

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 특허공보(B1)

(51) Int. Cl.⁵
C07K 1/00

(45) 공고일자 1991년07월 15일
(11) 공고번호 특1991-0004867

(21) 출원번호	특1983-0005336	(65) 공개번호	특1984-0007567
(22) 출원일자	1983년11월 10일	(43) 공개일자	1984년12월08일
(30) 우선권 주장	82,04346 1982년11월 10일 네덜란드(NL)		
(71) 출원인	악조 엔.브이. 에이.지.제이.벨미렌 · 에이.디.도우마 네덜란드왕국, 비엠 아란헴 6824, 벨페르 베그 76		

(72) 발명자 헨드릭 마리 그레벤
네덜란드왕국, 피에이 알멘 7218, 라게 로캄세베그 22
(74) 대리인 나영환

심사관 : 김동수 (책자공보 제2368호)

(54) 펩티드의 제조방법

요약

내용 없음.

명세서

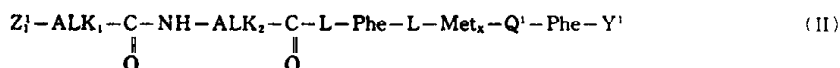
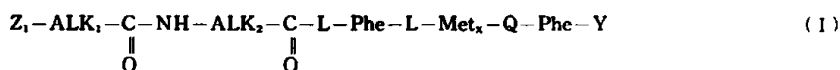
[발명의 명칭]

펩티드의 제조방법

[발명의 상세한 설명]

본 발명은 폴리펩티드(특히 펜타펩티드 및 헥사펩티드)의 제조방법과, 활성성분으로 상기 펩티드를 함유하는 약학적 제제에 관한 것이다.

특히, 본 발명은 신경 이완성을 지닌 신규한 펩티드류의 제조방법에 관한 것이다. 이 방법에서, 하기 일반식(I)의 펩티드 또는 그것의 산부가염은 하기 일반식(II)의 펩티드로부터 보호기(들) 및/또는 수지를 제거한 후, 생성된 펩티드를 산부가염으로 전환시키고/시키거나 또는 상응하는 숏폭사이드 또는 숏폰으로 산화시킴으로써 제조된다:



상기식에서, Z_1 는 수소, 아미노, 또는 N-아실아미노기로서, 아실기는 지방족 카르복실산(1-6C)으로부터 유도된 것이며, ALK_1 은 1-6개의 탄소원자를 가진 알킬렌기 또는 알킬리덴기이며, ALK_2 는 1-6개의 탄소원자를 가진 알킬리덴기이며, Met_x 는 아미노산 라디칼 Met, Met(O) 또는 Met(Oa₂)Q이며, 는 아미노산 라디칼 Lys 또는 Arg이며 단 아미노산 라디칼 Q와 V-말단 Phe중의 어느 하나는 D-구조를 가지며, 다른 하나는 L-구조를 가져야 하고, Y는 히드록시, 1-18개의 탄소원자를 지닌 알콜로부터 유도된 에스테르화된 히드록시, 아미노 또는 알킬(1-6C)-치환된 아미노이며, $Z_1'Z_1$ 은 의 정의와 같고, 그외에 N-보호기로 보호된 아미노기를 나타내며, Q' Q는 의 정의와 같고, 그외에(ϵ -아미노) 보호된 리실 또는 (구아니딜)보호된 아르기닐부를 나타내며, 단 라디칼 Q' 또는 C-말단 Phe중의 어느 하나는 D-구조를 가지며, 나머지는 L-구조이어야 하고, Y' 은 상기 Y의 정의와 같고, 그외에 제거시에 히드록시, 에스테르화된 히드록시 또는 아미노부를 형성할 수 있는 수지 또는 보호된 히드록시기를 나타내며, 단 Y' 이 수지가 아닐 때 Z_1' , Q' Y' 또는 중 최소한 어느 하나는 보호기이거나 보호기를 함유하고 있어야 한다.

바람직한 펩티드는, Q가 D-Lys이며, 또는 Z는 NH₂이고, ALK_1 및 ALK_2 두기가 모두 메틸렌기이거나, 또는 두기중 하나가 메틸렌기이고 나머지 한기는 에틸리덴기인 일반식(I)의 펩티드이다.

일반식(I)의 펩티드 및 펩티드 유도체는 종래의 펩티드 제조방법에 따라 제조될 수 있다. 본 펩티드의 제조에 사용되는 가장 좋은 방법은 균일상에서 또는 고체상의 존재하에서 필요로 하는 아미노산들을 축합반응에 의해 커플링화하는 방법이다.

균일상에서의 축합반응은 다음과 같이 수행할 수 있다 : a) 축합제의 존재하에서, 유리 카르복실기 및 보호된 다른 반응기를 가진 화합물(아미노산 또는 펩티드)과 유리 아미노기 및 보호된 다른 반응기를 가진 화합물(아미노산, 펩티드 또는 아민)과를 축합시키고, b) 활성화된 카르복실기 및 임의의 보호된 다른 반응기를 가진 화합물(아미노산 또는 펩티드)과 유리 아미노기 및 임의의 보호된 다른 반응기를 가진 화합물(아미노산, 펩티드 또는 아민)과를 축합시키고, c) 유리 카르복실기 및 보호된 다른 반응기를 가진 화합물(아미노산 또는 펩티드)과 활성화된 아미노기 및 임의의 보호된 다른 반응기를 가진 화합물(아미노산, 펩티드 또는 아민)과를 축합반응시킨 후, 필요에 따라 보호기를 제거한다.

카르복실기의 활성화는 카르복실기는 N-히드록시숙신이미드, N-히드록시-벤조트리아졸 p-벤조트리아 또는 p-니트로페닐 에스테르등과 같은 산 할로겐화물, 아지드, 무수물, 이미다졸리드 또는 활성화된 에스테르 전환시킴으로써 유발할 수 있다.

아미노기는 아미노기를 포스파이트 아마이드로 전환시키거나, "포스포라조(phosphorazo)"방법을 이용하여 활성화시킬 수 있다.

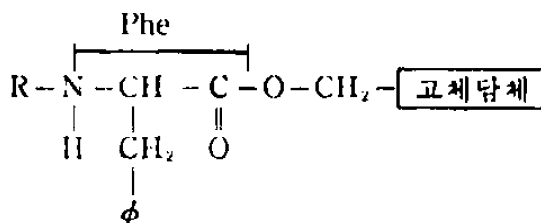
상기 축합 반응의 가장 보편적인 방법은 이, 슈뢰메르 및 케이. 쿨브케등에 의한 1965년도판(아카데미 출판사)의 "펩티드"명의 책 제 1 권에 기술되어 있는 카르보디이미드 방법, 아지드 방법, 혼합무수물 방법 및 활성화된 에스테르 방법 등이다.

또한, J.Am.Chem. Soc. 85,2149(1963)에 기술된 "고체상"의Merrifield 방법에 따라 일반식(1)의 화합물을 제조할 수도 있다.

아미노산의 커플링에 의한 펩티드의 제조는 카르복시-말단기로부터 출발한다. 그러므로, 반응성기(reactive group)가 존재하거나 또는 그곳이 결합할 수 있는 고체 담체가 필요하다.

담체의 보기로는 반응성 클로로메틸기를 가진 디비닐 벤젠과 스티렌과의 공중합체 또는 히드록시메틸 또는 벤질아민기에 대한 반응성을 가진 중합성 담체를 들 수 있다.

만일, 클로로메틸기를 함유한 담체가 사용된다면, 제 1의 α-아미노-보호된 아미노산과 캐리어와의 결합은 에스테르 결합을 통해 이루어진다. 일반식(1)의 펩티드 합성에 있어서, 그 반응은 다음과



같다 :

상기식에서, R은 α-아미노-보호기이다. R기를 제거한 후, 다음 α-아미노-보호된 아미노산(예 : ε-아미노기가 보호된 리신)은 축합반응에 의해 커플링화되거나, α-아미노기의 보호기이탈 후 다음의 아미노산과 또다시 계속해서 커플링화될 수 있다.

목적하는 아미노산 서열의 합성후, 펩티드는 트리플루오로 아세트산에 용해된 메탄술포산, 트리플루오로 메탄술포산 또는 액체 하이드로젠 플루오라이드에 의해 담체로부터 이탈된다. 또한, 펩티드는 저급 알콜(바람직하게는, 메탄올 또는 에탄올)과의 트랜스에스테르화 반응에 의해 담체로부터 제거될 수 있는데, 이때 펩티드의 저급 알킬 에스테르가 직접 형성된다. 이와 유사하게, 암모니아로의 스플리팅에 의해 아마이드가 생성된다.

축합반응에 참여하지 않는 반응기는 가수분해 또는 환원반응등에 의해 쉽게 제거될 수 있는 기에 의해 효과적으로 보호될 수 있다. 예를들면, 카르복실기는 메탄올, 에탄올, 3차 부탄올, 벤질알콜 또는 p-니트로 벤질알콜과의 에스테르 반응에 의해 효과적으로 보호될 수 있다.

아미노기를 효과적으로 보호할 수 있는 기로는 지방족 카르복실산, 방향족 카르복실산, 아르알리파틱 카르복실산, 또는 헤테로시클릭 카르복실산(예 : 아세트산, 벤조산 또는 피리딘카르복실산)으로부터 유도되는 산기, 카르보산으로부터 유도된 산기(예 : 에톡시카르보닐, 벤질옥시카르보닐, t-부톡시카르보닐 또는 p-에톡시-벤질옥시 카르보닐), 또는 술포산으로부터 유도된 산기(예 : 벤젠술포닐 또는 p-톨루엔-술포닐기)등이 있으며, 또한 벤질기 및 트리페닐메틸기등의 치환 또는 비치환된 아릴기 또는 아르알킬기, 또는 오르토-니트로 페닐 술포닐 및 2-벤조일-1-메틸비닐등의 기들도 사용될 수 있다.

또한, 리신의 ε-아미노기와 아르긴의 구아니딘기를 보호하는 것이 바람직하다. 따라서, 리신을 보호하기 위한 보호기로는 3차 부톡시 카르보닐기 또는 토실기가 이용되며, 아르기닌을 보호하기 위한 보호기에는 니트로 또는 Mbs기(4-메톡시벤젠 술포닐)가 있다.

보호기는 대상기의 종류에 따라 트리플루오로아세트산의 도움에 의한 종래의 방법에 따라 스플리팅되거나, 또는 수소 및 백금과 같은 촉매와의 환원반응 또는 아세트산에 있는 HBr과의 환원반응에 의해 스플리팅될 수 있다.

Metx가 아미노산 라디칼 (Met)인 일반식(1)의 펩티드는, 대응하는 Met 펩티드와 묶은 과산화수소 또는 과산등과의 산화반응에 의해 제조된다. 산화반응에 의해 S-R-술포사이드 및 -술포사이드의 혼합물이 제조되는데, 이 혼합물은 선택적 결정화와 같은 공지된 방법에 의해 각각의 부분 입체 이성질체(diastereoisomer)로 분리될 수 있다.

펩티드 합성시에 메티오닌-S-(또는 R-)술포사이드를 사용하면, 각각의 부분 입체 이성질체가 직접

생성된다.

Metx가 산 라디칼Met(O_2)인 일반식(1)의 술폰-펩티드는 당해 Met-펩티드(1)을 산화시키거나 펩티드 합성시 메티오닌-술폰을 사용함으로써 얻을 수 있다.

일반식(1)의 펩티드의 작용성 유도체는 하기와 같다 : 1. 본 발명의 펩티드의 염, 특히 산 부가염 및 금속염 ; 2. 1-6개의 탄소원자를 가진 지방족 카르복실산, 바람직하게는 아세트산으로부터 유도된 N^α -아실유도체 ; 3. 아마이드 또는 1-6개의 탄소원자를 가진 모노알킬-치환된 아마이드 또는 디알킬-치환된 아마이드 ; 및 4. 1-18개의 탄소원자를 가진 알콜로부터 유도된 에스테르.

산부가염은, 생성된 펩티드를 소정의 산 매체로부터 유리시킴으로써 직접 생성할 수 있으며, 또한 생성된 펩티드를 산(예 : 염산, 브롬산, 인산, 말레산, 황산, 아세트산, 말타르산, 시트르산, 폴리글루탐산, 카르복시메틸셀룰로오스)과 반응시킴으로써 산부가염으로 전환시킬 수도 있다.

금속염, 특히 알칼리 금속염은 펩티드와 소정의 금속염기(예 : NaOH, Na_2CO_3 , $NaHCO_3$ 등)를 반응시킴으로써 얻을 수 있다.

N^α -아실 유도체는 관련된 N^α -아실기가 이미 존재하고 있는 아미노산을 펩티드 합성시 이용함으로써 제조하는 것이 바람직하다.

상기의 아실기는 펩티드 합성시 보호기로서 작용한다. 즉, 소정의 N^α -아실 유도체는 상기와 같은 방법에 의해 직접 제조된다. 또한, 종래의 방법에 의해 펩티드를 아실화시킴으로써 소정의 아실기를 첨가할 수도 있다.

N^α -아실기중 아세틸기를 사용하는 것이 바람직하다.

균일상 축합방법에 있어서, 에스테르 및 아마이드 유도체는 펩티드 합성시 소정의 에스테르 또는 아마이드기를 이미 가지고 있는 아미노산을 사용함으로써 제조하는 것이 바람직하다. 또한, 생성된 펩티드를 에스테르화시킴으로써, 또한 생성된 펩티드를 아마이드로 전환함으로써 얻을 수 있다. "고체상"의 방법에 있어서, 에스테르는 펩티드와 당체의 결합을 트랜스-에스테르화시킴으로써 얻을 수 있으며, 아마이드는 암모니아로 처리함으로써 얻을 수 있다.

또한, 1-6개의 탄소원자를 가진 알콜로부터 유도된 저급 지방족 에스테르의 보기로는 메틸에스테르, 에틸에스테르, 프로필에스테르, 이소프로필에스테르, 부틸에스테르, 2차 부틸에스테르, 펜틸에스테르 또는 헥실에스테르 등을 들 수 있다.

우선적으로 사용되는 아마이드로는 비치환된 아마이드, 모노메틸아미드, 디메틸아미드, 모노에틸아미드 또는 디에틸아미드 등이 있다.

전술한 바와 같이, 본 발명의 펩티드는 신경이완성의 효능이 있으므로 정신분열증의 치료용으로 적합하다.

본 발명의 펩티드는 비경구, 설하, 비내, 직장 또는 경구적으로 투여가 가능한데, 이중 경구적 투여 및 비내투여가 펩티드의 흡수력이 가장 크기 때문에 가장 효과적이다. 그러므로, 본 발명의 펩티드는 경구투여 또는 비내투여를 가능하게 하는 약학적으로 허용되는 보조제와 함께 혼합되어 용액, 현탁액(미소캡슐화), 유탁액 및 스프레이형으로 제제화하는 것이 바람직하다.

적합한 보조제와 혼합된 본 발명의 펩티드는 환제, 정제 및 당제등의 경구투여에 적합한 형태로 제제화될 수도 있다. 또한, 본 발명의 펩티드는 좌약 형태로 투여되기도 한다.

본 발명의 펩티드 또는 펩티드 유도체의 비경구투여시 1일 용량은 수용체의 체중 kg당 $1\mu g$ -5mg이다. 사람에게 투여할때의 하루의 권장 용량은 0.3-30mg, 특히 1-10mg이다. 비내투여 및 직장투여시, 용량은 일반적으로 10-100인자만큼 더 커지며, 경구투여시에는 100-1000인자만큼 더 커진다.

하기 실시예에서는 다음의 사항을 참조로 한다.

- I. 광학구조는 특별한 언급이없는 한, L-형을 의미한다.
- II. 본 실시예에 사용되는 보호기 또는 활성화기에는 하기의 약어를 사용한다.

BOC=3차 부톡시카르보닐

tBu=3차 부틸

Me=메틸

ONP=p-니트로페녹시

Z=벤질옥시카르보닐

Fmoc=9-플루오레닐메톡시카르보닐

Ac=아세틸

- III. 본 실시예에 사용된 용매 또는 시약에는 하기의 약어를 사용한다.

To=톨루엔

EtOH=에탄올

BuOH=부탄올

Py=피리딘

HOAc=아세트산

EtOAc=에틸아세테이트

tBuOH=3차 부탄올

DMF=디메틸포름아미드

DCC=디시클로헥실카르보디이미드

DCU=디시클로헥실우레아

TFA=트리플루오로아세트산

Wa=물

HOBt=N-히드록시벤조트리아졸

IV. 아미노산기에는 하기의 약어를 사용한다 :

Met=메티오닐

Met(O)=메티오닐의 술폭사이드

Met(O₂)=메티오닐 술폰

Phe=페닐알라닐

Lys=리실

Gly=글리실

Arg=아르기닐

Ala=알라닐

β -Ala= β -알라닐

Val=발릴

[실시예 1]

H-Gly-Gly-Phe-Met-D-Lys-Phe-OH의 합성

(1) Boc-Gly-Gly-Phe-Met-OH

상기의 펩티드는 문헌[Rec.Trav. Chim. Poys-Bas 99, 63(1980)]에 명시된 방법에 의해 제조된다.

(2) H-Gly-Gly-Phe-Met-D-Lys-Phe-OH

상기 (1)에서 제조된 펩티드와 커플링시키기전에, 보호된 디펩티드 Z-D-Lys(Boc)-Phe-OtBu에서보호기를 유리시켰다. 이러한 목적을 위해, 디펩티드를 DMF에 용해시켜, Pd/C촉매(10%강도)를 첨가한 후 CO₂가 더 이상 유리되지 않을때까지 혼합물에 H₂를 통과시켰다. 다음, 촉매를 여과 및 제거하였다.

상기의 (1)에서 생성된 펩티드, 1.1당량의 DCC및 2당량의 HOBt를 보호되지 않은 펩티드 H-D-Lys(Boc)-Phe-OtBu에 첨가한 후, 반응혼합물을 2시간 동안 0℃에서 교반하고, 실온에서 12시간 동안 더 교반하였다. DCU의 침전물을 여과 및 제거한 후, 여액을 증발시키고, 잔사는 EtOH/EtOAc(1 : 2) 혼합물로 재결정화시켰다.

To/EtOH(4 : 1)중에서 상기에서 생성되어 보호된 펩티드의 R_f는 0.73이었다.

상기에서 생성된 펩티드의 보호기를 N₂ 기체하에 90% TEA와 아니솔의 혼합용매중에서 유리시킨 후, 에테르를 첨가하고 침전물을 여과하여 t-BuOH/wa 의 혼합액(1:1)에 용해시킨다. 다음 초산염 형태의 이온 교환수지(LEWATIT)를 첨가한 후, 혼합물을 40분 동안 교반하였다. 다음, 이온교환수지를 여과 및 제거한 후, 여액을 BuOH/ HOAc /WA(4 : 1 : 5)혼합물에서 역류 분배에 의해 정제하였다.

BuOH/Py/HOAc/wa

(8 : 3 : 1 : 4)중에서의 R_f=0.64

[실시예 2]

H-Gly-Gly-Phe-Met-D-Arg-Phe-OH의 합성

(1) Boc-Gly-Gly-Phe-Met-D-Arg-Phe-OH

이 펩티드는 실시예 1의 (1)에서 기술한 펩티드이다.

(2) Z-D-Arg(NO₂)-Phe-OtBu

동량의 Z-D-Arg(NO₂)-OH 와 H-Phe-OtBu를 DMF에 용해시키고, 실시예 1(2)에서 기술된 조건하에서 를

첨가하여 커플링시켰다. DCU를 여과 및 제거하고 여액의 EtOAc 유기층을 산, 염기 및 물로 계속해서 추출한 후, 건조시키고 EtOAc-헥산 혼합물로 결정화시켰다. SiO₂칼럼에 의해 정제된 펩티드의 To/EtOH(4 : 1)중에서의 값은 R_f0.52이었다.

(3) H-Gly-Gly-Phe-Met-D-Arg-Phe-OH

실시에 2(2)에서 생성된 펩티드를 수소화시켜서 실시에 2(1)에서 생성된 펩티드와 커플링시키고 커플링된 생성물을 실시에 1(2)에서 기술한 방법에 따라 보호기를 이탈시켰다.

생성된 헥사펩티드를 (20 : 3 : 1 : 4) 혼합물의 존재하에서 SiO₂칼럼으로 정제하였다.

BuOH/Py/HOAc/wa (8 : 3 : 1 : 4) 혼합물중에서의 R_f값은 0.46이었다.

[실시에 3]

H-Gly-Gly-Phe-Met-Lys-O-Phe-OH 의 합성

(1) Z-Lys(Boc)-D-Phe-OtBu

실시에 1(2)에서 기술한 방법에 따라 DCC/HOBt 혼합물의 존재하에서 Z-Lys(Boc)-OH 와 H-D-Phe-OtBu 를 커플링시켜 상기의 펩티드를 제조한 후, 에테르.석유 에테르(1 : 3)으로 재결정하였다. To / 에테르(4 : 1)혼합물중에서의 R_f값은 0.60이었다.

(2) H-Gly-Gly-Phe-Met-Lys-D-Phe-OH

상기 (1)에서 제조된 펩티드를 수소화하여 Boc-Gly-Gly-Phe-Met-OH 와 커플링시키고, 보호기를 이탈시켜 실시에 1(2)에서 기술한 방법에 따라 정제하였다.

제조된 헥사펩티드의 BuOH/Py/HOAc/Wa (8 : 3 : 1 : 4) 혼합물중에서의 R_f값은 0.40이었다.

[실시에 4]

하기의 펩티드들이 실시에 1-3에서 기술한 것과 유사한 방법으로 제조된다 :

H-Ala-Gly-Phe-Met-D-Lys-Phe-OH

H-Gly-Ala-Phe-Met-D-Lys-Phe-OH

H-Val-Gly-Phe-Met-D-Lys-Phe-OH

H-Gly-Gly-Phe-Met-D-Lys-Phe-NH₂

H-Gly-Gly-Phe-Met-D-Lys-Phe-OMe

Ac-Gly-Phe-Met-D-Lys-Phe-OH

β-Ala-Gly-Phe-Met-D-Lys-Phe-OH

[실시에 5]

H-Gly-Gly-Phe-Met(O)-D-Lys-Phe-OH의 합성

1.0g(1.34밀리몰)의 H-Gly-Gly-Phe-Met-D-Lys-Phe-OH를 80ml의 아세트산에 용해시킨 후, 10당량(13.4밀리몰)의 과산화수소를 첨가하였다(30% 강도수용액).

반응혼합물을 실온에서 약 30분간 교반한 후, 새로 제조한 백금을 첨가하였다. 백금 촉매를 제조하기 위해서, 5.4g의 이산화백금을 아세트산에 현탁시키고 수소와 질소를 30분간 현탁액에 통과시켰다.

15분간 교반한 후, 반응혼합물을 여과하고 여액을 증발시켰다. 잔사를 BuOH/HOAc/Wa (4 : 1 : 5)혼합물중에서 역류분배에 의해 정제하였다. 수득량은 600mg이었다.

1-BuOH/Py/HOAc/Wa (8 : 3 : 1 : 4)혼합물중에서의 R_f=0.26.

[실시에 6]

H-Gly-Gly-Phe-Met(O₂)-D-Lys-Phe-OH의 합성

1.0g(1.34밀리몰)의 H-Gly-Gly-Phe-Met(O₂)-D-Lys-Phe-OH를 10ml의 물과 0.14ml(70%의 강도)HClO₄에 용해시켰다. 2.2당량의 과산화수소와 10ml의 (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O를 첨가하였다.

혼합물을 약 2일 동안 교반한 후, 과량의 과산화수소를 NaHSO₃의 첨가에 의해 분해시켜 pH를 약 7로 조절한 후에 용액을 동결건조시켰다.

생성된 펩티드를 1-BuOH/Py/HOAc/Wa (4 : 1 : 5)중에서 역류분배에 의해 부분적으로 정제하였다.

제조된 800ml의 생성물을, 이동상으로서 1-BuOH/Py/HOAc/Wa 혼합물(8 : 3 : 1 : 4)를 사용하여 칼럼상에서 다시 한번 정제하였다. 상기 1- 혼합물중에서의 R_f=0.33.

[실시에 7]

하기 펩티드들을 실시에 5 및 6에 기술한 방법에 따라 제조하였다 :

Ac-Gly-Phe-Met(o)-D-Lys-Phe-OH

H-Gly-Gly-Phe-Met(o)-Lys-D-Phe-OH

H-Gly-Phe-Met(O₂)-Lys-D-Phe-OH

[실시예 8]

"고체상"기술에 의한 H-Gly-Goy-Phe-Met-D-Lys-Phe-OH 의 합성

(1) "고체상"을 위한 수지의 제조

스티렌과 1%의 디비닐벤젠과의 클로로 메틸화된 공중합체를 출발 물질로 사용하여 문헌

[S.S.Wang(J.Amer.Chem.Soc.95,1328(1973))]에 명시된 방법에 따라 당해 -히드록시벤질 알콜수지를 제조하였다.

(2)Fmoc-Phe[고체담체]

40ml의 에 용해된 10.9밀리몰의 Fmoc-Phe-OH와 실시예 8(1)에 따라 제조된 10g의 수지(7밀리몰)를 160ml의 메틸렌디클로라이드중에서 문헌[Int.J.Peptide Protein Res.13, 35-42(1979)]에 명시된 Meienhofer 방법에 따라 커플링화시켰다.

(3) Boc-Gly-Gly-Phe-Met-D-Lys(Boc)OPhe-[담체고체]

Fmoc-Phe-[고체담체]를 출발물질로 사용하여 보호된 아미노산 Fmoc-D-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Gly-OH 및 Boc-Gly-OH를 계속 커플링시켰다. 보호기를 제거한 후, 마지막의 커플링단계, 즉 Boc-Gly-OH 와 H-Gly-Phe-Met-D-Lys(Boc)-Phe-[고체담체]와의 커플링을 위해 하기에 명시된 방법에 따라 커플링반응(Coupling)을 진행시켰다.

10g의 Fmoc-Gly-Phe-Met-D-Lys(Boc)Phe-[고체담체]중에서, 60ml의 DMF으로 3번, 50% 강도를 가진 중의 60ml의 피페리딘으로 2번, 60ml의 디옥산(2 : 1)으로 2번 및 60ml의 DMF으로 6번 연속적으로 세척하여 보호기 Fmoc를 유리시켰다.

6.6밀리몰(3당량)의, Boc-Gly-OH 3당량의 DCC 및 3당량의 HOBt를 보호기 이탈 생성물에 첨가하였다. 커플링반응이 완결된 후, 펩티드-수지를 60ml의 EtOH와 60ml의 DNF로 계속세척하였다.

(4) 고체담체로부터 펩티드의 제거

제조된 11g의 생성물을 60ml의 메틸렌디클로라이드로 세척한 후, 0.1ml의 티오아니솔이 첨가된 70ml의 TFA /메틸렌디클로라이드(1 : 1)에 첨가하였다.

2시간 후, 고체상을 여과제거한 후 10% 강도를 가진 HOAc로 세척하였다.

여액을 진공에서 증발, 건조시키고, 잔사는 30ml의 tBuOH/H₂O에 용해시켜 초산염 형태의 이온교환수지로 교환시켰다.

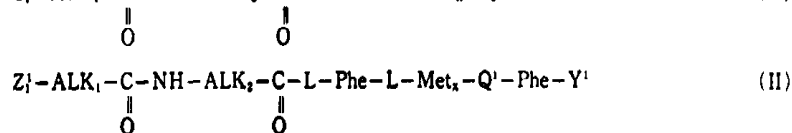
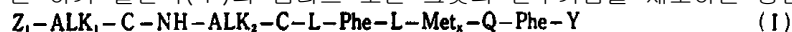
다음 혼합물을 여과하고, 여액을 진공에서 증발, 건조시켰다.

1- BuOH/Py/HOAc/Wa 혼합물(8 : 3 : 1 : 4)를 사용하여 SiO₂ 칼럼에서 잔사를 정제하여 0.27g의 생성물을 수득하였다.

(57) 청구의 범위

청구항 1

하기 일반식(II)의 펩티드로부터 보호기(들) 및 / 또는 수지를 제거한 후, 생성된 펩티드를 산부가염으로 전환시키고/시키거나 또는 상응하는 술폭사이드 또는 술포으로 산화시키는 것을 특징으로 하는 하기 일반식(I)의 펩티드 또는 그것의 산부가염을 제조하는 방법 :



상기식에서, Z₁은 수소, 아미노 또는 N-아실아미노기로서, 아실기는 지방족 카르복실산(1-6C)으로부터 유도된 것이며, ALK₁은 1-6개의 탄소원자를 가진 알킬렌기 또는 알킬리덴기이며, ALK₂는 1-6개의 탄소원자를 가진 알킬리덴기이며, Met_x는 아미노산 라디칼 Met, Met(O)또는 Met(O₂)이며, Q는 아미노산 라디칼 Lys 또는 Arg이며, 단 아미노산 라디칼 Q와 C-말단 Phe중 어느 하나는 D-구조를 가지며, 다른 하나는 L-구조를 가져야 하고, Y는 히드록시, 1-18탄소원자를 가진 알콜로부터 유도된 에스테르화된 히드록시, 아미노 또는 알킬(1-6C)-치환된 아미노이며, Z₁'은 상기 Z₁의 정의와 같고, 그외에 N-보호기에 의해 보호된 아미노기를 나타내며, Z₁'은 상기 Z₁의 정의와 같고, 그외에 (ε-아미노)보호된 리실 또는 (구아니딜)보호된 아르기닐부를 나타내며, 단, 라디칼 Q₁ 또는 C-말단 Phe중 어느 하나는 D-구조를 가지며 다른 하나는 L-구조를 가져야 하고, Y₁은 상기 Y의 정의와 같고, 그외에 제거시에 히드록시, 에스테르화된 히드록시 또는 아미노부를 형성할 수 있는 수지 또는 보호된 히드록시기를 나타내며, 단 이 수지가 아닐 때 Z₁', Q₁' 또는 Y₁'중 최소한 어느 하나는 보호기이거나 보호기를 함

유하고 있어야 한다.