



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2020년03월31일  
(11) 등록번호 10-2094928  
(24) 등록일자 2020년03월24일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C07K 5/062 (2006.01) B01J 19/00 (2018.01)  
C07C 271/34 (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
C07K 5/06017 (2013.01)  
B01J 19/00 (2018.01)
- (21) 출원번호 10-2019-7014335(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2013년05월13일  
심사청구일자 2019년06월14일
- (85) 번역문제출일자 2019년05월17일
- (65) 공개번호 10-2019-0057437
- (43) 공개일자 2019년05월28일
- (62) 원출원 특허 10-2014-7031824  
원출원일자(국제) 2013년05월13일  
심사청구일자 2018년05월10일
- (86) 국제출원번호 PCT/EP2013/059759
- (87) 국제공개번호 WO 2013/171135  
국제공개일자 2013년11월21일
- (30) 우선권주장  
12168119.1 2012년05월15일  
유럽특허청(EPO)(EP)
- (56) 선행기술조사문헌  
W02013092703 A2  
JP2006233405 A  
KR1020140114845 A

- (73) 특허권자  
에프. 호프만-라 로슈 아게  
스위스 체하-4070 바젤 그린짜체스트트라쎌 124
- (72) 발명자  
푸엔테너 쿠르트  
스위스 체하-4052 바젤 겔레르스트트라쎌 135
- (74) 대리인  
제일특허법인(유)

전체 청구항 수 : 총 6 항

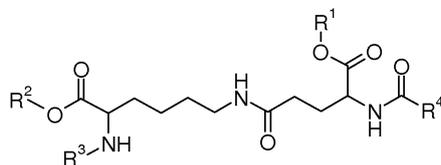
심사관 : 문명순

(54) 발명의 명칭 리신-글루탐산 다이펩티드 유도체

(57) 요약

본 발명은 하기 화학식 I의 화합물, 이의 제조 방법 및 고체 상 펩티드 합성에 있어서 생성물의 용도에 관한 것이다. 하기 화학식 I의 화합물은 펩티드 쇠의 Lys-부분에 부착된 Glu-지방 알킬 측쇄 빌딩 블록을 포함하는 펩티드 약물의 고체 상 펩티드 합성(SPPS)을 위한 다목적 펩티드 중간체이다.

[화학식 I]



상기 식에서,

R<sup>1</sup> 내지 R<sup>4</sup>는 본원에 기재된 바와 같다.

(52) CPC특허분류

**C07C 271/34** (2013.01)

**Y02P 20/55** (2015.11)

---

명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 I의 화합물의 제조 방법으로서,

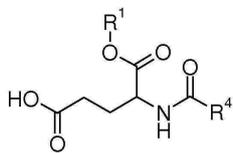
(a) 하기 화학식 II의 글루탐산 유도체 또는 이의 염을 하기 화학식 III의 리신 유도체 또는 이의 염과 커플링시켜 하기 화학식 Ic의 화합물을 형성하고;

(b) 에스터 보호기 R<sup>2'</sup>을 제거함

을 포함하고,

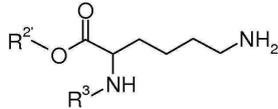
에스터 보호기가 C<sub>1-4</sub>-알킬, 페닐로 치환된 C<sub>1-4</sub>-알킬, C<sub>2-4</sub>-알켄일, 피페리딘일 및 다이메틸아미노보란일로부터 선택되는, 방법:

[화학식 II]



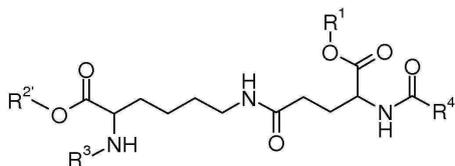
[상기 식에서, R<sup>1</sup>은 수소 또는 에스터 보호기이고, R<sup>4</sup>는 C<sub>12-20</sub>-알킬이다]

[화학식 III]



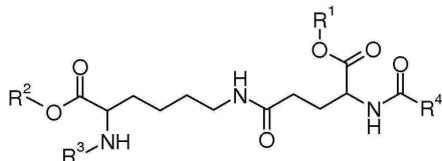
[상기 식에서, R<sup>2'</sup>은 에스터 보호기이고, R<sup>3</sup>은 수소 또는 9H-플루오렌-9-일메톡시카본일이다]

[화학식 Ic]



[상기 식에서, R<sup>1</sup>, R<sup>2'</sup>, R<sup>3</sup> 및 R<sup>4</sup>는 상기한 바와 같다]

[화학식 I]



[상기 식에서, R<sup>2'</sup>는 수소이고, R<sup>1</sup>, R<sup>3</sup> 및 R<sup>4</sup>는 상기한 바와 같다].

청구항 2

삭제

**청구항 3**

제 1 항에 있어서,  
R<sup>1</sup>이 3급-부틸인 방법.

**청구항 4**

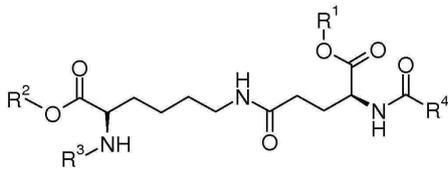
삭제

**청구항 5**

제 1 항에 있어서,  
R<sup>4</sup>가 C<sub>14-16</sub>-알킬인 방법.

**청구항 6**

제 1 항에 있어서,  
화학식 I의 화합물이 하기 화학식 Ib의 화합물, 또는 이의 거울상이성질체, 부분입체이성질체 또는 염인 방법:  
[화학식 Ib]



[상기 식에서, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> 및 R<sup>4</sup>는 제1항에 기재한 바와 같다.]

**청구항 7**

제 1 항에 있어서,  
R<sup>1</sup>이 3급-부틸이고, R<sup>3</sup>이 9H-플루오렌-9-일메톡시카본일이고, R<sup>4</sup>가 C<sub>15</sub>-알킬인 방법.

**청구항 8**

제 7 항에 있어서,  
R<sup>1</sup>이 3급-부틸이고, R<sup>3</sup>이 9H-플루오렌-9-일메톡시카본일이고, R<sup>4</sup>가 펜타데실인 방법.

**청구항 9**

삭제

**청구항 10**

삭제

**청구항 11**

삭제

**청구항 12**

삭제

**청구항 13**

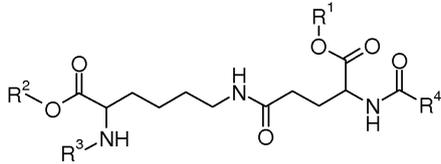
삭제

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 본 발명은 하기 화학식 I의 화합물, 또는 이의 거울상이성질체, 부분입체이성질체 및 염에 관한 것이다:

[0002] [화학식 I]



[0003]  
 [0004] 상기 식에서,  
 [0005] R<sup>1</sup> 및 R<sup>2</sup>는 동일하거나 상이하고, 수소 또는 에스터 보호기를 나타내고;  
 [0006] R<sup>3</sup>은 수소 또는 아미노 보호기이고;  
 [0007] R<sup>4</sup>는 C<sub>12-20</sub>-알킬이다.

[0008] 추가 실시양태에서 본 발명은 상기 화학식 I의 화합물의 제조 방법 및 고체 상 펩티드 합성에 있어서 상기 화학식 I의 화합물의 용도에 관한 것이다.

**배경 기술**

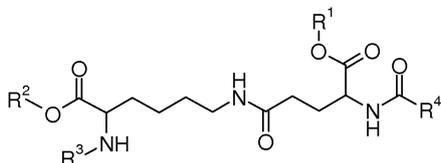
[0009] 본 발명의 화합물은 펩티드 쇄의 Lys-부분에 부착된 Glu-지방 알킬 측쇄 빌딩 블록을 포함하는 펩티드 약물의 고체 상 펩티드 합성(SPPS)을 위한 다목적 펩티드 중간체인 것으로 밝혀졌다. 예를 들면, 리라글루티드(Liraglutide)가 언급될 수 있고, 이는 GLP-1 유사 당뇨병-2 펩티드 약물이다. 리라글루티드는 Lys<sup>26</sup> 위치에서 Glu-헥사데칸오일 측쇄 빌딩 블록을 운반한다(문헌[Wikipedia, the free encyclopedia of 30.04.2012]).

**발명의 내용**

[0010] 본 발명의 목적은 Glu-지방 알킬 측쇄를 운반하고 SPPS에서 용이하게 삽입될 수 있는 신규한 펩티드 중간체를 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 하기 화학식 I의 화합물, 또는 이의 거울상이성질체, 부분입체이성질체 및 염이 상기 목적을 매우 잘 제공하는 잠재력을 가짐을 발견하였다:

[0012] [화학식 I]

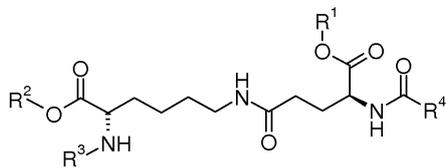


[0013]  
 [0014] 상기 식에서,  
 [0015] R<sup>1</sup> 및 R<sup>2</sup>는 동일하거나 상이하고, 수소 또는 에스터 보호기를 나타내고;  
 [0016] R<sup>3</sup>은 수소 또는 아미노 보호기이고;  
 [0017] R<sup>4</sup>는 C<sub>12-20</sub>-알킬이다.

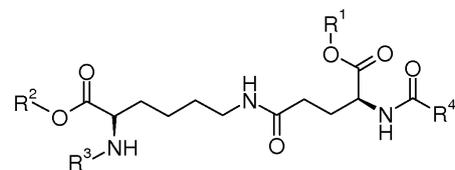
**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

- [0018] 치환기 R<sup>4</sup>에 대하여 사용된 용어 "C<sub>12-20</sub> 알킬"은 12 내지 20개 탄소 원자의 분지쇄 또는 직쇄 1가 포화 지방족 탄화수소 라디칼, 특히 직쇄 1가 포화 지방족 탄화수소 라디칼을 지칭한다. 상기 용어는 라디칼 도데실, 트라이데실, 테트라데실, 펜타데실, 헥사데실, 헵타데실, 옥타데실, 노나데실 및 에ικο산일에 의해 예시될 수 있다.
- [0019] 특정 실시양태에서 R<sup>4</sup>는 C<sub>14-16</sub> 알킬, 더욱 더 특히 C<sub>15</sub> 알킬을 지칭한다.
- [0020] 더욱 특히 R<sup>4</sup>는 테트라데실, 펜타데실 또는 헥사데실이지만, 특히 펜타데실이다.
- [0021] 치환기 R<sup>3</sup>에 대하여 사용된 용어 "아미노 보호기"는 아미노 기의 반응성을 방해하기 위해 통상적으로 사용된 통상의 치환기를 지칭한다. 적합한 아미노 보호기는 문헌["Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis - A Practical Approach" W.C. Chan & P.D. White, Oxford University Press, 2000](2004년 재 인쇄, 디지털 인쇄)에 기재되어 있다.
- [0022] 특히 R<sup>3</sup>은 Fmoc(9H-플루오렌-9-일메톡시카본일)이다.
- [0023] 치환기 R<sup>1</sup> 및 R<sup>2</sup>에 대하여 사용된 용어 "에스터 보호기"는 하이드록시 기의 반응성을 방해하기 위해 통상적으로 사용된 임의의 치환기를 지칭한다. 적합한 하이드록시 보호기는 문헌[Green T., "Protective Groups in Organic Synthesis", Chapter 1, John Wiley and Sons, Inc., 1991, 10-142]에 기재되어 있고, 페닐로 임의적으로 치환된 C<sub>1-4</sub>-알킬, C<sub>2-4</sub>-알켄일, 피페리딘일 및 다이메틸아미노보란일로부터 선택될 수 있다. R<sup>1</sup> 및 R<sup>2</sup>에 대한 특정한 에스터 보호기는 C<sub>1-4</sub>-알킬 또는 C<sub>2-4</sub>-알켄일이다.
- [0024] 더욱 특히 R<sup>1</sup>은 3급-부틸이고, R<sup>2</sup>는 알릴이다.
- [0025] 본 발명의 화합물과 관련되어 용어 "염"은 당업자가 적용할 수 있는 통상의 염, 예컨대, 하이드로클로라이드, 아세테이트, 트라이플루오로아세테이트 또는 포름에이트를 포함한다.
- [0026] 본 발명의 특정 실시양태에서 R<sup>1</sup>은 수소 또는 C<sub>1-4</sub>-알킬이고, R<sup>2</sup>는 수소 또는 C<sub>2-4</sub>-알켄일이다.
- [0027] 본 발명의 또다른 더욱 특정한 실시양태에서 R<sup>1</sup>은 3급-부틸이고, R<sup>2</sup>는 수소 또는 알릴이다.
- [0028] 본 발명의 특정 실시양태에서 화학식 I의 화합물은 하기 화학식 Ia 또는 화학식 Ib의 화합물, 또는 이의 거울상 이성질체, 부분입체이성질체 및 염을 갖는다:

[0029] [화학식 Ia]



[0030] [화학식 Ib]



[0031] 상기 식에서,

[0034]  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$  및  $R^4$ 는 상기한 바와 같다

[0035] 본 발명의 더욱 더 특정한 실시양태에서 화학식 Ia 또는 Ib의 화합물은 하기와 같은 치환 패턴을 갖는다:

[0036] ·  $R^1$ 은 3급-부틸이고,  $R^2$ 는 수소이고,  $R^3$ 은 Fmoc이고,  $R^4$ 는  $C_{15}$ -알킬, 특히 펜타데실이다.

[0037] ·  $R^1$ 은 3급-부틸이고,  $R^2$ 는 알틸이고,  $R^3$ 은 Fmoc이고,  $R^4$ 는  $C_{15}$ -알킬, 특히 펜타데실이다.

[0038] 더욱 특정한 실시양태에서 화학식 I의 화합물은 화학식 Ia의 화합물을 갖는다.

[0039] 본 발명의 화합물은 원칙적으로 펩티드 합성 분야의 숙련자에게 공지된 방법으로 제조될 수 있다.

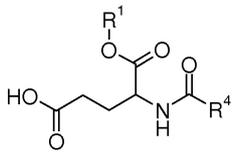
[0040]  $R^2$ 가 수소인 화학식 I의 화합물의 제조 방법은,

[0041] (a) 하기 화학식 II의 글루탐산 유도체 또는 이의 염을 하기 화학식 III의 리신 유도체 또는 이의 염과 커플링시켜 하기 화학식 Ic의 화합물을 형성하는 단계; 및

[0042] (b) 에스터 보호기  $R^{2'}$ 을 제거하는 단계

[0043] 를 포함한다:

[0044] [화학식 II]

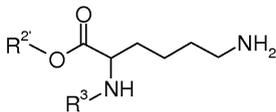


[0045]

[0046] [상기 식에서,

[0047]  $R^1$  및  $R^4$ 는 상기한 바와 같다]

[0048] [화학식 III]



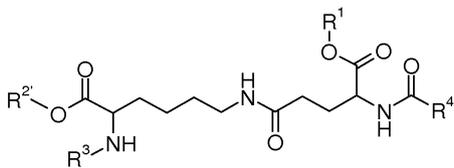
[0049]

[0050] [상기 식에서,

[0051]  $R^{2'}$ 은 에스터 보호기이고;

[0052]  $R^3$ 은 상기한 바와 같다]

[0053] [화학식 Ic]



[0054]

[0055] [상기 식에서,

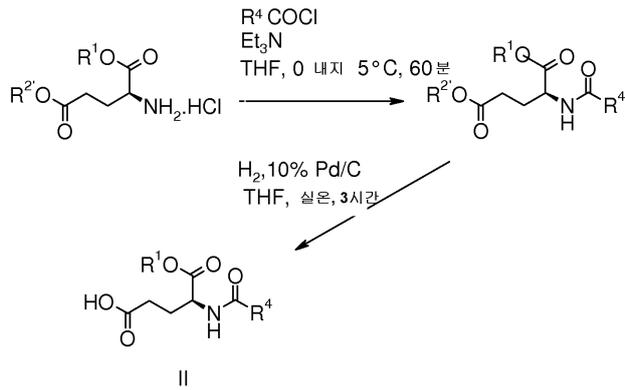
[0056]  $R^1$ ,  $R^{2'}$ ,  $R^3$  및  $R^4$ 는 상기한 바와 같다]

[0057] 단계 (a)

[0058] 단계 (a)는 화학식 II의 글루탐산 유도체를 화학식 III의 리신 유도체와 커플링시키는 단계를 필요로 한다.

[0059] 화학식 II의 글루탐산 유도체는 시판중인 출발 물질로부터 시작하여 하기 반응식 1에 따라 제조될 수 있다.

[0060] [반응식 1]



[0061]

[0062] 화학식 II의 적합한 시판중인 글루탐산 유도체는 (S)-5-벤질 1-3급-부틸 2-아미노-펜탄다이오에이트 하이드로클로라이드이다.

[0063] 화학식 III의 리신 유도체는 시판중이다. (S)-알릴 6-아미노-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카본일아미노)-6-아미노헥사노에이트가 적합하게 사용된다.

[0064] 이어서, 화학식 II의 글루탐산 유도체를 화학식 III의 리신 유도체와 커플링시켜 펩티드 합성에 대한 고전적인 기법을 적용하여 수행할 수 있다.

[0065] 따라서, 화학식 II의 글루탐산 유도체는 처음에 당해 분야에서 통상적인 활성화제, 예컨대, 카본일다이이미다졸 (CDI), 예를 들면, 다이사이클로헥실카보다이이미드(DCC) 및 다이이소프로필카보다이이미드(DIC)로부터 선택된 카보다이이미드, 또는 예를 들면, 1-하이드록시-벤조트리아아졸(HOBt) 및 1-하이드록시-7-아자-벤조트리아아졸(HOAt)로부터 선택된 트리아아졸로 활성화된다.

[0066] 우수한 결과는 적합한 유기 용매, 예를 들면, 다이클로로메탄에 적용된 CDI(1,1'-카본일다이이미다졸)로 달성되었다.

[0067] 이어서, 유기 염기, 예컨대, 트리에틸아민의 존재하에, 일반적으로 실온에서 화학식 III의 리신 유도체와 커플링을 수행할 수 있다.

[0068] 화학식 Ib의 생성된 다이펩티드 화합물은 용매의 증발 및 이후 적합한 유기 용매, 예컨대, 디에틸 에터 중 잔기의 환화에 의해 유기 상으로부터 수득될 수 있다.

[0069] 상기 요약된 화학식 Ia의 아속으로서 화학식 Ib의 화합물은 본 발명의 특정한 실시양태이다.

[0070] 화학식 Ib의 특정한 대표적인 화합물은 R<sup>1</sup>이 3급-부틸이고, R<sup>2</sup>'이 알릴이고, R<sup>3</sup>이 Fmoc이고 R<sup>4</sup>가 펜타데실인 (S)-알릴 2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카본일아미노)-6-((S)-5-3급-부톡시-5-옥소-4-팔미트아미도펜탄아미도)헥사노에이트이다.

[0071] 단계 (b)

[0072] 단계 (b)는 에스터 보호기 R<sup>2</sup>'을 제거하여 화학식 Ia의 화합물을 형성하는 단계를 필요로 한다.

[0073] 이 반응은 당업자에게 잘 알려져 있다.

[0074] 알릴 기를 제거하기 위한 적합한 시스템은 유기 용매, 예컨대, 다이클로로메탄, 테트라하이드로푸란 또는 메틸 테트라하이드로푸란 중 예를 들면, 테트라키스(트라이페닐포스핀)팔라듐(0)과 같은 Pd-공급원의 용액 및 페닐 실란의 용액이다.

[0075] 반응은 실온에서 발생할 수 있다.

[0076] 화학식 Ia의 생성된 다이펩티드는 용매의 증발 및 이후 조질 생성물을 적합한 유기 용매, 예컨대, 헵탄 및/또는 헵탄/다이클로로메탄의 혼합물로 분해함으로써 유기 상으로부터 수득될 수 있다.

[0077] 상기 요약된 바와 같이, 화학식 I의 화합물은 고체 상 펩티드 합성, 특히 펩티드 쇄의 Lys-부분에 부착된 Glu-지방 알킬 측쇄 빌딩 블록을 포함하는 펩티드의 합성에서 다목적 중간체로서 사용될 수 있다.

[0078] 더욱 더 특히 화학식 I의 화합물은 상기 펩티드의 FMOC 고체 상 펩티드 합성에 사용될 수 있다.

[0079] **실시예**

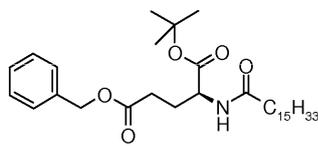
[0080] 약어:

[0081] r. t. = 실온; DCM = 다이클로로메탄; THF = 테트라하이드로푸란; TBME = 3급-부틸 메틸 에터; EtOAc = 에틸 아세테이트; TLC = 박막 크로마토그래피.

[0082] **실시예 1**

[0083] **(S)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카본일아미노)-6-(((S)-5-3급-부톡시-5-옥소-4-팔미트아미도펜탄아미도)헥산산**

[0084] a) (S)-5-벤질 1-3급-부틸 2-팔미트아미도펜탄다이오에이트

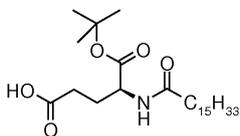


[0085] 200 mL 3 목 플라스크 내에서, (S)-5-벤질 1-3급-부틸 2-아미노-펜탄다이오에이트 하이드로클로라이드(5.00 g, 14.9 mmol), 트라이에틸아민(3.12 g, 30.7 mmol) 및 테트라하이드로푸란(100 mL)의 혼합물을 0 내지 5°C에서 15 분 동안 교반하였다. 상기 현탁액에, 팔미토일 클로라이드(4.35 g, 15.5 mmol)를 주사기를 통해 10 분 이내에 첨가하였다. 반응 혼합물을 추가 30 분 동안 0 내지 5°C에서 교반하였다. TLC(EE/헵탄 1:1, R<sub>F</sub> 출발 물질 = 0.1, R<sub>F</sub> 생성물 = 0.6, 254 nm에서 코마로우스키 시약(Komarowsky's reagent)을 사용하여 검출됨(문헌[P. Stevens, *J. Chromatog.* **1964**, *14*, 269] 참고))에 관해서 전환을 완료하였다. 상기 반응 혼합물에, 물(60 mL) 및 3급-부틸 메틸 에터(70 mL)를 첨가하고 혼합물을 실온에서 5 분 동안 교반하였다. 유기 층을 분리하고, 염수(120 mL)로 세척하고, 나트륨 설페이트 상에서 건조하고, 건조 증발시켜 98.9% 화학 순도를 갖는 백색 고체로서 (S)-5-벤질 1-3급-부틸 2-팔미트아미도펜탄다이오에이트(8.21 g, >99%)를 수득하였다(하기 LC 방법 참조).

[0087] 융점: 47°C; EI-MS: m/z=531.39 (M+H)<sup>+</sup>.

[0088] LC 방법: X-브릿지(Bridge) 페닐 컬럼 번호 823, 50 x 4.6 mm, ID 2.5 μm; 이동상, A: 물/NCMe(95:5), B: NCMe, C: 물/글리신(pH 9); 유속: 3 ml/분; 2 분 이내에 50/4/55(A/B/C)로부터 7/88/5(A/B/C)까지 구배, 0.8 분 동안 등용매 7/88/5(A/B/C). 체류 시간: 0.54 분((S)- 및 (R)-5-벤질 1-3급-부틸 2-아미노-펜탄다이오에이트), 2.17 분((S)- 및 (R)-5-벤질 1-3급-부틸 2-팔미트아미도펜탄다이오에이트).

[0089] b) (S)-5-3급-부톡시-5-옥소-4-팔미트아미도펜탄산

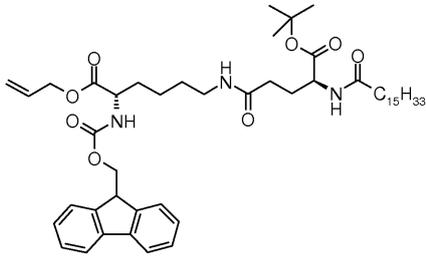


[0090] 250 mL 3목 플라스크 내에서, 조질 (S)-5-벤질 1-3급-부틸 2-팔미트아미도펜탄다이오에이트(13.2 g, 24.8 mmol), 10% Pd/C(1.31 g, 1.20 mmol) 및 THF(150 mL)의 혼합물을 수소 대기하에 실온에서 교반하였다. TLC(EE/헵탄 1:1, R<sub>F</sub> 출발 물질 = 0.5, R<sub>F</sub> 생성물 = 0.2, 코마로우스키 시약을 사용하여 검출됨(문헌[P. Stevens, *J. Chromatog.* **1964**, *14*, 269] 참조))에 관해서, 23 시간 후 전환을 완료하였다. 흑색 현탁액을 섬유유리 필터를 통해 통과시키고, 생성된 무색 여액을 건조 증발시켜 조질 생성물(11.3 g)을 수득하고, 이어서 이를 헵탄으로부터의 결정화를 통해 정제하여 97.7% 화학 순도를 갖는 백색 고체로서 (S)-5-3급-부톡시-5-옥소-4-팔미트아미도펜탄산(8.78 g, 76% 수율)을 수득하였다(하기 LC 방법 참조).

[0092] 융점: 63°C; EI-MS: m/z=440.33 (M-H)<sup>-</sup>.

[0093] LC 방법: X-브릿지 페닐 컬럼 번호 823, 50 x 4.6 mm, ID 2.5 μm; 이동상, A: 물/NCMe(95:5), B: NCMe, C: 물 /글리신(pH 9); 유속: 3 ml/분; 2 분 이내에 50/4/55(A/B/C)로부터 7/88/5(A/B/C)까지 구배, 0.8 분 동안 등용매 7/88/5(A/B/C). 체류 시간: 0.77 분((S)- 및 (R)-5-3급-부톡시-5-옥소-4-팔미트아미도펜탄산), 2.17 분((S)- 및 (R)-5-벤질 1-3급-부틸 2-팔미트아미도펜탄다이오에이트).

[0094] c) (S)-알릴 2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카본일아미노)-6-((S)-5-3급-부톡시-5-옥소-4-팔미트아미도펜탄아미도)헥사노에이트



[0095]

[0096] 500 mL 3목 플라스크 내에서, (S)-5-3급-부톡시-5-옥소-4-팔미트아미도펜탄산(8.77 g, 19.4 mmol), 1,1'-카본 일다이이미다졸(3.30 g, 20.4 mmol) 및 DCM(125 mL)의 혼합물을 실온에서 90 분 동안 교반하였다. 생성된 백색 현탁액에, DCM(50 mL) 중 (S)-알릴 6-아미노-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카본일아미노)-6-아미노헥사노에이트(8.68 g, 19.5 mmol) 및 트라이에틸아민(1.96 g, 19.4 mmol)의 용액을 15 분 이내에 첨가하였다. 반응 혼합물을 추가 90 분 동안 실온에서 교반하여 전환을 완료하였다(TLC(EE/헵탄 1:1, R<sub>F</sub> 출발 물질 = 0, R<sub>F</sub> 생성물 = 0.5, 코마로우스키 시약을 사용하여 검출됨(문헌[P. Stevens, *J. Chromatog.* **1964**, *14*, 269] 참조))를 통해 측정됨). 이후, DCM(50 mL) 및 물(40 mL)을 혼합물에 첨가하고, 층을 분리하였다. 수층을 DCM(20 mL)으로 추출하고 합한 유기층을 나트륨 설페이트 상에서 건조하였다. 용매를 증발 제거한 후, 잔여 조질 생성물(16.0 g)을 다이에틸 에터로부터 결정화에 의해 정제하여 96.5% 화학 순도(하기 LC 방법 참조) 및 >99.9% 거울상이성질체 및 부분입체이성질체 순도(하기 키랄 LC 방법 참조)를 갖는 백색 고체로서 (S)-알릴 2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카본일아미노)-6-((S)-5-3급-부톡시-5-옥소-4-팔미트아미도펜탄아미도)헥사노에이트(15.2 g, 91%)를 수득하였다.

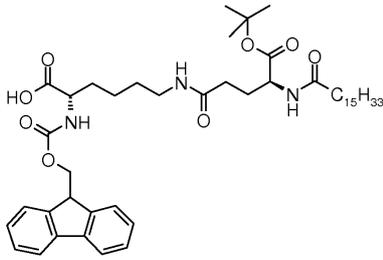
[0097] 융점: 118°C; EI-MS: m/z=832.55 (M+H)<sup>+</sup>.

[0098] LC 방법: X-브릿지 페닐 컬럼, 50 x 4.6 mm, ID 2.5 μm; 이동상, A: 물/NCMe(95:5), B: NCMe, C: 물 중 0.1% 포름산; 유속: 2 ml/분; 10 분 이내에 65/25/10(A/B/C)로부터 10/80/10(A/B/C)까지 구배, 2 분 동안 등용매 10/80/10(A/B/C). 체류 시간: 9.59 분((S)-알릴 2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카본일아미노)-6-((S)-5-3급-부톡시-5-옥소-4-팔미트아미도펜탄아미도)헥사노에이트)).

[0099] 키랄 LC 방법: 키랄셀(Chiracel) OD-RH 컬럼 번호 745 및 번호 702, 150 x 4.6 mm, ID 5 μm; 이동상, A: NCMe, B: 물/HClO<sub>4</sub>(pH 2); 유속: 1 ml/분, 32 분 동안 등용매 68:32(A/B), 0.5 분 이내에 68/32(A/B)로부터 75/25(A/B)까지 구배, 29.5 분 동안 등용매 75/25(A/B). 체류 시간: 45.39 분((R)-알릴 2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카본일아미노)-6-((R)-5-3급-부톡시-5-옥소-4-팔미트아미도펜탄아미도)헥사노에이트), 47.75 분((R)-알릴 2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카본일아미노)-6-((S)-5-3급-부톡시-5-옥소-4-팔미트아미도펜탄아미도)헥사노에이트), 51.98 분((S)-알릴 2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카본일아미노)-6-((R)-5-3급-부톡시-5-옥소-4-팔미트아미도펜탄아미도)헥사노에이트), 55.66 분((S)-알릴 2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카본일아미노)-6-((S)-5-3급-부톡시-5-옥소-4-팔미트아미도펜탄아미도)헥사노에이트).

[0100] 실시예 2

[0101] (S)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카본일아미노)-6-((S)-5-3급-부톡시-5-옥소-4-팔미트아미도펜탄아미도)헥산 산



[0102]

[0103]

500 mL 3 목 플라스크 내에서, (S)-알릴 2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카본일아미노)-6-((S)-5-3급-부톡시-5-옥소-4-팔미트아미도펜탄아미도)헥사노에이트(10.0 g, 11.4 mmol), 페닐실란(7.02 g, 62.9 mmol), 테트라키스(트라이페닐포스핀) 팔라듐(0)(1.00 g, 0.85 mmol) 및 DCM(250 mL)의 혼합물을 실온에서 교반하였다. TLC(EE/헵탄 3:1,  $R_f$  출발 물질 = 0.2,  $R_f$  생성물 = 0, 254 nm에서 UV로 검출됨)에 관해서, 11 분 후 전환을 완료하였다. 반응 혼합물을 DCM(50 mL)으로 희석하고, 물(50 mL), 수성 나트륨 다이에틸다이티오카바메이트(0.5%, 30 mL) 및 염수(30 mL)로 연속하여 세척하고, 나트륨 설페이트 상에서 건조하고, 회전 증발하여 건조시켰다. 잔여 조질 생성물을 실온에서 먼저 헵탄(25 mL)으로 분해하고 이후 헵탄/DCM(9:1)으로 분해하고, 여과 및 건조 후 77.2% 화학 순도를 갖는 조질 (S)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카본일아미노)-6-((S)-5-3급-부톡시-5-옥소-4-팔미트아미도펜탄아미도)헥산산(8.92 g)을 수득하였다(하기 LC 방법 참조). 조질 생성물은 주요 불순물로서 11%의 트라이페닐포스핀 옥사이드를 함유하였다. 조질 생성물의 샘플(1 g)을 제조용 초임계 유체 크로마토그래피(SFC, 하기 방법 참조)하여 96.7% 화학 순도(하기 LC 방법 참조), 98.0% 거울상이성질체 순도 및 99.8% 부분 입체이성질체 순도(하기 키랄 LC 방법 참조)를 갖는 백색 고체로서 순수한 (S)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카본일아미노)-6-((S)-5-3급-부톡시-5-옥소-4-팔미트아미도펜탄아미도)헥산산(0.75 g, 72%)을 수득하였다.

[0104]

융점: 119°C; EI-MS:  $m/z=792.52$  (M+H)<sup>+</sup>.

[0105]

LC 방법: X-브릿지 페닐 컬럼 번호 823, 50 x 4.6 mm, ID 2.5  $\mu$ m; 이동상, A: 물/NCMe(95:5), B: NCMe, C: 물 중 0.1% 포름산; 유속: 2 ml/분; 10 분 이내에 65/25/10(A/B/C)으로부터 10/80/10(A/B/C)까지 구배, 2 분 동안 등용매 10/80/10(A/B/C). 체류 시간: 8.65 분((S)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카본일아미노)-6-((S)-5-3급-부톡시-5-옥소-4-팔미트아미도펜탄아미도)헥산산), 9.59 분((S)-알릴 2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카본일아미노)-6-((S)-5-3급-부톡시-5-옥소-4-팔미트아미도펜탄아미도)헥사노에이트)).

[0106]

키랄 LC 방법: 키랄셀 OD-RH 컬럼 번호 745 및 번호 702, 150 x 4.6 mm, ID 5  $\mu$ m; 이동상, A: NCMe, B: 물/HClO<sub>4</sub>(pH 2); 유속: 1 ml/분, 32 분 동안 등용매 68:32(A/B), 0.5 분 이내에 68:32(A/B)로부터 75:25(A/B)까지 구배, 29.5 분 동안 등용매 75:25(A/B). 체류 시간: 21.56 분((R)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카본일아미노)-6-((R)-5-3급-부톡시-5-옥소-4-팔미트아미도펜탄아미도)헥산산), 23.52 분((R)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카본일아미노)-6-((S)-5-3급-부톡시-5-옥소-4-팔미트아미도펜탄아미도)헥산산), 25.68 분((S)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카본일아미노)-6-((R)-5-3급-부톡시-5-옥소-4-팔미트아미도펜탄아미도)헥산산), 28.32 분((S)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카본일아미노)-6-((S)-5-3급-부톡시-5-옥소-4-팔미트아미도펜탄아미도)헥산산).

[0107]

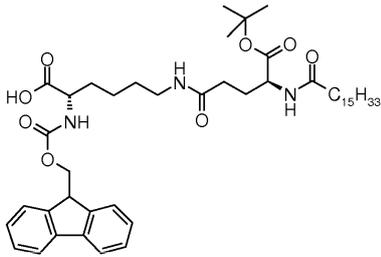
제조용 SFC 방법: 비리디스(Viridis) 2-에틸피리딘 OBD 컬럼, 150 x 30 mm, ID 5  $\mu$ m; 50°C 컬럼 온도; 이동상, A: CO<sub>2</sub>, B: MeOH; 유속: 60 ml/분, 10 분 이내에 80:20(A/B)으로부터 60/40(A/B)까지 구배.

[0108]

### 실시예 3

[0109]

(S)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카본일아미노)-6-((S)-5-3급-부톡시-5-옥소-4-팔미트아미도펜탄아미도)헥산산



[0110]

[0111]

250 mL 3 목 플라스트 내에서, (S)-알릴 2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카본일아미노)-6-((S)-5-3급-부톡시-5-옥소-4-팔미트아미도펜탄아미도)헥사노에이트(12.0 g, 13.7 mmol), 페닐실란(2.28 g, 20.4 mmol), 테트라키스(트라이페닐포스핀) 팔라듐(0)(96.0 mg, 0.08 mmol) 및 DCM(120 mL)의 혼합물을 실온에서 교반하였다. TLC(DCM/MeOH 9:1,  $R_f$  출발 물질 = 0.9,  $R_f$  생성물 = 0.3, 254 nm에서 UV로 검출됨)에 관해서, 3 시간 후 전환을 완료하였다. 이어서, 반응 혼합물을 수성 나트륨 다이에틸다이티오카밤에이트(0.5%, 20 mL) 및 염수(75 mL)로 연속하여 세척하고, 나트륨 설페이트 상에서 건조하고, 회전 증발하여 건조시켜 1.2%의 잔여 트라이페닐포스핀 옥사이드를 함유하는 93.5% 화학 순도(실시에 2의 LC 방법 참조), >99.9% 거울상이성질체 순도 및 99.7% 부분입체이성질체 순도(실시에 2의 키랄 LC 방법 참조)를 갖는 조질 (S)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카본일아미노)-6-((S)-5-3급-부톡시-5-옥소-4-팔미트아미도펜탄아미도)헥산산(11.6 g)을 수득하였다. 이어서, 조질 생성물을 헵탄(230 mL)에 1 시간 동안 실온에서 현탁하고, 혼합물을 여과하고 필터 케익을 헵탄(50 mL)으로 세척하여 0.8%의 잔여 트라이페닐포스핀 옥사이드를 함유하는 96.2% 화학 순도(실시에 2의 LC 방법 참조), >99.9% 거울상이성질체 순도 및 99.8% 부분입체이성질체 순도(실시에 2의 키랄 LC 방법 참조)를 갖는 황색을 띠는 고체로서 (S)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카본일아미노)-6-((S)-5-3급-부톡시-5-옥소-4-팔미트아미도펜탄아미도)헥산산(10.9 g, 97% 수율)을 수득하였다.

[0112]

융점: 119°C; EI-MS:  $m/z=792.52$  (M+H)<sup>+</sup>.

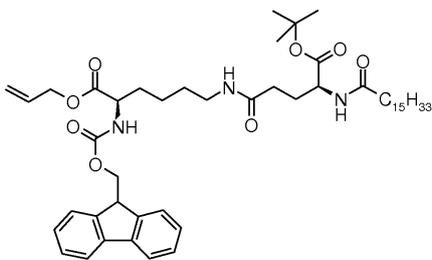
[0113]

실시예 4

[0114]

(R)-알릴

2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카본일아미노)-6-((S)-5-3급-부톡시-5-옥소-4-팔미트아미도펜탄아미도)헥사노에이트



[0115]

[0116]

25 mL 3 목 플라스크 내에서, (S)-5-3급-부톡시-5-옥소-4-팔미트아미도펜탄산(500 mg, 1.12 mmol), 1-하이드록시벤조트리아졸(175 mg, 1.14 mmol), 1,1'-카본일다이이미다졸(200 mg, 1.23 mmol) 및 DCM(10 mL)의 혼합물을 실온에서 90 분 동안 교반하였다. 생성된 백색 현탁액에, DCM(5 mL) 중 (R)-알릴 6-아미노-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카본일아미노)-6-아미노헥사노에이트(507 mg, 1.12 mmol) 및 트라이에틸아민 (113 mg, 1.12 mmol)의 용액을 5 분 이내에 첨가하였다. 반응 혼합물을 추가 60 분 동안 실온에서 교반하여 전환을 완료하였다(TLC(DCM/MeOH 95:5,  $R_f$  출발 물질 = 0,  $R_f$  생성물 = 0.2, 254 nm에서 UV로 검출됨)를 통해 측정됨). 다음으로, 물(10 mL)을 혼합물에 첨가하고 층을 분리하였다. 수층을 DCM(30 mL)으로 추출하고 합한 유기층을 나트륨 설페이트 상에서 건조하였다. 용매를 증발 제거한 후, 잔여 조질 생성물(983 mg)을 다이에틸 에터로부터 결정화에 의해 정제하여 94.2% 화학 순도(하기 LC 방법 참조), 및 >99.9% 거울상이성질체 순도 및 부분입체이성질체 순도(실시에 1c의 키랄 LC 방법 참조)를 갖는 백색 고체로서 (R)-알릴 2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카본일아미노)-6-((S)-5-3급-부톡시-5-옥소-4-팔미트아미도펜탄아미도)헥사노에이트(686 mg, 70%)를 수득하였다.

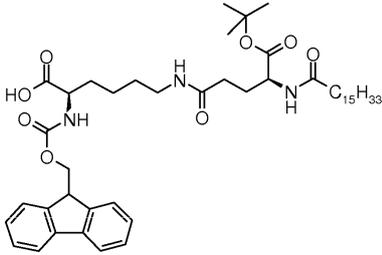
[0117]

융점: 114°C; EI-MS:  $m/z=832.54$  (M+H)<sup>+</sup>.

[0118] LC 방법: X-브릿지 페닐 컬럼, 50 x 4.6 mm, ID 2.5 μm; 이동상, A: 물/NCMe(95:5), B: NCMe, C: 물 중 0.1% 포름산; 유속: 2 ml/분; 10 분 이내에 65/25/10(A/B/C)으로부터 10/80/10(A/B/C)까지 구배, 2 분 동안 등용매 10/80/10(A/B/C). 체류 시간: 9.55 분((R)-알릴 2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카본일아미노)-6-((S)-5-3급-부톡시-5-옥소-4-팔미트아미도펜탄아미도)헥사노에이트)).

[0119] 실시예 5

[0120] (R)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카본일아미노)-6-((S)-5-3급-부톡시-5-옥소-4-팔미트아미도펜탄아미도)헥산산



[0121]

[0122] 25 mL 3 목 플라스크 내에서, (R)-알릴 2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카본일아미노)-6-((S)-5-3급-부톡시-5-옥소-4-팔미트아미도펜탄아미도)헥사노에이트(675 mg, 0.76 mmol), 페닐실란(351 mg, 3.14 mmol), 테트라키스(트라이페닐포스핀) 팔라듐(0)(20.0 mg, 0.02 mmol) 및 DCM(7 mL)의 혼합물을 10°C에서 교반하였다. TLC(DCM/MeOH 95:5, R<sub>f</sub> 출발 물질 = 0.8, R<sub>f</sub> 생성물 = 0.2, 254 nm에서 UV로 검출됨)에 관해서, 25 분 후 전환을 완료하였다. 추가 15 분 후, 반응 혼합물을 DCM(10 mL)으로 희석하고, 물(10 mL), 수성 나트륨 다이에틸다이트오카바에이트(0.5%, 10 mL) 및 염수(10 mL)로 연속하여 세척하였다. 유기 용액을 나트륨 설페이트 상에서 건조하고 회전 증발하여 건조시켜 87.4 화학 순도(하기 LC 방법 참조), >99.9% 거울상이성질체 순도 및 98.8% 부분입체이성질체 순도(실시예 2의 키랄 LC 방법 참조)를 갖는 조질 (R)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카본일아미노)-6-((S)-5-3급-부톡시-5-옥소-4-팔미트아미도펜탄아미도)헥산산(631 mg)을 수득하였다. 조질 생성물은 주요 불순물로서 6%의 트라이페닐포스핀 옥사이드를 함유하였다. 조질 생성물의 샘플(603 mg)을 제조용 초임계 유체 크로마토그래피(SFC, 실시예 2의 방법 참조)하여 98.7% 화학 순도(하기 LC 방법 참조), >99.9% 거울상이성질체 순도 및 99.4% 부분입체이성질체 순도(실시예 2의 키랄 LC 방법 참조)를 갖는 백색 고체로서 순수한 (R)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카본일아미노)-6-((S)-5-3급-부톡시-5-옥소-4-팔미트아미도펜탄아미도)헥산산(348 mg, 59%)을 수득하였다.

[0123] 융점: 125°C; EI-MS: m/z=792.52(M+H)<sup>+</sup>.

[0124] LC 방법: X-브릿지 페닐 컬럼, 50 x 4.6 mm, ID 2.5 μm; 이동상, A: 물/NCMe(95:5), B: NCMe, C: 물 중 0.1% 포름산; 유속: 2 ml/분; 10 분 이내에 65/25/10(A/B/C)으로부터 10/80/10(A/B/C)까지 구배, 2 분 동안 등용매 10/80/10(A/B/C). 체류 시간: 8.33 분((R)-2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카본일아미노)-6-((S)-5-3급-부톡시-5-옥소-4-팔미트아미도펜탄아미도)헥산산), 9.35 분((R)-알릴 2-(((9H-플루오렌-9-일)메톡시)카본일아미노)-6-((S)-5-3급-부톡시-5-옥소-4-팔미트아미도펜탄아미도)헥사노에이트)).