134.3, 132.6, 130.1, 127.8, 127.2, 125.0, 123.6, 121.9, 120.9, 118.5, 118.2, 114.8, 111.3, 110.4, 57.4, 54.2 (2C, identified from HSQC), 52.2, 40.3 (identified from HSQC), 36.2, 30.9, 27.2, 20.8, 19.1, 18.0. MALDI m/z calculated for $C_{43}H_{47}N_7NaO_8^+$ $[M+Na]^+$ 812.34, found 812.67.

[0578] 5-3. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(7-메톡시-1-벤조퓨란-2-카복실일) (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(7-methoxy-1-benzofuran-2-carboxylyl))



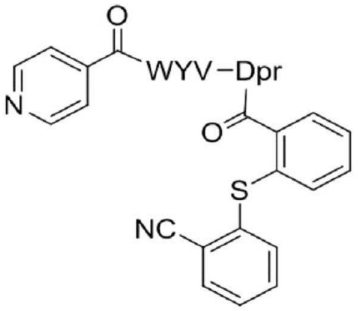
109

[0579]

[0580] 상기 제조예 3과 동일한 방식으로 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(7-메톡시-1-벤조퓨란-2-카복실일)을 고체상으로 합성하였으며, 상기 제조예 5-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였고, ^{1}H NMR과 ^{13}C NMR을 이용하여 추가로 확인하였다.

[0581] 99.9% Purity. R_t 24.3 min. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 10.73 (s, 1H), 8.85 (d, 1H, J = 8.0), 8.73 (brs, 2H), 8.66 (t, 1H, J = 5.6), 8.35 (d, 1H, J = 7.2), 8.21 (d, 1H, J = 8.0), 7.86 (d, 1H, J = 8.4), 7.71 (d, 2H, J = 4.0), 7.66 (d, 1H, J = 7.6), 7.50 (s, 1H), 7.29 (d, 2H, J = 7.6), 7.23 (t, 1H, J = 7.6), 7.14 (d,1H, J = 1.6), 7.06-7.01 (m, 2H), 6.99 (d, 2H, J = 8.8), 6.95 (t, 1H, J = 7.6), 6.56 (d, 2H, J = 8.8), 4.74 (m, 1H), 4.54 (m, 1H), 4.45 (q, 1H, J = 7.2), 4.23 (dd, 1H, J = 8.4, J = 6.8), 3.94 (s, 3H), 3.70-3.60 (m, 2H, identified from HSQC), 3.16 (dd, 1H, J = 14.8, J = 3.6), 3.06 (dd, 1H, J = 14.8, J = 9.8), 2.93 (dd, 1H, J = 13.6, J = 4.0), 2.72 (dd, 1H, J = 13.6, J = 9.2), 2.00 (m, 1H), 0.87 (d, 3H, J = 6.8), 0.84 (d, 3H, J = 6.8). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 171.6, 171.2, 170.9, 170.8, 164.3, 158.3, 155.7, 149.2, 148.9, 145.2, 143.6, 141.8, 136.0, 130.1, 128.6, 127.8, 127.2, 124.6, 123.6, 121.8, 120.9, 118.5, 118.2, 114.8, 114.5, 111.3, 110.4, 110.2, 108.8, 57.4, 55.7, 54.2 (2C, identified from HSQC), 52.0, 35.9 (identified from HSQC), 36.3, 30.9, 27.2, 19.1, 18.0. MALDI m/z calculated for $C_{44}H_{45}N_7NaO_{10}^+$ $[M+Na]^+$ 854.31, found 854.67.

[0582] 5-4. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-(2-시아노페닐티오)벤조일) (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(2-(2-Cyanophenylthio)benzoyl))



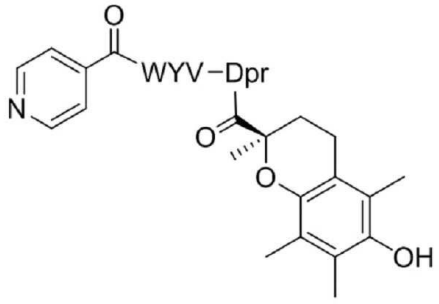
110

[0583]

[0584] 상기 제조예 3과 동일한 방식으로 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-(2-시아노페닐티오)벤조일)을 고체상으로 합성하였으며, 상기 제조예 5-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였고, ^{1}H NMR과 ^{13}C NMR을 이용하여 추가로 확인하였다.

[0585] 99.9% Purity. R_t 25.5 min. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 12.70 (brs, 1H), 10.73 (d, 1H, J = 2.0), 9.10 (brs, 1H), 8.83 (d, 1H, J = 8.4), 8.70 (brs, 2H), 8.53 (t, 1H, J = 5.6), 8.28 (d, 1H, J = 7.6), 8.22 (d, 1H, J = 7.6), 7.92 (dd, 1H, J = 8.0, J = 1.2), 7.85 (d, 1H, J = 8.8), 7.68-7.64 (m, 4H), 7.56-7.51 (m, 2H), 7.44 (d, 1H, J = 8.0), 7.40-7.33 (m, 2H), 7.29 (d, 1H, J = 7.6), 7.15 (d, 1H, J = 2.0), 7.05-6.99 (m, 2H), 7.02 (d, 2H, J = 8.0), 6.96 (t, 1H, J = 7.6), 6.57 (d, 2H, J = 8.0), 4.74 (m, 1H), 4.55 (m, 1H), 4.46 (q, 1H, J = 7.2), 4.25 (dd, 1H, J = 8.8, J = 6.8), 3.62-3.56 (m, 2H), 3.17 (dd, 1H, J = 14.8, J = 4.0), 3.07 (dd, 1H, J = 14.8, J = 10.4), 2.94 (dd, 1H, J = 14.4, J = 4.0), 2.74 (dd, 1H, J = 14.4, J = 9.6), 2.02 (m, 1H), 0.89 (d, 3H, J = 6.8), 0.86 (d, 3H, J = 6.8). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 171.6, 171.3, 171.0, 170.8, 167.4, 164.5, 155.7, 149.7, 141.3, 138.7, 136.8, 136.0, 134.4, 134.1, 133.8, 133.5, 131.0, 130.5, 130.1, 128.8, 128.5, 127.9, 127.2, 127.1, 123.6, 121.6, 120.9, 118.5, 118.2, 117.0, 115.0, 114.8, 111.3, 110.4, 57.4, 54.2 (2C, identified from HSQC), 51.9, 40.0 (identified from HSQC), 36.3, 30.9, 27.2, 19.2, 18.0. MALDI m/z calculated for $C_{48}H_{46}N_8NaO_8S^+$ $[M+Na]^+$ 917.31, found 917.72.

[0586] <u>5-5.이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr((R)-(+)-트롤록실) (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr((R)-(+)-troloxyl))</u>



111

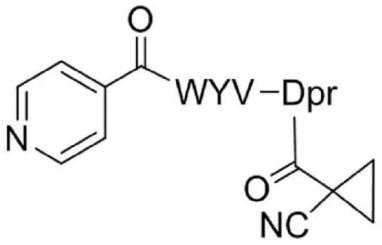
[0587]

[0588] 상기 제조예 3과 동일한 방식으로 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr((R)-(+)-트롤록실)을 고체상으로 합성하였으며, 상기 제조예 5-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생

성된 화합물을 확인하였고, ^{1}H NMR과 ^{13}C NMR을 이용하여 추가로 확인하였다.

[0589] 91.3% Purity. R_t 25.0 min. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 10.73 (d, 1H, *J* = 2.4), 8.87 (d, 1H, *J* = 8.0), 8.74 (brs, 2H), 8.31 (d, 1H, *J* = 7.2), 8.25 (d, 1H, *J* = 8.0), 7.83 (d, 1H, *J* = 8.8), 7.73 (d, 2H, *J* = 6.0), 7.66 (d, 1H, *J* = 8.0), 7.53 (dd, 1H, *J* = 6.8, *J* = 5.6), 7.29 (d, 1H, *J* = 8.0), 7.15 (d, 1H, *J* = 2.4), 7.03 (m, 1H), 7.02 (d, 2H, *J* = 8.4), 6.96 (t, 1H, *J* = 8.0), 6.57 (d, 2H, *J* = 8.4), 4.75 (m, 1H), 4.55 (m, 1H), 4.27 (q, 1H, *J* = 7.2), 4.20 (dd, 1H, *J* = 8.8, *J* = 6.4), 3.55 (m, 1H), 3.34 (m, 1H), 3.17 (dd, 1H, *J* = 14.4, *J* = 4.0), 3.06 (dd, 1H, *J* = 14.4, *J* = 9.6), 2.94 (dd, 1H, *J* = 14.4, *J* = 4.0), 2.73 (dd, 1H, *J* = 14.4, *J* = 9.6), 2.54-2.41 (m, 2H), 2.08 (s, 3H), 2.07 (m, 1H), 2.06 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 1.96 (m, 1H), 1.75 (m, 1H), 1.31 (s, 3H), 0.88 (d, 3H, *J* = 6.8), 0.84 (d, 3H, *J* = 6.8). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 173.9, 171.6, 171.2, 170.9, 170.8, 164.2, 155.7, 149.0, 145.9, 143.7, 142.1, 136.0, 130.1, 127.8, 127.2, 123.6, 122.7, 121.9, 121.3, 120.9, 120.2, 118.5, 118.2, 117.0, 114.8, 111.3, 110.3, 77.1, 57.3, 54.2 (2C, identified from HSQC), 52.0, 39.5 (identified from HSQC), 36.3, 31.1, 29.3, 27.2, 23.3, 19.9, 19.0, 18.0, 12.8, 12.0, 11.8. MALDI m/z calculated for $C_{48}H_{55}N_7NaO_{10}^{+}$ $[M+Na]^{+}$ 912.39, found 912.74.

[0590] <u>5-6. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(1-시아노-1-사이클로프로판카복실일) (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(1-cyano-1-cyclopropanecarboxylyl))</u>



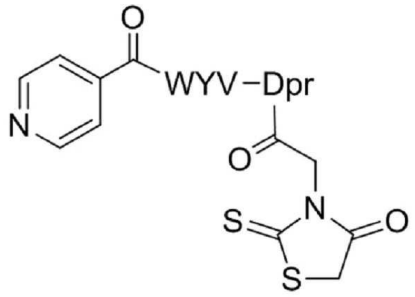
112

[0591]

[0592] 상기 제조예 3과 동일한 방식으로 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(1-시아노-1-사이클로프로판카복실일)을 고체상으로 합성하였으며, 상기 제조예 5-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였고, ^{1}H NMR과 ^{13}C NMR을 이용하여 추가로 확인하였다.

[0593] 99.9% Purity. R_t 21.4 min. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 10.74 (d, 1H, *J* = 1.2), 8.87 (d, 1H, *J* = 8.4), 8.74 (brs, 2H), 8.24 (d, 2H, *J* = 7.2), 8.13 (t, 1H, *J* = 6.0), 7.85 (d, 1H, *J* = 8.8), 7.73 (d, 2H, *J* = 4.4), 7.67 (d, 1H, *J* = 7.6), 7.29 (d, 1H, *J* = 7.6), 7.15 (d, 1H, *J* = 1.2), 7.04 (m, 1H), 7.03 (d, 2H, *J* = 8.0), 6.96 (t, 1H, *J* = 7.6), 6.57 (d, 2H, *J* = 8.0), 4.75 (m, 1H), 4.56 (m, 1H), 4.34 (q, 1H, *J* = 7.2), 4.20 (dd, 1H, *J* = 8.8, *J* = 6.8), 3.51-3.40 (m, 2H), 3.17 (dd, 1H, *J* = 14.8, *J* = 4.0), 3.07 (dd, 1H, *J* = 14.8, *J* = 10.4), 2.96 (dd, 1H, *J* = 14.0, *J* = 4.4), 2.76 (dd, 1H, *J* = 14.0, *J* = 9.6), 2.00 (m, 1H), 1.57-1.51 (m, 2H), 1.50-1.44 (m, 2H), 0.89 (d, 3H, *J* = 6.4), 0.85 (d, 3H, *J* = 6.4). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ 171.5, 171.2, 170.9, 170.8, 165.6, 164.3, 155.7, 149.1, 142.0, 136.0, 130.1, 127.8, 127.2, 123.6, 121.9, 120.9, 119.9, 118.5, 118.2, 114.8, 111.3, 110.4, 57.4, 54.2 (2C, identified from HSQC), 51.7, 40.5, 36.3, 30.9, 27.2, 19.1, 18.0, 16.8, 16.7, 13.6. MALDI m/z calculated for $C_{39}H_{42}N_8NaO_8^{+}$ $[M+Na]^{+}$ 773.30, found 773.57.

[0594] 5-7.이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(로다닌-3-아세틸) (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(rhodanine-3-acetyl))



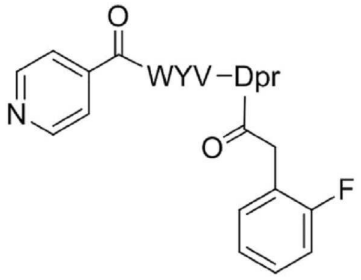
113

[0595]

[0596] 상기 제조예 3과 동일한 방식으로 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(로다닌-3-아세틸)을 고체상으로 합성하였으며, 상기 제조예 5-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였고, ^{1}H NMR과 ^{13}C NMR을 이용하여 추가로 확인하였다.

[0597] 99.9% Purity. R_t 22.3 min. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ10.73 (d, 1H, J = 1.6), 8.84 (d, 1H, J = 8.4), 8.72 (brs, 2H), 8.28 (t, 1H, J = 6.0), 8.24 (d, 1H, J = 8.0), 8.20 (d, 1H, J = 7.6), 7.83 (d, 1H, J = 8.0), 7.69 (d, 2H, J = 4.0), 7.66 (d, 1H, J = 7.6), 7.29 (d, 1H, J = 7.6), 7.14 (d, 1H, J = 1.6), 7.04 (m, 1H), 7.03 (d, 2H, J = 8.4), 6.96 (t, 1H, J = 7.6), 6.57 (d, 2H, J = 8.4), 4.74 (m, 1H), 4.55 (m, 1H), 4.49 (s, 2H), 4.31 (s, 2H), 4.29 (m, 1H), 4.20 (dd, 1H, J = 8.0, J = 6.8), 3.44-3.33 (m, 2H, identified from HSQC), 3.16 (dd, 1H, J = 14.8, J = 3.6), 3.06 (dd, 1H, J = 14.8, J = 10.4), 2.97 (dd, 1H, J = 14.0, J = 3.6), 2.76 (dd, 1H, J = 14.0, J = 9.6), 2.00 (m, 1H), 0.88 (d, 3H, J = 6.8), 0.85 (d, 3H, J = 6.8). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6): δ202.8, 173.9, 171.5, 171.3, 171.1, 170.8, 165.2, 164.5, 155.7, 149.5, 141.6, 136.1, 130.1, 127.9, 127.2, 123.6, 121.7, 120.9, 118.5, 118.2, 114.9, 111.3, 110.4, 57.5, 54.2, 54.1, 51.9, 45.9, 39.5, 36.2, 36.0, 30.9, 27.3, 19.2, 18.0. MALDI m/z calculated for $C_{39}H_{42}N_8NaO_9S_2^+$ $[M+Na]^+$ 853.24, found 853.52.

[0598] 5-8.이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-플루오로페닐아세틸) (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(2-fluorophenylacetyl))



114

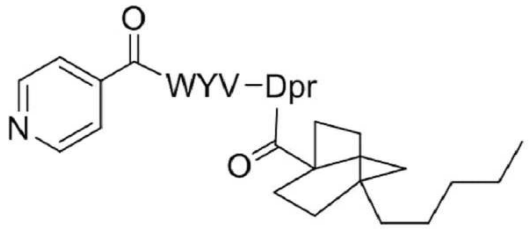
[0599]

[0600] 상기 제조예 3과 동일한 방식으로 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-플루오로페닐아세틸)을 고체상으로 합성하였으며, 상기 제조예 5-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로

생성된 화합물을 확인하였다.

[0601] 99.9% Purity. R_t 23.3 min. MALDI m/z calculated for $C_{42}H_{44}FN_7NaO_8^+$ $[M+Na]^+$ 816.31, found 816.63.

[0602] 5-10. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(4-펜틸바이사이클로[2.2.2]옥탄-1-카복실일) (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(4-pentylbicyclo[2.2.2]octane -1-carboxylyl))



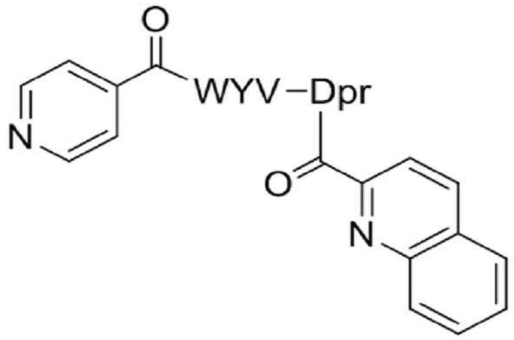
115

[0603]

[0604] 상기 제조예 3과 동일한 방식으로 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(4-펜틸바이사이클로[2.2.2]옥탄-1-카복실일)을 고체상으로 합성하였으며, 상기 제조예 5-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0605] 99.9% Purity. R_t 31.1 min. MALDI m/z calculated for $C_{48}H_{61}N_7NaO_8^+$ $[M+Na]^+$ 886.45, found 886.80.

[0606] 5-11. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(퀴나딜) (Isonicotinyl- Trp-Tyr-Val-Dpr(quinaldyl))



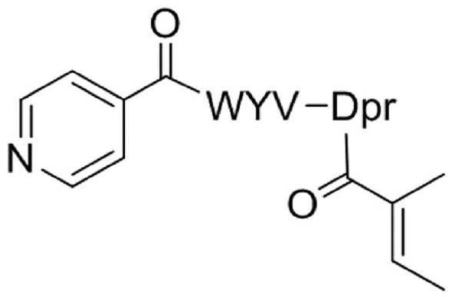
116

[0607]

[0608] 상기 제조예 3과 동일한 방식으로 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(퀴나딜)을 고체상으로 합성하였으며, 상기 제조예 5-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0609] 99.9% Purity. R_t 24.4 min. MALDI m/z calculated for $C_{44}H_{44}N_8NaO_8^+$ $[M+Na]^+$ 835.32, found 835.66

[0610] 5-12. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(타이글라일) (Isonicotinyl -Trp-Tyr-Val-Dpr(tiglyl))



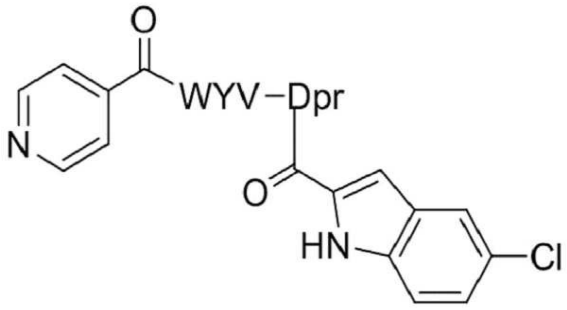
117

[0611]

[0612] 상기 제조예 3과 동일한 방식으로 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(타이글라일)을 고체상으로 합성하였으며, 상기 제조예 5-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0613] 99.9% Purity. R_t 22.1 min. MALDI m/z calculated for $C_{39}H_{45}N_7NaO_8^+$ $[M+Na]^+$ 762.32, found 762.72.

[0614] 5-13. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(5-클로로인돌-2-카복실일) (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(5-chloroindole-2-carboxylyl))



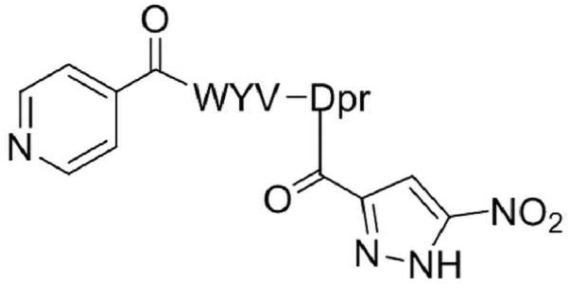
118

[0615]

[0616] 상기 제조예 3과 동일한 방식으로 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(5-클로로인돌-2-카복실일)을 고체상으로 합성하였으며, 상기 제조예 5-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0617] 96.2% Purity. R_t 25.7 min. MALDI m/z calculated for $C_{43}H_{43}ClN_8NaO_8^+$ $[M+Na]^+$ 857.28, found 857.62.

[0618] 5-14. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(5-니트로-3-피라졸카복실일) (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(5-nitro-3-pyrazolecarboxylyl))



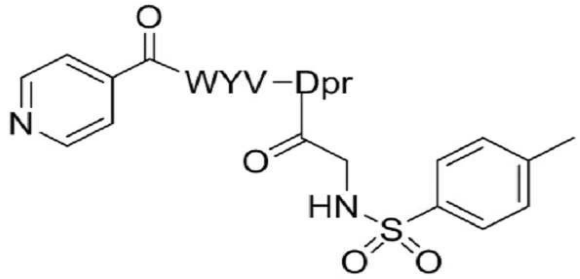
119

[0619]

[0620] 상기 제조예 3과 동일한 방식으로 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(5-니트로-3-피라졸카복실일)을 고체상으로 합성하였으며, 상기 제조예 5-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0621] 87.7% Purity. R_t 21.5 min. MALDI m/z calculated for $C_{38}H_{40}N_{10}NaO_{10}^{+}$ $[M+Na]^{+}$ 819.28, found 819.68

[0622] 5-15. 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-(4-메틸페닐설폰아미도)아세틸) (Isonicotinyl-Trp-Tyr-Val-Dpr(2-(4-methylphenylsulfonamido)acetyl))



120

[0623]

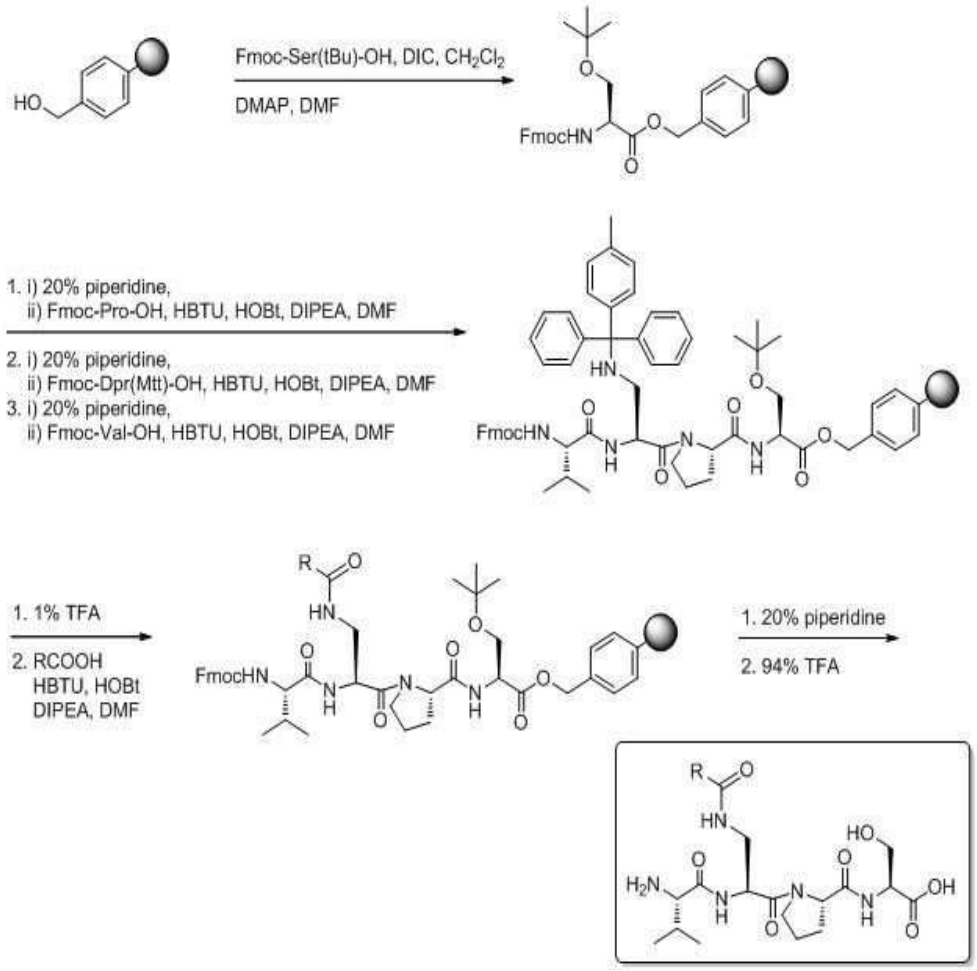
[0624] 상기 제조예 3과 동일한 방식으로 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-Dpr(2-(4-메틸페닐설폰아미도)아세틸)을 고체상으로 합성하였으며, 상기 제조예 5-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

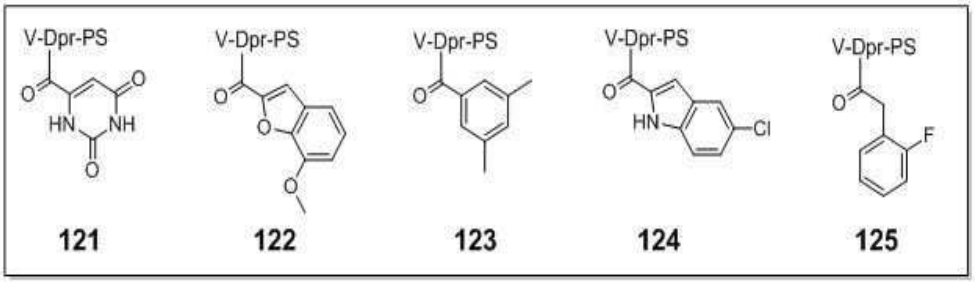
[0625] 99.9% Purity. R_t 23.7 min. MALDI m/z calculated for $C_{43}H_{48}N_8NaO_{10}S^{+}$ $[M+Na]^{+}$ 891.31, found 891.59.

[0626] 제조예 6. Val-Dpr(acyl)-Pro-Ser / Dpr(acyl)-Pro-Ser의 합성

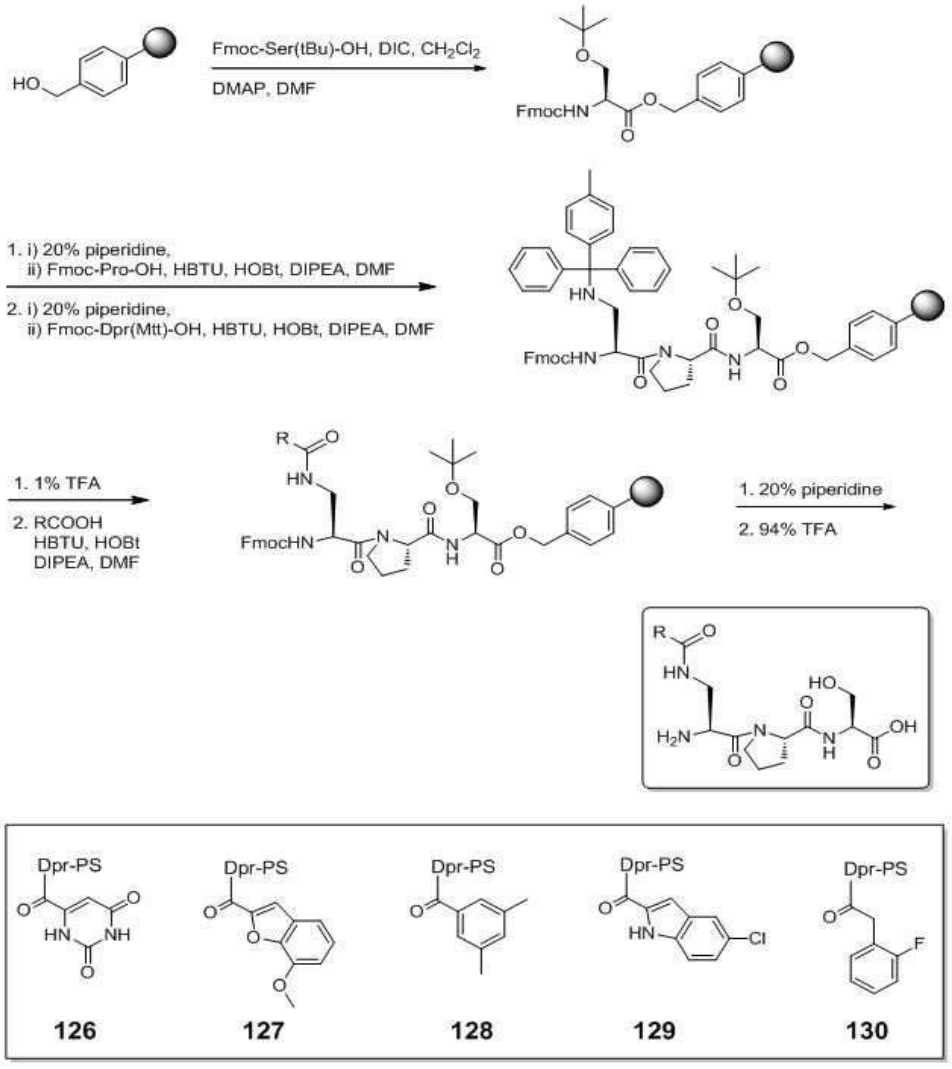
[0627] 잘려진 (truncated) 펩티도미메틱 화합물들의 생물학적 활성이 좋은 것으로 나타났으므로, 또 다른 잘려진 펩티도미메틱 화합물, 즉 COOH 말단이 세린(Serine) 인 트라이머(trimer) 와 테트라머(tetramer) 로 이루어진 화합물의 합성을 설계하였다.

[0628] 도 7에서 보는 바와 같이, 제조예 4 및 5에서 합성된 대부분의 화합물들이 dTBP2 보다 효과적이었으므로, 5개의 산(acids, (2,6-dioxo-1,2,3,6-tetrahydropyrimidine-4-carboxylic acid, 7-methoxy-1-benzofuran-2-carboxylic acid, 3,5-dimethylbenzoic acid, 5-chloroindol-2-carboxylic acid and 2-fluorophenylacetic acid) 을 선정하여, 상기 언급한 제조예 3에서의 합성 방법에 따라 화합물을 합성하였다 (121-130).


HO
Fmoc-Ser(tBu)-OH, DIC, CH2Cl2
DMAP, DMF
FmocHN
1. i) 20% piperidine,
ii) Fmoc-Pro-OH, HBTU, HOBt, DIPEA, DMF
2. i) 20% piperidine,
ii) Fmoc-Dpr(Mtt)-OH, HBTU, HOBt, DIPEA, DMF
3. i) 20% piperidine,
ii) Fmoc-Val-OH, HBTU, HOBt, DIPEA, DMF
1. 1% TFA
2. RCOOH
HBTU, HOBt
DIPEA, DMF
1. 20% piperidine
2. 94% TFA

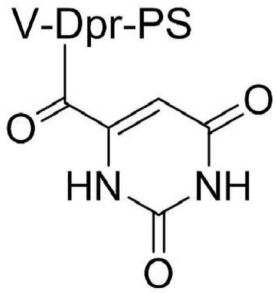

V-Dpr-PS
121
V-Dpr-PS
122
V-Dpr-PS
123
V-Dpr-PS
124
V-Dpr-PS
125

[0629]



[0630]

[0631] <u>6-1. 발린-Dpr(오로틸)-프롤린-세린 (Val-Dpr(orotyl)-Pro-Ser)</u>



121

[0632]

[0633] 필터가 설치된 20 mL TORVIQ PP syringe에 왕 레진(Wang resin) LL(100-200 mesh, 320 mg, 0.44 mmol/g, 0.141 mmol)을 넣고 무수 DMF를 넣어 30분간 팽윤 시킨 후 배수시켰다. Fmoc-Ser(tBu)-OH(10.0 equiv., 541 mg, 1.41 mmol)을 50 mL pear shape flask에 넣고 아르곤 가스로 치환한 후, 무수 CH_2Cl_2 (4 mL) 에 녹였다.

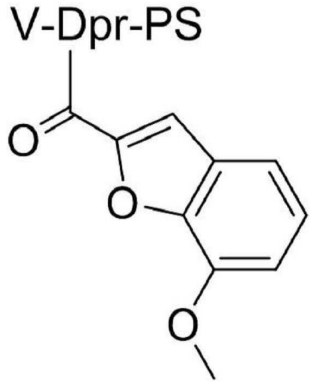
DIC (5.0 당량, 0.11 mL, 0.705 mmol)를 상기 혼합물에 첨가한 후 0℃에서 20분간 교반하였다 (white solid 생성). 상온에서 감압 증류한 후 남은 현탁액(suspension)을 최소량의 무수 DMF (4.5 mL)에 녹이고, DMAP (0.1 당량, 1.7 mg, 0.014 mmol)을 무수 DMF (0.1 mL)에 녹여서 두 용액을 순서대로 팽윤시킨 레진에 첨가하여 상온에서 1시간 동안 회전형 진탕기(orbital shaker, 130 r.p.m.)를 사용하여 혼합하고 용매를 배수한 후 DMF, iPrOH 및 CH_2Cl_2으로 세척하였다 (각각 10 mL > 1 min > 3). UV 흡광계(Spectrometry)를 이용하여 Fmoc 정량(quantification)한 결과, 로딩레벨은 97.0%로 나타났다.

[0634] Fmoc 그룹을 탈보호하기 위해 상기 레진(200 mg, 0.088 mmol)을 무수 DMF에 30분간 팽윤시킨 후, 20% piperidine/무수 DMF (4.0 mL)을 첨가하여 10분간 상온에서 회전형 진탕기(orbital shaker, 130 r.p.m.)를 사용하여 혼합하고 용매를 배수한 후 DMF, iPrOH 및 CH_2Cl_2으로 세척하였다 (10 mL > 1 min > 3). 30분간 흡출기(aspirator)를 사용하여 진공건조 한 후 카이저 테스트를 이용하여 반응이 완결되었음을 확인하였다.

[0635] 상기 제조예 3과 동일한 방식으로 발린-Dpr(오로틸)-프롤린-세린을 고체상으로 합성한 후, resin (40 mg, 0.018 mmol) 을 필터가 설치된 3 mL TORVIQ PP syringe에 넣고, 20% piperidine/무수 DMF (0.8 mL)를 사용하여 Fmoc 그룹을 탈보호하고, 가스를 제거한 94% TFA cocktail (0.8 mL)을 첨가하여 상온에서 1시간 동안 혼합한 후 여과하여 여액을 받고, 다시 TFA (0.4 mL > 2)로 세척하여 그 여액을 받았다. 위 여액들을 합하여 증발기(evaporator)를 이용하여 TFA를 제거한 후, 차가운 에테르를 사용하여 3회 데칸테이션(decantation)하였다. 이때 생성된 화합물의 손실을 막기 위해 원심 분리기를 이용하였으며, 고압건조 후 semi-preparative HPLC (binary solvent system, solvent A: 0.1% TFA/H_2O, solvent B: 0.1% TFA/MeOH, 10-90% B over 31 min)를 이용하여 분리 및 정제한 후 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였고, ^{1}H NMR과 ^{13}C NMR을 이용하여 추가로 확인하였다.

[0636] 99.9% Purity. R_t 13.7 min. ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): δ 6.23 (s, 1H), 5.08 (dd, 1H, J = 7.2, J = 5.2), 4.59-4.54 (m, 2H), 4.02 (dd, 1H, J = 12.0, J = 4.4), 3.94-3.84 (m, 4H), 3.78 (m, 1H), 3.68 (dd, 1H, J = 14.0, J = 7.6), 2.36 (m, 1H), 2.24 (m, 1H), 2.11-1.98 (m, 3H), 1.03 (d, 3H, J = 6.8), 1.02 (d, 3H, J = 6.8). ^{13}C NMR (100 MHz, D_2O): δ 174.0, 173.4, 169.4, 169.0, 166.9, 162.2, 152.3, 145.2, 101.3, 61.2, 60.7, 58.5, 55.0, 51.2, 48.4, 40.5, 30.1, 29.6, 24.8, 17.7, 16.9. MALDI m/z calculated for $C_{21}H_{32}N_7O_9^+$ $[M+H]^+$ 526.23, found 526.34.

[0637] <u>6-2. 발린-Dpr(7-메톡시-1-벤조퓨란-2-카복실일)-프롤린-세린 (Val-Dpr (7-methoxy-1-benzofuran-2-carboxylyl)-Pro-Ser)</u>



122

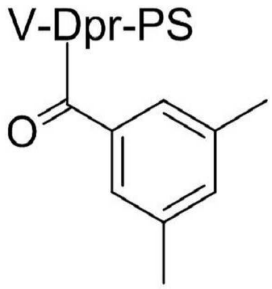
[0638]

[0639] 상기 제조예 3과 동일한 방식으로 발린-Dpr(7-메톡시-1-벤조퓨란-2-카복실일)-프롤린-세린을 합성하였으며, 상기 제조예 6-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확

인하였고, ^{1}H NMR과 ^{13}C NMR을 이용하여 추가로 확인하였다.

[0640] 99.9% Purity. R_t 25.8 min. ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): δ 7.56 (s, 1H), 7.38 (dd, 1H, *J* = 8.0, *J* = 1.2), 7.33 (t, 1H, *J* = 8.0), 7.13 (dd, 1H, *J* = 8.0, *J* = 1.2), 5.09 (dd, 1H, *J* = 7.2, *J* = 5.6), 4.57 (dd, 1H, *J* = 8.8, *J* = 6.4), 4.55 (t, 1H, *J* = 4.4), 4.03 (s, 3H), 4.10-3.77 (m, 7H), 2.37 (m, 1H), 2.23 (m, 1H), 2.11-1.99 (m, 3H), 1.03 (d, 6H, *J* = 7.2). ^{13}C NMR (100 MHz, D_2O): δ 173.8, 173.5, 169.4, 169.3, 161.5, 147.2, 145.1, 144.4, 128.7, 125.0, 115.2, 112.0, 109.5, 61.3, 60.8, 58.6, 56.2, 55.1, 51.6, 48.4, 39.9, 30.1, 29.5, 24.8, 17.7, 17.0. MALDI m/z calculated for $C_{26}H_{36}N_5O_9^+$ $[M+H]^+$ 562.25, found 562.32.

[0641] <u>6-3. 발린-Dpr(3,5-디메틸벤조일)-프롤린-세린 (Val-Dpr(3,5- dimethylbenzoyl)-Pro-Ser)</u>

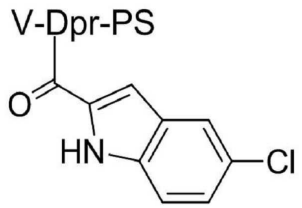


[0642] **123**

[0643] 상기 제조예 3과 동일한 방식으로 발린-Dpr(3,5-디메틸벤조일)-프롤린-세린 을 합성하였으며, 상기 제조예 6-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였고, ^{1}H NMR과 ^{13}C NMR을 이용하여 추가로 확인하였다.

[0644] 99.9% Purity. R_t 26.9 min. ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): δ 7.44 (s, 2H), 7.34 (s, 1H), 5.05 (t, 1H, *J* = 6.4), 4.57 (dd, 1H, *J* = 8.4, *J* = 5.6), 4.49 (t, 1H, *J* = 4.4), 3.96 (dd, 1H, *J* = 11.6, *J* = 4.8), 3.90-3.80 (m, 5H), 3.72 (m, 1H), 2.37 (m, 1H), 2.36 (s, 6H), 2.24 (m, 1H), 2.06-1.95 (m, 3H), 1.04 (d, 3H, *J* = 6.8), 1.03 (d, 3H, *J* = 6.8). ^{13}C NMR (100 MHz, D_2O): δ 173.9, 173.3, 171.7, 169.6, 169.3, 139.3, 134.1, 133.0, 124.9, 61.2, 60.7, 58.5, 55.1, 51.7, 48.4, 40.3, 30.1, 29.5, 24.8, 20.4, 17.6, 17.0. MALDI m/z calculated for $C_{25}H_{38}N_5O_7^+$ $[M+H]^+$ 520.28, found 520.38.

[0645] 6-4. 발린-Dpr(5-클로로인돌-2-카복실일)-프롤린-세린 (Val-Dpr (5-chloroindole-2-carboxylyl)-Pro-Ser)

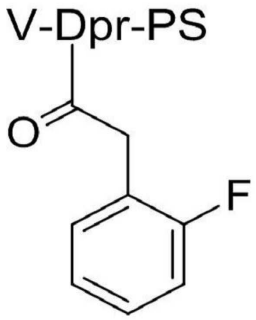


[0646] **124**

[0647] 상기 제조예 3과 동일한 방식으로 발린-Dpr(5-클로로인돌-2-카복실일)-프롤린-세린을 합성하였으며, 상기 제조예 6-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였고, ^{1}H NMR과 ^{13}C NMR을 이용하여 추가로 확인하였다.

[0648] 99.9% Purity. R_t 28.8 min. ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): δ 7.61 (d, 1H, *J* = 2.0), 7.42 (d, 1H, *J* = 8.8), 7.26 (dd, 1H, *J* = 8.8, *J* = 2.0), 6.97 (s, 1H), 5.00 (t, 1H, *J* = 6.8), 4.60-4.56 (m, 2H), 4.01 (dd, 1H, *J* = 11.6, *J* = 4.8), 3.93-3.73 (m, 5H), 3.67 (m, 1H), 2.36 (dd, 1H, *J* = 15.2, *J* = 6.8), 2.24 (td, 1H, *J* = 13.6, *J* = 6.8), 2.02-1.94 (m, 3H), 1.03 (d, 6H, *J* = 7.2). ^{13}C NMR (100 MHz, D_2O): δ 173.7, 173.3, 169.3, 169.1, 163.6, 134.9, 130.7, 127.7, 125.4, 124.8, 120.9, 113.4, 104.0, 61.0, 60.5, 58.3, 55.0, 51.4, 48.2, 39.7, 29.9, 29.3, 24.6, 17.4, 16.7. MALDI m/z calculated for $C_{25}H_{33}ClN_6NaO_7^+$ $[M+Na]^+$ 587.20, found 587.31.

[0649] 6-5.발린-Dpr(2-플루오로페닐아세틸)-프롤린-세린 (Val-Dpr(2- fluorophenyl acetyl)-Pro-Ser)

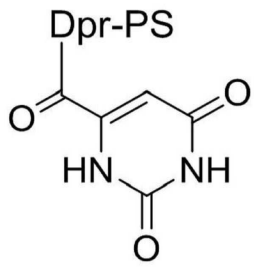


[0650] **125**

[0651] 상기 제조예 3과 동일한 방식으로 발린-Dpr(2-플루오로페닐아세틸)-프롤린-세린을 합성하였으며, 상기 제조예 6-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0652] 96.3% Purity. R_t 22.2 min. MALDI m/z calculated for $C_{24}H_{34}FN_5NaO_7^+$ $[M+Na]^+$ 546.23, found 546.32.

[0653] 6-6. Dpr(오로틸)-프롤린-세린 (Dpr(orotyl)-Pro-Ser)

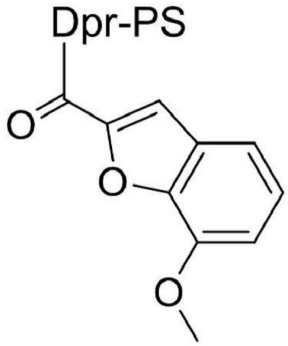


[0654] **126**

[0655] 상기 제조예 3과 동일한 방식으로 Dpr(오로틸)-프롤린-세린을 합성하였으며, 상기 제조예 6-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였고, ^{1}H NMR과 ^{13}C NMR을 이용하여 추가로 확인하였다.

[0656] 93.9% Purity. R_t 10.8 min. ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): δ6.29 (s, 1H), 4.69 (dd, 1H, J = 6.4, J = 3.2), 4.63 (dd, 1H, J = 8.0, J = 5.6), 4.57 (t, 1H, J = 4.4), 4.08-4.00 (m, 2H), 3.94-3.75 (m, 4H), 2.41 (m, 1H), 2.16-2.00 (m, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, D_2O): δ173.6, 173.5, 166.6, 165.8, 162.5, 152.1, 144.5, 101.4, 61.1, 60.7, 55.3, 51.9, 48.0, 39.0, 29.2, 24.7. MALDI m/z calculated for $C_{16}H_{23}N_6O_8^+$ $[M+H]^+$ 427.16, found 427.27.

[0657] 6-7. Dpr(7-메톡시-1-벤조퓨란-2-카복실일)-프롤린-세린 (Dpr(7-methoxy -1-benzofuran-2-carboxylyl)-Pro-Ser)

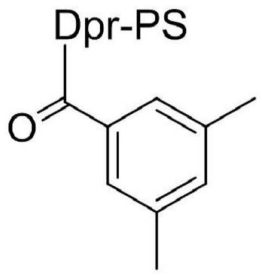


[0658] **127**

[0659] 상기 제조예 3과 동일한 방식으로 Dpr(7-메톡시-1-벤조퓨란-2-카복실일)-프롤린-세린을 합성하였으며, 상기 제조예 6-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0660] 99.9% Purity. R_t 24.7 min. MALDI m/z calculated for $C_{21}H_{27}N_4O_8^+$ $[M+H]^+$ 463.18, found 463.28.

[0661] 6-8. Dpr(3,5-디메틸벤조일)-프롤린-세린 (Dpr(3,5-dimethylbenzoyl) -Pro-Ser)

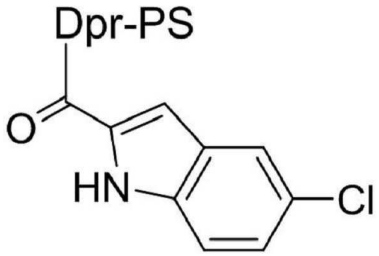


[0662] **128**

[0663] 상기 제조예 3과 동일한 방식으로 Dpr(3,5-디메틸벤조일)-프롤린-세린을 합성하였으며, 상기 제조예 6-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였고, ^{1}H NMR과 ^{13}C NMR을 이용하여 추가로 확인하였다.

[0664] 99.9% Purity. R_t 25.9 min. ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): δ 7.46 (s, 2H), 7.36 (s, 1H), 4.70 (dd, 1H, *J* = 6.0, *J* = 4.0), 4.63 (m, 1H), 4.40 (t, 1H, *J* = 4.0), 4.04 (dd, 1H, *J* = 15.2, *J* = 4.0), 3.93 (dd, 1H, *J* = 15.2, *J* = 4.8), 3.90 (dd, 1H, *J* = 15.2, *J* = 6.0), 3.84 (m, 1H), 3.77-3.70 (m, 2H), 2.41 (m, 1H), 2.38 (s, 6H), 2.09-1.99 (m, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, D_2O): δ 173.5, 173.2, 172.0, 166.2, 139.1, 134.0, 132.4, 124.8, 60.9, 60.6, 54.9, 52.1, 48.0, 39.3, 29.2, 24.7, 20.2. MALDI m/z calculated for $C_{20}H_{29}N_4O_6^+$ $[M+H]^+$ 421.21, found 421.30.

[0665] 6-9. Dpr(5-클로로인돌-2-카복실일)-프롤린-세린 (Dpr(5-chloroindole-2- carboxylyl)-Pro-Ser)



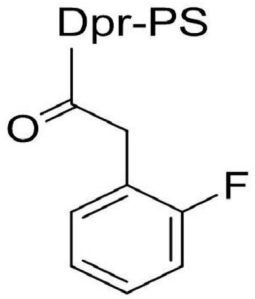
[0666] **129**

[0667] 상기 제조예 3과 동일한 방식으로 Dpr(5-클로로인돌-2-카복실일)-프롤린-세린을 합성하였으며, 상기 제조예 6-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였고, ^{1}H NMR과 ^{13}C NMR을 이용하여 추가로 확인하였다.

[0668] 99.9% Purity. R_t 28.3 min. ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O): δ 7.73 (d, 1H, *J* = 2.0), 7.50 (d, 1H, *J* =8.8), 7.33 (dd, 1H, *J* = 8.8, *J* =2.0), 7.09 (s, 1H), 4.68 (dd, 1H, *J* = 6.0, *J* = 4.0), 4.64 (dd, 1H, *J* = 8.4, *J* =

6.0), 4.46 (dd, 1H, *J* = 4.8, *J* = 4.0), 4.04 (dd, 1H, *J* = 15.2, *J* = 4.0), 3.93 (dd, 1H, *J* = 15.2, *J* = 4.8), 3.92-3.71 (m, 4H), 2.42 (dd, 1H, *J* = 8.4, *J* = 6.0), 2.12-1.99 (m, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, D_2O): δ 173.7, 173.6, 166.4, 164.3, 135.3, 130.7, 128.0, 125.7, 125.2, 121.2, 113.8, 104.6, 61.2, 60.9, 55.5, 52.3, 48.3, 39.1, 29.5, 24.9. MALDI m/z calculated for $C_{20}H_{25}ClN_5O_6^+$ $[M+H]^+$ 466.15, found 466.23.

[0669] 6-10. Dpr(2-플루오로페닐아세틸)-프롤린-세린 (Dpr(2-fluorophenylacetyl) -Pro-Ser)



[0670] **130**

[0671] 상기 제조예 3과 동일한 방식으로 Dpr(2-플루오로페닐아세틸)-프롤린-세린 을 합성하였으며, 상기 제조예 6-1과 동일한 방법을 이용하여 합성하였다. 질량분석계(mass spectometry, MS)로 생성된 화합물을 확인하였다.

[0672] 91.0% Purity. R_t 21.4 min. MALDI m/z calculated for $C_{19}H_{26}FN_4O_6^+$ $[M+H]^+$ 425.18, found 425.24.

[0673] 실험예 1. 인터루킨-8 분비 억제 측정 (IL-8 release inhibition assay)

[0674] 1-1. 제조예 2에서 제조한 화합물의 인터루킨-8 분비 억제 정도 확인

[0675] 제조예 1의 dTBP2 및 제조예 2에서 제조한 화합물들의 인터루킨-8 분비 억제정도를 측정하였다. 구체적으로, dTBP2 및 화합물들을 75 nM 농도로 15분 동안 BEAS-2B 세포(인간기관지상피세포)에 처리하고, 75 nM의 dTCTP 를 넣은 후 18 시간 후에 상등액을 취하였다. 취한 상등액은 4 °C에서 10,000 x g 으로 원심분리하고 분리된 상층액으로 IL-8 분석을 수행하였다. IL-8 분석에서는, PIERCE 사의 IL-8 ELISA kit 를 이용하여 제조자의 프로토콜에 따라 IL-8 분비 억제 정도를 확인하였다.

[0676] 그 결과, 이소니코티닐-트립토판-타이로신-발린-타이로신-프롤린-세린-메티오닌(3) 뿐만 아니라 2-메틸헥사노일- 트립토판-타이로신-발린-타이로신-프롤린-세린-메티오닌(2), 알파-시아노-4-하이드록시신나밀- 트립토판-타이로신-발린-타이로신-프롤린-세린-메티오닌(4), 및 5-니트로-3-피라졸카복실일-- 트립토판-타이로신-발린-타이로신-프롤린-세린-메티오닌(5) 3 개의 화합물 모두 dTBP2 보다 효과적으로 나타나는 것을 확인할 수 있었다(도 5).

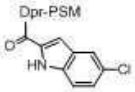
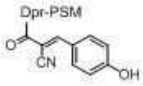
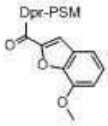
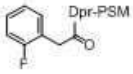
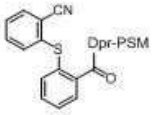
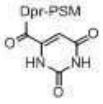
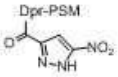
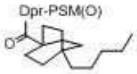
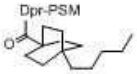
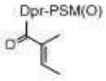
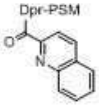
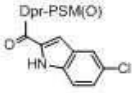
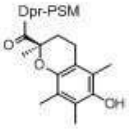
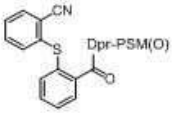
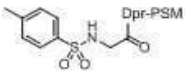
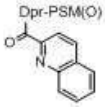
[0677] 1-2. 제조예 3에서 제조한 화합물의 인터루킨-8 분비 억제 정도 확인

[0678] 제조예 1의 dTBP2 및 제조예 3에서 제조한 화합물들의 인터루킨-8 분비 억제정도를 측정하였으며, 측정은 상기 실험예 1-1과 동일한 방법을 사용하였다. 측정결과, 41개의 비산화형 화합물 중 9개와 산화형 화합물 41 개 중 10개, 총 29개의 화합물이 dTBP2보다 강한 활성을 갖는 것으로 나타났다(도 6). 이는, 이소니코티닐 그룹(isonicotinyl 그룹)을 잔여 결합 잔기(extra binding residue)로서 도입하고, 느슨한 결합 잔기(loose binding residue)인 타이로신을 단단한 결합 잔기(tight binding residue)로 바꿈으로써, dTBP2-dTCTP 결합 및 인터루킨-8 분비 억제 활성을 높인 것으로 생각되었다.

[0679] 1-3. 제조예 4에서 제조한 화합물의 인터루킨-8 분비 억제 정도 확인

[0680] 제조예 4를 통해서 제조된 19개의 화합물 중 비산화형을 제외한 14개의 화합물에 대해서 인터루킨-8 분비 억제 정도를 측정한 결과, 14개 화합물 모두 dTBP2 보다 효과적인 것으로 나타났다. 측정 결과는 하기 표 3와 같다.

표 3

Rank	Compound No.	Structure	IL-8 (pg/ml)	Rank	Compound No.	Structure	IL-8 (pg/ml)
	dTCTP		306.7				
1	93		6.00	11	102		29.56
2	99		9.78	12	98		31.56
3	103		10.67	13	95		32.00
4	100		10.89	14	101		34.89
5	91		14.67	15	dTBP2	WYVYPSM	44.67
6	106		17.78		88		nd[a]
7	89		19.11		90		nd[a]
8	97		20.44		92		nd[a]
9	104		21.56		94		nd[a]
10	105		24.67		96		nd[a]

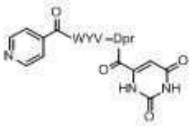
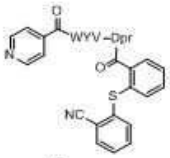
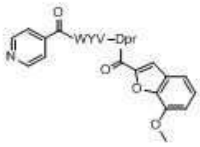
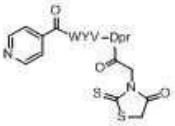
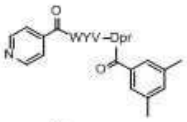
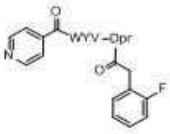
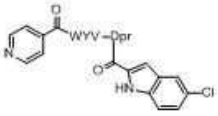
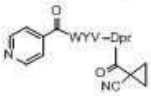
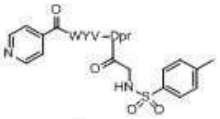
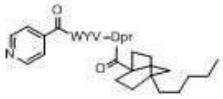
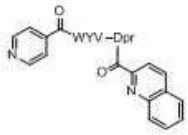
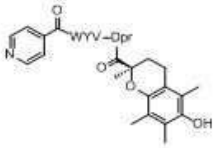
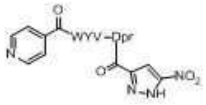
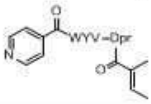
[a] nd = not determined

[0681]

[0682] 1-4. 제조예 5에서 제조한 화합물의 인터루킨-8 분비 억제 정도 확인

[0683] 제조예 5를 통해서 제조된 14개의 화합물에 대해 인터루킨-8 분비 억제정도를 측정한 결과, 4개 중 10개의 화합물들이 dTBP2 보다 효과적인 것으로 나타났다(표 4).

표 4

Rank	Compound No.	Structure	IL-8 (pg/ml)	Rank	Compound No.	Structure	IL-8 (pg/ml)
	dTCTP		306.7				
1	107		19.78	9	110		39.67
2	109		25.33	10	113		44.67
3	108		27.11	11	dTBP2	WYVYPSM	44.67
4	114		27.33	12	118		45.33
5	112		30.33	13	120		47.00
6	115		31.56	14	116		47.78
7	111		37.11	15	119		54.22
8	117		38.89				

[0684]

[0685] 또한, 잘려진 (truncated) 펩티도미메틱 화합물들로 이루어진 제조예 4에서제조한 화합물과 제조예 5에서 제조한 화합물 사이의 상대적인 활성을 비교하기 위해서 같은 배지에서 생물학적 검정(bioassay)을 실시하였다 (도 7). 이로부터 제조예 4에서 제조한 화합물과 제조예 5에서 제조한 화합물 중 24개가 dTBP2 보다 강한 활성을 보임을 알 수 있었다. 또한 제조예 4 및 5에서 제조된 상위 4개 화합물들을 살펴보면, 제조예 4의 93, 99, 103, 100 그리고 제조예 5 의 107, 109, 108, 114 의 산(acid) 들 중 3개 화합물의 산(acid) (7-methoxy-1-benzofuran-2-carboxylic acid, 3,5-dimethylbenzoic acid, and 2,6-dioxo-1,2,3,6-tetrahydropyrimidine-4-carboxylic acid) 은 상기 제조예 4 및 5 모두에서 효과적인 것으로 나타났다 (99/109, 103/108, 100/107).

[0686] <u>1-5. 제조예 6에서 제조한 화합물의 인터루킨-8 분비 억제 정도 확인</u>

[0687] 이들에 대한 생물학적 활성 검사 (IL-8 Release Inhibition Assay)를 실시한 결과 10개 중 8개의 화합물들이 dTBP2 보다 효과적인 것으로 확인되었다 (표 5, 도 8).

표 5

[0688]

Rank	Compound No.	IL-8 (pg/ml)	Rank	Compound No.	IL-8 (pg/ml)	Rank	Compound No.	IL-8 (pg/ml)
	dTCTP	630.0						
1	**127**	145.5	5	**124**	161.0	9	**dTBP2**	179.5
2	**128**	149.5	5	**126**	161.0	10	**129**	181.5
3	**130**	153.0	7	**122**	167.5	11	**123**	197.0
4	**121**	155.5	8	**125**	171.0			

[0689] 실험예 2. 경합측정법(competition assay)을 이용한 생물학적 활성 검사

[0690] dTBP2 를 근간으로 하여 제조예 2 내지 6을 통해 펩티도미메틱 화합물을 설계하고 합성하였다. 이들 화합물이 실험예 1에서 인터루킨-8 분비 억제 활성이 뛰어난 것은 dTCTP 와의 결합에 기인한 것으로 판단하였다. 따라서 상기와 같은 사항을 확인하기 위하여 제조예 2 내지 6을 통해 합성된 모든 펩티도미메틱 화합물에 대하여 경합측정(competition assay)를 실시하였으며, 하기 표 6에는 10킬 농도에서 실시한 경합측정의 상위32개의 화합물들을 나타내었다. 또한, 도 9는 제조예 2를 통하여 제조된 화합물의 in situ 경합측정(competition assay) 결과를 나타낸 것이다. 상기 도 9에 나타난 결과로부터 이소니코티닉 산(isonicotinic acid)로 아실화된 화합물 하나를 찾아내었다.

표 6

[0691]

Rank	Compound No.	Competition %	Rank	Compound No.	Competition %
	N11	100			
1	**135**	4.18	17	**10**	9.62
2	**129**	4.78	17	**20**	9.62
3	**123**	6.06	19	**43**	9.84
4	**118**	7.13	20	**12**	10.18
5	**115**	7.56	21	**6**	10.41
6	**9**	7.81	22	**61**	10.52
7	**134**	7.88	23	**14**	11.09
8	**22**	7.92	23	**52**	11.09
9	**8**	8.03	25	**13**	11.20
10	**1** (dTBP2)	8.25	25	**23**	11.20
11	**116**	8.53	27	**31**	11.31
12	**18**	8.71	28	**120**	11.34
13	**44**	8.82	29	**122**	11.55
14	**7**	8.94	30	**121**	11.62
15	**17**	9.28	31	**110**	11.88
15	**21**	9.28	32	**25**	11.99

[0692] <u>실험예 3. 인터루킨-8 분비 억제 활성에 대한 IC_{50} 값 측정</u>

[0693] 상기 실험예 1 및 2의 결과를 토대로하여 보다 활성이 강한 화합물이 어느 것인지를 확인하기 위해, 상위 66개의 화합물들을 선정하여 IC_{50} 값을 측정하였다. 이들 중 22개의 화합물들의 IC_{50} 값이 dTBP2 (IC_{50} = 960 nM) 보다 낮은 것으로 나타났으며, 특히 110 은 가장 낮은 IC_{50} 값을 가지는 것을 확인하였다(표 7).

표 7

Rank	Compound No.	IC_{50} (μM)	Competition (%)	Rank	Compound No.	IC_{50} (μM)	Competition (%)
1	**110**	0.00436	11.9	15	**89**	0.08336	43.0
2	**107**	0.00588	81.2	16	**108**	0.09535	17.4
3	**97**	0.00739	62.0	17	**106**	0.1306	91.3
4	**123**	0.00770	6.1	18	**141**	0.1774	56.4
5	**113**	0.00801	59.1	19	**91**	0.1828	79.0
6	**95**	0.00961	81.6	20	**82**	0.1866	35.6
7	**112**	0.01542	44.1	21	**99**	0.2087	71.2
8	**121**	0.01572	11.6	22	**101**	0.2467	61.7
9	**124**	0.01605	68.8	23	**111**	0.2527	27.1
10	**98**	0.01614	92.9	24	**128**	0.6275	61.4
11	**100**	0.01938	60.6	25	**12**	0.7653	10.2
12	**126**	0.02161	56.0	26	**93**	0.9057	81.1
13	**109**	0.03871	21.4	27	**dTBP2**	0.9600	8.4
14	**102**	0.06284	95.5				

[0694]

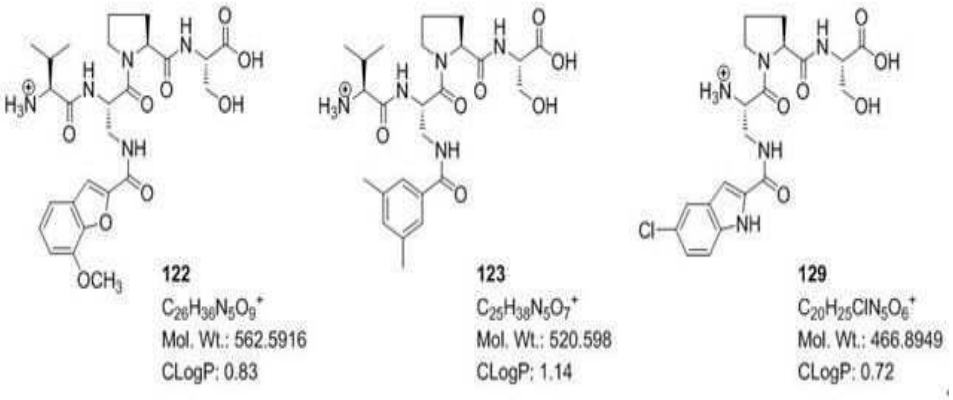
[0695] <u>실험예 4. 알레르기 동물 모델에서의 펩티도미메틱 화합물의 생물학적 활성 검사</u>

[0696] <u>4-1. dTBP2의 생물학적 활성 검사</u>

[0697] 난알부민(ovalbumin, OVA) 으로 알레르기성 질환 상태를 유발한 마우스 모델 (5주령, Female Balb/c (orientbio), 각 군당 5-6마리) 에서의 dTBP2 의 생물학적 활성을 측정하였다. 각 그룹(6마리/그룹)의 마우스들을 난알부민으로 민감화(sensitization) 시키고, 2.5mg/kg 또는 5 mg/kg 의 dTBP2를 처리하고 난알부민으로 유발반응(challenge)을 일으켰다. dTBP2를 처리한 경우 증상점수(symptom score)가 감소하였으며, 농도 의존적으로 호산구(eosinophil)에 침윤하는 것을 알 수 있었다(도 10).

[0698] <u>4-2. 본 발명의 신규한 펩티도미메틱 화합물의 생물학적 활성 검사</u>

[0699] 난알부민(ovalbumin, OVA) 으로 알레르기성 기도 염증을 유발한 마우스 모델(5주령, Female Balb/c (orientbio), 각 군당 5-6마리) 에 상기 실험예 1 내지 3의 결과를 토대로, 3개의 화합물(122, 123 및 129)을 선정하여 처리한 후 생물학적 활성을 검사하였다. 하기 3개의 구조는 동물 실험에 사용한 화합물들의 구조를 나타낸 것이다.



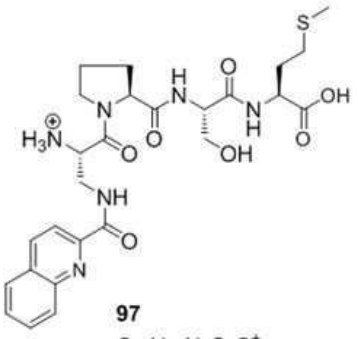
[0700]

[0701] 구체적으로, 마우스들을 난알부민으로 민감화(sensitization) 시키고, 5mg/kg 의 펩티도미메틱 화합물들을 투여

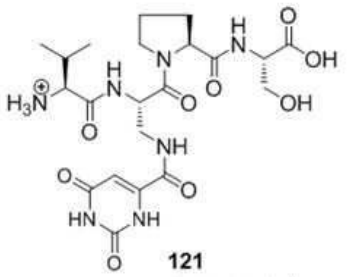
한 후, 난알부민으로 유발반응(challenge)을 일으켰다. 기관지 폐포세척액 검사 (bronchoalveolar lavage fluid) 에서 인터루킨-5는 mouse IL-5 ELISA kit (PIERCE)를 이용하여 확인하였으며, 폐 점막의 비후현상 (hyperplasia) 은 Periodic Acid-Schiff (PAS) 시약(Sigma-Aldrich) 으로 염색하여 확인하였다.

[0702] 상기 화합물들은 기관지 폐포세척액 검사 (bronchoalveolar lavage fluid) 에서 인터루킨-5 의 분비를 현저하게 감소시켰고(도 11), 폐 조직의 점막의 두께를 현저하게 감소시켰으며(도 12), 특히 122번 화합물의 효과가 가장 좋은 것으로 나타났다.

[0703] 또한, 추가적으로 2개의 화합물(97 및 121)을 선정하여, 상기 알레르기 마우스 모델을 대상으로하여 동일한 실험방법으로 추가 동물 실험을 하였다. 하기 2개의 구조는 추가적으로 사용한 2개 화합물들의 구조를 나타낸 것이다.



97
$C_{26}H_{35}N_6O_7S^+$
Mol. Wt: 575.6566
CLogP: 0.40



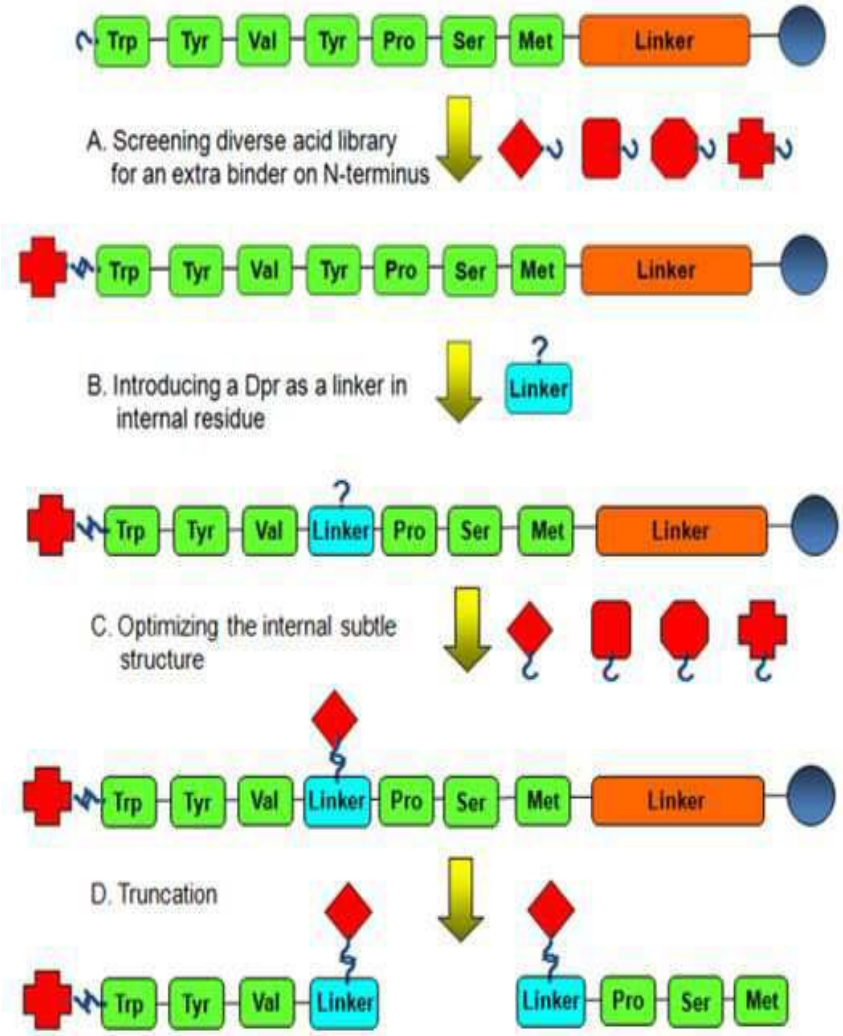
121
$C_{21}H_{32}N_7O_9^+$
Mol. Wt: 526.5197
CLogP: -2.31

[0704]

[0705] 상기 2개의 화합물 역시 기관지 폐포세척액 검사 (bronchoalveolar lavage fluid) 에서 인터루킨-5의 분비를 효과적으로 억제하는 것을 알 수 있었다(도 13). 또한, 폐 조직의 점막을 Hematoxylin and eosin (H&E) 시약으로 염색하여 변화를 관찰하였으며, 점막 비대 현상이 감소하는 것을 확인할 수 있었다(도 14).

도면

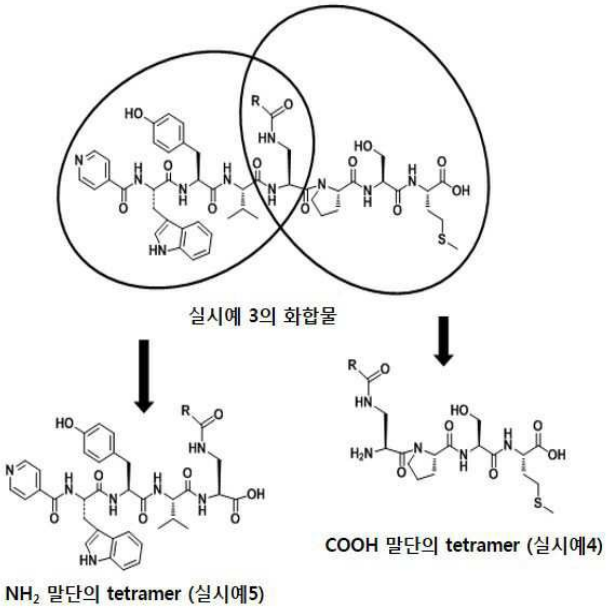
도면1


Trp
Tyr
Val
Tyr
Pro
Ser
Met
Linker
A. Screening diverse acid library for an extra binder on N-terminus
B. Introducing a Dpr as a linker in internal residue
C. Optimizing the internal subtle structure
D. Truncation

도면2

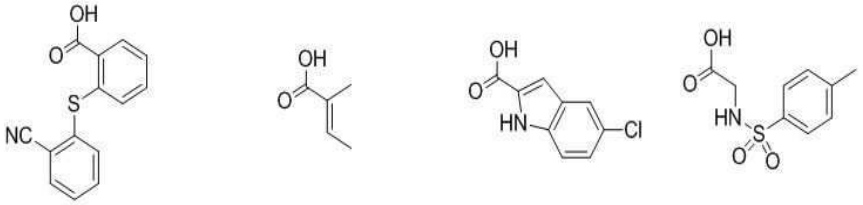
A. 1st washing
Released Mtt-OH
Internal standard BHT
OH
OH
B. 2nd washing
C. 3rd washing
D. 4th washing
E. 5th washing

도면3

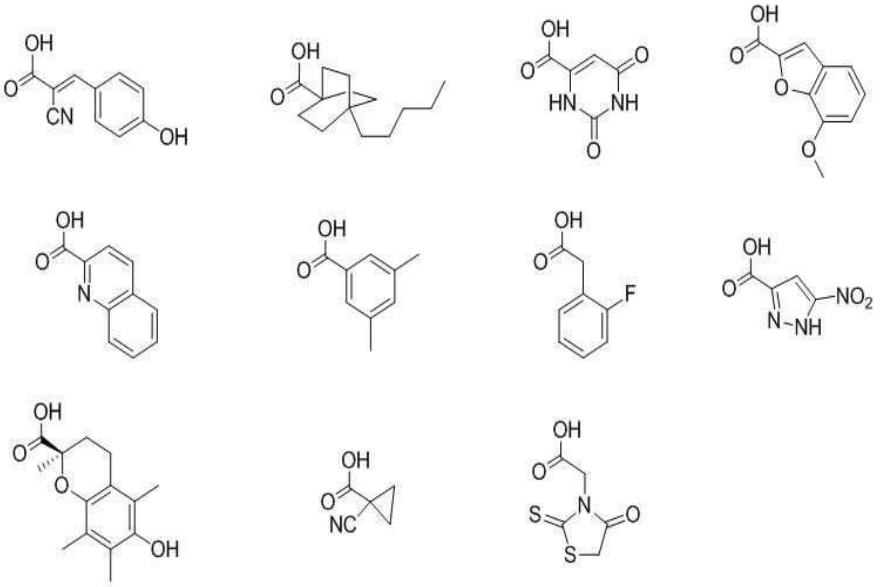

실시예 3의 화합물
COOH 말단의 tetramer (실시예4)
NH2 말단의 tetramer (실시예5)

도면4

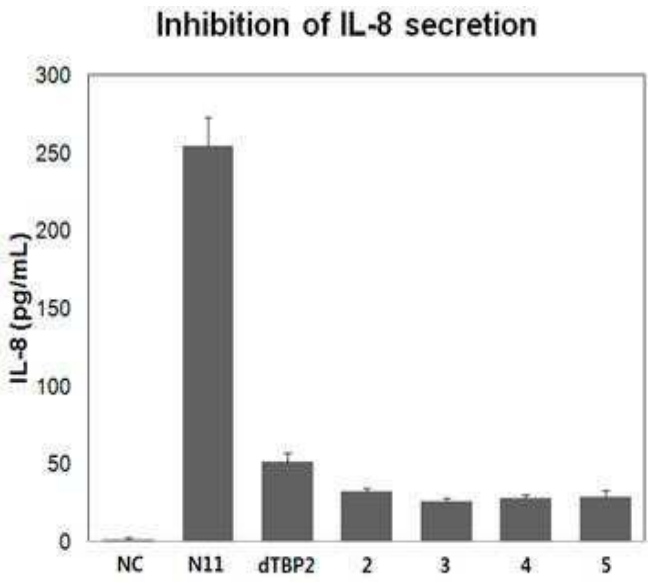
A. 4 acid structures were commonly more potent than dTBP2 in both oxidized form and non-oxidized form



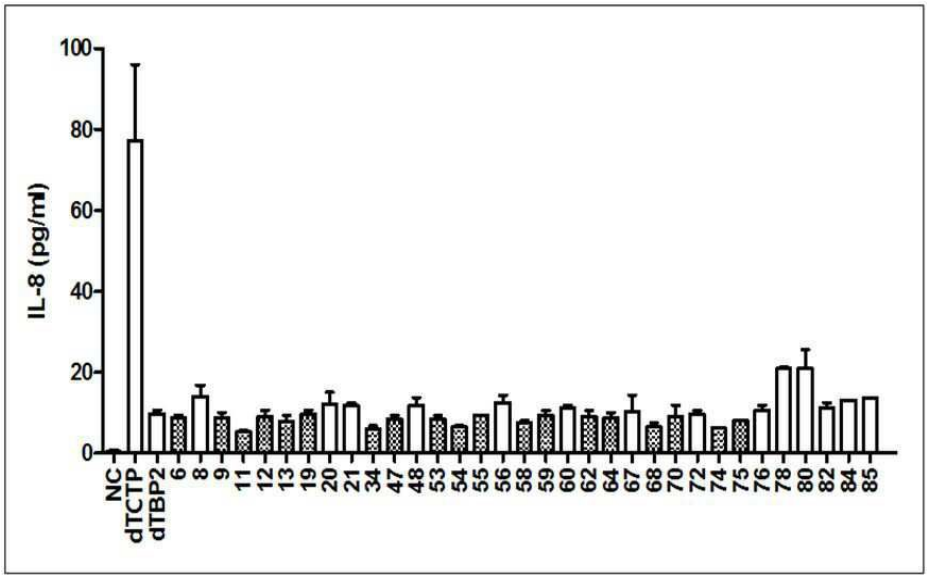
B. 11 acid structures were more potent than dTBP2 in either oxidized form or non-oxidized form.



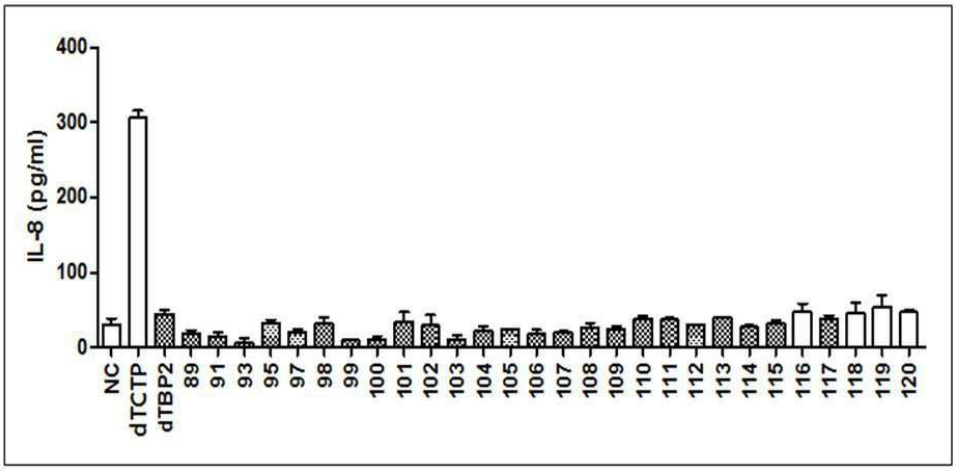
도면5


Inhibition of IL-8 secretion
IL-8 (pg/mL)
300
250
200
150
100
50
0
NC
N11
dTBP2
2
3
4
5

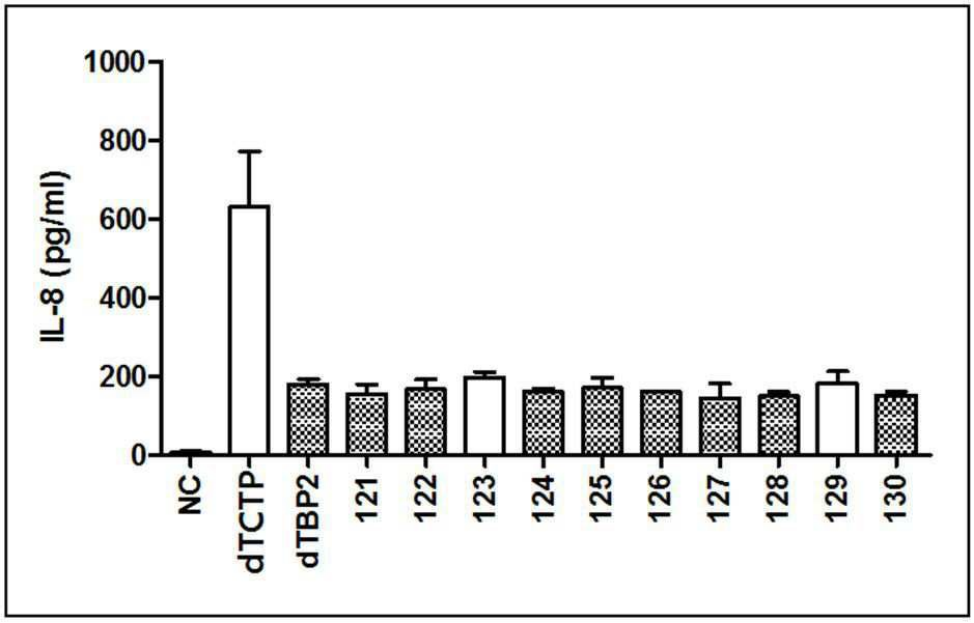
도면6


IL-8 (pg/ml)
100
80
60
40
20
0
NC
dTCTP
dTBP2
6
8
9
11
12
13
19
20
21
34
47
48
53
54
55
56
58
59
60
62
64
67
68
70
72
74
75
76
78
80
82
84
85

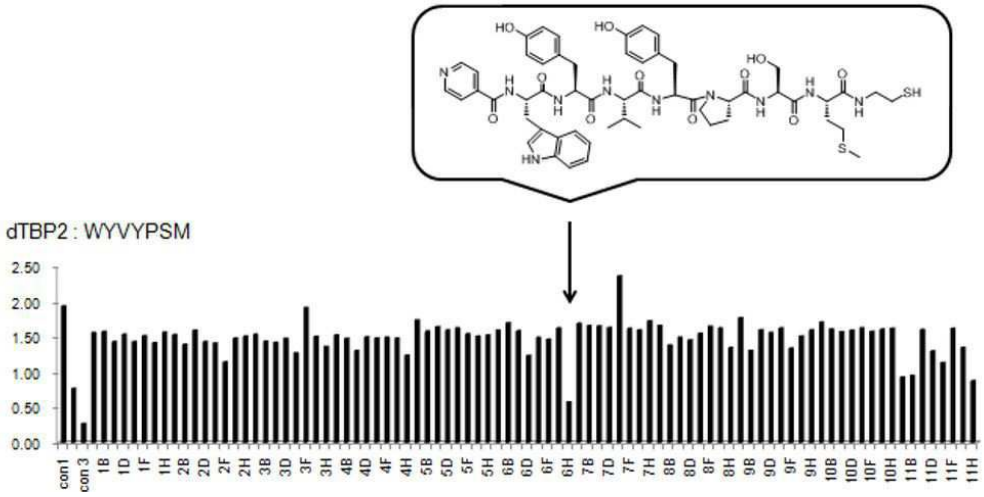
도면7


IL-8 (pg/ml)
400
300
200
100
0
NC
dTCTP
dTBP2
89
91
93
95
97
98
99
100
101
102
103
104
105
106
107
108
109
110
111
112
113
114
115
116
117
118
119
120

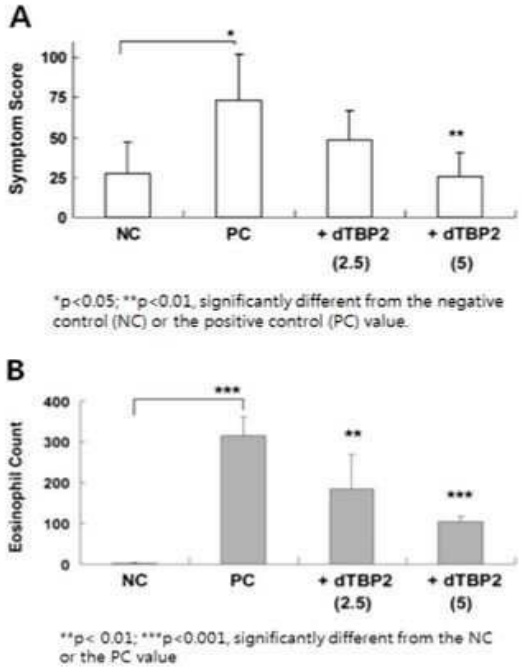
도면8


IL-8 (pg/ml)
1000
800
600
400
200
0
NC
dTCTP
dTBP2
121
122
123
124
125
126
127
128
129
130

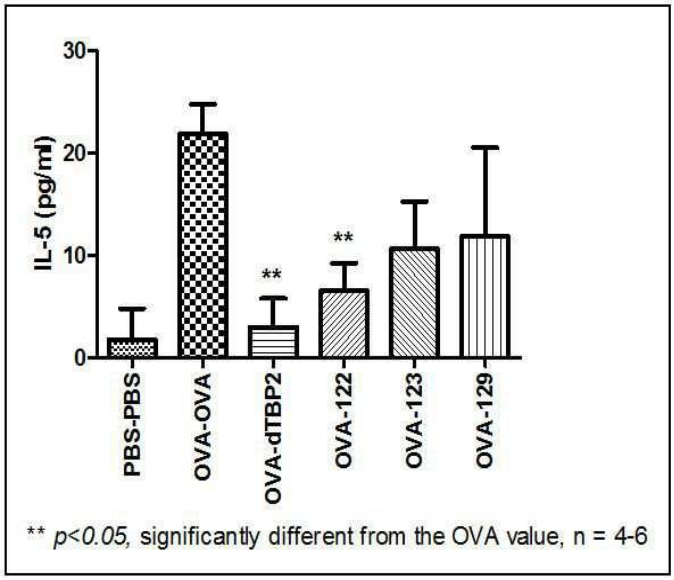
도면9


dTBP2 : WYVYPSM
2.50
2.00
1.50
1.00
0.50
0.00
con1
con3
1B 1D 1F 1H 2B 2D 2F 2H 3B 3D 3F 3H 4B 4D 4F 4H 5B 5D 5F 5H 6B 6D 6F 6H 7B 7D 7F 7H 8B 8D 8F 8H 9B 9D 9F 9H 10B 10D 10F 10H 11B 11D 11F 11H

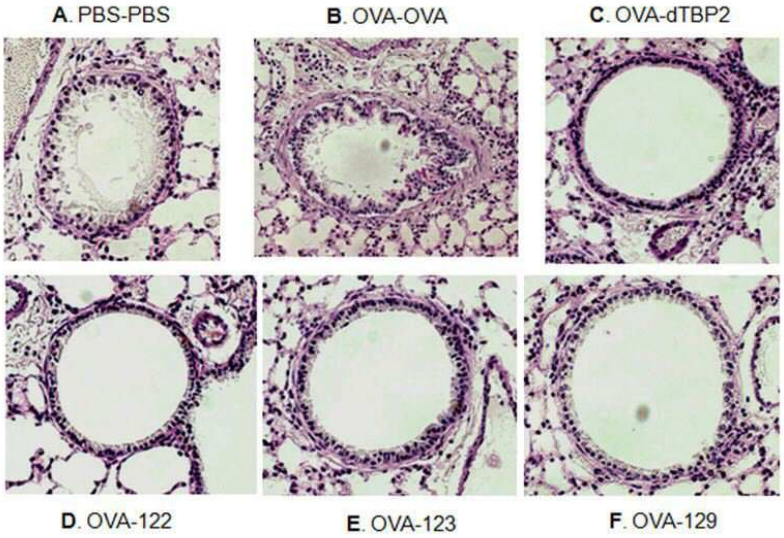
도면10


A
Symptom Score
100
75
50
25
0
*
**
NC
PC
+ dTBP2 (2.5)
+ dTBP2 (5)
*p<0.05; **p<0.01, significantly different from the negative control (NC) or the positive control (PC) value.
B
Eosinophil Count
400
300
200
100
0
***
**
***
NC
PC
+ dTBP2 (2.5)
+ dTBP2 (5)
**p< 0.01; ***p<0.001, significantly different from the NC or the PC value

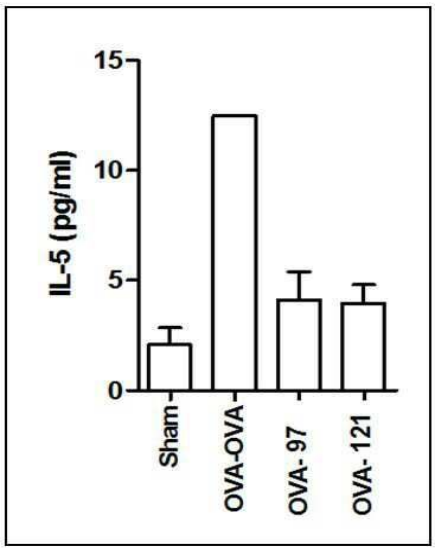
도면11


30
20
10
0
IL-5 (pg/ml)
**
**
PBS-PBS
OVA-OVA
OVA-dTBP2
OVA-122
OVA-123
OVA-129
** p<0.05, significantly different from the OVA value, n = 4-6

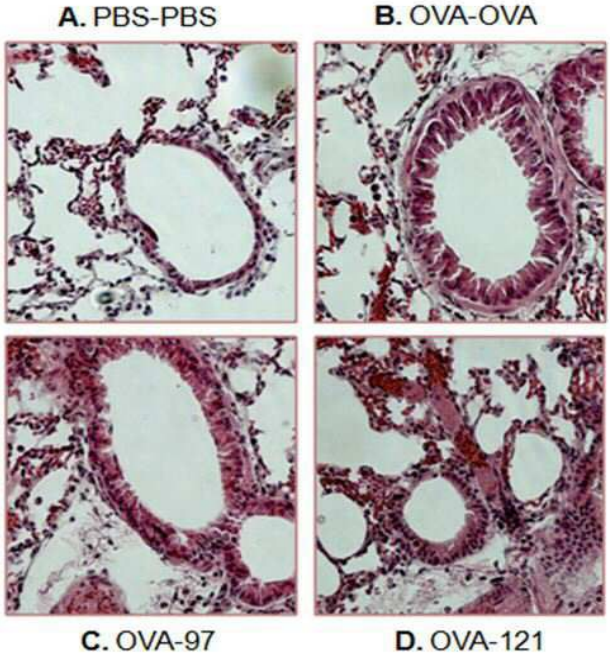
도면12


A. PBS-PBS
B. OVA-OVA
C. OVA-dTBP2
D. OVA-122
E. OVA-123
F. OVA-129

도면13



도면14



서 열 목 록

<110> Ewha University - Industry Collaboration Foundation

<120> Peptidomimetic compounds comprising chemical formula IV and pharmaceutical composition comprising the same for treating allergic disease

<130> DPP20140005KR

<160> 1

<170> KopatentIn 1.71

<210> 1

<211> 7

<212> PRT

<213> dTBP2 protein

<400> 1

Trp Tyr Val Tyr Pro Ser Met

1 5