

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) Int. Cl. ⁶ C07K 5/065	(11) 공개번호 (43) 공개일자	특1999-0067219 1999년08월16일
(21) 출원번호	10-1998-0703176	
(22) 출원일자	1998년04월30일	
번역문제출일자	1998년04월30일	
(86) 국제출원번호	PCT/EP1996/04785	(87) 국제공개번호 WO 1997/17363
(86) 국제출원출원일자	1996년10월30일	(87) 국제공개일자 1997년05월15일
(81) 지정국	EA 유라시아특허 : 러시아 EP 유럽특허 : 오스트리아 벨기에 스위스 독일 덴마크 스페인 프랑스 영국 그리스 이탈리아 룩셈부르크 모나코 네덜란드 포르투갈 스웨덴 국내특허 : 아일랜드 오스트레일리아 브라질 캐나다 중국 체코 헝가리 일본 대한민국 멕시코 노르웨이 폴란드 터어키	
(30) 우선권주장	95202982.5 1995년11월03일 EP0(EP) 95203554.1 1995년12월19일 EP0(EP) 95203554.1 1995년12월19일 EP0(EP)	
(71) 출원인	약조 노벨 엔.브이. 이.에이치. 리링크 네덜란드 엔엘-6800 에스비 아르넴 벨페르베그 76	
(72) 발명자	안톤 에그버트 페터 아당 네덜란드, 엔엘-5615 씨알 아인드호벤, 르 사계텐 브뢰클란 77 콘스탄트 아드리안 안톤 반 뵈켈 네덜란드, 엔엘-5345 엘엑스 오스, 머큐리우스슈트라트 32 페터 디데리크 얀 그루텐휘스 네덜란드, 엔엘-5344 에이치에스 오스, 반 데어 두인반마스담슈트라트 48 야코부스 알버투스 마리아 페터스 네덜란드, 엔엘-5345 디비 오스, 미어발 23	
(74) 대리인	김성택, 나영환	

심사청구 : 없음

(54) 트롬빈 억제제

요약

본 발명은 하기 화학식 1의 비지연 결합성 트롬빈 억제제, 또는 이것의 전구 약물, 또는 이것의 약학적 허용염에 관한 것으로서, 단 상기 화합물중 화합물 Me-D-Phe-Pro-Lys-COOH는 제외된다.

화학식 1

A-B-C-Lys-D

식 중, A는 수소, 2-히드록시-3-시클로헥실-프로피오닐-, R₁, R₁-O-CO-, R₁-CO-, R₁-SO₂-, -(CHR₂)_nCOOR₃, 또는 N-보호기로서,

R₁은 (C₁₋₆)알킬렌-COOH, (C₁₋₁₂)알킬, (C₂₋₁₂)알케닐, (C₆₋₁₄)아릴, (C₇₋₁₅)아르알킬 및 (C₈₋₁₆)아르알케닐중에서 선택되고, 이들 아릴기는 (C₁₋₆)알킬, (C₂₋₁₂)알콕시, 히드록시, 또는 할로겐으로 치환될 수 있고,

R₂는 수소이거나 또는 R₁과 동일하고,

R₃은 수소, (C₁₋₁₂)알킬, (C₂₋₁₂)알케닐, (C₆₋₁₄)아릴, (C₇₋₁₅)아르알킬 및 (C₈₋₁₆)아르알케닐중에서 선택되고, 이들 아릴기는 (C₁₋₆)알킬, (C₂₋₁₂)알콕시, 히드록시, 또는 할로겐으로 치환될 수 있고,

n은 1 내지 3의 정수이고;

B는 결합, L-Asp 또는 이들의 에스테르 유도체, Leu, 노르 Leu, -N(벤질)-CH₂-CO-, -N(2-인단)-CH₂-CO-, D-1-Piq, D-3-Piq, D-Tiq, Atc 또는 소수성 방향족 측쇄를 가진 D-아미노산이고;

C는 Azt, Pro, Pec, 노르 Leu(시클로)Gly, 식 -N[(C₃₋₈)시클로알킬]-CH₂-CO- 또는 N-(벤질)-CH₂-CO-중 하나의 아미노산이고;

D는 COOH, 테트라졸, 옥사졸, 티아졸 및 벤조티아졸중에서 선택되거나; 또는 A 및 C는 상기 언급된 의미를 가지고, B는 D-(C₃₋₈)시클로알킬알라닌이며, D는 테트라졸, 옥사졸, 티아졸 또는 벤조티아졸이다.

명세서

기술분야

본 발명은 비지연 결합성(non-slow-binding) 트롬빈 억제제, 상기 억제제의 제조방법, 상기 억제제를 함유한 약학 조성물, 및 상기 트롬빈 억제제를 항혈전제로서 사용하는 방법에 관한 것이다.

배경기술

효과적인 항응고제인 트롬빈을 억제시키는 것에 대해 많은 관심이 집중되어 왔다. 혈액 응고 단계내의 중요한 세린 프로테아제인 트롬빈 효소에 대한 억제제는 일정 기간동안 항응고적 예방 및 치료를 위한 효과적인 물질로서 취급되어 왔다. 특히 트롬빈은 응고 인자, 순환하는 혈액 성분, 및 혈관 세포에 여러 영향을 미치므로, 상기 억제제는 많은 병리학적 상태에 특히 관심을 끄는 물질이 된다. 또한 현재 사용되는 항응고제는, 특히 출혈 합병증을 유발시킨다는 제한점을 가짐에 따라 보다 특이적 작용 억제제에 대한 연구가 필수 불가결하다.

트롬빈의 전이 상태 억제제중에서 많은 펩티드(류) 세린 프로테아제 억제제는 이미 개시되었다. 그러나 이들 화합물 대다수는 지연 결합성 억제제이다. 트롬빈의 지연 결합성 억제제를 사용하는 것은 비판의 대상이 되기 쉽다. 트롬빈은 생체내 혈장내에서 일정하게 생성되며, 트롬빈 억제제는, 주로 트롬빈 매개 증식 단계를 억제시켜 트롬빈 형성을 지연시키는 방식으로 작용한다. 그러한 증식 단계를 지연시키는 데에는, 비지연 결합성 억제제가 바람직할 것이다. 지연 결합성 억제제로서 동일한 효과를 얻기 위해서는 보다 다량이 필요하며, 이에 따라 부작용의 위험도 높아진다.

관련 트롬빈 억제제는, D-Phe-Pro-Arg-아미드 및 D-Phe-Pro-Lys-X 유도체(식 중, X는 케토에스테르 또는 아민임)가 개시되어 있는 브래디의 다수의 문헌 [Bioorganic & Medicinal Chemistry, 3(1995), 1063-78]에 개시되어 있다. 이들 화합물은 지연 결합성 트롬빈 억제제로서 개시되어 있으며, 따라서 이들 화합물은 본 발명에서 제외된다. 비지연 결합성 트롬빈 억제제에 대한 연구로는, 존 외 다수의 문헌 [J. Enzyme Inhibition, 9, (1995), 43-60]에서 D-Cha-Pro-Lys-COOH 유도체를 사용하여 개선시키고자 시도하였다. 그러나, 이들 유도체는 보다 효과적인 트롬빈 억제제인 것으로 판명되긴 했으나, 여전히 지연 결합 특성을 갖는다.

이들 화합물, 구체적으로 Me-D-Phe-Pro-Lys-COOH는 지연 결합성 억제제로서 분류된다. 따라서, 이 화합물은 본 발명의 요구 조건을 충족시키지 못하므로 보호 범위에서 제외된다.

알킬 치환된 리신을 함유한 트롬빈 억제제는 미국 특허 제 5,523,308호에 개시되어 있다. 그 이전의 참고 문헌에는 다른 Phe-Pro-Lys 서열이 개시되어 있는데, 예를 들어 이와노박츠외 다수의 문헌 [Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2 (1992), 1607-12]에는 D-Phe-Pro-Lys-X 유도체(식 중, X는 케토에스테르임)가 개시되어 있다. 그러한 화합물도 역시 지연 결합성 트롬빈 억제제로서 개시될 수 있다.

다른 세린 프로테아제의 억제를 위한 다른 펩티드 류도 또한 개시되어 있다. 즈츠미외 다수의 문헌 [J. Med. Chem., 37(1994), 3492-3502]에는 티아졸 및 벤조티아졸 C-말단부를 가진 펩티드류 화합물이 개시되어 있다. 그러한 티아졸 유도체는 상응하는 티오펜 유사체에 비해 효력면에서 300배 이상 강하다는 점이 밝혀졌다. 또한, C-단부 헤테로시클릭기는 프로테아제 프롤릴 엔도펩티다아제의 히스타민과 결정적인 수소-결합 반응을 수행하는 것으로 가정되었다. 다른 세린 프로테아제도 이러한 특징을 가질 수 있는 것으로 제안되긴 했으나, 트롬빈 프로테아제가 구체적으로 언급되지는 않았다. 즈츠미의 이러한 발표 내용은 이후 에드워드외 다수의 문헌 [J. Med. Chem., 38(1995), 76-85]에 의해 이의 제기되었으며, 이 문헌에서는 또한 D-Phe-Val-Pro-Val-X(식 중, X는 티아졸 및 벤조티아졸임)류의 엘라스타제 억제제가 관련 세린 프로테아제의 비지연 결합성 억제제라는 점을 밝혀냈다. 상기 저자 에드워드는, 다른 세린 프로테아제의 억제제인 펩티달- α -케토헤테로사이클의 개발법도 역시 제안하였다.

발명의 상세한 설명

본 발명은, 상기 에드워드 및 즈츠미 등의 교시 내용이 또한 트롬빈 억제제에도 적용될 수 있다는 놀라운 사실에 관한 것이다. 상기 루이스, 존스 및 브래디의 문헌에 개시된 화합물에 C-말단 헤테로사이클을 적용시키면, 트롬빈에 대한 비지연 결합 특성을 가진 효과적인 트롬빈 억제제가 제공된다. 또한, 이들 화합물 대다수는 생물학적 반감기 및 경구 생물학적 이용율이 우수하다.

따라서, 본 발명은 하기 화학식 1의 비지연 결합성 트롬빈 억제제, 또는 이것의 전구약물, 또는 이것의 약학적 허용염에 관한 것으로서, 이들 화합물중 Me-D-Phe-Pro-Lys-COOH는 제외된다.

화학식 1

A-B-C-Lys-D

식중, A는 수소, 2-히드록시-3-시클로헥실-프로피오닐-, R₁, R₁-O-CO-, R₁-CO-, R₁-SO₂-, -(CHR₂)_nCOOR₃, 또는 N-보호기로서,

R₁은 (C₁₋₆)알킬렌-COOH, (C₁₋₁₂)알킬, (C₂₋₁₂)알케닐, (C₆₋₁₄)아릴, (C₇₋₁₅)아르알킬 및 (C₈₋₁₆)아르알케닐중에서 선택되고, 이중 아릴기는 (C₁₋₆)알킬, (C₂₋₁₂)알콕시, 히드록시, 또는 할로겐으로 치환될 수 있고,

R₂는 수소이거나 또는 R₁과 동일하고,

R₃은 수소, (C₁₋₁₂)알킬, (C₂₋₁₂)알케닐, (C₆₋₁₄)아릴, (C₇₋₁₅)아르알킬 및 (C₈₋₁₆)아르알케닐중에서 선택되고, 이중 아릴기는 (C₁₋₆)알킬, (C₂₋₁₂)알콕시, 히드록시, 또는 할로겐으로 치환될 수 있고,

n은 1 내지 3의 정수이고;

B는 결합, L-Asp 또는 이들의 에스테르 유도체, Leu, 노르Leu, -N(벤질)-CH₂-CO-, -N(2-인단)-CH₂-CO-, D-1-Piq, D-3-Piq, D-Tiq, Atc 또는 소수성 방향족 측쇄를 가진 D-아미노산이고;

C는 Azt, Pro, Pec, 노르 Leu(시클로)Gly, 식 -N[(C₃₋₈)시클로알킬]-CH₂-CO- 또는 N(벤질)-CH₂-CO-중 하나의 아미노산이고;

D는 COOH, 테트라졸, 옥사졸, 티아졸 및 벤조티아졸중에서 선택되거나; 또는

A 및 C는 상기 언급된 의미를 가지고, B는 D-(C₃₋₈)시클로알킬알라닌이며, D는 테트라졸, 옥사졸, 티아졸 또는 벤조티아졸이다.

본 발명의 화합물은 트롬빈 매개 질환 및 트롬빈 관련 질환의 치료 및 예방에 유용하다. 이것으로는, 응고 단계가 활성화된 대다수의 혈전 형성 상태 및 혈전 형성 이전 상태, 예를 들어 심정맥 혈전증, 폐 색전증, 혈전 정맥염, 혈전증 또는 색전증으로 인한 동맥 폐색, 혈관 성형술 또는 혈전 용혈술 과정 또는 이후의 동맥 재폐색, 동맥 손상 또는 침해적 심장학적 처리후의 재발 협착증, 수술후 정맥 혈전증 또는 색전증, 급성 또는 만성 동맥 경화증, 발작, 심근 경색, 암 및 전이, 및 신경 퇴행성 질환이 있으나, 이들에 국한되는 것은 아니다. 본 발명의 화합물은 또한, 투석 및 수술시 필수적인 외부 혈액 순환체중의 혈액 응고제로서 사용할 수도 있다. 본 발명의 화합물은 또한 시험관내 항-응고제로서 사용할 수도 있다.

본 발명의 바람직한 화합물은, D가 COOH인 화합물이다. 또한, 바람직한 A는 수소, (C₁₋₁₂)알킬, -CO-(C₇₋₁₅)아르알킬, -SO₂-(C₁₋₁₂)알킬, -SO₂-(C₆₋₁₄)아릴, 또는 -SO₂-(C₇₋₁₅)아르알킬이고, B는 결합, L-Asp, 노르 Leu, D-1-Piq 또는 D-Phe이며, C는 Pro, 노르 Leu(시클로)Gly, 또는 -N-시클로펜틸-CH₂-CO이다. A가 -SO₂-벤질이고, B는 결합이며, C가 노르 Leu(시클로)Gly인 화합물, 또는 A가 -SO₂-에틸이고, B가 D-Phe이며, C가 Pro인 화합물, 또는 A가 수소이고, B가 D-1-Piq이며, C가 Pro 인 화합물이 더욱 바람직한 비지연 결합성 트롬빈 억제제이다.

본 발명의 다른 바람직한 화합물은, D가 옥사졸 또는 티아졸인 화합물이다. 또한, A는 수소, (C₁₋₁₂)알킬, 2-히드록시-3-시클로헥실-프로피오닐-CO-(CH₂)_nCOOH, -CO-(C₇₋₁₅)아르알킬, -SO₂-(C₆₋₁₄)아릴, -SO₂-(C₇₋₁₅)아르알킬, -SO₂-(C₁₋₁₂)알킬, -(CHR₂)_nCOOR₃이고, R₂가 수소 또는 (C₁₋₁₂)알킬이며, R₃가 수소, (C₁₋₁₂)알킬 또는 벤질이고, C가 Pro, 노르Leu(시클로)Gly, 또는 -N[(C₃₋₈)시클로알킬]-CH₂-CO인 것이 바람직하다. 특히 바람직한 비지연 결합성 트롬빈 억제제는, A가 -(CH₂)_nCOOR₃이고, R₃가 수소, (C₁₋₁₂)알킬 또는 벤질이고, B가 D-(C₃₋₈)시클로알킬알라닌, 또는 알콕시 또는 할로겐에 의해 임의로 단일 치환된 D-Phe이며, C는 Pro 인 화합물이다. 가장 바람직한 본 발명의 화합물은, D가 티아졸인 화합물이다. 비지연 결합성 억제제로는 구체적으로 H₂N-CH₂-D-Cha-Pro-Lys-(2-티아졸릴)이 바람직하다.

A부에 대한 정의에 정의된 N-보호기는 펩티드에 사용된 임의의 N-보호기이다. 적당한 N-보호기는 티.더.블유.그린 및 피.지.엠. 우츠의 문헌 [Protective Groups in Organic Synthesis, 2판(윌리, 뉴욕, 1991)] 및 이.그로스 및 제이.마이어호퍼의 문헌 [The Peptides, Analysis, Synthesis, Biology, 3권(대학 출판부, 뉴욕, 1981)]에 기재되어 있다.

본원에 사용된 알킬은 1 내지 12개의 탄소원자를 가진 분지 또는 비-분지된 알킬기로서, 예를 들면 메틸, 에틸, 이소펜틸, 도데실 등이 있다.

용어 (C₁₋₆)알킬렌은 1 내지 6개의 탄소원자를 가진 분지 또는 비분지된 알킬렌기를 의미하는 것으로서, 예를 들면 -(CH₂)_m- [식중, m은 1 내지 6임], -CH(CH₃)-, -CH(CH₃)-(CH₂)- 등이 있다. 바람직한 알킬렌기는 메틸렌이다.

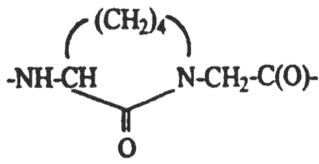
알케닐은 2 내지 12개의 탄소원자를 가진 분지 또는 비분지된 불포화 알케닐기이다. 그 예로는 에테닐, 프로페닐, 알릴 등이 있다.

아르알킬 및 아르알케닐기는, 각각 하나이상의 아릴기로 치환된 알킬 및 알케닐기로서, 이들의 총 탄소원자수는 각각 7 내지 15개 및 8 내지 16개이다. 바람직한 아르알킬기는, 예를 들어 식 -(CH₂)_p-CH-(C₆H₅)₂ [식중, p는 1 또는 2임], 또는 할로겐에 의해 임의로 치환된 -(CH₂)_q-C₆H₅ [식중, q는 1, 2 또는 3임]이다.

본 발명의 화합물에 사용된, 상기 언급된 정의 및 아릴에 대한 정의중의 아릴은 6 내지 14개의 탄소원자를 가진 방향족 부이다. 아릴기는 1개 이상의 헤테로 원자, 예를 들어 N, S, 또는 O를 더 포함할 수 있다. 아릴기의 예는 페닐, 나프틸, (이소)퀴놀릴, 인다닐 등이다. 이중 페닐기가 가장 바람직하다. 아릴기는 하나이상의 알킬기(바람직하게는 메틸), 알콕시기(바람직하게는 메톡시), 히드록시, 또는 할로겐으로 치환될 수 있다. 용어 할로겐은 불소, 염소, 브롬 또는 요오드를 의미하며, 염소가 바람직하다.

용어 D-1-Piq 및 D-3-Piq는 각각 1- 및 3-카르복시피히드로이소퀴놀린을 의미한다. 용어 Tiq는 1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린-카르복실산을 의미한다. Atc는 2-아미노테트라린-2-카르복실산이다. 용어 Azt 및 Pec는 각각 2-아제티딘 카르복실산 및 피페콜린산을 의미한다.

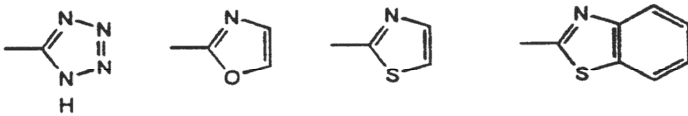
용어 노르 Leu(시클로)Gly는 하기 식의 구조 단편을 의미한다.



용어 소수성 방향족 측쇄는, 하나 이상의 (C₆₋₁₄)아릴기(이것은 헤테로원자, 예를 들어 질소를 포함할 수도 있음)에 의해 치환된 (C₁₋₁₂)알킬, 예를 들어 페닐, 피리디닐, 나프틸, 테트라히드로나프틸 등을 의미하며, 이것의 소수성 측쇄는 할로겐(바람직하게는 염소), 트리플루오로메틸, 저급 알킬(예, 메틸 또는 에틸), 저급 알콕시(예, 메톡시), 페닐옥시, 벤질옥시 등과 같은 소수성 치환기로 치환될 수도 있다.

용어 (C₃₋₈)시클로알킬은 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 시클로헥실, 시클로헵틸 또는 시클로옥틸을 의미한다.

테트라졸, 옥사졸, 티아졸 및 벤조티아졸은 각각 하기 식을 갖는다.



본 발명은 또한, 투여후 활성 화합물로 대사되는 상기 화학식 1의 화합물의 전구 약물을 포함한다. 적당한 전구 약물은, 예를 들어 상기 화학식 1의 N-알콕시카르보닐 보호된(바람직하게는 N-에톡시카르보닐) 유도체이다.

본원에 사용된 용어 약학적 허용염은, 모 화합물의 소정의 생물학적 활성을 보유하면서 바람직하게는 원치 않는 독성 효과를 제공하지 않는 염을 의미한다. 그러한 염의 예는, 무기산(예, 염산, 브롬산, 황산, 인산, 질산 등)에 의해 형성된 산 무가염이다. 염은 또한 유기산(예, 아세트산, 옥살산, 주석산, 숙신산, 말레산, 푸마르산, 글루콘산, 구연산, 말산, 아스코르빈산, 벤조산, 탄닌산, 팔모인산, 알긴산, 폴리글루탐산 등)에 의해 형성될 수도 있다. 또한 다가의 금속 양이온(예, 아연, 칼슘, 비스무스, 바륨, 마그네슘, 알루미늄, 구리, 코발트, 니켈 등), 또는 N,N'-디벤질에틸렌디아민 또는 에틸렌디아민, 또는 이들의 조합물로 형성된 유기 양이온에 의해 염이 형성될 수도 있다(예, 주석산 아연염).

본 발명의 화합물은 하나 이상의 키랄 탄소 원자를 가지므로, 순수한 거울상 이성체, 또는 거울상 이성체의 혼합물, 또는 부분입체 이성체를 함유한 혼합물로서 수득될 수 있다. 순수한 거울상 이성체를 제조하는 방법은 당업계에 널리 공지되어 있는데, 예를 들면 광학적 활성산 및 라세미 혼합물로부터 수득된 염을 결정화하는 방법, 또는 키랄 칼럼을 이용한 크로마토그래피법이 있다. 부분 입체 이성체의 경우, 직선상 또는 역상 칼럼을 사용할 수도 있다.

본 발명은 또한 적당히 보호된 아미노산 또는 아미노산 유사체를 결합시킨 후 보호기를 제거하는 과정을 포함하는 화학식 1의 화합물의 제조방법에 관한 것이기도 하다.

화학식 1의 화합물은, 그러한 화합물에 통상적인 방법을 통해 제조할 수도 있다. 이를 위해, 적당히 N α 보호된(및 반응성 측쇄가 존재하는 경우, 측쇄 보호된) 아미노산 유도체 또는 펩티드를 활성화시켜, 용액중에서 또는 고정 지지체 상에서 적당히 카르복실 보호된 아미노산 또는 펩티드 유도체에 결합시킨다. α -아미노 작용기의 보호는 통상적으로, 산-불안정성 t-부틸옥시카르보닐기(Boc), 벤질옥시카르보닐(Z) 기 및 치환된 유사체 또는 염기-불안정성 9-플루오레닐-메틸옥시카르보닐(Fmoc)기와 같은 우레탄 작용기에 의해 이루어진다. Z기는 또한 촉매적 수소화에 의해 제거될 수도 있다. 다른 적당한 보호기로는 Nps, Bmv, Bpoc, Alloc, MSC 등이 있다. 아미노 보호기에 대한 양호한 개략은 이.그로스 및 제이.마이엔호퍼의 문헌 [The Peptides, Analysis, Synthesis, Biology, 3권, (대학 출판부, 뉴욕 1981)]에 제시되어 있다. 카르복실기의 보호는, 에스테르 형성, 예를 들어 염기 불안정성 에스테르(예, 메틸 또는 에틸), 산 불안정성 에스테르(예, 부틸), 또는 수소첨가적 불안정성 에스테르(예, 벤질)에 의해 이루어질 수 있다. 리신과 같은 측쇄 작용기의 보호는 상기 언급된 기를 사용하여 이를 수 있다. 적절히 보호된 아미노산 또는 펩티드의 카르복실기의 활성화는, 아지드, 합성 무수물, 활성 에스테르, 또는 카르보디이미드 방법을 통해, 특히 촉매적 및 라세미화 억제 화합물(예, 1-히드록시벤조트리아졸, N-히드록시숙신이미드, 3-히드록시-4-옥소-3,4-디히드로-1,2,3-벤조트리아진, N-히드록시-5-노르보넨-2,3-디카르복시이미드)을 첨가 하면서 이를 수 있다. 인을 주성분으로 하는 산의 무수물도 또한 사용할 수 있다. 상기 언급된 문헌 [The Peptides, Analysis, Synthesis, Biology] 및 [Pure and Applied Chem. 59(3), 331-344(1987)]을 참고한다.

상기 화합물은 메리필드의 고정상 방법에 의해 제조할 수도 있다. 다른 고정 지지체 및 다른 방법이 공지되어 있는데, 예를 들어 이. 그로스 및 제이. 마이엔호퍼의 문헌 [The Peptides, Analysis, Synthesis, Biology] 중 2권인 바라니 및 메리필드의 문헌, 크나이브-코도니어 및 울렌의 문헌 [Int. J. Peptides Protein Res., 30, 705-739(1987)] 및 필드와 노블의 문헌 [Int. J. Peptide Protein Res., 35, 161-214(1990)]을 참고한다.

보호기의 제거, 및 고정상 펩티드 합성의 경우, 고정 지지체로부터의 분해는, 보호기의 성질 및 고정 지지체에 대한 결합체의 종류에 따라 다른 방식으로 이루어질 수 있다. 통상적으로, 탈보호는 산성 조건하

에 스캐빈저의 존재하에서 이루어진다. 상기 문헌 [The Peptides Analysis, Synthesis, Biology] 시리즈 중 3, 5 및 9권을 참고한다.

그러한 화합물의 합성시에는 효소를 사용할 수도 있다; 예를 들어, 우덴 프렌드 및 제이.마이엔호퍼의 문헌 [The Peptides, Analysis, Synthesis Biology, (대학출판부, 뉴욕, 1987)]중 9권의 에이치. 디. 자쿠브케의 문헌을 참고한다.

한편 본 발명의 화합물은, 원치않는 혈액 응고를 수반하는 질환 상태를 치료하는데 유용한 약물의 제조 시 유용하다. 그러한 경우, 합성된 구체적 화합물은 통상적으로 약학적 담체와 혼합될 것이다. 약학적 담체는, 주사용 무균수와 같이 비교적 단순한 것에서부터 미소구 및 생물학적 분해성 삼입물과 같이 비교적 복잡한 것에 이르기까지 다양하다.

본 발명의 화합물을 함유한 약물은 경구적, 경피적, 국소적, 비강내, 정맥내, 근육내 또는 국소적(예, 삼입물을 통해)으로 투여하는 것이 바람직하다. 데포우 투여도 또한 가능하다.

이들 화합물 및 조성물의 정확한 투여량 및 투여 방법은, 약물을 투여할 개체의 요건, 필요 정도 또는 심각도, 및 물론 의사의 판단에 따라 필수적으로 좌우될 것이다. 통상적으로 비경구 투여시에는, 흡수량에 보다 크게 좌우되는 다른 투여방법보다 투여량이 적다. 한편, 투여량은 0.001 내지 100 mg/kg(체중), 바람직하게는 0.01 내지 10 mg/kg(체중)의 범위이다.

본 발명의 화합물로 제조된 약물은 급성 항응고 치료제로서 사용할 수도 있다. 그러한 경우, 약물은 그러한 질환의 치료에 유용한 다른 화합물과 함께 투여한다.

본 발명의 화합물은 또한, 내용이 본문에 참고 인용된 미국 특허 제 4,767,628호에 기재된 바와 같은 삼입성 약학적 장치와 병용할 수도 있다. 상기 장치는, 본 발명의 화합물을 서서히(예, 1달 이상의 기간동안) 방출시키기 위해 충분한 양의 화합물을 함유할 것이다.

장내 또는 비경구 투여용 화합물을 함유하기에 적당할 수 있는 약물의 제조방법은 표준 참고 문헌, 즉 게나로외 다수의 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences, (18판, 맥 출판사, 1990, 특히 8부의 약학 제제 및 이들의 제조방법), p 1519-1580]에 기재되어 있다. 본 발명의 화합물은, 약학적으로 적당한 보조제와 혼합하여 고형 투여 단위(예, 환제, 정제)로 압착시키거나, 또는 캡슐 또는 좌약으로 가공할 수도 있다. 약학적으로 적당한 액체를 사용하여, 본 발명의 화합물을 주사 제제, 스프레이(예, 비강 스프레이)로서 사용하기에 적당한 용액, 현탁액, 에멀전 형태로 사용할 수도 있다.

투여 단위(예, 정제)의 제조시에는, 통상의 첨가제(예, 충전제, 색소, 중합체 결합제 등)의 사용을 고려한다. 통상적으로, 활성 화합물의 작용을 방해하지 않는 임의의 약학적 허용 첨가제를 사용할 수 있다. 조성물과 함께 투여할 수 있는 적당한 담체로는 젤라틴, 전분, 셀룰로즈 유도체 등, 또는 이들의 혼합물이 있으며, 이들은 적당량 사용할 수 있다.

본 발명은 하기 예시적 실시예를 참고하여 더욱 상세히 설명할 것이다.

실시예

실시예 1

3,3-디페닐프로피오닐-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

3,3-디페닐프로피오닐-프롤릴-메틸에스테르

에틸 아세테이트(100 ml) 중의 찬 3,3-디페닐프로피온산(5.0 g) 용액(0°C)에 DCCI (1,3-디시클로헥실카르보디이미드; 5.03 g), HOBt(1-히드록시벤조트리아졸 히드레이트; 3.28 g), H-Pro-OMe·HCl(3.66 g) 및 트리에틸아민(3.1 ml)을 첨가했다. 반응 혼합물을 1시간동안 0°C에서 교반한 후 실온에서 밤새 방치하였다. 반응 혼합물을 -20°C로 냉각시키고, 여과를 통해 DCU (1,3-디시클로헥실우레아)를 제거하였다. 여액은 5% 탄산 수소 나트륨, 물, 5% 황산 수소 칼륨 및 염화 나트륨 포화 수용액순으로 세척하고, 황산 나트륨으로 건조시킨 후 진공하에 농축시켰다. 잔류물은 실리카상에서 크로마토그래피(용출제: 디클로로메탄/에틸 아세테이트; 9/1 v/v)로 정제하여 결정형 분말 형태의 3,3-디페닐프로피오닐-프롤릴메틸에스테르를 5.68 g 수득하였다. TLC : R_f=0.75, 실리카겔, 디클로로메탄/에틸 아세테이트 = 7/3 v/v.

3,3-디페닐프로피오닐-프롤릴-아

디옥산/물중에 용해된 3,3-디페닐프로피오닐-프롤릴-메틸에스테르(5.6 g)를 실온하에 30분동안 4M 수산화나트륨 용액(6.2 ml)으로 적가 처리하면서, pH는 10 내지 10.5로 유지시켰다. 30분후, 반응 혼합물을 물(60 ml)로 희석시키고, pH 2.0까지 4M 염산 용액을 첨가한 후, 수층을 에틸 아세테이트로 추출했다. 합성된 유기상은 물, 염화 나트륨 포화 수용액으로 세척하고, 황산 나트륨으로 건조시키고, 증발시켜 용매를 제거하므로써 시럽 상태의 3,3-디페닐프로피오닐-프롤릴-아 (5.18 g)를 수득하였다. TLC : R_f=0.65, 실리카겔, EPAW(에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물) 63/20/6/11 v/v/v/v.

Boc-Lys(Cbz)-NMeOMe

디클로로메탄(200 ml)중에 Boc-Lys(Cbz)-OH·DCHA(10 g)을 현탁시켰다. 이 현탁액을 찬 0.1N 염산 용액으로 2회 세척하였다. 생성된 유기상에 2-(1H-벤조트리아졸-1-일)-1,1,3,3-테트라메틸우로늄 테트라플루오로보레이트(6.0 g) 및 0,N-디메틸-히드록실아민 염산(1.82 g)을 첨가하고, 트리에틸아민을 첨가하여 pH를 8.0으로 조절하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간동안 교반하고, 이 혼합물을 찬 2N 염산 용액, 물, 5% 탄산 수소 나트륨, 및 물순으로 세척하였다. 유기층은 황산 나트륨으로 건조시키고 여과한 후 증발시켰다. 잔류물은 실리카상의 크로마토그래피(용출제: 디클로로메탄/메탄올; 5:5 v/v)를 통해 정제하여 Boc-Lys(Cbz)-NMeOMe(7.2 g)를 수득하였다. TLC: R_f = 0.55, 실리카겔, 디클로로메탄/메탄올 = 95/5 v/v.

Boc-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)

디에틸 에테르(58 ml)중에 n-부틸리튬을 용해시킨 찬(-78℃) 교반 용액(63.9 mmol)에 디에틸 에테르(30 ml)중의 2-브로모티아졸(10.5 g) 용액을 적가했다. 이 용액을 30분간 -78℃에서 교반한 후, 무수 THF(테트라히드로퓨란; 75 ml)중의 Boc-Lys(Cbz)-NMeOMe(8.2 g) 용액을 서서히 첨가했다. 이 혼합물을 1시간동안 -78℃에서 교반한 후 5% 탄산 수소 나트륨 수용액을 첨가했다. 이 혼합물을 실온까지 가온시킨 후, 층들을 분리하였다. 수용성 층은 디에틸 에테르로 추출하였다. 합성된 유기 층들은 물로 세척하고, 황산 나트륨으로 건조시키고 여과한 후 증발시켰다. 잔류물은 실리카상의 크로마토그래피(용출제: 에틸 아세테이트/헵탄; 3/1 v/v)를 통해 정제하므로써 Boc-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)(8.6 g)을 수득하였다. TLC : R_f=0.77, 실리카겔, 에틸 아세테이트/헵탄 = 3/1 v/v.

H-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴) · TFA

Boc-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)(500 mg)을 50% TFA(트리플루오로아세트산/디클로로메탄 5 ml)중에 용해시키고, 실온에서 1시간동안 교반하였다. 증발을 통해 용매를 제거한 후 미정제 H-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴) · TFA를 정량 수량로 분리하여, 다음 단계에서 바로 사용하였다. TLC : R_f = 0.25, 실리카겔, EPAW = 63/20/6/11 v/v/v/v.

3,3-디페닐프로피오닐-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)

디에틸 포름아미드(5 ml)중의 3,3-디페닐프로피오닐-프롤릴-OH (385 mg) 의 찬(0℃) 용액에 DCCI (270 mg), HOBt(176 mg), H-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴) · TFA (515 mg) 및 N-에틸모르폴린(0.28 mg)을 순차적으로 첨가했다. 반응 혼합물을 0℃에서 1시간동안 교반한 후 실온에서 방배 방지하였다. 이 혼합물을 -20℃로 냉각시키고, 여과를 통해 DCU를 제거하였다. 여액을 건조상태로 증발시키고, 잔류물은 에틸 아세테이트 중에 용해시킨 후 5% 탄산 수소 나트륨 수용액, 물, 5% 황산 수소 칼륨 수용액 및 염화 나트륨 포화 수용액순으로 세척하고, 황산 나트륨으로 건조시킨 후 진공하에 농축시켰다. 잔류물은 실리카상의 크로마토그래피(용출제: 에틸 아세테이트/헵탄; 4:1 v/v)를 통해 정제하여 3,3-디페닐프로피오닐-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)(332 mg)을 수득하였다. TLC : R_f=0.40, 실리카겔, 에틸 아세테이트/헵탄; 3/1 v/v.

3,3-디페닐프로피오닐-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

3,3-디페닐프로피오닐-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴) (320 mg)을 TFA/티오아니졸 10/1 v/v(3.3 ml)로 3시간 동안 실온에서 처리하였다. 이 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔류물은 물에 용해시켰다. 수용성 상은 디에틸 에테르로 광범위하게 세척하였다.

3,3-디페닐프로피오닐-Pro-Lys-(2-티아졸릴)을 함유한 수층을, 45분에 걸쳐 20% A / 60% B / 20% C / 에서 20% A / 80% C로의 구배 용출 시스템을 사용하는 분취 HPLC 수필코실 LC-18-DB 칼럼상에 직접 채워 넣었다(A: 0.5M 인산 나트륨 완충액; pH 2.1, B:물, C: 아세트오닐트랄/물; 3/2 v/v).

수량: 3,3-디페닐프로피오닐-Pro-Lys-(2-티아졸릴) 47 mg. TLC : R_f=0.57, 실리카겔, EPAW ; 63/20/6/11 v/v/v/v. R_t(LC): 32.9분, 20% A / 60% B / 20% C → 20% A / 0% B / 80% C (40분).

실시에 2

실시에 1에서와 유사한 방식으로 제조하였다.

(a) H-D-Phe-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

R_t(LC): 25.67분; 20% A/80% B/0% C → 20% A/20% B/60% C (40분)

(b) H-D-1-Tiq-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

R_t(LC): 23.40분; 20% A/80% B/0% C → 20% A/20% B/60% C (40분)

(Tiq = 테트라히드로이소퀴놀린)

(c) H-D-(p-Cl)-Phe-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

R_t(LC): 30.47분; 20% A/80% B/0% C → 20% A/20% B/60% C (40분)

(d) 인단글리실-(N-시클로프로필)-Gly-Lys-(2-티아졸릴)

R_t(LC): 27.88분; 20% A/80% B/0% C → 20% A/20% B/60% C (40분)

(e) H-D-Phe-(N-시클로펜틸)-Gly-Lys-(2-티아졸릴)

R_t(LC): 31.07분; 20% A/80% B/0% C → 20% A/20% B/60% C (40분)

(f) 아세틸-D-Phe-(N-시클로프로필)-Gly-Lys-(2-티아졸릴)

R_t(LC): 33.73분; 20% A/80% B/0% C → 20% A/20% B/60% C (40분)

(g) H-D-Cha-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

R_t(LC): 30.59분; 20% A/80% B/0% C → 20% A/20% B/60% C (40분)

(Cha = 시클로헥실알라닌)

(h) H-D-Phe-(N-시클로프로필)-Gly-Lys-(2-티아졸릴)

R_f(LC): 5.1분 이소크라틱; 55/45 MeOH/25mM 인산염 pH = 7.

(i) 3,3-디페닐프로피오닐-(N-시클로프로필)-Gly-Lys-(2-티아졸릴)

R_f(LC): 8.1분 이소크라틱; 75/25 MeOH/25mM 인산염 pH = 7.

(j) H-D-Phe-(N-시클로부틸)-Gly-Lys-(2-티아졸릴)

R_f(LC): 30.59분; 20% A/80% B/0% C → 20% A/20% B/60% C (40분)

(k) H-Atc-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

R_f(LC): 27.79 + 28.04분; 20% A/80% B/0% C → 20% A/20% B/60% C (40분)

(Atc = 2-아미노테트라린-2-카르복실산)

(l) H-D-Phe-(N-벤질)-Gly-Lys-(2-티아졸릴)

R_f(LC): 16.99분; 20% A/60% B/20% C → 20% A/0% B/80% C (40분)

(m) H-D-Cha-(N-시클로프로필)-Gly-Lys-(2-티아졸릴)

R_f(LC): 30.84분; 20% A/80% B/0% C → 20% A/20% B/60% C (40분)

(n) p-클로로-3-페닐프로피오닐-(N-시클로펜틸)-Gly-Lys-(2-티아졸릴)

R_f(LC): 36.15분; 20% A/60% B/20% C → 20% A/0% B/80% C (40분)

(o) (N-벤질)-Gly-(N-시클로펜틸)-Gly-Lys-(2-티아졸릴)

R_f(LC): 28.14분; 20% A/80% B/0% C → 20% A/80% B/80% C (40분)

실시에 3

HOOC-CH₂-D-Cha-(N-시클로펜틸)-Gly-Lys-(2-티아졸릴)

N-시클로펜틸-Gly-OMe

200 ml의 메탄올중에 23.2g의 H-Gly-OMe · HCl을 용해시킨 용액에 시클로펜타논 15.6 g을 첨가했다. 이 혼합물을 15분동안 교반하고, 여기에 나트륨 시아노보로하이드라이드 7 g을 첨가했다. 이어서, pH를 6으로 조절하였다. 반응 혼합물을 실온에서 16시간동안 교반하였다. 반응을 완료하기 위해, 시클로펜타논은 1 g을 첨가한 후 계속 교반하였다. TLC를 통해 반응을 관측하였다. 모든 출발 물질이 소모될 때까지, 혼합물을 pH 2로 산성화하고 30분동안 교반하였다. 용매를 제거하고, 잔류물은 물로 희석시켰다. 용액을 에테르로 세척하고, 6N 수산화나트륨으로 pH를 12로 조절한 후 디클로로메탄으로 추출하였다. 합성된 유기층들을 염화 나트륨 포화 용액으로 세척하고 황산 나트륨으로 건조시킨 후 진공하에 증발시키므로써 오일 16 g을 수득하였다.

R_f = 0.46, 실리카겔, 에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물 63/20/6/11 v/v/v/v.

N-(t-부틸옥시카르보닐-메틸)-D-Cha-OMe

아세트니트릴 300 ml중에 H-D-Cha-OMe · HCl 26 g을 용해시킨 교반 용액에 t-부틸-브로모 아세테이트 17 g을 첨가했다. 디이소프로필에틸아민을 사용하여 반응물의 pH를 8.5로 조절하였다. 이어서, 혼합물을 실온에서 16시간동안 교반하고 진공하에 증발시켰다. 잔류물은 디클로로메탄중에 용해시키고, 용액은 물로 세척하고 황산 나트륨으로 건조시킨 후 진공하에 증발시켰다. 핵산:에틸 아세테이트(9:1 v/v)중에서 실리카겔상의 크로마토그래피를 통해 표제 생성물 20 g을 수득하였다.

R_f=0.46, 실리카겔, 에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물(15.75/5/1.5/2.75 v/v/v/v).

N,N-Boc-(t-부틸옥시카르보닐-메틸)-D-Cha-OMe

N-(t-부틸옥시-메틸)-D-Cha-OMe 20g 및 디-t-부틸디카르보네이트 17 g으로 구성된 용액을, 디이소프로필 에틸아민을 사용하여 pH 8.5로 조절하였다. 이 혼합물을 16시간동안 실온에서 교반하고, 용매를 진공하에 제거하였다. 잔류물에 디클로로메탄 및 물을 첨가했다. 유기층을 분리한 후, 잔 1N 염화 수소, 물, 5% 탄산 수소 나트륨 및 물로 세척하였다. 유기층을 황산 나트륨으로 건조시킨 후, 여액은 증발시켜 비정질 고형물 28 g을 수득하였다.

R_f = 0.60, 실리카겔, 에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물 (252/20/6/11 v/v/v/v).

N,N-Boc-(t-부틸옥시카르보닐-메틸)-D-Cha-OH

디옥산:물(9:1) 420 ml중에 N,N-Boc-(t-부틸카르보닐-메틸)-D-Cha-OMe 28 g을 용해시킨 용액을, 90분동안 실온에서 pH 13으로 유지시키기에 충분한 양의 1N 수산화 나트륨으로 처리했다. 산성화 시킨 후, 혼합물을 물에 붓고 디클로로메탄으로 처리했다. 유기층을 물로 세척하고 황산 나트륨으로 건조시켰다. 여액은 증발시켜 표제 화합물 24 g을 수득하였다.

R_f=0.23, 실리카상의 디클로로메탄/메탄올 9/1 v/v.

N,N-Boc-(t-부틸옥시카르보닐-메틸)-D-Cha-(N-시클로펜틸)-Gly-OMe

N,N-디메틸포름아미드 300 ml중에 N,N-Boc-(t-부틸옥시카르보닐-메틸)-D-Cha-OH 24g을 용해시킨 용액에

N-시클로펜틸-Gly-OMe 10.2g 및 2-(1H-벤조트리아졸-1-일)-1,1,3,3-테트라메틸우로늄 테트라플루오로보레이트(TBTU) 21.2g을 첨가했다.

혼합물의 pH를 8.5로 조절하고, 혼합물을 실온에서 밤새 교반한 후 증발을 통해 농축시켰다. 잔류물에 물과 에틸 아세테이트를 첨가하였다. 유기층은 분리하여 1N 염화 수소, 물, 5% 탄산 수소 나트륨 및 물로 세척한 후 황산 나트륨으로 건조시켰다. 여액은 증발시키고, 잔류물은 용출제로서 헥산:에틸 아세테이트(8:2)를 사용하여 실리카겔 상에서 크로마토그래피 하였다. 표제 생성물을 함유한 분획을 수집한 후 증발시켰다. 수량: 17 g. $R_f = 0.57$, 실리카겔, 헥산/에틸 아세테이트(7/3 v/v).

N,N-Boc-(t-부틸옥시카르보닐-메틸)-D-Cha-(N-시클로펜틸)-Gly-OH

N,N-Boc-(t-부틸옥시카르보닐-메틸)-D-Cha-OH에서와 동일한 방법을 사용하여 N,N-Boc-(t-부틸옥시카르보닐-메틸)-D-Cha-(N-시클로펜틸)-Gly-OMe 17 g을 비누화시켜 비정질 고형물 15 g을 수득하였다. 용출제로서 디클로로메탄/메탄올(95/5 v/v)을 사용하여 실리카겔상에서 크로마토그래피하여 표제 화합물 13 g을 수득하였다.

$R_f=0.30$, 실리카겔, 염화 메틸렌/메탄올 (9/1 v/v).

H_{00C}-CH₂-D-Cha-(N-시클로펜틸)-Gly-Lys-(2-티아졸릴)

실시에 1에 기재된 바와 유사한 방법으로 N,N-Boc-(t-부틸옥시카르보닐-메틸)-D-Cha-(N-시클로펜틸)-Gly-OH를 사용하여 본 화합물을 제조하였다.

R_f (LC): 23.57분; 20% A, 60% B, 20% C → 20% A, 80% C (40분).

(a) 프롤린·HCl 및 HONSu(실시에 11)을 사용하여 상기된 바와 유사한 방법을 통해 H_{00C}-CH₂-D-Cha-Pro-Lys-(2-티아졸릴)을 제조하였다. R_f (LC): 31.44분; 20% A, 80% B, 0% C → 20% A, 20% B, 60% C (40분).

실시에 4

3-페닐프로피오닐-Pro-Lysψ [COCO]-OH

Boc-Lys(Cbz)-OMe

디클로로메탄/메탄올(9/1 v/v) 500 ml에 Boc-Lys(Cbz)-OH(25g)를 용해시키고, 여기에 TBTU(21.1g)를 첨가한 후, 트리에틸아민을 첨가하여 pH를 8로 조절하였다. 이 반응 혼합물을 실온에서 1시간동안 교반하였다. 혼합물을 찬 2N 염화 수소 용액, 물, 5% 탄산수소 나트륨, 및 물 순으로 세척하고, 유기층을 황산 나트륨으로 건조시킨 후 여과하여 증발시켰다. 잔류물은 실리카상의 크로마토그래피(용출제: 에틸 아세테이트/헥탄 = 1/4 v/v)를 통해 정제하여 Boc-Lys(Cbz)-OMe(26.7g)를 수득하였다. TLC: $R_f = 0.79$, 실리카겔, 에틸 아세테이트/헥탄 = 3/1 v/v.

Boc-Lys(Cbz)ψ [시아노아세테이트]

무수 디클로로메탄(600 ml)중의 Boc-Lys(Cbz)-OMe(20 g)의 찬(-78℃) 용액에 디이소부틸 알루미늄하이드라이드(헥산중의 1M 용액 127 ml)를, 반응 온도가 -70℃ 이하로 유지될 정도의 속도로 적가했다. 생성된 용액은 30분동안 -78℃에서 교반하였다. 반응 혼합물에 5% 구연산 용액(500 ml)을 첨가하고, 2층의 혼합물을 10분동안 실온에서 교반한 후, 층들을 분리하여 수성층은 디클로로메탄으로 2회 추출하였다. 합성된 디클로로메탄층은 물로 세척하고 황산 나트륨으로 건조시킨 후 여과하였다. 이 용액을 질소하에 방치하고 빙수조에서 냉각시켰다. 시안화 나트륨(24.85 g) 및 벤질트리에틸 암모늄 클로라이드(2.89 g)의 수(500 ml)중 용액을 첨가했다. 강력히 교반하면서 무수 아세트산을 30분에 걸쳐 소량씩(6 x 6 ml) 첨가했다. 유기층을 분리하고, 수용성 층은 디클로로메탄으로 2회 추출했다. 합성된 디클로로메탄층은 물로 세척하고 황산 나트륨으로 건조시키고 여과한 후 진공하에 증발시켰다. 잔류물은 실리카상의 크로마토그래피(용출제: 디클로로메탄/에틸 아세테이트 = 9/1 v/v)를 통해 정제하여 Boc-Lys(Cbz)ψ [시아노아세테이트] (17.2 g)를 수득하였다. TLC: $R_f = 0.60$, 실리카겔, 디클로로메탄/에틸 아세테이트 = 7/3 v/v.

Boc-Lys(Cbz)ψ [CHOHCO]-OMe

디에틸 에테르/메탄올(3/1 v/v)(500 ml)중의 Boc-Lys(Cbz)ψ [시아노아세테이트](17.2 g) 용액을 질소하에 -20℃로 냉각시키고, -5℃ 이하로 온도를 유지시키면서 염화수소 가스 54.7 g을 주입하였다. 반응 혼합물을 밤새 4℃에서 유지시켰다. 반응 혼합물에 물(85 ml)을 적가하면서 온도는 5℃ 이하로 유지시켰다. 실온에서 4시간동안 교반한 후, 유기층을 분리하고 물로 세척하였다. 수성층을 염화 나트륨으로 포화시키고 2차-부탄올/디클로로메탄(3/2 v/v)으로 추출하였다. 유기상을 염수로 세척하고 황산 나트륨으로 건조시키고 여과한 후 진공하에 증발시키므로써 미정제 아민 17.4g을 수득하였다.

잔류물을 디메틸 포름아미드(DMF, 20 ml)중에 용해시키고, 비스(t-부틸)무수물(8.7g)을 첨가한 후, pH 8이 될 때까지 트리에틸아민을 첨가했다. 반응 혼합물을 밤새 실온에서 교반하고, 강압하에 증발시켜 용매를 제거하였다. 잔류물은 에틸 아세테이트중에 용해시키고, 물 및 염수순으로 세척하고 황산 나트륨으로 건조시키고 여과한 후 진공하에 증발시켰다. 잔류물은 실리카상의 크로마토그래피(용출제: 에틸 아세테이트/헥탄 = 1/1 v/v)를 통해 정제하여 Boc-Lys(Cbz)ψ [CHOHCO]-OMe (6.22g)를 수득하였다. TLC: $R_f = 0.75$, 실리카겔, 에틸 아세테이트/헥탄 = 3/1 v/v.

3-페닐프로피오닐-Pro-Lys(Cbz)ψ [CHOHCO]-OMe

50% 트리플루오로아세트산/디클로로메탄(6 ml)중에 Boc-Lys(Cbz)ψ [CHOHCO]-OMe (60 mg)를 용해시킨 후 1시간동안 실온에서 교반하였다. 증발시켜 용매를 제거한 후 미정제 아민을 정량 수율로 분리하고, 이것은 3-페닐프로피오닐-Pro-Lys(Cbz)ψ [CHOHCO]-OMe를 제조하는데 바로 사용하였다.

3-페닐프로피오닐-Pro-OH를 무수 DMF(5 ml)에 용해시키고, 트리에틸아민(196 ml)을 첨가한 후, 반응 혼합물을 질소하에 방치하고 -15°C로 냉각시켰다. 여기에 이소부틸클로로포름레이트(183 ml)를 첨가하고, 이 혼합물을 -15°C에서 15분간 교반하였다. 미정제 아민을 무수 DMF(5 ml)중에 용해시키고 트리에틸아민을 사용하여 중화시킨 후 찬 무수물 혼합 용액에 적가했다. 이 반응물을 1시간동안 -15°C에서 교반하고 밤새 0°C로 유지시켰다. 이 혼합물을 건조 상태로 증발시키고, 잔류물은 에틸 아세테이트중에 용해시킨 후 물, 5% 탄산 수소 나트륨 및 염수 순으로 세척하고 황산 나트륨으로 건조시키고 진공하에 농축시켰다. 잔류물은 실리카상의 크로마토그래피(용출제: 디클로로메탄:메탄올 = 95/5 v/v)를 통해 정제하여 3-페닐프로피오닐-Pro-Lys(Cbz) Ψ [CHOHC0]-OMe (246 mg)를 수득하였다. TLC: R_f = 0.92, 실리카겔, E_{PAW} = 63/20/6/11 v/v/v/v.

3-페닐프로피오닐-Pro-Lys Ψ [CHOHC0]-OMe

메탄올(5 ml)중의 3-페닐프로피오닐-Pro-Lys(Cbz) Ψ [CHOHC0]-OMe (240 mg) 용액에 목탄상의 10% 팔라듐(500 mg) 및 2N 염화수소 용액을 첨가했다. 이 혼합물을 대기압하에 1시간동안 실온에서 가수소화시켰다. 여과를 통해 팔라듐 촉매를 제거하고, 감압하에 증발시켜 용매를 제거하므로써 3-페닐프로피오닐-Pro-Lys Ψ [CHOHC0]-OMe를 정량으로 수득하였다. TLC: R_f = 0.13, 실리카겔, 디클로로메탄/메탄올 = 9/1 v/v.

3-페닐프로피오닐-Pro-Lys(Boc) Ψ [CHOHC0]-OMe

무수 DMF (5 ml)중의 페닐프로피오닐-Pro-Lys Ψ [CHOHC0]-OMe(196 mg) 용액에 비스(t-부틸)무수물(102 mg)을 첨가하고, 트리에틸아민을 첨가하여 pH를 8.5로 조절하였다. 반응 혼합물을 밤새 실온에서 교반하였다. 이 혼합물을 진공하에 증발시키고, 생성된 잔류물은 실리카상의 크로마토그래피(용출제: 디클로로메탄/메탄올 = 98/2 v/v)를 통해 정제하여 3-페닐프로피오닐-Pro-Lys(Boc) Ψ [CHOHC0]-OMe (189 mg)를 수득하였다. TLC: R_f = 0.43, 실리카겔, 디클로로메탄/메탄올 = 9/1 v/v.

3-페닐프로피오닐-Pro-Lys(Boc) Ψ [CHOHC0]-OH

디옥산/물(7/3) 5 ml에 페닐프로피오닐-Pro-Lys(Boc) Ψ [CHOHC0]-OMe (185 mg)를 용해시킨 후, pH를 10 내지 10.5로 유지시키면서 30분에 걸쳐 실온에서 2M 수산화 나트륨 용액(267 ml)으로 회분식 처리했다. 30분후, 반응 혼합물을 물(20 ml)로 희석시키고, pH 2.0이 될 때까지 2M 염화 수소 용액을 첨가하고, 수성층은 디클로로메탄으로 추출하였다. 합성된 유기상들은 물(50 ml), 염수(50 ml)로 세척하고, 황산 나트륨으로 건조시킨 뒤 여과하여 진공하에 농축시키므로써 3-페닐프로피오닐-Pro-Lys(Boc) Ψ [CHOHC0]-OH (228 mg)을 수득하였다. TLC: R_f = 0.60, 실리카겔, E_{PAW} = 63/20/6/11 v/v/v/v.

3-페닐프로피오닐-Pro-Lys(Boc) Ψ [COC0]-OH

무수 디클로로메탄(5 ml)중의 페닐프로피오닐-Pro-Lys(Boc) Ψ [CHOHC0]-OH (220 mg) 용액에 퍼요오디난(데스-마틴 시약) 255 mg을 첨가했다. 실온에서 1시간동안 교반한 후, 2% 티오황산 나트륨 용액을 첨가하고(15 ml), 이 혼합물을 실온에서 30분동안 교반하였다. 유기층을 분리하고, 물로 세척한 후, 황산 나트륨으로 건조시키고 여과하여 진공하에 증발시키므로써 미정제 케토-산 3-페닐프로피오닐-Pro-Lys(Boc) Ψ [COC0]-OH (411 mg)을 수득하였다. TLC: R_f = 0.47, 실리카겔, E_{PAW} = 63/20/6/11 v/v/v/v.

3-페닐프로피오닐-Pro-Lys Ψ [COC0]-OH

3-페닐프로피오닐-Pro-Lys(Boc) Ψ [COC0]-OH(411 mg)을 1시간동안 실온에서 90% 트리플루오로아세트산/물로 처리했다. 이 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔류물은 물에 용해시키고, 20 ml/분의 유속하에 45분에 걸친 20% A/70% B/10% C → 20% A/0% B/80% C의 구배 용출 시스템(A: 0.5M 인산염 완충액 pH 2.1, B: 물, C: 아세토니트릴/물 = 3/2)을 사용하여 분취 HPLC 수펠코실 LC-18-DB 칼럼상에 직접 충전시켰다. 수량: 3-페닐프로피오닐-Pro-Lys Ψ [COC0]-OH 71 mg. R_t (LC) : 24.9분; 20% A/80% B → 20% A/20% B/60% C(40분).

상기된 바와 유사한 방식으로 다음 화합물들을 제조하였다:

(a) 3,3-디페닐프로피오닐-Pro-Lys Ψ [COC0]-OH

R_t (LC): 36.42분; 20% A/80% B/0% C → 20% A/20% B/60% C (40분)

(b) 3-페닐프로피오닐-(N-시클로펜틸)-Gly-Lys Ψ [COC0]-OH

R_t (LC): 34.29분; 20% A/80% B/0% C → 20% A/20% B/60% C (40분)

(c) 3-[(p-Cl)-페닐]프로피오닐-(N-시클로펜틸)-Gly-Lys Ψ [COC0]-OH

R_t (LC): 39.52분; 20% A/80% B/0% C → 20% A/20% B/60% C (40분)

(d) 3-[(p-Cl)-페닐]프로피오닐-Pro-Lys Ψ [COC0]-OH

R_t (LC): 31.31분; 20% A/80% B/0% C → 20% A/20% B/60% C (40분)

(e) 나프틸설포닐-Asp-Pro-Lys Ψ [COC0]-OH

R_t (LC): 30.45분; 20% A/80% B/0% C → 20% A/20% B/60% C (40분)

실시예 5

H-D-Cha-Pro-Lys-(2-벤조티아졸릴)

Boc-Lys(Cbz)-ψ [CHOH]-2-(벤조티아졸릴)

디클로로메탄(25 ml)중의 Boc-Lys(Cbz)-OMe의 찬 (-78°C) 용액에 디이소부틸 알루미늄하이드라이드(DiBAL-H; 헥산중의 1M 용액 7.6 ml)를 적가하면서, 반응 온도는 -70°C 이하로 유지시켰다. 생성된 용액은 30분 동안 -78°C에서 교반하였다. 5% 구연산 용액을 반응 혼합물에 첨가하고, 2층 혼합물을 10분동안 실온에서 교반하고, 이 층들을 분리한 후, 수용성 층은 디클로로메탄으로 2회 추출하였다. 합성된 디클로로메탄층은 물, 5% 탄산수소 나트륨, 물로 세척하고 황산 나트륨으로 건조시킨 뒤 여과하였다. 이 용액을 질소하에 방치하고 2-(트리메틸실릴)벤조티아졸(0.79g)을 첨가한 후, 이 반응 혼합물을 실온에서 16시간동안 교반하였다. 건조상태로 증발시킨 후, 잔류물은 무수 테트라히드로푸란(15 ml)중에 용해시키고, 테트라부틸 암모늄 플루오리드(THF중의 1M 용액 3.8 ml)를 첨가했다. 이 혼합물을 실온에서 2시간동안 교반한 후 물을 첨가했다. 생성물을 디클로로메탄으로 추출하고, 실리카상의 크로마토그래피(용출제: 디클로로메탄/에틸 아세테이트; 9/1 v/v)를 통해 정제하여 Boc-Lys(Cbz)-ψ [CHOH]-2-(벤조티아졸릴)을 724 mg 수득하였다. TLC: R_f = 0.35, 실리카겔, 디클로로메탄/에틸 아세테이트 = 7/3 v/v.

Boc-Lys(Cbz)-(2-벤조티아졸릴)

무수 디클로로메탄(10 ml) 중의 Boc-Lys(Cbz)-ψ [CHOH]-2-(벤조티아졸릴)(700 mg) 용액에 퍼요오디난(데스-마틴 시약) 1g을 첨가했다. 1시간동안 실온에서 교반한 후, 2% 티오황산 나트륨을 첨가하고, 이 혼합물을 실온에서 다시 30분동안 교반하였다. 유기층을 분리하고 물로 세척하고 황산 나트륨으로 건조시키고 여과한 후 진공하에 증발시켰다. 잔류물은 실리카상의 크로마토그래피(용출제: 에틸 아세테이트/헵탄; 3/1 v/v)를 통해 정제하여 Boc-Lys(Cbz)-(2-벤조티아졸릴) 193 mg을 수득하였다. TLC: R_f = 0.85, 실리카겔, 에틸 아세테이트/헵탄 = 3/1 v/v.

Boc-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-벤조티아졸릴)

50% TFA/디클로로메탄(2 ml)중에 Boc-Lys(Cbz)-(2-벤조티아졸릴)(193 mg)을 용해시키고 실온에서 1시간동안 교반하였다. 증발을 통해 용매를 제거한 후 미정제 아민을 정량 수율로 분리하고, Boc-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-벤조티아졸릴)을 제조하는데 바로 사용하였다. 무수 디메틸포름아미드(4 ml)중에 Boc-D-Cha-Pro-OMe를 용해시켰다. 디이소프로필에틸아민(DIPEA, 66 ml)을 첨가한 후, 반응 혼합물을 질소하에 방치하고 -15°C로 냉각시켰다. 여기에 이소부틸클로로포르메이트(50 ml)를 첨가하고, 이 혼합물을 15분 동안 -15°C에서 교반하였다. 미정제 아민을 무수 DMF(4 ml)에 용해시키고, 디이소프로필에틸아민을 사용하여 중화시킨 후 찬 무수물 혼합 용액에 적가했다. 이 반응물을 -15°C에서 1시간동안 교반하고 밤새 0°C에서 방치하였다. 이 혼합물을 건조 상태로 증발시키고, 잔류물은 에틸 아세테이트중에 용해시킨 후, 물, 5% 탄산 수소 나트륨, 물 및 염수순으로 세척하고 황산 나트륨으로 건조시킨 뒤 진공하에 농축시켰다. 잔류물은 실리카상의 크로마토그래피(용출제: 에틸 아세테이트/헵탄; 1/1 v/v)를 통해 정제하여 Boc-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-벤조티아졸릴)(191 mg)을 수득하였다. TLC: R_f = 0.66, 실리카겔, 에틸 아세테이트/헵탄 = 3/1 v/v.

H-D-Cha-Pro-Lys-(2-벤조티아졸릴)

Boc-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-벤조티아졸릴)을 실온에서 3시간 30분동안 트리플루오로아세트산/티오아니졸 10/1(v/v) 2.2 ml로 처리했다. 이 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔류물은 물에 용해시켰다. 수용성 상은 디에틸 에테르로 광범위하게 세척하였다. H-D-Cha-Pro-Lys-(2-벤조티아졸릴)을 함유한 수층은, 20 ml/분의 유속으로 40분에 걸쳐 20% A/80% B → 20% A/20% B/60% C의 구배 용출 시스템을(A: 0.5mM 인산 나트륨 완충액 pH 2.1, B: 물, C: 아세토니트릴/물; 3/2 v/v)을 사용하여 분취 HPLC 수펠코실 LC-18-DB 칼럼상에 직접 채워 넣었다. 수량: H-D-Cha-Pro-Lys-(2-벤조티아졸릴) 98 mg. R_t (LC): 42분; 20% A/ 80% B → 20% A/20% B/60% C (40분).

실시예 6**H-D-Cha-Pro-Lys-(2-테트라졸릴)****Boc-Lys(Cbz) ψ (CHOAc)-(2-테트라졸릴)**

39 ml의 디메틸포름아미드중의 Boc-Lys(Cbz) ψ [시아노아세테이트](5.4g)용액에 염화 암모늄 801 mg 및 아지드화 나트륨 975 mg을 첨가했다. 이 반응 혼합물을 80°C로 가열하고 48시간동안 질소하에 교반하였다. 침전된 염은 여과 제거하고, 용액을 감압하에 건조상태로 증발시켰다. 이로써 원하는 화합물 4.9g을 수득하였다. TLC: R_f = 0.42, 실리카겔, 톨루엔/에탄올 = 6/4 v/v.

Boc-Lys(Cbz) ψ (CHOH)-(2-테트라졸릴)

60 ml의 디옥산/물(7/3)중에 Boc-Lys(Cbz) ψ (CHOAc)-(2-테트라졸릴)(1.25g)을 용해시킨 후 2N 수산화 나트륨 용액 2.65 ml을 첨가했다. 반응이 완료된 후 2시간 30분동안 이 용액을 실온에서 교반한 후 반응을 완료하였다. pH를 5로 조절하고, 생성된 혼합물을 감압하에 건조상태로 증발시켰다. 잔류물을 메탄올/디클로로메탄(1/1)중에 용해시키고, 불용성염은 여과 제거하였다. 이로써 디아세틸화 생성물 1.27g을 수득하였다. TLC: R_f = 0.40, 실리카겔, 톨루엔/에탄올 = 6/4 v/v.

Boc-Lys(Cbz)-(2-테트라졸릴)

37 ml의 무수 디클로로메탄중에 Boc-Lys(Cbz) ψ (CHOH)-(2-테트라졸릴)을 용해시킨 용액에 데스-마틴 퍼요오디난 시약 1.38g을 첨가했다. 이 혼합물을 실온에서 30분동안 교반한 후, 반응물을 10% 티오황산 나트륨 수용액으로 급냉시켰다. 유기층은 물 및 탄산 수소 나트륨(5% 수용액)으로 추출하고, 수성층은 합성하여 1-부탄올로 추출하였다. 1-부탄올 층은 감압하에 건조상태로 증발시켰다. 잔류물은 용출제로서 에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물(263/20/6/11 v/v/v/v)을 사용하여 실리카겔 칼럼상에서 크로마토그래피하였다. 수량: 0.22g. TLC: R_f = 0.30, 실리카겔, 에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물 = 63/20/6/11

v/v/v/v.

H-Lys(Cbz)-(2-테트라졸릴)-TFA

트리플루오로아세트산/물(9/1) 16 ml 중에 Boc-Lys(Cbz)-(2-테트라졸릴) (0.21g)을 용해시키고, 이 혼합물을 실온에서 1시간동안 교반한 후, 진공하에 용액을 농축시켜 오일을 수득하였다(수량: 0.34g). 이것은 트리펩티드 Boc-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-테트라졸릴)을 제조하는데 바로 사용하였다.

Boc-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-테트라졸릴)

디펩티드부에 대해 실시예 1에 기재된 방법에 따라 Boc-D-Cha-Pro-OH(0.19g)를 제조하였다. 이것은, 실시예 5에 기재된 바와 유사한 방식으로 H-Lys(Cbz)-(2-테트라졸릴)(0.17g)에 결합시켰다. 실리카겔상에서 정제하여(용출제: 에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물 = 163/20/6/11 v/v/v/v) 원하는 화합물 0.21g을 수득하였다. TLC: $R_f = 0.17$, 실리카겔, 에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물 = 63/20/6/11 v/v/v/v.

H-D-Cha-Pro-Lys-(2-테트라졸릴)

실시예 5에 기재된 바와 유사한 방법을 통해 보호기를 제거하고 HPLC로 정제하였다. 수량: 20 mg. R_f (LC): 23.3분 및 24.5분, 20% A, 80% B → 20% A, 20% B 및 60% C (40분).

실시예 7**H₂C-CH₂-CO-D-Cha-Pro-Lys-(2-티아졸릴)****H-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴) · TFA**

실시예 5에 기재된 방법에 따라 Boc-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)을 제조하였다. 3 ml의 트리플루오로아세트산/디클로로메탄(1/1 v/v)중에 이 트리펩티드 0.30 g을 용해시키고, 이 용액을 1시간동안 실온에서 교반하였다. 이 용액을 감압하에 건조상태로 증발시키고, 톨루엔과 함께 3회 공동 증발시켜 정량의 오일을 수득하였다. 이것은 다음 단계에서 바로 사용하였다. TLC: $R_f = 0.30$, 실리카겔, 에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물 = 163/20/6/11 v/v/v/v.

(t-부틸-OOC-CH₂-CO)-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)

3 ml의 무수 디클로로메탄중에 H-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴) · TFA (0.33 g)을 용해시키고, 여기에 모노-t-부틸 말로네이트 76 mg을 첨가하고, 트리에틸아민을 사용하여 pH를 약 8로 조절하였다. 이어서, 벤조트리아졸릴옥시트리스(디메틸아미노)포스포늄 핵사플루오로포스페이트(211 mg)를 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 2시간, 그리고 4°C에서 16시간동안 교반하였다. 이 용액을 진공하에 농축시키고, 에틸 아세테이트중에 용해시킨 후 물 및 염수로 3회 세척하였다. 황산 마그네슘으로 건조시킨 후 유기층을 다시 진공하에 농축시켰다. 잔류물은 용출제로서 헵탄/에틸 아세테이트(2/8 v/v)를 사용하여 실리카겔상에서 크로마토그래피하였다. 이로써 아실화 트리펩티드 270 mg을 수득하였다. TLC: $R_f = 0.21$, 실리카겔, 헵탄/에틸 아세테이트 = 8/2 v/v.

H₂C-CH₂-CO-D-Cha-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

실시예 5에 기재된 바와 유사한 방법을 통해 보호기를 제거하고 HPLC로 정제하였다. 수량: 124 mg.

R_f (LC): 38.23분, 20% A, 80% B → 20% A, 20% B 및 60% C (40분).

실시예 8**H₂C-(CH₂)₂-CO-D-Cha-Pro-Lys-(2-티아졸릴)****(H₂C-(CH₂)₂-CO)-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)**

무수 디클로로메탄 3 ml 중에 H-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴) · TFA (0.33g)을 용해시켰다. 이 용액에 숙신산 무수물 48mg을 첨가하고, 생성된 용액은 질소하에 실온에서 교반하였다. 4시간후 반응이 완료되면 몇방울의 물로 급냉시켰다. 이 혼합물을 진공하에 농축시키고, 에틸 아세테이트중에 용해시키고, 물, 염수 및 염수로 세척한 후 황산 마그네슘으로 건조시켰다. 염을 제거한 후, 유기층을 진공하에 농축시키므로써 오일 320 mg을 수득하였다.

TLC: $R_f = 0.37$, 실리카겔, 디클로로메탄/메탄올 = 9/1 v/v.

H₂C-(CH₂)₂-CO-D-Cha-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

실시예 5에 기재된 바와 유사한 방법을 통해 보호기를 제거하고 HPLC 정제를 수행하였다. 수량: 187 mg.

R_f (LC): 38.31분, 20% A, 80% B → 20% A, 20% B 및 60% C (40분).

실시예 9**H₂C-CH(CH₃)-D-Cha-Pro-Lys-(2-티아졸릴)****(t-부틸-OOC-CH(CH₃))-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)**

H-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴) · TFA(0.33g)을 2 ml의 아세트니트릴중에 용해시킨 후 2-브로모프로피온산 t-부틸에스테르 0.50g과 요오드화 나트륨 25 mg을 순차적으로 첨가했다. 디이소프로필에틸아민을 사용하여 용액의 pH를 8로 조절하고 실온에서 12일동안 염기성을 유지시켰다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 에틸 아세테이트중에 용해시키고, 물로 세척하고 황산 마그네슘으로 건조시킨 후, 다시 농

축시켰다. 잔류물은 에틸 아세테이트/톨루엔(1/1 v/v)을 용출제로 사용하여 실리카상에서 크로마토그래피 하였다. 수량: 279mg. TLC: 0.75, 실리카겔, 에틸 아세테이트.

H₃C-CH(CH₃)-D-Cha-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

실시에 5에서와 유사한 방법을 사용하여 보호기를 제거하고 HPLC 정제를 실시하였다. 수량: 40 mg 및 29 mg(분리된 부분입체 이성체). R_f(LC): 30.06분 및 34.87분(분리된 부분입체 이성체), 20% A, 80% B → 20% A, 20% B 및 60% C (40분).

실시에 10

H₃C-(CH₂)₂-D-Cha-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

(t-부틸-OO-(CH₂)₂)-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)

H-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴) · TFA(0.21g)을 5 ml의 아세트니트릴중에 용해시킨 후 아크릴산 t-부틸에스테르 1.84 ml를 3회에 걸쳐 첨가했다. 디이소프로필에틸아민을 사용하여 용액의 pH를 8로 조절하고 실온에서 13일동안 염기성을 유지시켰다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 에틸 아세테이트중에 용해시키고, 물로 세척하고 황산 마그네슘으로 건조시킨 후, 다시 농축시켰다. 잔류물은 에틸 아세테이트/톨루엔(2/1 v/v)을 용출제로 사용하여 실리카상에서 크로마토그래피 하였다. 수량: 92 mg. TLC: R_f=0.62, 실리카겔, 에틸 아세테이트.

H₃C-(CH₂)₂-D-Cha-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

실시에 5에서와 유사한 방법을 사용하여 보호기를 제거하고 HPLC 정제를 실시하였다. 수량: 40 mg. R_f(LC): 32.83분, 20% A, 80% B → 20% A, 20% B 및 60% C (40분).

실시에 11

N-Me-D-노르 Leu-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

H-D-노르 Leu-OMe · HCl

270 ml의 메탄올(-15°C)에 염화 티오닐 18.2g을 첨가하였다. 이어서, 온도를 -10°C로 상승시킨 후 20분 동안 일정하게 유지시킨 뒤, 10g의 H-D-노르 Leu-OH를 첨가했다. 온도를 서서히 상승시키고, 환류하에 5시간동안 일정하게 유지시켰다. 4°C에서 메탄올 및 디에틸 에테르로부터 생성물을 결정화하므로써 12.9g을 수득하였다. TLC: R_f = 0.61, 실리카겔, n-부탄올/아세트산/물 = 10/1/3 v/v/v.

Boc-D-노르Leu-OMe

무수 메탄올 200 ml에 H-D-노르Leu-OMe · HCl(12.9g)을 용해시킨 후, 디-t-부틸 디카르보네이트(15.5g) 및 트리에틸아민(19.8 ml)을 첨가했다. 이 반응물을 실온에서 3시간동안 교반한 후, 이 혼합물을 진공하에 농축시켰다. 이어서, 잔류물을 에틸 아세테이트중에 용해시키고 물로 세척하였다. 생성물은 헵탄/에틸 아세테이트(3/1 v/v)상에서 크로마토그래피 하여 16.9g을 수득하였다. TLC: R_f = 0.55, 실리카겔, 헵탄/에틸 아세테이트 = 3/1 v/v.

N-Me-Boc-D-노르 Leu-OMe

질소하에서 무수 디메틸포름아미드 200 ml중에 Boc-D-노르Leu-OMe(16.9g)를 용해시켰다. 이어서, 요오드화 메틸(24.9 ml)을 첨가하고 0°C로 냉각시키며, 수화 나트륨(3.31g)을 첨가한 후, 이 혼합물을 실온에서 16시간동안 반응시켰다. 이 혼합물을 진공하에 농축시키고, 에틸 아세테이트중에 용해시키고, 묽은 염화수소(0.1N), 탄산수소 나트륨(5%) 및 물로 세척하고, 건조시킨 후 다시 농축시켰다. 이로써 알킬화 생성물 18.8g을 수득하였다. TLC = 0.56, 실리카겔, 헵탄/에틸 아세테이트 = 3/1 v/v.

N-Me-Boc-D-노르Leu-OH

디옥산/물(9/1 v/v) 400 ml중에 N-Me-Boc-D-노르Leu-OMe(18g)를 용해시키고, 1N 수산화 나트륨을 사용하여 용액의 pH를 12로 조절하였다. 이어서, 반응을 2시간동안 진행시키면서 pH는 12로 일정하게 유지시켰다. 이어서 pH를 2로 조절하고 얼음으로 냉각시키고, 부가의 물(400 ml)을 첨가한 후 디클로로메탄으로 추출하였다. 유기층을 염수로 세척하고 건조시키고 여과한 후 진공하에 농축시켰다. 이로써 약간의 디옥산을 함유한 생성물 18.9g을 수득하였다.

TLC: R_f = 0.26, 실리카겔, 디클로로메탄/메탄올 = 9/1 v/v.

N-Me-Boc-D-노르Leu-Pro-OH

N-Me-Boc-D-노르Leu-OH를 출발물질로 하여 N-숙신이미드 에스테르를 제조하고, 이 유도체 18g을 아세트니트릴(250 ml)에 용해시킨 후, EDCI(14.5g) 및 N-히드록시숙신이미드(HONSu)(8.7g)를 첨가했다. 용매를 제거한 후 실온에서 16시간동안 반응시키고, 잔류물은 에틸 아세테이트중에 용해시키고 물로 세척한 후 건조시켰다. 이로써 미정제 ONSu 에스테르 24.3g을 수득하였다. 이어서, 디메틸포름아미드 300 ml 및 물 300 ml에 프롤린 · HCl (20.9g)을 용해시킨 후, 2N 수산화 나트륨 용액을 사용하여 pH를 8로 조절하였다. 이 용액에 ONSu 에스테르(디메틸포름아미드 300 ml중의 24.3g) 용액을 적가하면서 pH를 일정하게 유지시켰다. 5시간후에 반응을 완료한 뒤, 감압하에 증발시켜 유기 용매를 다량 제거하였다. 과량의 물(300 ml)을 첨가하고, pH를 2로 조절하였다. 생성물을 에틸 아세테이트로 추출하고 물로 세척하였다. 건조시키고, 여과한 후 농축시키므로써 황색 오일 상태의 생성물(22.2g)을 수득하였다. 용출제로서 에틸 아세테이트/메탄올(8/2 v/v)을 사용하여 실리카상에서 크로마토그래피하였다(수량: 13.2g). TLC: R_f = 0.65, 실리카겔, 에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물 = 163/20/6/11 v/v/v/v.

N-Me-D-노르 Leu-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

실시에 5에 기재된 방법에 따라 N-Me-Boc-D-노르Leu-Pro-OH 및 H-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴) · TFA 사이에 혼합 무수물을 결합시키고, 탈보호한 후 정제하였다(수량: 107 mg).

R_t(LC): 23.22분, 20% A, 80% B → 20% A, 20% B 및 60% C (40분).

실시에 12

N-Me-D-Cha-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

Boc-D-Cha-OH를 출발 물질로 사용하고 실시에 11에 기재된 바와 유사한 방식을 통해, 이 트리펩티드를 제조하는 모든 단계를 수행하였다(수량: 253 mg).

R_t(LC): 31.82분, 20% A, 80% B → 20% A, 20% B 및 60% C (40분).

실시에 13

N-Me-D-Phe-N-시클로펜틸-Gly-Lys-(2-티아졸릴)

N-Me-Boc-D-Phe-N-시클로펜틸-Gly-OMe

N-Me-Boc-D-Phe-OH(실시에 11에 따라 제조)(26g) 및 N-시클로펜틸-Gly-OMe(21g, 실시에 3 참고)을 디메틸포름아미드 300 ml에 용해시켰다. 이어서, TBTU(36g)를 첨가하고, 디이소프로필에틸아민(20 ml)을 사용하여 pH 8로 조절하였다. 이어서, 반응 혼합물을 16시간동안 교반한 후 진공하에 농축시키고, 에틸 아세테이트중에 용해시키고, 탄산 수소 나트륨(5%) 및 염수로 세척하고, 황산 마그네슘으로 건조시킨 후 다시 진공하에 농축시켰다(수량: 24.8g). TLC: R_f = 0.62, 실리카겔, 디클로로메탄/메탄올(95/5 v/v).

N-Me-Boc-D-Phe-N-시클로펜틸-Gly-OH

N-Me-Boc-D-Phe-N-시클로펜틸-Gly-OMe (17.3g)을 테트라히드로푸란/물(135/15 v/v)에 용해시킨 후 수산화 나트륨(수용액) 4g을 첨가했다. 2시간후, pH를 2로 조절함으로써 반응을 종료하고, 생성물을 디클로로메탄으로 추출하였다. 물로 세척하고, 황산 마그네슘으로 건조시키고, 진공하에 농축시킨 후 디클로로메탄/디에틸 에테르로 결정화시키므로써 생성물을 13.1g 수득하였다. TLC: R_f=0.52, 실리카겔, 디클로로메탄/메탄올 9/1 v/v.

N-Me-D-Phe-N-시클로펜틸-Gly-Lys-(2-티아졸릴)

실시에 11에 기재된 방법에 따라 다음 단계를 수행하였다. 수량: 110 mg.

R_t(LC): 33.43분, 20% A, 80% B → 20% A, 20% B 및 60% C (40분).

실시에 14

N-Me-D-Phe-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

실시에 1에 기재된 바에 따라 N-Me-Boc-D-Phe-Pro-OH를 제조하였다. 실시에 5에 기재된 바에 따라, 혼합 무수물을 H-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)에 결합시키고, 탈보호시킨 후 정제하였다. 수량(148 mg).

R_t(LC): 27.22분, 20% A, 80% B → 20% A, 20% B 및 60% C (40분).

실시에 15

3,3-디페닐프로피오닐-Pro-Lys(에톡시카르보닐)-(2-티아졸릴)

실시에 1에 기재된 바와 같이 3,3-디페닐프로피오닐-Pro-Lys-(2-티아졸릴)을 제조하였다. 이 디펩티드 20 mg을 디옥산/물 4/1(4 ml)중에 용해시켜 용액을 제조하고, 1N 수산화 나트륨으로 pH를 12로 조절하였다. 이어서, 에틸클로로포르메이트 22 mg을 첨가하고, 이 용액을 2시간동안 실온에서 교반하였다. 이 혼합물을 물로 희석시키고, 디클로로메탄으로 추출하고 물로 세척하고 황산 마그네슘으로 건조시킨 후 진공하에 농축시키고, 최종적으로 t-부탄올/물(1/1 v/v)로부터 동결 건조시켰다. 수량: 15 mg. TLC: R_f = 0.92, 실리카겔, 에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물 = 63/20/6/11 v/v/v/v.

실시에 16

H₂C=O-D-Cha-Pro-Lys-(2-옥사졸릴)

Boc-Lys(Cbz)ψ [CHOH]-(2-옥사졸릴)

질소 대기하에서 -78°C의 디클로로메탄 25 ml 중의 Boc-Lys(Cbz)-OMe 0.975 g의 용액에 hexan 중의 1M 디이소부틸알루미늄하이드라이드 용액 6 ml를 첨가하였다. 반응이 완결되고 15분 후에, 반응 혼합물을 2% 구연산 용액 150 ml에 붓고 여과시켰다. 유기층을 분리시키고, 물과 염수로 세척하고, 황산마그네슘으로 건조시킨 후 농축시켰다. 잔류물을 톨루엔으로 동시 증발시켜 Boc-Lys(Cbz)-H 0.92 g을 수득하였다. 이 알데하이드(0.89 g)를 톨루엔 1.4 ml에 용해시키고, 2-(트리메틸실릴)옥사졸(에드워드, 피.디., 올라닌, 디.제이., 안디스크 디.더블유. 및 데이비스, 더블유의 문헌 [J. Med. Chem. 38,76(1995)]에 따라 제조함) 0.90 g을 첨가하고, 80°C로 가열시켰다. 60 시간 후에, 반응 혼합물을 농축시키고, 잔류물을 테트라히드로푸란 5 ml에 용해시키고, 테트라히드로푸란 용액중의 3M 테트라부틸암모늄 플루오리드 3 ml로 처리한 후 실온에서 2 시간 교반시켰다. 이 혼합물을 농축시키고, 에틸 아세테이트로 용해시키고, 3% 탄산수소나트륨 수용액과 염수로 세척하고, 황산마그네슘으로 건조시킨 후 증발시켰다. 에틸 아세테이트/디클로로메탄=2/1(v/v)→에틸 아세테이트의 구배로 용출하여 실리카겔 칼럼 크로마토그래피로 정제함으로써 오일을 수득하였고, 이것을 에틸 아세테이트/헵탄=1/1(v/v)→에틸 아세테이트/헵탄=1/3(v/v) 구배로

용출하는 실리카겔 크로마토그래피로 다시 정제하여 표제 화합물 0.22 g을 얻었다.

TLC : $R_f = 0.7$, 실리카겔, 에틸 아세테이트.

Boc-Lys(Cbz)-(2-옥사졸릴)

디클로로메탄 10 ml 중의 Boc-Lys(Cbz)- ψ [CHOH]-(2-옥사졸릴) 0.22 g의 용액에 피요오디안(데스 마틴 시약) 0.22 g을 첨가하였다. 실온에서 1.5 시간동안 교반시킨 후, 5% 티오황산나트륨을 첨가하고, 이 혼합물을 실온에서 15분간 교반시켰다. 유기층을 분리시키고, 물, 5% 탄산수소나트륨 및 염수로 세척하고, 황산마그네슘으로 건조시킨 후 농축시켰다. 헵탄/에틸 아세테이트=1/1(v/v)로 용출하는 실리카겔 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물 162 mg을 얻었다.

TLC : $R_f = 0.5$, 실리카겔, 헵탄/에틸 아세테이트=1/3(v/v).

(tBuOOCCH₂)(Boc)-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-옥사졸릴)

실시에 5에 기재된 방법을 사용하였다. Boc-Lys(Cbz)-(2-옥사졸릴) 0.16 g을 탈보호시키고, (tBuOOCCH₂)(Boc)-D-Cha-Pro- ψ 0.19 g과 결합시켜 (tBuOOCCH₂)(Boc)-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-옥사졸릴) 0.19 g을 얻었다.

TLC : $R_f = 0.3$, 실리카겔, 헵탄/에틸 아세테이트=1/3(v/v).

HOOCCH₂-D-Cha-Pro-Lys-(2-옥사졸릴)

실시에 5에 기재된 방법을 사용하였다. (tBuOOCCH₂)(Boc)-D-Cha-Pro-Lys (Cbz)-(2-옥사졸릴) 0.19 g을 사용하여 표제 화합물 52 mg을 얻었다.

R_f (LC) : 28.46분, 20% A/80% B \rightarrow 20% A/20% B/60% C(40분).

실시에 17

에틸SO₂-노르Leu(시클로)Gly-Lys-(2-티아졸릴)

Boc-L- α -아미노- ϵ -카프롤락탐

디옥산/물(2/1 v/v)(30 ml) 중의 L- α -아미노- ϵ -카프롤락탐(10 g)의 교반 용액에 1N 수산화나트륨 용액(7.8 ml)과 디-t-부틸 카르보네이트(18.8 g)순으로 첨가하였다. 이 혼합물을 실온에서 16 시간동안 교반시킨 후, 진공하에 농축시켰다. 잔류물을 에틸 아세테이트에 용해시키고, 물 및 염수로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시키고, 여과한 후 진공하에 농축시켰다. 미정제 물질을 핵산으로 분쇄하고, 진공하에서 여과 및 건조시켜 Boc-L- α -아미노- ϵ -카프롤락탐(16 g)을 얻었다.

TLC : $R_f = 0.85$, 실리카겔, 에틸 아세테이트/헵탄 1/1(v/v).

Boc-노르Leu(시클로)Gly-OMe

Boc-L- α -아미노- ϵ -카프롤락탐(10 g)을 디클로로메탄(100 ml)에 용해시켰다. -20°C에서, THF/시클로헥산(1/1 v/v) 중의 비스(트리메틸실릴)아미드 1M 용액(1 당량)을 서서히 첨가하고, 이 혼합물을 30분간 교반시켰다. 여기에 메틸 브로모아세테이트(4 ml)를 연속해서 첨가하고, 실온에서 2 시간 교반시켰다. 여기에 THF/시클로헥산(1/1 v/v) 중의 비스(트리메틸실릴)아미드를 더 첨가하여 반응을 완결시켰다. 이 혼합물을 디클로로메탄으로 희석하고, 0.1N 염산 용액, 물, 5% 탄산수소나트륨 수용액과 염수로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시킨 후, 여과하고 진공하에 증발시켰다. 잔류물은 실리카겔 크로마토그래피(용출제: 헵탄/에틸 아세테이트 6/4 v/v)로 정제하여 Boc-노르Leu(시클로)Gly-OMe(12 g)를 수득하였다.

TLC : $R_f = 0.55$, 실리카겔, 에틸 아세테이트/헵탄 6/4(v/v).

에틸SO₂-노르Leu(시클로)Gly-OMe

Boc-노르Leu(시클로)Gly-OMe(3 g)을 50% TFA/디클로로메탄(30 ml)에 용해시키고, 실온에서 1 시간 교반시켰다. 반응 혼합물을 진공하에 증발시켰다. 미정제 아민을 디클로로메탄(30 ml)에 용해시키고, 디클로로메탄(10 ml) 중의 에탄설포닐클로라이드(1.29 g) 용액을 0°C에서 서서히 첨가하였다. 트리메틸아민을 첨가하여 반응 동안 pH를 8로 유지시켰다. 이 혼합물을 실온에서 1 시간 교반한 후, 혼합물을 진공하에 농축시켰다. 잔류물을 에틸 아세테이트에 용해시키고, 5% 탄산수소나트륨 용액, 물 및 염수로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시킨 후, 여과하고 진공하에 증발시켰다. 잔류물은 실리카겔 크로마토그래피(용출제: 디클로로메탄/에틸 아세테이트 95/5 v/v)로 정제하여 에틸SO₂-노르Leu(시클로)Gly-OMe(1.45 g)를 수득하였다.

TLC : $R_f = 0.30$, 실리카겔, 디클로로메탄/에틸 아세테이트 9/1(v/v).

에틸SO₂-노르Leu(시클로)Gly-OH

디옥산/물(9/1 v/v) 50 ml 중의 에틸SO₂-노르Leu(시클로)Gly-OMe(1.45 g) 용액을, 실온에서 2시간동안 pH를 13으로 유지시키기 위해 충분한 양의 1N 수산화나트륨으로 처리하였다. 이 혼합물을 산성화시킨 후, 물에 붓고, 디클로로메탄으로 추출하였다. 유기층을 물로 세척하고 황산나트륨으로 건조시켰다. 여액을 증발시켜서 표제 화합물 600 mg을 수득하였다.

TLC : $R_f = 0.45$, 실리카겔, 에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물 63/20/6/11(v/v/v/v).

에틸SO₂-노르Leu(시클로)Gly-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)

에틸SO₂-노르Leu(시클로)Gly-OH(482 mg)을 무수 디메틸포름아미드(5 ml)에 용해시켰다. 에틸 디이소프로필 아민(0.36 ml)을 첨가한 후, 반응 혼합물을 질소 대기하에서 방치하고 -20°C로 냉각시켰다. 연속해서 이소부틸클로로포르메이트(140 ml)를 첨가하고, 혼합물을 -20°C에서 15분간 교반시켰다. H-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴).THF를 무수 디메틸포름아미드(3 ml)에 용해시키고, 에틸 디이소프로필 아민을 첨가하여 pH를 8.5로 유지하면서 찬 무수물 혼합 용액에 적가하였다. 반응 혼합물을 -20°C에서 15분간 교반시켰다. 반응 혼합물을 건조 상태로 증발시켰다. 잔류물을 에틸 아세테이트에 용해시키고, 5% 탄산수소나트륨 수용액, 물 및 염수순으로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시킨 후, 진공하에 증발시켰다. 잔류물은 실리카겔 크로마토그래피로 정제하여(용출제: 디클로로메탄/메탄올=95/5 v/v) 에틸SO₂-노르Leu(시클로)Gly-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)(607 mg)을 수득하였다.

TLC : R_f = 0.63, 실리카겔, 에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물 60/3/1/2(v/v/v/v).

에틸SO₂-노르Leu(시클로)Gly-Lys-(2-티아졸릴)

에틸SO₂-노르Leu(시클로)Gly-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)(600 mg)을 실온에서 4 시간 동안 트리플루오로아세트산/티오아니졸 10/1 v/v(10 ml)로 처리하였다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔류물은 물에 용해시켰다. 수용성 상을 디에틸 에테르로 광범위하게 세척하였다. 수층을 진공하에 농축시키고, 묽은 염산으로 동시 증발시킨 후 물로 동결 건조시켰다. 미정제 생성물을 분취 HPLC 델타팩 C18 RP 칼럼(구배 용출계: 40분에 걸쳐 20% A/80% B→20% A/40% B/40% C, 유속 50 ml/분)에 채워 넣었다. 수량: 에틸SO₂-노르Leu(시클로)Gly-Lys-(2-티아졸릴) 233 mg.

R_t(LC) : 26.73분. 20% A/80% B→20% A/20% B/60% C(40분).

실시에 18

벤질SO₂-노르Leu(시클로)Gly-Lys-(2-티아졸릴)

이 화합물은 실시에 17에 기재된 것과 유사한 방식으로 제조하였다.

R_t(LC) : 37.05분. 20% A/80% B→20% A/20% B/60% C(40분).

실시에 19

7-메톡시-2-나프틸설포닐-노르Leu(시클로)Gly-Lys-(2-티아졸릴)

이 화합물은 실시에 17에 기재된 바와 유사한 방식으로 제조하였다.

R_t(LC) : 26.40분. 20% A/60% B/20% C→100% C(40분).

실시에 20

(4aR, 8aR)-퍼히드로이소퀴놀린-1(R)-카르보닐-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

2-Cbz-(4aR, 8aR)-퍼히드로이소퀴놀린-1(R, S)-카르복실산

2-Cbz-(4aR, 8aR)-퍼히드로이소퀴놀린-1(R, S)-카르복실산은 EP0643073의 실시에 1에 기재된 바와 같이 합성하였다.

TLC : R_f = 0.85, 실리카겔, 에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물 63/20/6/11(v/v/v/v).

2-Cbz-(4aR, 8aR)-퍼히드로이소퀴놀린-1(R, S)-카르보닐-Pro-O-tBu

디메틸포름아미드(5 ml) 중의 2-Cbz-(4aR, 8aR)-퍼히드로이소퀴놀린-1(R, S)-카르복실산(500 mg)의 차가운 용액(0°C)에 DCCI(1,3-디시클로헥실카르보디이미드; 342 mg), HOBt(1-히드록시벤조트리아졸 수화물; 319 mg), H-Pro-OtBu(270 mg) 및 트리에틸아민(0.55 ml)을 차례로 첨가하였다. 반응 혼합물을 0°C에서 1 시간 교반한 후 실온에서 밤새 방치하였다. 반응 혼합물을 -20°C로 냉각시키고, DCU(1,3-디시클로헥실우레아)를 여과에 의해 제거하였다. 여액을 진공하에서 농축시키고, 잔류물은 에틸 아세테이트에 용해시켰다. 이 용액을 5% 탄산수소나트륨 수용액, 3% 구연산 수용액, 물 및 염수 순으로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시킨 후 진공하에서 농축시켰다. 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피(용출제: 헵탄/에틸 아세테이트 4/1 v/v)로 정제하여 2-Cbz-(4aR, 8aR)-퍼히드로이소퀴놀린-1(R, S)-카르보닐-Pro-O-tBu(634 mg)을 수득하였다.

TLC : R_f = 0.90, 실리카겔, 에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물 63/20/6/11(v/v/v/v).

2-Cbz-(4aR, 8aR)-퍼히드로이소퀴놀린-1(R, S)-카르보닐-Pro-OH

2-Cbz-(4aR, 8aR)-퍼히드로이소퀴놀린-1(R, S)-카르보닐-Pro-O-t부틸 에스테르(600 mg)를 실온하에 디클로로메탄(1 ml), 트리플루오로아세트산(3 ml), 아니졸(0.15 ml)의 혼합물중에서 1 시간동안 교반하였다. 반응 혼합물을 진공하에 저온에서 농축시키고, 잔류물을 pH 9.5의 물에 용해시켰다. 수용성 상을 디에틸 에테르로 세척한 다음, 수용성 층을 2M 염산 용액으로 pH 2.5로 산성화시켰다. 수용성 층을 에틸 아세테이트로 추출하고, 유기상은 염수로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시킨 후 진공하에서 농축시켜 2-Cbz-(4aR, 8aR)-퍼히드로이소퀴놀린-1(R, S)-카르보닐-Pro-OH(588 mg)을 수득하였다.

TLC : R_f = 0.54, 실리카겔, 에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물 60/3/1/2(v/v/v/v).

2-Cbz-(4aR, 8aR)-퍼히드로이소퀴놀린-1(R, S)-카르보닐-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)

2-Cbz-(4aR,8aR)-퍼히드로이소퀴놀린-1(R,S)-카르보닐-Pro-OH(500 mg)을 무수 디메틸포름아미드(5 ml)에 용해시켰다. 에틸 디이소프로필 아민(0.41 ml)을 첨가한 후, 반응 혼합물을 질소하에 놓고 -20°C로 냉각시켰다. 여기에 이소부틸클로로포르메이트(156 ml)를 첨가하고, 혼합물을 -20°C에서 15분간 교반시켰다. 에틸 디이소프로필아민을 첨가하여 pH를 8.5로 유지하면서, H-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴).TFA(594 mg)을 무수 디메틸포름아미드(3 ml)에 용해시킨 후, 찬 무수물 혼합 용액에 적가하였다. 반응 혼합물을 -20°C에서 15분간 교반시켰다. 이어서 반응 혼합물을 건조 상태로 증발시켰다. 잔류물은 에틸 아세테이트에 용해시키고, 5% 탄산수소나트륨 수용액, 물 및 염수 순으로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시킨 후 진공하에서 농축시켰다. 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피(용출제: 디클로로메탄/메탄올=95/5 v/v %)로 정제하여 2-Cbz-(4aR,8aR)-퍼히드로이소퀴놀린-1(R,S)-카르보닐-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)(880 mg)을 수득하였다.

TLC : $R_f = 0.42$, 실리카겔, 에틸 아세테이트/헵탄 3/1(v/v).

(4aR,8aR)-퍼히드로이소퀴놀린-1(R)-카르보닐-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

(4aR,8aR)-퍼히드로이소퀴놀린-1(R,S)-카르보닐-Pro-Lys-(2-티아졸릴)(875 mg)을 실온에서 4 시간 동안 트리플루오로아세트산/티오아니졸 10/1 v/v(10 ml)로 처리하였다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔류물을 물에 용해시켰다. 수용성 상을 디에틸 에테르로 광범위하게 세척하였다. 수층은 진공하에서 농축시키고, 묽은 염산으로 동시 증발시킨 후, 물로 동결 건조시켰다. 미정제 생성물을 분취 HPLC 밀타팩 C18 RP 칼럼(구배 용출계: 40분에 걸쳐 20% A/80% B→20% A/53% B/27% C, 유속 50 ml/분)에 채워 넣었다. 수량: (4aR,8aR)-퍼히드로이소퀴놀린-1(R)-카르보닐-Pro-Lys-(2-티아졸릴) 211 mg.

R_f (LC) : 28분. 20% A/80% B→20% A/20% B/60% C(40분).

실시예 21

에틸SO₂-D-Cha-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

Boc-D-Cha-Pro-OBzl (Bzl=벤질)

Boc-D-Cha-Pro-OBzl은 Boc-D-Cha 및 Pro-OBzl을 사용하여 실시예 1과 유사한 방법에 따라 제조하였다.

TLC : $R_f = 0.5$, 실리카겔, 디클로로메탄/메탄올 95/5(v/v).

에틸SO₂-D-Cha-Pro-OBzl

Boc-D-Cha-Pro-OBzl(3.8 g)을 50% TFA/디클로로메탄(25 ml)에 용해시켰고, 실온에서 30분간 교반시켰다. 반응 혼합물을 진공하에 증발시켰다. 미정제 아민을 디클로로메탄(50 ml)에 용해시키고, 에탄설포닐클로라이드(0.8 ml)를 -78°C에서 첨가하였다. 트리에틸아민을 첨가하여 반응 동안 pH 8로 유지시켰다. 혼합물을 0°C에서 3 시간 교반한 후, 물(25 ml)을 첨가하였다. 실온에서 30분간 더 교반한 후, 반응 혼합물을 진공하에 농축시켰다. 잔류물을 디에틸 에테르에 용해시키고, 1N 염산 용액, 물, 5% 탄산수소나트륨 용액 및 염수 순으로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시키고, 여과한 후 진공하에 증발시켰다. 미정제 물질은 메탄올로 분쇄하여 에틸SO₂-D-Cha-Pro-OBzl(3.0 g)을 수득하였다.

TLC : $R_f = 0.6$, 실리카겔, 디클로로메탄/메탄올 95/5(v/v).

에틸SO₂-D-Cha-Pro-OH

테트라히드로푸란(250 ml) 중의 에틸SO₂-D-Cha-Pro-OBzl(10 g) 용액에 테트라히드로푸란(84 ml) 중의 테트라부틸암모늄 플루오리드 1M 용액을 첨가하였다. 이 반응 혼합물을 실온에서 30분간 교반하고, 물(1 l)에 부었다. 수용액을 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 유기층들을 1N 염산 용액과 물 순으로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시킨 후 진공하에 증발시켰다. 잔류물을 에틸 아세테이트/디이소프로필에테르로 결정화시켜 정제하므로써 에틸SO₂-D-Cha-Pro-OH (6.0 g)을 수득하였다.

TLC : $R_f = 0.2$, 실리카겔, 에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물 163/20/6/11(v/v/v/v).

에틸SO₂-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)

에틸SO₂-D-Cha-Pro-OH(397 mg)을 무수 디클로로메탄(3 ml)에 용해시켰다. 에틸 디이소프로필아민(0.19 ml)을 첨가한 후, 반응 혼합물을 질소 대기하에서 방치하고, -20°C로 냉각시켰다. 연속해서 이소부틸클로로포르메이트(130 ml)를 첨가한 후, 혼합물을 -20°C에서 15분간 교반시켰다. H-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴).THF를 무수 디메틸포름아미드(3 ml)에 용해시키고, 에틸 디이소프로필 아민을 첨가하여 pH를 8.5로 유지하면서 찬 무수물 혼합 용액에 적가하였다. 반응 혼합물을 -20°C에서 15분 교반시키고, 실온에서 1 시간 교반시켰다. 반응 혼합물을 건조 상태로 증발시켰다. 잔류물을 에틸 아세테이트에 용해시키고, 5% 탄산수소나트륨 수용액, 물 및 염수 순으로 세척하였고, 황산나트륨으로 건조시킨 후, 진공하에 증발시켰다. 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피(용출제: 에틸 아세테이트/헵탄=2/1 v/v)로 정제하여 에틸SO₂-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)(575 mg)을 수득하였다.

TLC : $R_f = 0.32$, 실리카겔, 에틸 아세테이트/헵탄 2/1(v/v).

에틸SO₂-D-Cha-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

에틸SO₂-D-Cha-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)(570 mg)을 실온에서 4 시간 동안 트리플루오로아세트산/티오아니졸 10/1 v/v(44 ml)로 처리하였다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔류물은 물에 용해시켰다. 수용성 상을 디에틸 에테르로 광범위하게 세척하였다. 수층을 진공하에서 농축시키고, 묽은 염산으로 동

시 증발시키고, 물로 동결 건조시켰다. 미정제 생성물은 분취 HPLC 델타팩 C18 RP 칼럼(구배 용출계: 40분에 걸쳐 20% A/80% B→20% A/30% B/50% C, 유속 80 ml/분)에 채워 넣었다. 수량: 에틸SO₂-D-Cha-Pro-Lys-(2-티아졸릴) 275 mg.

R_f(LC) : 26.06분. 20% A/60% B/20% C→100% C(40분).

실시에 22

에틸SO₂-D-Phe-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

Boc-D-Phe-Pro-OBzl

이 화합물은 Boc-D-Phe와 Pro-OBzl을 사용하여 실시예 1과 유사한 방법에 따라 제조하였다.

TLC : R_f = 0.9, 실리카겔, 에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물 60/3/1/2(v/v/v/v).

에틸SO₂-D-Phe-Pro-OH

이 화합물은 Boc-D-Phe-Pro-OBzl을 사용하여 실시예 21과 유사한 방법에 따라 제조하였다.

TLC : R_f = 0.48, 실리카겔, 에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물 163/20/6/11(v/v/v/v).

에틸SO₂-D-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)

에틸SO₂-D-Phe-Pro-OH와 Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)을 사용하여 실시예 21과 유사한 방법에 따라 에틸SO₂-D-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)을 제조하였다.

TLC : R_f = 0.32, 실리카겔, 에틸 아세테이트/헵탄 8/2(v/v).

에틸SO₂-D-Phe-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

에틸SO₂-D-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)(336 mg)을 실온에서 4 시간 동안 트리플루오로아세트산/티오아니졸 10/1 v/v(44 ml)로 처리하였다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔류물을 물에 용해시켰다. 수용성 상을 디에틸 에테르로 널리 세척하였다. 수층을 진공하에서 농축시키고, 묽은 염산으로 동시 증발시키고, 물로 동결 건조시켰다. 미정제 생성물을 분취 HPLC 델타팩 C18 RP 칼럼(구배 용출계: 40분에 걸쳐 20% A/65% B/15% C→20% A/20% B/60% C, 유속 50 ml/분)에 채워 넣었다. 수량: 에틸SO₂-D-Phe-Pro-Lys-(2-티아졸릴) 160 mg.

R_f(LC) : 39.47분. 20% A/80% B→20% A/20% B/60% C(40분).

실시에 23

D-Hpl-Pro-Lys-(2-티아졸릴)(Hpl=3-헥사히드로페닐 젓산)

H-D-Hpl-OMe

H-D-Cha-OH(1.0 g)을 1N 염산(4.8 ml), 물(19.4 ml) 및 아세트산(9.7 ml)의 혼합물에 용해시켰다. 0°C에서 물(5.8 ml) 중의 아질산나트륨(3.4 g) 용액을 서서히 첨가하고, 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 연속해서 37% 염산(4.8 ml)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 15분간 교반시켰다. 반응 혼합물을 증발시키고, 잔류물을 에테르/아세톤에 용해시켰다. 여과후, 용액을 진공하에 농축시키고, 미정제 물질을 메탄올(25 ml) 중에서 18 시간동안 교반시켰다. pH는 1.5이었다. 반응 혼합물을 건조 상태로 증발시키고, 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피(용출제: 톨루엔/메탄올 97/3 v/v)로 정제하여 H-D-Hpl-OMe(612 mg)를 수득하였다.

TLC : R_f = 0.9, 실리카겔, 에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물 163/20/6/11(v/v/v/v).

THP-D-Hpl-OMe(THP=테트라히드로피란)

디클로로메탄(2 ml) 중의 H-D-Hpl-OMe(450 mg) 교반 용액에 3,4-디히드로-2H-피란(0.285 ml)과 피리딘용 p-톨루엔설포네이트(60 mg)를 차례로 첨가하였다. 이 혼합물을 실온에서 6 시간 교반하고, 에테르로 희석시켰다. 이 혼합물을 염수로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시키고, 여과한 후 진공하에 증발시켰다. 미정제 물질을 실리카겔 크로마토그래피(용출제: 에틸 아세테이트/헵탄 1/4 v/v)로 정제하여 THP-D-Hpl-OMe(498 mg)를 수득하였다.

TLC : R_f = 0.64, 실리카겔, 에틸 아세테이트/헵탄 1/2 v/v.

THP-D-Hpl-OH

디옥산/물 9/1(200 ml) 중의 THP-D-Hpl-OMe(10.3 g) 용액을 충분한 1N 수산화나트륨으로 처리하여 실온에서 18 시간 동안 pH 12로 유지시켰다. 이 혼합물을 산성화시킨후, 물(500 ml)에 붓고 디클로로메탄으로 추출하였다. 유기층을 물로 세척하고 황산나트륨으로 건조시켰다. 여액을 증발시켜서 표제 화합물 6.6 g을 수득하였다.

TLC : R_f = 0.78, 실리카겔, 에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물 163/20/6/11(v/v/v/v).

THP-D-Hpl-Pro-OH

아세트니트릴(75 ml) 중의 THP-D-Hpl-OH(5.87 g) 용액에 EDCI(1-(3-디메틸아미노프로필)-3-에틸카르보디이미드 염산염)(4.84 g)과 N-히드록시숙신이미드(2.9 g)를 차례로 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서

16 시간 동안 교반하였다. 이 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔류물을 에틸 아세테이트에 용해시켰다. 이 용액을 물과 염수로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시킨 후 진공하에 농축시켰다. 미정제 물질을 디메틸포름아미드(100 ml)에 용해시키고, 디메틸포름아미드/물(1/1 v/v, 200 ml) 중의 프롤린.HCl(6.99 g) 용액에 첨가한 후, 수산화나트륨으로 pH를 8.5로 조절하였다. 방새 교반한 후, 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔류물을 물에 용해시켰다. 이 수용액을 0°C에서 pH 2.5로 조절한 다음, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 유기층들을 물과 염수 순으로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시킨 후 진공하에 농축시켰다. 미정제 물질을 실리카겔 크로마토그래피(용출제: 에틸 아세테이트/메탄올, 8/2 6/4, v/v%)로 정제하여 THP-D-Hpl-Pro-OH(6.75 g)을 수득하였다.

TLC : R_f = 0.52, 실리카겔, 에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물 163/20/6/11(v/v/v/v).

THP-D-Hpl-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)

THP-D-Hpl-Pro-OH(390 mg)을 무수 디메틸포름아미드(5 ml)에 용해시켰다. 에틸 디이소프로필 아민(0.19 ml)을 첨가한 후, 반응 혼합물을 질소 대기하에서 방치하고 -20°C로 냉각시켰다. 연속해서 이소부틸클로로포르메이트(130 ml)를 첨가하고, 혼합물을 -20°C에서 15분간 교반시켰다. H-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴).TFA(1.05 당량)를 무수 디클로로메탄(5 ml)에 용해시키고, 에틸 디이소프로필 아민을 첨가하여 pH를 8.5로 유지하면서 찬 무수물 혼합 용액에 적가하였다. 반응 혼합물을 -20°C에서 15분, 실온에서 2.5 시간동안 교반시켰다. 이어서 반응 혼합물을 건조 상태로 증발시켰다. 잔류물을 에틸 아세테이트에 용해시키고, 5% 탄산수소나트륨 수용액, 물 및 염수 순으로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시킨 후 진공하에 증발시켰다. 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피(용출제: 에틸 아세테이트/헵탄 2/1 v/v)로 정제하여 THP-D-Hpl-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)(497 mg)을 수득하였다.

TLC: R_f = 0.42; 실리카겔, 에틸 아세테이트/헵탄 2/1(v/v).

D-Hpl-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

THP-D-Hpl-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)(470 mg)을 실온에서 4 시간 동안 트리플루오로아세트산/티오아니졸 10/1 v/v(38.5 ml)로 처리하였다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔류물을 물에 용해시켰다. 수용성 상을 디에틸 에테르로 광범위하게 세척하였다. 수층을 진공하에 농축시키고, 묽은 염산으로 동시 증발시키고, 물로 동결 건조시켰다. 미정제 생성물을 분취 HPLC 델타팩 C18 RP 칼럼(구배 용출제: 40분에 걸쳐 20% A/65% B/15% C→20% A/20% B/60% C, 유속 50 ml/분)에 채워 넣었다. 수량: D-Hpl-Pro-Lys-(2-티아졸릴) 75 mg.

R_t(LC) : 40.00분. 20% A/80% B→20% A/20% B/60% C(40분).

실시예 24

HOC-CH₂-D-Phe-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

H-D-Phe-OMe.HCl

차가운(-20°C) 무수 메탄올(1 l)에 티오닐 클로라이드(130 ml)를 적가하였다. H-D-Phe-OH.HCl(147.6 g)을 첨가하고, 반응 혼합물을 환류하에서 30분간 가열한 다음, 실온으로 방새 유지시켰다. 혼합물을 진공하에 농축시키고, 메탄올로 동시 증발시켰다(3회). 잔류물을 메탄올/디에틸 에테르로 결정화시켜 백색 결정 분말형태의 H-D-Phe-OMe.HCl(187.4 g)을 수득하였다.

TLC : R_f = 0.54, 실리카겔, n-부탄올/아세트산/물 10/1/3(v/v/v).

N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-D-Phe-OMe

t-부틸-브로모 아세테이트(65 ml)를 아세토니트릴(400 ml) 중의 H-D-Phe-OMe.HCl(65.2 g) 교반 용액에 첨가하였다. 이 혼합물의 pH는 N,N-디이소프로필에틸아민을 사용하여 8.5로 조절하였다. 이 혼합물을 실온에서 16 시간 교반하고, 진공하에서 증발시켰다. 잔류물을 디클로로메탄에 용해시키고, 용액을 물로 세척한 다음, 황산나트륨으로 건조시키고, 진공하에 증발시켰다. 헵탄/에틸 아세테이트 9/1(v/v)로 용출하면서 실리카겔 크로마토그래피로 정제하여 N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-D-Phe-OMe 96.4g을 수득하였다.

TLC : R_f = 0.90, 실리카겔, 에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물 376/31/18/7(v/v/v/v).

N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D-Phe-OMe

N,N-디이소프로필에틸아민을 사용하여, N,N-디메틸 포름아미드(400 ml) 중의 디-t-부틸-디카르보네이트(72.2 g)와 N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-D-Phe-OMe(96.4 g) 용액의 pH를 8.5로 조절하였다. 이 혼합물을 실온에서 48 시간 교반하고, 용매를 진공하에서 제거하였다. 잔류물에 디클로로메탄과 물을 첨가하였다. 유기층을 분리하고, 차가운 1N 염화수소, 물, 탄산수소나트륨 포화 용액 및 물로 세척하였다. 유기층을 황산나트륨으로 건조시키고, 여액은 증발시켰다. 잔류물은 톨루엔/에틸 아세테이트 9/1(v/v)를 용출제로 사용하여 실리카겔 크로마토그래피로 정제하였다. N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D-Phe-OMe를 함유한 분획을 수거하여 증발시켰다. 수량: 115.3 g

TLC : R_f = 0.77, 실리카겔, 톨루엔/에틸 아세테이트 9/1(v/v).

N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D-Phe-OH

디옥산/물(9/1 v/v) 800 ml 중의 N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D-Phe-OMe(115.3 g) 용액을 충분한 양의 2N 수산화나트륨으로 처리하여 실온에서 16 시간 동안 pH 12를 유지시켰다. 이 혼합물을 산성화시킨 후, 물에 붓고 디클로로메탄으로 추출하였다. 유기층을 물로 세척하고 황산나트륨으로 건조시켰다. 여액을 증발시켜서 N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D-Phe-OH 104 g을 수득하였다.

TLC : $R_f = 0.10$, 실리카겔, 톨루엔/에틸 아세테이트 7/3(v/v).

N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D-Phe-Pro-OBzl

N,N-디메틸 포름아미드(40 ml) 중의 N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D-Phe-OH(5.3 g)의 차가운(0°C) 용액에 1-히드록시 벤조트리아졸(2.8 g), 디시클로헥실 카르보디이미드(3.2 g), H-Pro-OBzl.HCl(3.78 g) 및 트리에틸아민(2.16 ml)을 차례로 첨가하였다. 이 혼합물을 0°C에서 1 시간 교반한 다음, 실온으로 밤새 유지하였다. 혼합물을 -20°C로 냉각시키고, 디시클로헥실우레아를 여과에 의해 제거하였다. 이어서, 여액을 건조 상태로 증발시켰다. 잔류물을 에틸 아세테이트에 용해시키고, 5% 탄산수소나트륨, 물, 2% 구연산 및 염수 순으로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시킨 후 진공하에 농축시켰다. 잔류물을 헵탄/에틸 아세테이트(6/4 v/v)를 용출제로 사용하여 실리카겔 크로마토그래피로 정제하였다. N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D-Phe-Pro-OBzl를 함유한 분획을 수집하고 증발시켰다. 수량: 4.35 g

TLC : $R_f = 0.74$, 실리카겔, 헵탄/에틸 아세테이트 1/1(v/v).

N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D-Phe-Pro-OH

목탄상의 10% 팔라듐(450 mg)을 메탄올(50 ml) 중의 N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D-Phe-Pro-OBzl(4.35 g) 용액에 첨가하였다. 이 혼합물을 실온의 대기압하에서 45분간 가수소화시켰다. 여과에 의해 팔라듐 촉매를 제거하였고, 감압하에서 용매를 증발시켜 N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D-Phe-OH(3.48 g)을 수득하였다.

TLC : $R_f = 0.63$, 실리카겔, 에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물 664/31/18/7(v/v/v/v).

N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)

N,N-디메틸 포름아미드(10 ml) 중의 N,N-디이소프로필에틸아민(276 ml)과 N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D-Phe-Pro-OH(375 mg)의 차가운(-20°C) 용액에 이소부틸 클로로포르메이트(100 ml)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 다시 -20°C에서 20분간 교반하였다. H-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴).TFA(362 mg)을 N,N-디메틸 포름아미드 5ml에 용해시키고, N,N-디이소프로필에틸아민을 사용하여 pH 8로 조절하였다. 이 용액을 상기 반응 혼합물에 서서히 첨가하였다. 이 반응 혼합물을 -20°C에서 15분간 교반한 다음, 실온으로 가온시켰다. 반응 혼합물을 건조 상태로 증발시키고, 잔류물을 에틸 아세테이트에 용해시켰다. 유기상을 5% 탄산수소나트륨 수용액, 물 및 염수순으로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시키고, 농축시켜서 미정제 생성물 622 mg을 수득하였다. 용출제로 디클로로메탄/메탄올 97/3 v/v를 사용하여 실리카겔로 정제하므로써 N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)을 394 mg 수득하였다.

TLC : $R_f = 0.50$, 실리카겔, 디클로로메탄/메탄올 95/5(v/v).

H00C-CH₂-D-Phe-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

실시에 1의 방법에 따라 보호된 트리펩티드(394 mg)를 트리플루오로아세트산과 티오아니졸로 처리한 후 HPLC로 정제하여 H00C-CH₂-D-Phe-Pro-Lys-(2-티아졸릴)(206 mg)을 수득하였다.

R_t (LC) : 27.9분. 20% A/80% B→20% A/20% B/60% C(40분).

실시에 25

H00C-CH₂-D-p-OCH₃-Phe-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

H-D-p-OCH₃-Phe-OH.HCl을 출발물질로 하여 실시에 24와 유사한 방법으로 H00C-CH₂-D-p-OCH₃-Phe-Pro-Lys-(2-티아졸릴)을 제조하였다. N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D-p-OCH₃-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)(345 mg)을 탈보호(실시에 1)시킨 다음, HPLC로 정제하여 생성물(153 mg)을 수득하였다.

R_t (LC) : 28.9분. 20% A/80% B→20% A/20% B/60% C(40분).

실시에 26

H00C-CH₂-D/L-m-F-Phe-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D/L-m-F-Phe-OH

실시에 24와 유사한 방법에 따라, H-D/L-m-F-Phe-OH.HCl(5 g)을 N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D/L-m-F-Phe-OH로 전환시켰다. 수량: 8 g.

TLC : $R_f = 0.65$, 실리카겔, 에틸 아세테이트/메탄올 9/1(v/v).

N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D/L-m-F-Phe-Pro-OMe

N,N-디메틸 포름아미드(80 ml) 중의 N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D/L-m-F-Phe-OH(7.9 g)의 차가운(0°C) 용액에 1-히드록시 벤조트리아졸(4.0 g), 디시클로헥실 카르보디이미드(4.5 g), H-Pro-OMe.HCl(3.6 g) 및 트리에틸아민(3.25 ml)을 차례로 첨가하였다. 이 혼합물을 0°C에서 1 시간 교반한 다음, 실온으로 밤새 유지시켰다. 혼합물을 -20°C로 냉각시키고, 디시클로헥실우레아를 여과에 의해 제거하였다. 여액을 건조 상태로 증발시켰다. 잔류물을 에틸 아세테이트에 용해시키고, 5% 탄산수소나트륨 수용액, 물, 2% 구연산 및 염수 순으로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시키고, 진공하에 농축시켰다. 잔류물은 헵탄/에틸 아세테이트(7/3 v/v)를 용출제로 사용하여 실리카겔 크로마토그래피로 정제하므로써 생성물 6.9 g을 수득하였다.

TLC : $R_f = 0.65$, 헵탄/에틸 아세테이트 1/1(v/v).

N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D/L-m-F-Phe-Pro-OH

디옥산/물 9/1 v/v(60 ml)에 용해된 N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D/L-m-F-Phe-Pro-OMe(6.9 g)을 1N 수산화나트륨 용액(13.8 ml)으로 16 시간에 걸쳐 조금씩 처리하여 pH를 10~10.5로 유지시켰다. 반응 혼합물을 방수로 희석시키고, 2N 염화수소 용액으로 pH 2가 될 때까지 산성화시켰다. 수용성 층을 디클로로메탄으로 추출한 후, 유기상을 방수로 세척하고 황산나트륨으로 건조시키고 농축시켜 미정제 물질 14.7 g을 수득하였다. 에틸 아세테이트/메탄올 9/1 v/v 중의 실리카겔로 정제하여 5.22 g을 얻었다.

TLC : $R_f = 0.20$, 실리카겔, 에틸 아세테이트/메탄올 8/2(v/v).

N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D/L-m-F-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)

실시에 24에서와 동일한 조건하에서 N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D/L-m-F-Phe-OH(601.3 mg)를 H-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)과 결합시켰다. 수량: 684.3 mg

TLC : $R_f = 0.74$, 실리카겔, 디클로로메탄/메탄올 95/5(v/v).

H₂COO-CH₂-D/L-m-F-Phe-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D/L-m-F-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)(673.5 mg)을 실시에 1과 동일한 조건하에서 트리플루오로아세트산과 티오아니졸로 처리하고, HPLC로 정제하여 순수한 생성물(259 mg)을 수득하였다.

R_t (LC) : 28.4분 및 29.0분. 20% A/80% B→20% A/20% B/60% C(40분).

실시에 27

H₂COO-CH₂-D-p-CF₃-Phe-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D/L-p-CF₃-Phe-OH

실시에 24와 유사한 방법에 따라, H-D/L-p-CF₃-Phe-OH.HCl(10.12 g)을 N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D/L-p-CF₃-Phe-OH로 전환시켰다. 수량: 12.23 g.

TLC : $R_f = 0.64$, 실리카겔, 에틸 아세테이트/메탄올 9/1(v/v).

N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D-p-CF₃-Phe-Pro-OBzl

N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D/L-p-CF₃-Phe-OH(6.10 g)을 실시에 24에서와 동일한 방법에 따라 H-Pro-OBzl.HCl에 결합시켰다. 처리 후, 부분압체 이성체를, 헵탄/에틸 아세테이트 75/25 v/v를 사용하는 실리카겔에 의해 분리하므로써 순수한 N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D-p-CF₃-Phe-Pro-OBzl(0.63 g)을 얻었다.

TLC : $R_f = 0.35$, 실리카겔, 헵탄/에틸 아세테이트 7/3(v/v).

N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D-p-CF₃-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)

실시에 24에서와 유사한 방법에 따라, N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D-p-CF₃-Phe-Pro-OBzl(630 mg)을 환원시킨 다음, H-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)에 결합시켰다. 수량: 317.7 mg.

TLC : $R_f = 0.46$, 디클로로메탄/메탄올 95/5(v/v).

H₂COO-CH₂-D-p-CF₃-Phe-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

실시에 24와 동일한 방법을 이용하여 N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D-p-CF₃-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)(306.5 mg)의 보호기를 제거하였다. HPLC로 정제한후 생성물 157 mg을 분리시켰다.

R_t (LC) : 36.7분. 20% A/80% B→20% A/20% B/60% C(40분).

실시에 28

H₂COO-CH₂-D-p-Cl-Phe-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D-p-Cl-Phe-OH

실시에 24와 유사한 방법에 따라, H-D-p-Cl-Phe-OH.HCl(10 g)을 N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D-p-Cl-Phe-OH로 전환시켰다. 수량: 16.7 g.

TLC : $R_f = 0.27$, 실리카겔, 에틸 아세테이트/메탄올 9/1(v/v).

N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D-p-Cl-Phe-ONSu

아세트오닐트릴(250 ml) 중의 N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D-p-Cl-Phe-OH(14.67 g) 용액을 실온하에 N-히드록시숙신이미드(4.11 g)와 1-(3-디메틸아미노프로필)-3-에틸카르보디이미드(EDCI) 염산염(6.86 g)으로 밤새 처리하였다. 반응 혼합물을 건조 상태로 증발시키고, 잔류물을 에틸 아세테이트에 용해시켰다. 유기상을 물로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시킨 후 농축시켜 활성 에스테르 19.11 g을 수득하였다.

다. 활성 에스테르는 다음 단계에 직접 사용하였다.

N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D-p-Cl-Phe-Pro-OH

H-Pro-OH.HCl (10.79 g)을 N,N-디메틸 포름아미드(100 ml)와 물(100 ml)에 용해시켰다. 반응 혼합물의 pH는 1N 수산화나트륨 용액을 사용하여 8로 조절하고, N,N-디메틸 포름아미드(120 ml) 중에 용해된 N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D-p-Cl-Phe-ONSu(19.11 g)을 적가하였다. 반응물을 실온하에 pH 8에서 밤새 교반하였다. 반응 혼합물을 냉각시키고, 1N 염산을 이용하여 pH 2로 조절하였다. 수성층을 디클로로메탄으로 추출하였다. 유기상은 물로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시킨 후 진공하에 농축시켰다. 에틸 아세테이트/메탄올 9/1 구배를 사용하여 실리카겔로 정제하였다.

TLC : R_f = 0.24, 실리카겔, 에틸 아세테이트/메탄올 8/2(v/v).

N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D-p-Cl-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)

실시에 24와 유사한 방법에 따라, N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D-p-Cl-Phe-OH(369.4 g)을 표제 화합물로 전환시켰다. 수량: 249.1 mg.

TLC : R_f = 0.25, 실리카겔, 디클로로메탄/메탄올 97/3(v/v).

H₃C-CH₂-D-p-Cl-Phe-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

실시에 1의 방법에 따라, N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D-p-Cl-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)(231.5 g)을 탈보호시키고, 정제하여 생성물 109.8 mg을 수득하였다.

R_f(LC) : 33.8분. 20% A/80% B→20% A/20% B/60% C(40분).

실시에 29

H₃C-CH₂-D-o-Cl-Phe-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

H-D/L-o-Cl-Phe-OH.HCl을 출발물질로 하여 H₃C-CH₂-D-o-Cl-Phe-Pro-Lys-(2-티아졸릴)을 실시에 26과 유사한 방법으로 제조하였다. 두 개의 부분입체 이성체를 보호된 트리펩티드 상태로 분리시켰다. N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D-o-Cl-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)(230 mg)을 실시에 1의 방법에 따라 탈보호시킨 다음, HPLC로 정제하여 생성물(116 mg)을 수득하였다.

R_f(LC) : 30.0분. 20% A/80% B→20% A/20% B/60% C(40분).

실시에 30

H₃C-CH₂-D/L-m,p-디-f-Phe-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

H-D/L-m,p-디-f-Phe-OH.HCl을 출발물질로 하여 실시에 26과 유사한 방법에 따라 상기 화합물을 제조하였다. 보호된 트리펩티드(720 mg)의 차단기를 제거한 다음, 실시에 1에서와 같이 HPLC 정제하여 생성물(170 mg)을 수득하였다.

R_f(LC) : 30.7분 및 31.1분. 20% A/80% B→20% A/20% B/60% C(40분).

실시에 31

H₃C-CH₂-D/L-o,p-디-Cl-Phe-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

H-D/L-o,p-디-Cl-Phe-OH.HCl을 출발물질로 하여 실시에 26과 유사한 방법에 따라 상기 화합물을 제조하였다. 보호된 트리펩티드(1.07 g)의 차단기를 제거한 다음, 실시에 1에서와 같이 HPLC 정제하여 생성물(100 mg)을 수득하였다.

R_f(LC) : 35.4분 및 36.1분. 20% A/80% B→20% A/20% B/60% C(40분).

실시에 32

H₃C-CH₂-D-Tyr-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

Cbz-D-Tyr (tBu)-OH

N-벤질옥시카르보닐옥시숙신이미드(5.75 g)를 N,N-디메틸 포름아미드(40 ml) 중의 D-Tyr(tBu)-OH(5.0 g) 현탁액에 첨가하였다. 용액의 pH는 트리에틸아민을 사용하여 8로 조절하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반한 다음, 진공하에서 건조 상태로 증발시켰다. 잔류물을 디클로로메탄에 용해시키고, 빙수로 희석시켰다. 2N 염화수소를 사용하여 수층의 pH를 2.5로 조절하였다. 유기층을 분리시키고, 수용성 상을 디클로로메탄으로 추출하였다. 유기층을 합하고, 물로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시킨 후 농축시켰다. 수량: 9.95 g.

TLC : R_f = 0.31, 헵탄/에틸 아세테이트 1/1(v/v).

Cbz-D-Tyr (tBu)-OMe

[2-(1H-벤조트리아졸-1-일)-1,1,3,3-테트라메틸우로늄 테트라플루오로보레이트](7.45 g)을 디클로로메탄(45 ml)과 메탄올(5 ml) 중의 Cbz-D-Tyr(tBu)-OH(9.95 g) 용액에 첨가하였다. 혼합물은 N,N-디이소프로필에틸아민을 사용하여 pH를 8로 조절하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1 시간동안 교반한 다음, 5% 탄산수소나트륨으로 급냉시켰다. 유기상을 분리하고, 물, 2% 구연산 및 염수로 세척하고, 황산

나트륨으로 건조시킨 후, 감압하에서 농축시켰다. 수량: 10.2 g.

TLC : $R_f = 0.74$, 헵탄/에틸 아세테이트 1/1.

H-D-Tyr(tBu)-OMe.HCl

목탄상의 10% 팔라듐(1.2 g)을 메탄올(100 ml) 및 4N 염화수소(5 ml) 중의 Cbz-D-Tyr(tBu)-OMe(10.2 g) 용액에 첨가하였다. 이 혼합물을 실온의 대기압하에서 2 시간동안 가수소화시켰다. 여과에 의해 팔라듐 촉매를 제거하였고, 여액을 작은 부피로 농축시킨 다음 디에틸 에테르로 결정화시켰다. 수량: 5.87 g.

TLC : $R_f = 0.10$, 헵탄/에틸 아세테이트 1/1.

H₂C-CH₂-D-Tyr-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

상기 화합물은 H-D-Tyr(tBu)-OMe.HCl을 출발 물질로 하여 실시예 24와 유사한 방법으로 제조하였다. 실시예 1에 따라 N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D-Tyr(tBu)-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)(586 mg)을 탈보호시켜 생성물(283 mg)을 수득한 후, HPLC로 정제하였다.

R_t (LC) : 20.9분; 20% A/80% B→20% A/20% B/60% C(40분).

실시예 33

H₂C-CH₂-D/L-p-CH₃-Phe-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

H-D/L-p-CH₃-Phe-OH.HCl

에탄올(40 ml) 중의 수화나트륨 현탁액(3.28 g, 광유 중의 60% 분산액)을 디옥산(80 ml)과 에탄올(20 ml) 중의 α -클로로-p-크실렌(10 g), 디에틸 아세트아미도말로네이트(19.3 g) 및 요오드화 나트륨(8.55 g) 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 80°C에서 90분 환류시켰다. 용매를 감압하에서 제거하고, 잔류물을 에틸 아세테이트에 용해시켰다. 유기상을 5% 황산수소나트륨, 5% 아황산수소나트륨, 물, 5% 탄산수소나트륨 및 염수로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시킨 후 진공하에 농축시켰다. 생성물을 헵탄으로 결정화하여 농축 생성물 19.8 g을 수득하였다. 이것을 6N 염화수소(420 ml)와 아세트산(210 ml)으로 95°C에서 밤새 처리하였고, 건조 상태로 증발시킨 다음 생성물 21.6 g을 수득하였다.

TLC : $R_f = 0.15$; 실리카겔, 에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물 664/31/18/7 v/v/v/v.

H₂C-CH₂-D/L-p-CH₃-Phe-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

H-D/L-p-CH₃-Phe-OH.HCl을 출발 물질로 사용하여 실시예 24에 따라 H₂C-CH₂-D/L-p-CH₃-Phe-Pro-Lys-(2-티아졸릴)을 제조하였다. 보호된 트리펩티드(582 mg)에서 차단기를 제거하고, HPLC로 정제하는 과정은 실시예 1과 유사한 조건하에서 수행하였다. 수량: 120 mg.

R_t (LC) : 31.9분; 20% A/80% B→20% A/20% B/60% C(40분).

실시예 34

H₂C-CH₂-D-m-Cl-Phe-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

3-클로로 벤질브로마이드를 출발 물질로 사용하여 실시예 33에 따라 H-D/L-m-Cl-Phe-OH.HCl을 제조하였다. 그 다음, 완전 보호된 트리펩티드를 실시예 26과 동일한 방법에 따라 제조하였다. 최종 단계에서 N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D/L-m-Cl-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)(1 g)을 트리플루오로아세트산과 티오아니졸(실시예 1 참조)로 처리하였다. HPLC로 정제한 후, H₂C-CH₂-D-m-Cl-Phe-Pro-Lys-(2-티아졸릴)(195 mg)을 분리시켰다.

R_t (LC) : 31.7분; 20% A/80% B→20% A/20% B/60% C(40분).

실시예 35

H₂C-CH₂-D-DPA-Pro-Lys-(2-티아졸릴)(DPA=디페닐알라닌)

출발물질로 H-D-DPA-OH.HCl을 사용하여 실시예 24와 유사한 방법에 따라 상기 화합물을 제조하였다. 실시예 1의 방법에 따라, N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D-DPA-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)(570 mg)을 탈보호시키고, HPLC로 정제하여 최종 생성물 194 mg을 수득하였다.

R_t (LC) : 35.6분. 20% A/80% B→20% A/20% B/60% C(40분).

실시예 36

H₂C-CH₂-D-m-OH-Phe-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

출발물질로 H-D/L-m-OH-Phe-OH.HCl을 사용하여 실시예 24와 유사한 방법에 따라 상기 화합물을 제조하였다. 페놀계 수산기는, N-말단에 Boc기를 도입하는 동안 Boc기로 보호하였다. 실시예 1의 방법에 따라, N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D/L-m-OBoc-Phe-Pro-Lys(Cbz)-2-티아졸릴(1.21 g)을 탈보호시키고, HPLC로 정제하여 원하는 부분입체 이성체를 수득하였다. 수량: 99 mg.

R_t (LC) : 23.8분. 20% A/80% B→20% A/20% B/60% C(40분).

실시예 37

H₂OOC-CH₂-D/L-m-OCH₃-Phe-Pro-Lys-(2-티아졸릴)**Boc-D/L-m-OH-Phe-OH**

H-D/L-m-OH-Phe-OH.HCl(5.25 g)을 디옥산(55 ml), 물(28 ml) 및 1N 수산화나트륨 용액(29.0 ml)에 용해시켰다. 디-t-부틸 디카르보네이트(6.95 g)를 첨가하고, 반응 혼합물을 pH 9의 실온에서 밤새 교반하였다. 반응 혼합물을 물(200 ml)로 희석하고, 헵탄으로 추출하였다. 수용성층을 에틸 아세테이트(150 ml)로 희석하고, 1N 염화수소를 이용하여 pH 2로 산성화시켰다. 유기상을 분리하고, 수층을 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기층을 합하고 물과 염수로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시킨 후 진공하에 농축시켰다. 수량: 8.49 g.

TLC : R_f = 0.67, 실리카겔, 에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물 126/20/6/11 v/v/v/v.

Boc-D/L-m-OCH₃-Phe-Ome

N,N-디메틸 포름아미드(60 ml) 중의 Boc-D/L-m-OH-Phe-OH(8.49 g), 탄산나트륨(23.9 g) 및 요오도메탄(20.3 ml)의 혼합물을 60°C에서 48 시간동안 교반하였다. 그 다음, 반응 혼합물을 빙수에 붓고, 2N 염화수소로 pH 2.5가 될 때까지 산성화시킨 다음, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기층을 합하고, 물과 염수로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시키고 진공하에 농축시켰다. 미정제 생성물을 헵탄/에틸 아세테이트 7/3 v/v를 사용하는 실리카겔 크로마토그래피로 정제하였다. 수량: 6.66 g.

TLC : R_f = 0.56, 실리카겔, 헵탄/에틸 아세테이트 3/2 v/v.

H-D/L-m-OCH₃-Phe-Ome.TFA

Boc-D/L-m-OCH₃-Phe-Ome(6.66 g)을 디클로로메탄(20 ml)과 트리플루오로아세트산(20 ml)에 용해시키고, 실온에서 2 시간 교반시켰다. 용매를 감압하에서 제거하고, 미정제 생성물을 톨루엔으로 2회 동시 증발시켰다. 수량: 9.56 g.

TLC : R_f = 0.32, 실리카겔, 에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물 126/20/6/11 v/v/v/v.

H₂OOC-CH₂-D/L-m-OCH₃-Phe-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

H-D/L-m-OCH₃-Phe-Ome.TFA를 사용하여 실시예 24와 유사한 방법에 따라 N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-N-Boc-D/L-m-OCH₃-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)을 제조하였다. 보호된 트리펩티드(624 mg)를 트리플루오로아세트산과 티오아니졸(실시예 1 참조)로 처리한 다음, HPLC로 정제하여 생성물 114 mg를 수득하였다.

R_f(LC) : 29.3분 및 29.8분. 20% A/80% B→20% A/20% B/60% C(40분).

실시예 38**H₂OOC-CH₂-D/L-p-Br-Phe-Pro-Lys-(2-티아졸릴)****Boc-D/L-p-Br-Phe-OH**

t-부탄올/물(1/1 v/v) 25ml 중의 H-D/L-p-Br-Phe-OH(2.44 g) 현탁액을 충분한 양의 묽은 수산화나트륨(1N) 용액으로 pH 9로 조절하였다. 디-t-부틸 디카르보네이트(3.27 g)를 첨가하고, 반응 혼합물을 pH 9로 유지하면서 밤새 교반하였다. 반응 혼합물을 물로 희석하고, 헵탄으로 추출하였다. 수층을 에틸 아세테이트로 희석하고, 2N 염화수소를 사용하여 pH 2.5로 산성화시켰다. 유기상을 분리하고, 수용성 상을 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기층을 합하고 물과 염수로 세척하여, 황산나트륨으로 건조시킨 후 진공하에 농축시켰다. 수량: 3.35 g.

TLC : R_f = 0.32, 실리카겔, 에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물 126/20/6/11 v/v/v/v.

Boc-D/L-p-Br-Phe-Pro-OH

Boc-D/L-p-Br-Phe-OH(3.35 g)를 H-Pro-Ome.HCl과 결합시킨 후, 실시예 26과 동일한 방법에 따라 수산화나트륨으로 비누화시켰다. 수량: 3.13 g.

TLC : R_f = 0.45, 실리카겔, 에틸 아세테이트/메탄올 9/1 v/v.

Boc-D/L-p-Br-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)

실시예 24와 동일한 조건하에서 Boc-D/L-p-Br-Phe-Pro-OH(750 mg)와 H-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)을 결합시켰다. 수량: 1.01 g.

TLC : R_f = 0.85, 실리카겔, 디클로로메탄/메탄올 9/1 v/v.

H-D/L-p-Br-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴).TFA

Boc-D/L-p-Br-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)(1.01 g)을 트리플루오로아세트산(TFA, 10 ml)에 용해시키고, 실온에서 1 시간 교반시켰다. 용매를 감압하에서 제거하였다. 수량: 879 mg.

TLC : R_f = 0.75 및 0.68, 실리카겔, 에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물 63/20/6/11 v/v/v/v.

N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-D/L-p-Br-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)

t-부틸 브로모아세테이트(264 ml)를 아세트니트릴(25 ml) 중의 H-D/L-p-Br-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴).TFA(879 mg) 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물의 pH는 N,N-디이소프로필에틸아민을 사용하여 8로 조

절한 다음, 반응 혼합물을 실온에서 밤새 방치하였다. 용매를 증발에 의해 제거하고, 잔류물을 에틸 아세테이트에 용해시켰다. 유기상을 물, 5% 탄산수소나트륨 및 염수로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시킨 후 진공하에 농축시켰다. 미정제 생성물은 디클로로메탄/메탄올(95/5 v/v)를 용출제로 사용하여 실리카 겔상에서 정제하므로써 보호된 트리펩티드(850 mg)를 수득하였다.

TLC : $R_f = 0.91$, 실리카겔, 에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물 63/20/6/11 v/v/v/v.

H₂C-CH₂-D/L-p-Br-Phe-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-D/L-p-Br-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)(850 mg)을 실시예 1과 동일한 조건하에서 트리플루오로아세트산과 티오아니졸로 처리하고, HPLC로 정제하여 생성물(123 mg)을 수득하였다.

R_f (LC) : 33.9분 및 34.4분. 20% A/80% B→20% A/20% B/60% C(40분).

실시예 39

H₂C-CH₂-D-p-F-Phe-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

상기 화합물은 H-D-p-F-Phe-OH를 출발물질로 하여 실시예 38과 유사한 방법으로 제조하였다. N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-D-p-F-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)(563 mg)을 탈보호(실시예 1 참조)시킨 다음, HPLC로 정제하여 생성물(182 mg)을 수득하였다.

R_f (LC) : 29.7분. 20% A/80% B→20% A/20% B/60% C(40분).

실시예 40

H₂C-CH₂-D/L-m,p-Cl-Phe-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

상기 화합물은 H-D/L-m,p-Cl-Phe-OH를 출발물질로 하여 실시예 38과 유사한 방법으로 제조하였다. N-(t-부틸옥시카르보닐메틸)-D/L-m,p-Cl-Phe-Pro-Lys(Cbz)-(2-티아졸릴)(480 mg)을 탈보호(실시예 1 참조)시킨 다음, HPLC로 정제하여 생성물(191 mg)을 수득하였다.

R_f (LC) : 36.8분 및 37.8분. 20% A/80% B→20% A/20% B/60% C(40분).

실시예 41

BzISO₂-노르Leu(시클로)Gly-LysΨ[COCO]-OH (Bzl = 벤질)

Cbz-Lys(Boc)-OMe

Cbz-Lys(Boc)-OH(28 g)을 디클로로메탄/메탄올=9/1 v/v(500 ml)에 용해시켰다. 2-(1H-벤조트리아졸-1-일)-1,1,3,3-테트라메틸우로늄 테트라플루오로보레이트(23.6 g)를 첨가하고, 트리에틸아민을 첨가하여 pH 8로 조절하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2 시간 교반시켰다. 이 혼합물을 차가운 1N 염화수소 용액, 물, 5% 탄산수소나트륨 및 물 순으로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시켰다. 여액을 증발시키고, 잔류물은 에틸 아세테이트/헵탄=1/4 v/v를 용출제로 하여 실리카겔 크로마토그래피로 정제하였다. Cbz-Lys(Boc)-OMe를 함유한 분획을 수집하고 증발시켰다. 수량: 29.1 g.

TLC : $R_f = 0.85$, 실리카겔, 에틸 아세테이트/헵탄 3/1(v/v).

Cbz-Lys(Boc)Ψ[시아노아세테이트]

무수 디클로로메탄(800 ml) 중의 차가운(-78℃) Cbz-Lys(Boc)-OMe(29.1 g) 용액에, -70℃ 이하로 반응 온도를 유지할 정도의 속도로 디이소부틸 알루미늄하이드라이드(헥산 중의 1M 용액 222 ml)를 적가하였다. 생성된 용액을 -78℃에서 1 시간 교반하였다. 5% 구연산 용액 600 ml를 상기 반응 혼합물에 첨가하였다. 2층 혼합물을 실온에서 10분간 교반한 다음, 층을 분리시키고, 수용성 층을 디클로로메탄으로 추출하였다. 합한 디클로로메탄 층을 물로 세척하고, 황산마그네슘으로 건조시킨 후 여과시켰다. 이 용액을 질소 하에 방치하고, 빙수조에서 냉각시켰다. 여기에, 시안화나트륨(36.3 g)과 벤질트리에틸 암모늄 클로라이드(4.2 g)를 물(600 ml)에 용해시킨 용액을 첨가하였다. 격렬하게 교반하면서 무수 아세트산을 30분에 걸쳐 분할(2x9 ml) 적가하였다. 유기층을 분리시키고, 수용성 층을 디클로로메탄으로 추출하였다. 합한 디클로로메탄 층을 물로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시키고 여과한 후 진공하에 증발시켰다. 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피(용출제: 헵탄/에틸 아세테이트= 1/1 v/v)로 정제하여 Cbz-Lys(Boc)Ψ[시아노아세테이트](26.3 g)를 수득하였다.

TLC : $R_f = 0.60$, 실리카겔, 디클로로메탄/에틸 아세테이트=7/3 v/v.

Cbz-Lys(Boc)Ψ[CHOHCO]-OMe

디에틸 에테르/메탄올=3/1 v/v(600 ml) 중의 Cbz-Lys(Boc)Ψ[시아노아세테이트](26.3 g) 용액을 질소 대기하에서 -20℃로 냉각시키고, -5℃ 이하로 온도를 유지하면서 염산 가스(66 g)를 투입하였다. 반응 혼합물을 4℃로 밤새 유지시켰다. 5℃ 이하로 온도를 유지시키면서 반응 혼합물에 물(100 ml)을 첨가하였다. 실온에서 16 시간 교반시킨 후, 유기층을 분리하고, 물로 세척하였다. 수용성 층을 염화나트륨으로 포화시킨 후, 2차-부탄올/디클로로메탄(= 3/2 v/v)으로 추출하였다. 유기상을 염수로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시키고, 여과한 후 진공하에 증발시켜 미정제 아민 25.4 g을 수득하였다. 잔류물을 N,N-디메틸 포름아미드(400 ml)에 용해시키고, 비스-(t-부틸)무수물(16 g)을 첨가하고, pH 8이 될 때까지 트리에틸아민을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 감압하에서 증발에 의해 용매를 제거하였다. 잔류물을 에틸 아세테이트에 용해시키고, 물과 염수순으로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시키고 여과한 후 증발시켰다. 잔류물은 실리카겔 크로마토그래피(용출제: 에틸 아세테이트/헵탄=4/6 v/v)로

정제하여 Cbz-Lys(Boc)ψ[CHOHCO]-OMe(15.8 g)을 수득하였다.

TLC : R_f = 0.75, 실리카겔, 에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물= 63/20/6/11 v/v/v/v.

H-Lys(Boc)ψ[CHOHCO]-OMe

목탄상의 10% 팔라듐(92 mg)과 1N 염화수소 용액(2.18 ml)을 N,N-디메틸 포름아미드(20 ml) 중의 Cbz-Lys(Boc)ψ[CHOHCO]-OMe(0.92 g) 용액에 첨가하였다. 이 혼합물을 실온의 대기압하에서 3 시간 동안 가수소화시켰다. 여과에 의해 팔라듐 촉매를 제거하고, 용매를 감압하에서 증발에 의해 제거하여 H-Lys(Boc)ψ[CHOHCO]-OMe.HCl을 정량적으로 수득하였다.

TLC : R_f = 0.47, 실리카겔, 에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물 = 88/31/18/7 v/v/v/v.

BzISO₂-노르Leu(시클로)Gly-Lys(Boc)ψ[CHOHCO]-OMe

(S)-3-벤질설포닐아미도-2-옥소-1-아제핀아세트산을 실시예 18에 따라 제조하였다. N,N-디메틸 포름아미드(20 ml) 중의 차가운(0℃) (S)-3-벤질설포닐아미도-2-옥소-1-아제핀아세트산(BzISO₂-노르Leu(시클로)Gly)(400 ml) 용액에 1-히드록시벤조트리아졸(238 mg), 디시클로헥실 카르보디이미드(267 mg), H-Lys(Boc)ψ[CHOHCO]-OMe.HCl(385 mg) 및 트리에틸아민(0.32 ml)을 차례로 첨가하였다. 이 혼합물을 0℃에서 1 시간 동안 교반시키고, 실온으로 밤새 유지시켰다. 이 혼합물을 -20℃로 냉각시키고, 디시클로헥실우레아를 여과에 의해 제거하였다. 여액을 건조 상태로 증발시켰다. 잔류물을 에틸 아세테이트에 용해시키고, 5% 탄산수소나트륨, 물, 2% 구연산, 염화나트륨 포화수용액 순으로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시킨 후 진공하에 농축시켰다. 잔류물은 실리카겔 크로마토그래피(용출제: 디클로로메탄/메탄올 = 9/1 (v/v))로 정제하였다. BzISO₂-노르Leu(시클로)Gly-Lys(Boc)ψ[CHOHCO]-OMe를 함유한 분획을 수집하고 증발시켰다. 수량: 663 mg.

TLC : R_f = 0.91, 실리카겔, 에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물 = 63/20/6/11 v/v/v/v.

BzISO₂-노르Leu(시클로)Gly-Lys(Boc)ψ[CHOHCO]-OH

BzISO₂-노르Leu(시클로)Gly-Lys(Boc)ψ[CHOHCO]-OMe(650 mg)을 디옥산/물= 7/3 v/v(20 ml)에 용해시키고, 실온에서 2M 수산화나트륨 용액(1.05 ml)으로 1 시간에 걸쳐 분할 첨가하여 pH를 12~13으로 유지시켰다. 반응 혼합물을 물(20 ml)로 희석시키고, 2M 염화수소 용액으로 pH 2.00이 될 때까지 산성화시키고, 수층을 디클로로메탄으로 추출하였다. 합한 유기상을 물로 세척하고 황산나트륨으로 건조시키고 여과한 후, 진공하에 농축시켜 BzISO₂-노르Leu(시클로)Gly-Lys(Boc)ψ[CHOHCO]-OH(740 mg)를 수득하였다.

TLC : R_f = 0.44, 실리카겔, 에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물=63/20/6/11 v/v/v/v.

BzISO₂-노르Leu(시클로)Gly-Lys(Boc)ψ[COCO]-OH

무수 디클로로메탄(20 ml) 중의 BzISO₂-노르Leu(시클로)Gly-Lys(Boc)ψ[CHOHCO]-OH(740 mg)의 용액에 퍼요오디난(데스 마틴 시약) 450 mg을 첨가하였다. 실온에서 1 시간 교반시킨 후, 2% 티오황산나트륨(20 ml)을 첨가하고, 이 혼합물을 실온에서 30분간 교반시켰다. 유기층을 분리시키고, 물로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시키고, 여과한 후 진공하에 증발시켜 미정제 BzISO₂-노르Leu(시클로)Gly-Lys(Boc)ψ[COCO]-OH(497 mg)을 수득하였다.

TLC : R_f = 0.45, 실리카겔, 에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물 = 63/20/6/11 v/v/v/v.

BzISO₂-노르Leu(시클로)Gly-Lysψ[COCO]-OH

BzISO₂-노르Leu(시클로)Gly-Lys(Boc)ψ[COCO]-OH(497 mg, 미정제)을 실온에서 1 시간 동안 90% 트리플루오로아세트산/물(10 ml)로 처리하였다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔류물을 물에 용해시킨 후, 분취 HPLC 델타팩 RP C₁₈ (구배 용출계: 45분에 걸쳐 20% A/80% B→20% A/45% B/35% C, 유속 80 ml/분)에 채워넣었다. 수량: BzISO₂-노르Leu(시클로)Gly-Lysψ[COCO]-OH 200 mg.

R_f(LC) : 26.37분; 20% A/80% B→20% A/20% B/60% C(40분).

실시예 42

H-(N-CH₃)-D-노르Leu-Pro-Lysψ[COCO]-OH

Boc-(N-CH₃)-D-노르Leu-Pro-OH

상기 화합물은 실시예 11에 따라 제조하였다. 실시예 1과 유사한 방법으로 H-(N-CH₃)-D-노르Leu-Pro-Lysψ[COCO]-OH를 제조하였다. 수량: 69 mg.

R_f(LC) : 13.27분. 20% A/80% B→20% A/20% B/60% C(40분).

실시예 43

H-D-Phe-Pro-Lysψ[COCO]-OH

Boc-D-Phe-Pro-OMe

N,N-디메틸 포름아미드(200 ml) 중의 차가운(0℃) Boc-D-Phe-OH(5 g) 용액에 1-히드록시벤조트리아졸(4.29 g), 디시클로헥실 카르보디이미드(4.29 g), H-Pro-OMe.HCl(3.1 g) 및

N-에틸모르폴린(3 ml)을 차례로 첨가하였다. 이 혼합물을 0℃에서 1 시간 동안 교반시키고, 실온으로 2 일간 유지시켰다. 이 혼합물을 -20℃로 냉각시키고, 디시클로헥실우레아를 여과에 의해 제거하였다. 여액을 건조 상태로 증발시켰다. 잔류물은 에틸 아세테이트에 용해시키고, 5% 탄산수소나트륨, 0.1M 염화수소 용액, 염화나트륨 포화수용액 순으로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시킨 후 진공하에 농축시켰다. 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피(용출제: 헵탄/에틸 아세테이트=6/4 (v/v))로 정제하였다. Boc-D-Phe-Pro-OMe를 함유한 분획을 수집하고 증발시켰다. 수량: 1.5 g.

TLC : $R_f = 0.90$, 실리카겔, 에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물=163/20/6/11 v/v/v/v.

Boc-D-Phe-Pro-OH

Boc-D-Phe-Pro-OMe(8.3 g)을 디옥산/물 = 6/4 v/v(150 ml)에 용해시키고, 실온에서 2M 수산화나트륨 용액(16.5 ml)으로 1 시간에 걸쳐 적가 처리하여, pH를 12.5로 유지시켰다. 반응 혼합물이 pH 3.0이 될 때까지 2M 염화수소 용액을 첨가하고, 수층을 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 유기상을 물 및 염수로 세척하고 황산나트륨으로 건조시키고 여과한 후 진공하에 농축시켜 Boc-D-Phe-Pro-OH(6.9 g)를 수득하였다.

TLC : $R_f = 0.30$; 실리카겔, 에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물=213/20/6/11 v/v/v/v.

실시에 1과 유사한 방법으로 H-D-Phe-Pro-Lysψ [COC0]-OH를 제조하였다. 수량: 417 mg.

R_f (LC) : 16.22분; 20% A/80% B→20% A/20% B/60% C(40분).

실시에 44

H-(N-CH₃)-D-Phe-(N-시클로펜틸)-Gly-Lysψ [COC0]-OH

Boc-(N-CH₃)-D-Phe-(N-시클로펜틸)-Gly-OH

상기 화합물은 Boc-(N-CH₃)-D-Phe-OH와 HCl·H-(N-시클로펜틸)-Gly-OMe를 사용하여 실시에 3에 따라 제조하였다.

TLC : $R_f = 0.52$, 실리카겔, 디클로로메탄/메탄올 = 9/1 v/v.

실시에 1과 유사한 방법으로 H-(N-CH₃)-D-Phe-(N-시클로펜틸)-Gly-Lysψ [COC0]-OH를 제조하였다. 수량: 87 mg.

R_f (LC) : 23.92분; 20% A/80% B→20% A/20% B/60% C(40분).

실시에 45

에틸설포닐-D-Phe-Pro-Lysψ [COC0]-OH

에틸설포닐-D-Phe-Pro-OH

상기 화합물은 실시에 22에 따라 제조하였다.

실시에 41과 유사한 방법으로 에틸설포닐-D-Phe-Pro-Lysψ [COC0]-OH를 제조하였다. 수량: 90 mg.

R_f (LC) : 28.04분; 20% A/80% B→20% A/20% B/60% C(40분).

실시에 46

(4aR,8aR)-퍼히드로이소퀴놀린-1(R)-카르보닐-Pro-Lysψ [COC0]-OH

2-Cbz-(4aR,8aR)-퍼히드로이소퀴놀린-1(R)-카르보닐-Pro-OH

상기 화합물은 실시에 20에 따라 제조하였다.

실시에 41과 유사한 방법으로 (4aR,8aR)-퍼히드로이소퀴놀린-1(R)-카르보닐-Pro-Lysψ [COC0]-OH를 제조하였다. 수량: 170 mg.

R_f (LC) : 18.95분; 20% A/80% B→20% A/20% B/60% C(40분).

실시에 47

H00C-CH₂-D-Coa-Pro-Lys-(2-티아졸릴)(Coa=시클로-옥틸알라닌)

시클로-옥틸메틸 브로마이드

시클로옥틸메탄올(8.16 g)을 47% HBr 용액(70 ml)에 용해시키고, 130℃에서 1시간 환류시켰다. 반응 혼합물을 빙수(500 ml)에 붓고, 탄산수소나트륨 포화용액(500 ml)을 첨가하였다. 수용액을 디클로로메탄으로 추출하였다. 합한 유기상을 물, 염수로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시키고, 여과한 후 진공하에 농축시켰다. 잔류물은, 용출제로 톨루엔을 사용하여 실리카겔 크로마토그래피로 정제하였다. 시클로-옥틸메틸 브로마이드를 함유한 분획들을 수집하고 증발시켰다. 수량: 9.85 g.

TLC : $R_f = 0.95$, 실리카겔, 톨루엔

(R,S)-에틸-2-아세틸아미노-2-시아노-3-시클로옥틸-프로피오네이트

칼륨 t-부틸레이트(6.85 g)와 에틸 아세틸아미도시아노아세테이트(8.1 g)를 실온에서

디메틸설폭사이드(100 ml)에 용해시켰다. 시클로-옥틸메틸 브로마이드를 디메틸설폭사이드(25 ml)에 용해시키고, 반응 혼합물에 적가하였다. 이 혼합물을 실온에서 44 시간 동안 교반하였다. 이것을 물 500 ml에 부은 다음, 침전물을 여과하고 건조시켜 (R,S)-에틸-2-아세틸아미노-2-시아노-3-시클로옥틸-프로피오네이트(2.95 g)를 수득하였다.

TLC : $R_f = 0.50$, 실리카겔, 헵탄/에틸 아세테이트=3/7 v/v.

H-D,L-시클로-옥틸알라닌-OH.HCl

(R,S)-에틸-2-아세틸아미노-2-시아노-3-시클로옥틸-프로피오네이트(2.95 g)를 20% 염화수소 용액 100 ml에 현탁시키고, 22 시간 동안 환류시켰다. 반응 혼합물을 5°C로 냉각시키고, 형성된 침전물을 여과시키고, 디에틸 에테르로 세척한 후 건조시켰다. 수량: H-D,L-시클로-옥틸알라닌-OH.HCl(H-D,L-Coa-OH.HCl) 2.69 g.

TLC : $R_f = 0.27$, 실리카겔, 에틸 아세테이트/피리딘/아세트산/물=63/20/6/11 v/v/v/v.

실시에 24와 유사한 방법으로 H₂C-CH₂-D-Coa-Pro-Lys-(2-티아졸릴)을 제조하였다. 수량: 162 mg.

R_f (LC) : 38.35분; 20% A/80% B→20% A/20% B/60% C(40분).

실시에 24와 유사한 방법으로 다음과 같은 화합물들을 제조하였다.

실시에 48

H₂C-CH₂-D-2-Nal-Pro-Lys-(2-티아졸릴)(Nal=나프틸알라닌)

수량: 423 mg.

R_f (LC) : 35.78분; 20% A/80% B→20% A/20% B/60% C(40분).

실시에 49

H₂C-CH₂-D-노르Leu-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

수량: 344 mg.

R_f (LC) : 24.84분; 20% A/80% B→20% A/20% B/60% C(40분).

실시에 50

H₂C-CH₂-D-Leu-Pro-Lys-(2-티아졸릴)

수량: 138 mg.

R_f (LC) : 24.50분; 20% A/80% B→20% A/20% B/60% C(40분).

실시에 51

항트롬빈 분석

트롬빈(인자 11a)은 응고 단계중의 한 인자이다. 본 발명의 화합물의 항트롬빈 활성은, 트롬빈에 의한 색원체 기질 s-2238의 가수분해 속도를 분광광도계로 측정함으로써 분석하였다. 완충계중의 항트롬빈 활성에 대한 이러한 분석은, 시험용 화합물의 IC₅₀ 값을 평가하는데 사용하였다.

시험 매질: 트로메타민-NaCl-폴리에틸렌 글리콜 6000(TNP) 완충제. 비교 화합물: 12581(Kabi). 부형제: TNP 완충제. 용해도는, 최종 반응 혼합물중의 농도가 2.5% 이하에서는 나쁜 영향을 미치지 않는 디메틸설폭사이드, 메탄올, 에탄올, 아세토니트릴 또는 t-부틸 알콜로 측정할 수 있다.

기술 요약: 1. 트로메타민-NaCl(TN) 완충제. 완충제의 조성: 트로메타민(트리스) 6.057 g(50 mmol), NaCl 5.844 g(100 mmol), 물 1 l가 되는 함량. 용액의 pH는 37°C에서 HCl(10 mmol/l)을 사용하여 7.4로 조절한다. 2. TNP 완충제: 폴리에틸렌 글리콜 6000을 TN 완충제에 용해시켜 농도가 3 g/l이 되도록 한다. 3. S-2238 용액: 하나의 바이알 S-2238(25 mg; 스웨덴 소재의 카비 다이아그노스티카 시판)을 TN 완충제 20 ml에 용해시켜 농도가 1.25 mg/ml(2 mmol/l)이 되도록 한다. 4. 트롬빈 용액: 인체 트롬빈(16000 nKat/바이알; 네덜란드, 암스테르담 소재의 센트랄 래보러토리움 푸어 블뢰드트랜스푸지 제공)을 TNP 완충제에 용해시켜 원액 835 nKat/바이알을 얻었다. 이 용액은, 사용하기 직전에 TNP 완충제로 희석시켜 농도를 3.34 nKat/ml로 하였다.

- * 사용된 모든 성분들은 분석용 등급이다.
- 수용액에는 초정수(Milli-Q 품질)를 사용한다.

시험 화합물 용액 및 비교 화합물 용액의 제조

시험 화합물 및 비교 화합물을 물(Milli-Q)에 용해시켜 원액 농도를 10⁻² mol/l로 하였다. 부형제를 사용하여 각 농도를 단계적으로 희석시켜, 농도가 10⁻³, 10⁻⁴ 및 10⁻⁵ mmol/l가 되도록 하였다. 원액을 비롯한 희석액들을 분석에 사용하였다 (반응 혼합물의 최종 농도: 각각 3 · 10⁻³; 10⁻³; 3 · 10⁻⁴; 10⁻⁴; 3 · 10⁻⁵; 10⁻⁵; 3 · 10⁻⁶ 및 10⁻⁶ mmol/l).

방법

실온에서 시험 화합물 또는 비교 화합물 용액 또는 부형제 0.075 ml 및 0.025 ml를 미량역가판의 웰에 교대로 피펫 첨가하고, 이 용액들을 각각 TNP 완충액 0.115 ml 및 0.0165 ml로 희석시켰다. S-2238 용액 0.030 ml를 각각의 웰에 첨가하고, 상기 판을 예열하고, 항온 배양기(애머삼)에서 37°C하에 10분간 진탕하면서 예비 항온 배양시켰다. 예비 항온 배양시킨 다음, 각각의 웰에 트롬빈 용액 0.030 ml를 첨가하여 S-2238을 가수분해 시키기 시작했다. 상기 판을 37°C에서 (30초간 진탕하면서) 항온 배양시켰다. 항온 배양 개시 1분 후, 각 시료의 405 nm에서의 흡수도를 90분간 매 2분 마다 동역학적 미량역가판 판독기(트윈리더 플러스, 플로우 래보러토리즈)를 사용하여 측정하였다.

모든 데이터는 LOTUS-MEASURE를 사용하여 IBM 퍼스널 컴퓨터에 수집하였다. 각 화합물 농도(mol/l (반응 혼합물)로 표시함) 및 블랭크에 대해, 흡수도를 반응 시간(분)에 대응하여 구성시켰다.

반응의 평가: 최종 농도에서 최대 흡수치는 분석 구성을 통해 산출하였다. IC₅₀ 값(최종 농도, μmol/l로 표시, 블랭크에서 최대 흡수도를 50% 억제하는 농도)은, 하프너의 다수의 문헌[Arzneim.-Forsch./Drug Res. 1977; 27(11); 1871-3]에 따른 로지트 변환 분석법을 사용하여 산출하였다.

본 발명 화합물의 IC₅₀ 값은 하기 표 1에 기록하였다.

[표 1]

실시예	IC ₅₀ 값(μM)
2(e)	4.5
4(b)	4.34
39	19
41	0.135

(57) 청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 1의 비지연 결합성 트롬빈 억제제, 또는 이것의 전구 약물, 또는 이것의 약학적 허용염.

화학식 1

A-B-C-Lys-D

식 중, A는 수소, 2-히드록시-3-시클로헥실-프로피오닐-, R₁, R₁-O-CO-, R₁-CO-, R₁-SO₂-, -(CHR₂)_nCOOR₃, 또는 N-보호기로서,

R₁은 (C₁₋₆)알킬렌-COOH, (C₁₋₁₂)알킬, (C₂₋₁₂)알케닐, (C₆₋₁₄)아릴, (C₇₋₁₅)아르알킬 및 (C₈₋₁₆)아르알케닐중에서 선택되고, 이들 아릴기는 (C₁₋₆)알킬, (C₂₋₁₂)알콕시, 히드록시, 또는 할로겐으로 치환될 수 있고,

R₂는 수소이거나 또는 R₁과 동일하고,

R₃은 수소, (C₁₋₁₂)알킬, (C₂₋₁₂)알케닐, (C₆₋₁₄)아릴, (C₇₋₁₅)아르알킬 및 (C₈₋₁₆)아르알케닐중에서 선택되고, 이들 아릴기는 (C₁₋₆)알킬, (C₂₋₁₂)알콕시, 히드록시, 또는 할로겐으로 치환될 수 있고,

n은 1 내지 3의 정수이고;

B는 결합, L-Asp 또는 이들의 에스테르 유도체, Leu, 노르 Leu, -N(벤질)-CH₂-CO-, -N(2-인단)-CH₂-CO-, D-1-Piq, D-3-Piq, D-Tiq, Atc 또는 소수성 방향족 측쇄를 가진 D-아미노산이고;

C는 Azt, Pro, Pec, 노르 Leu(시클로)Gly, 식 -N[(C₃₋₈)시클로알킬]-CH₂-CO- 또는 N-(벤질)-CH₂-CO-중 하나의 아미노산이고;

D는 COOH, 테트라졸, 옥사졸, 티아졸 및 벤조티아졸중에서 선택되거나; 또는

A 및 C는 상기 언급된 의미를 가지고, B는 D-(C₃₋₈)시클로알킬알라닌이며, D는 테트라졸, 옥사졸, 티아졸 또는 벤조티아졸로서,

단 상기 화합물중 화합물 Me-D-Phe-Pro-Lys-COOH는 제외된다.

청구항 2

제1항에 있어서, D가 COOH인 비지연 결합성 트롬빈 억제제.

청구항 3

제2항에 있어서, A가 수소, (C₁₋₁₂)알킬, -CO-(C₇₋₁₅)아르알킬, -SO₂-(C₁₋₁₂)알킬, -SO₂-(C₆₋₁₄)아릴, 또는 -SO₂-(C₇₋₁₅)아르알킬이고, B는 결합, L-Asp, 노르Leu, D-1-Piq, 또는 D-Phe이며, C는 Pro, 노르 Leu(시클로)Gly, 또는 -N-(시클로펜틸)-CH₂-CO-인 비지연 결합성 트롬빈 억제제.

청구항 4

제3항에 있어서, A가 $-SO_2$ -벤질이고, B는 결합이며, C가 노르Leu(시클로)Gly이거나, 또는 A가 $-SO_2$ -에틸이고, B가 D-Phe이며, C가 Pro이거나, 또는 A가 수소이고, B가 D-1-Piq이며, C가 Pro인 비지연 결합성 트롬빈 억제제.

청구항 5

제1항에 있어서, D가 옥사졸 또는 티아졸인 비지연 결합성 트롬빈 억제제.

청구항 6

제5항에 있어서, A가 수소, (C_{1-12}) 알킬, 2-히드록시-3-시클로헥실-프로피오닐, $-CO(C_{7-15})$ 아르알킬, $-CO-(CH_2)_nCOOH$, $-SO_2-(C_{6-14})$ 아릴, $-SO_2-(C_{7-15})$ 아르알킬, $-SO_2-(C_{1-12})$ 알킬, $-(CHR_2)_nCOOR_3$ 이고, R_2 가 수소 또는 (C_{1-12}) 알킬이며, R_3 가 수소, (C_{1-12}) 알킬 또는 벤질이고, C가 Pro, 노르Leu(시클로)Gly, 또는 $-N[(C_{3-8})$ 시클로알킬] $-CH_2-CO-$ 인 비지연 결합성 트롬빈 억제제.

청구항 7

제1항에 있어서, 적당히 보호된 아미노산 또는 아미노산 유사체를 결합시킨 후 보호기를 제거하는 제1항의 비지연 결합성 트롬빈 억제제의 제조방법.

청구항 8

제1항 내지 제6항중 어느 한항의 비지연 결합성 트롬빈 억제제 및 약학적 허용 보조제를 포함하는 약학 조성물.

청구항 9

제1항 내지 제6항중 어느 한항에 있어서, 치료에 유용한 비지연 결합성 트롬빈 억제제.

청구항 10

제1항 내지 제6항중 어느 한항의 비지연 결합성 트롬빈 억제제를 항혈전 약물의 제조에 사용하는 방법.