(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) 。Int. Cl. [7]
C07K 7/06

(11) 공개번호 특2002-0097220
(43) 공개일자 2002년12월31일

(21) 출원번호 10-2002-7013965
(22) 출원일자 2002년10월18일
번역문 제출일자 2002년10월18일
(86) 국제출원번호 PCT/US2001/12530
(86) 국제출원출원일자 2001년04월17일
(87) 국제공개번호 WO 2001/81325
(87) 국제공개일자 2001년11월01일

(81) 지정국 국내특허 : 알바니아, 아르메니아, 오스트리아, 오스트레일리아, 아제르바이잔, 보스니아-헤르체고비나, 바베이도스, 불가리아, 브라질, 벨라루스, 캐나다, 스위스, 중국, 체코, 독일, 덴마크, 에스토니아, 스페인, 핀랜드, 영국, 그루지야, 헝가리, 이스라엘, 아이슬란드, 일본, 키르기즈, 카자흐스탄, 세인트루시아, 스리랑카, 라이베리아, 리투아니아, 룩셈부르크, 라트비아, 몰도바, 마다가스카르, 마케도니아, 몽고, 멕시코, 노르웨이, 뉴질랜드, 슬로베니아, 슬로바키아, 타지키스탄, 투르크메니스탄, 터어키, 트리니다드토바고, 우크라이나, 우즈베키스탄, 베트남, 폴란드, 포르투칼, 루마니아, 러시아, 스웨덴, 싱가포르, 인도네시아, 시에라리온, 유고슬라비아, 크로아티아, 그레나다, 인도, 아랍에미리트, 남아프리카, 코스타리카, 도미니카연방, 탄자니아, 대한민국, 모로코, 안티구아바부다, 알제리, 모잠비크, 벨리즈, 콜롬비아,
AP ARIPO특허: 케냐, 레소토, 말라위, 수단, 스와질랜드, 우간다, 가나, 감비아, 짐바브웨, 시에라리온, 탄자니아, 모잠비크,
EA 유라시아특허: 아르메니아, 아제르바이잔, 벨라루스, 키르기즈, 카자흐스탄, 몰도바, 러시아, 타지키스탄, 투르크메니스탄,
EP 유럽특허: 오스트리아, 벨기에, 스위스, 독일, 덴마크, 스페인, 프랑스, 영국, 그리스, 아일랜드, 이탈리아, 룩셈부르크, 모나코, 네덜란드, 포르투칼, 스웨덴, 핀랜드, 사이프러스,
OA OAPI특허: 부르키나파소, 베넹, 중앙아프리카, 콩고, 코트디브와르, 카메룬, 가봉, 기네, 말리, 모리타니, 니제르, 세네갈, 차드, 토고, 기네비쏘,

(30) 우선권주장 60/198,204 2000년04월19일 미국(US)

(71) 출원인 쉐링 코포레이션
미국 뉴저지주 07033 케늘워어스시 개롭핑 힐 로드 2000

(72) 발명자 벤카트라맨 스리칸쓰
미합중국 뉴저지 07095 우드브리지 로아노크 스트리트 35
첸 케빈 엑스.
미합중국 뉴저지 08830 이셀린 길 레인 44 아파트먼트 1디
아라사판 아쇼크
미합중국 뉴저지 08807 브리지워터 라르센 코트 18
은조로게 에프. 죠지
미합중국 뉴저지 07059 워렌 소프트우드 웨이 11
기리자발라반 비요르 엠.
미합중국 뉴저지 07054 파르시파니 매플우드 드라이브 10
찬 틴-야우
미합중국 뉴저지 08817 에디슨 바로우 로드 26
맥키트릭 브라이언 에이.
미합중국 뉴저지 07976 뉴버논 밀브룩 로드
프롱게이 앤드류 제이.
미합중국 뉴저지 08886 스튜어츠빌 윌로우 그로브 로드 104
매디슨 빈센트 에스.
미합중국 뉴저지 07046 마운틴 레이크스 로남 드라이브 12

(74) 대리인 박병석
서장찬
최재철

심사청구 : 없음

---

(54) 알킬 및 아릴 알라닌 P2 잔기를 포함하는 C형 간염바이러스의 매크로사이클릭 NS3-세린 프로테아제 억제제

요약

본 발명은 HCV 프로테아제 억제 활성을 지니는 신규한 매크로사이클릭 화합물, 및 이러한 화합물의 제조 방법에 관한 것이다. 또 다른 양태에서는, 본 발명이 상기 매크로사이클을 포함하는 약제학적 조성물, 및 이를 HCV 프로테아제와 연관된 질환을 치료하는데 사용하는 방법에 관한 것이다.

색인어

C형 간염 바이러스(HCV) 프로테아제 억제 활성, 매크로사이클릭 화합물

명세서

기술분야

본 발명은 신규한 C형 간염 바이러스(" HCV") 프로테아제 억제제, 이러한 억제제를 하나 이상 함유하는 약제학적 조성물, 상기 억제제의 제조 방법, 및 상기 억제제를 C형 간염 및 관련 질환을 치료하는데 사용하는 방법에 관한 것이다. 본 발명은 특히, HCV NS3/NS4a 세린 프로테아제의 억제제로서의 신규한 매크로사이클릭 화합물에 관한 것이다. 본 명세서는 2000년 4월 5일자로 출원되고 현재 계류중인 미국 특허원 제 호의 명세서와 관련이 있다.

배경기술

C형 간염 바이러스(HCV)는 비-A형, 비-B형 간염(NANBH), 특히 혈액-관련 NANBH(BB-NANBH)의 주요 유발제로서 밀접한 영향을 끼친 (+)-센스 단일 가닥 RNA 바이러스이다[참조: 국제공개공보 WO 89/04669 및 EP 381 216]. NANBH는 기타 형태의 간 질환, 예를 들면, 알코올 중독증 및 1차적인 담즙성 간경변증 뿐만 아니라, 기타 유형의 바이러스-유도된 간 질환, 예를 들면, A형 간염 바이러스(HAV), B형 간염 바이러스(HBV), 델타 간염 바이러스(HDV), 사이토메갈로바이러스(CMV) 및 엡슈타인-바르(Epstein-Barr) 바이러스(EBV) 유도된 간 질환과도 구별되어야 한다.

최근에, 폴리펩티드 프로세싱과 바이러스성 복제에 필요한 HCV 프로테아제를 동정, 클로닝 및 발현하였다[예를 들면, 미국 특허 제5,712,145호 참조]. 이러한 대략 3000개 아미노산의 폴리단백질은 아미노 말단에서부터 카복시 말단까지, 뉴클레오캡시드 단백질(nucleocapsid protein)(C), 엔벨로프 단백질(envelope protein)(E1 및 E2) 및 몇몇 비-구조 단백질(NS1, 2, 3, 4a, 5a 및 5b)를 함유한다. NS3은 대략 68kda 단백질이고, HCV 게놈의 대략 1893개 뉴클레오티드에 의해 암호화되며, 다음 2가지의 독특한 도메인을 갖는다: (a) 대략 200개의 N-말단 아미노산으로 이루어진 세린 프로테아제 도메인; 및 (b) 상기 단백질의 C-말단에서의 RNA-의존적 ATPase 도메인. NS3 프로테아제는 키모트립신 계열의 구성원으로 간주되는데, 이는 단백질 서열, 전반적인 3차원 구조 및 촉매 작용 기전이 유사하기 때문이다. 기타 키모트립신-유사 효소는 엘라스타제, 인자 Xa, 트롬빈, 트립신, 플라스민, 유로키나제, tPA 및 PSA이다. HCV NS3 세린 프로테아제는 NS3/NS4a, NS4a/NS4b, NS4b/NS5a 및 NS5a/NS5b 연결부에서의 상기 폴리펩티드(폴리단백질)의 단백질 분해에 관여하기 때문에, 바이러스 복제 동안 4가지 바이러스성 단백질을 생성시키는 것과 관계가 있다. 이로써, HCV NS3 세린 프로테아제가 항바이러스 화학요법시 관심을 끄는 표적이 되었다.

대략 6kda 폴리펩티드인 NS4a 단백질이, NS3의 세린 프로테아제 활성에 대한 조인자인 것으로 밝혀졌다. NS3/NS4a 세린 프로테아제에 의한 NS3/NS4a 연결부의 자가절단은 분자내에서(즉, 시스) 일어나는 반면, 기타 부위에서의 절단은 분자간으로(즉, 트랜스) 진행된다.

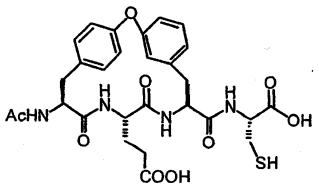
HCV 프로테아제에 대한 천연 절단 부위를 분석한 결과, P1에서는 시스테인이 존재하고 P1'에서는 세린이 존재하며, 이들 잔기는 NS4a/NS4b, NS4b/NS5a 및 NS5a/NS5b 연결부 내에 엄격하게 보존되어 있는 것으로 밝혀졌다. NS3/NS4a 연결부는 P1에서의 트레오닌 및 P1'에서의 세린을 함유한다. NS3/NS4a에서 Cys→Thr 치환은 상기 연결부에서 트랜스 프로세싱 보다는 시스 프로세싱을 필요로 하기 때문에 고려된 것이다[참조: 예를 들면, Pizzi et al.(1994) Proc. Natl. Acad. Sci(USA) 91 :888-892, Failla et al. (1996) Folding & Design 1 :35-42]. NS3/NS4a 절단 부위는 또한, 다른 부위 보다 돌연변이 발생을 보다 잘 허용한다[참조: Kollykhalov et al. (1994) J. Virol. 68 :7525-7533]. 상기 절단 부위의 영역 상단부 내의 산성 잔기가 효율적인 절단에 필요한 것으로 또한 밝혀졌다[참조: Komoda et al. (1994) J. Virol. 68 :7351-7357].

보고된 바 있는 HCV 프로테아제의 억제제로는 산화방지제[참조: 국제공개공보 WO 98/14181], 특정 펩티드 및 펩티드 동족체[참조: 국제공개공보 WO 98/17679; Landro et al. (1997) Biochem. 36 :9340-9348, Ingallinella et al. (1998) Biochem. 37 :8906-8914, Llinas-Brunet et al. (1998) Bioorg. Med. Chem. Lett. 8 :1713-1718], 70개 아미노산 폴리펩티드 에글린 c 기준한 억제제[참조: Martin et al. (1998) Biochem. 37 :11459-11468], 사람 췌장 분비성 트립신 억제제(hPSTI-C3) 및 미니바디 레퍼토리(minibody repertoires)(MBip) 중에서 선택된 억제제 친화물[참조: Dimasi et al. (1997) J. Virol. 71 :7461-7469], cV $_{H}$E2[" 낙타 적응화(camelized)" 가변 도메인 항체 단편][참조: Martin et al. (1997) Protein Eng. 10 :607-614] 및 α1-안티키모트립신(ACT)[참조: Elzouki et al. (1997) J. Hepat. 27 :42-28]이 있다. C형 간염 바이러스 RNA를 선택적으로 파괴시키도록 고안된 리보자임이 최근에 보고되었다[참조:BioWorld Today 9(217) :4(November 10, 1998)].

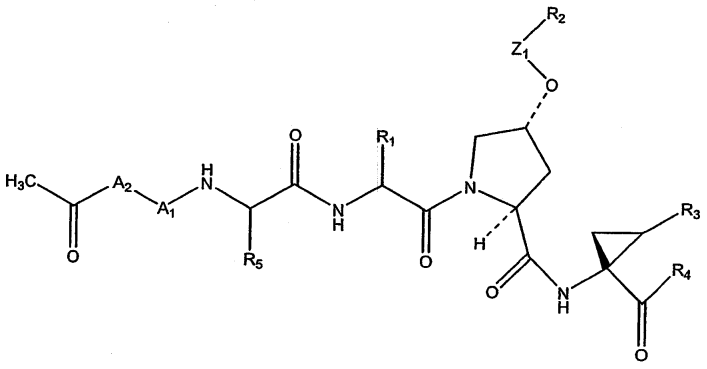
또한, PCT 공개공보 WO 98/17679(1998. 4. 30자로 공개됨)(Vertex Pharmaceuticals Incorporated); WO 98/22496(1998. 5. 28자로 공개됨)(F. Hoffmann-La Roche AG); 및 WO 99/07734(1999. 2. 18자로 공개됨)(Boehringer Ingelheim Canada Ltd.)를 참조할 수 있다.

HCV는 간경변증과, 간세포 암종의 유도에 밀접한 영향을 끼친다. 현재에는, HCV 감염에 걸린 환자를 예측하기가 매우 어렵다. HCV 감염은 기타 형태의 간염 보다 치료하기가 더욱 어려운데, 이는 HCV 감염와 연관된 면역성 또는 병의 차도가 없기 때문이다. 현 데이터는, 간경변증으로 진단받은 지 4년 후의 생존율은 50% 미만이라는 것을 지시해준다. 절제 가능한 국재된 간세포 암종이 있는 것으로 진단된 환자의 5년 후 생존율은 10 내지 30%인 반면, 절제 가능하지 않은 국재된 간세포 암종이 있는 것으로 진단된 환자의 5년 후 생존율은 1% 미만이다.

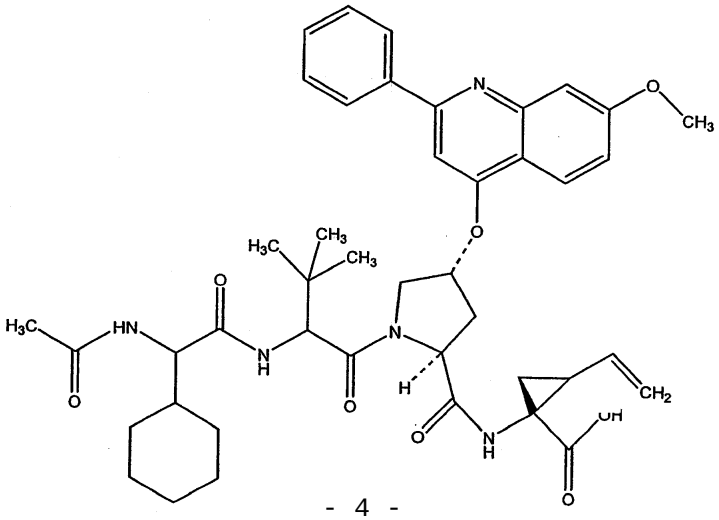
HCV NS3 프로테아제의 억제제의 바이사이클릭 동족체의 합성에 관해 기재되어 있는 문헌[A.Marchetti et al., Synlett, S1, 1000-1002(1999)]을 참조할 수 있다. 상기 문헌에 기재된 화합물은 다음 식을 갖는다:



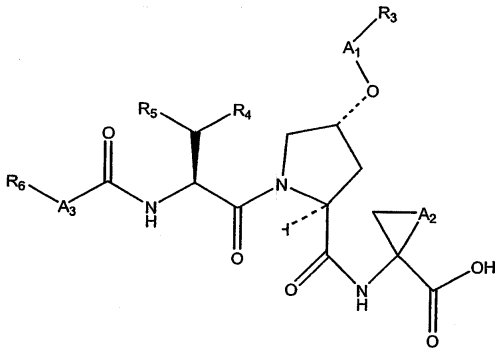
또한, 다음 식의 펩티드 유도체가 기재되어 있는 WO 00/09558(양수인: Boehringer Ingelheim Limited; 2000. 2. 24자로 공개됨)를 참조할 수 있다:



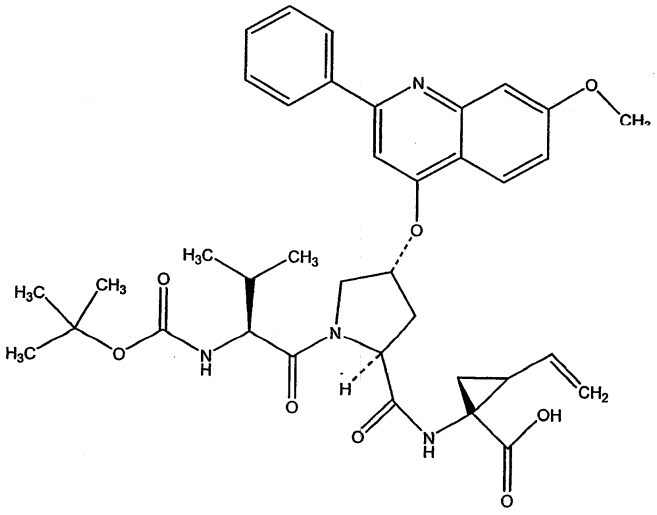
[상기식에서, 각종 요소들은 상기 문헌에 정의되어 있다]. 이러한 시리즈의 화합물의 예는 다음과 같다:



또한, 다음 식의 펩티드 유도체가 기재되어 있는 WO 00/09543(양수인: Boehringer Ingelheim Limited; 2000. 2. 24자로 공개됨)를 참조할 수 있다:



[상기식에서, 각종 요소들은 상기 문헌에 정의되어 있다]. 이러한 시리즈의 화합물의 예는 다음과 같다:



C형 간염에 대한 현 치료법으로는 인터페론-α(INF_α), 및 리바비린(ribavirin)과 인터페론(interferon)의 조합 치료법이 있다[참조: Beremguer et al. (1998) Proc. Assoc. Am. Physicians 110(2) :98-112]. 이들 치료법은 반응 지속율이 낮고 부작용을 자주 일으킨다[참조: Hoofnagle et al. (1997) N. Engl. J. Med. 336 :347]. 현재, HCV 감염에 이용될 수 있는 백신은 전혀 없다.

2000년 4월 5일자로 출원되어 현재 계류중인 특허원 제 호에는 HCV 프로테아제의 억제제로서의 특정한 매크로사이클릭 화합물, 및 이러한 화합물을 함유하는 약제학적 조성물이 기재되어 있다.

HCV 감염에 대한 새로운 치료제와 치료법이 필요하다. 따라서, 본 발명의 목적은 C형 간염의 한 가지 이상의 증상을 치료, 예방 또는 경감시키는데 유용한 화합물을 제공하는 것이다.

본 발명의 추가의 목적은 C형 간염의 한 가지 이상의 증상을 치료, 예방 또는 경감시키는 방법을 제공하는 것이다.

또한, 본 발명의 추가의 목적은 본원에 제공된 화합물을 사용하여, 세린 프로테아제, 특히 HCV NS3/NS4a 세린 프로테아제의 활성을 조절하는 방법을 제공하는 것이다.

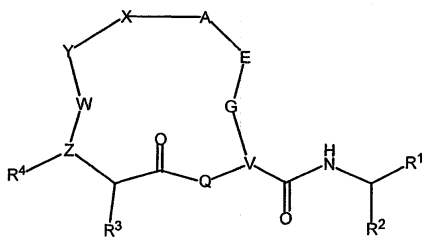
본 발명의 또 다른 목적은 본원에 제공된 화합물을 사용하여, HCV 폴리펩티드의 프로세싱을 조절하는 방법을 제공하는 것이다.

발명의 요약발명의 요약

많은 양태에 있어서, 본 발명은 HCV 프로테아제의 신규한 부류의 매크로사이클릭 억제제, 상기 화합물을 하나 이상 함유하는 약제학적 조성물, 상기 화합물을 하나 이상 포함하는 약제학적 제형의 제조 방법, 및 C형 간염의 한 가지 이상의 증상을 치료, 예방 또는 경감시키는 방법을 제공한다. 또한, HCV 프로테아제와 HCV 폴리펩티드의 상호작용을 조절하는 방법이 제공된다. 본원에 제공된 화합물 중에서, HCV NS3/NS4a 세린 프로테아제 활성을 억제시키는 화합물이 바람직하다. 본원에 기재된 화합물은 일반적으로, 약 4개 이상의 아미노산 잔기 내지 약 12개 미만의 아미노산 잔기를 함유한다.

주요 양태에 있어서, 본 발명은 다음 화학식 I의 매크로사이클릭 화합물을 제공한다:

화학식 I



상기식에서,

E, X 및 Y는 독립적으로 존재 또는 부재할 수 있고, 존재하는 경우, 이는 알킬, 아릴, 알킬-아릴, 헤테로알킬, 헤테로아릴, 아릴-헤테로아릴, 알킬-헤테로아릴, 사이클로알킬, 알킬 에테르, 알킬-아릴 에테르, 아릴 에테르, 알킬 아미노, 아릴 아미노, 알킬-아릴 아미노, 알킬 설파이드, 알킬-아릴 설파이드, 아릴 설파이드, 알킬 설폰, 알킬-아릴 설폰, 아릴 설폰, 알킬-알킬 설폭사이드, 알킬-아릴 설폭사이드, 알킬 아미드, 알킬-아릴 아미드, 아릴 아미드, 알킬 설폰아미드, 알킬-아릴 설폰아미드, 아릴 설폰아미드, 알킬 우레아, 알킬-아릴 우레아, 아릴 우레아, 알킬 카바메이트, 알킬-아릴 카바메이트, 아릴 카바메이트, 알킬 하이드라지드, 알킬-아릴 하이드라지드, 알킬 하이드록스아미드, 알킬-아릴 하이드록스아미드, 알킬 설포닐, 아릴 설포닐, 헤테로알킬 설포닐, 헤테로아릴 설포닐, 알킬 카보닐, 아릴 카보닐, 헤테로알킬 카보닐, 헤테로아릴 카보닐, 알콕시카보닐, 아릴옥시카보닐, 헤테로아릴옥시카보닐, 알킬아미노카보닐, 아릴아미노카보닐, 헤테로아릴아미노카보닐 잔기 또는 이들의 조합물 중에서 독립적으로 선택되는데, 단 E, X 및 Y는 방향족물, 알킬, 알킬-아릴, 헤테로알킬, 아릴-헤테로아릴, 알킬-헤테로아릴, 사이클로알킬, 알킬 에테르, 알킬-아릴 에테르, 알킬 설파이드, 알킬-아릴 설파이드, 알킬 설폰, 알킬-아릴 설폰, 알킬 아미드, 알킬-아릴 아미드, 알킬 설폰아미드, 알킬 아민, 알킬-아릴 아민, 알킬-아릴 설폰아미드, 알킬 우레아, 알킬-아릴 우레아, 알킬 카바메이트, 알킬-아릴 카바메이트, 할로겐, 하이드록실 아미노, 알킬 카바제이트 및 아릴 카바제이트로 이루어진 그룹 중에서 선택된 잔기에 의해 부가적으로 임의로 치환될 수 있고;

R^1 은 COR^5 또는 $B(OR)_2$ 이며, R^5 는 H, OH, OR^8, NR^9R^{10}, CF_3, C_2F_5, C_3F_7, CF_2R^6, R^6, COR^7 이고, R^7 은 H, OH, OR^8, CHR^9R^{10} 또는 NR^9R^{10} 이며, R^6, R^8, R^9 및 R^{10} 은 H, 알킬, 아릴, 헤테로알킬, 헤테로아릴, 사이클로알킬, 사이클로알킬, 아릴알킬, 헤테로아릴알킬, $CH(R^{1'})COOR^{11}$, $CH(R^{1'})CONR^{12}R^{13}$, $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})COOR^{11}$, $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})CONR^{12}R^{13}$, $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})R'$, $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})CONHCH(R^{3'})COOR^{11}$, $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})CONHCH(R^{3'})CONR^{12}R^{13}$, $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})CONHCH(R^{3'})CONHCH(R^{4'})COOR^{11}$, $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})CONHCH(R^{3'})CONHCH(R^{4'})CONR^{12}R^{13}$, $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})CONHCH(R^{3'})CONHCH(R^{4'})CONHCH(R^{5'})COOR^{11}$, $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})CONHCH(R^{3'})CONHCH(R^{4'})CONHCH(R^{5'})CONR^{12}R^{13}$ 으로 이루어진 그룹 중에서 독립적으로 선택되며, $R^{1'}$, $R^{2'}$, $R^{3'}$, $R^{4'}$, $R^{5'}$, R^{11}, R^{12}, R^{13} 및 R' 는 H, 알킬, 아릴, 헤테로알킬, 헤테로아릴, 사이클로알킬, 알킬-아릴, 알킬-헤테로아릴, 아릴-알킬 및 헤테로아르알킬로 이루어진 그룹 중에서 독립적으로 선택되고;

Z는 O, N 또는 CH 중에서 선택되며;

W는 존재 또는 부재할 수 있고, W가 존재하는 경우, W는 C=O, C=S, SO_2 또는 C=NR 중에서 선택되며;

Q는 $(NR)_p$, O, S, CH_2, CHR, CRR', 또는 V에 대한 이중 결합이고;

A는 O, CH_2, $(CHR)_p$, $(CHR-CHR')_p$, $(CRR')_p$, NR, S, SO_2, C=O 또는 결합이며;

G는 $(CH_2)_p$, $(CHR)_p$, $(CRR')_p$, NR, O, S, SO_2, $S(O)_2NH$, C=O, 또는 E 또는 V에 대한 이중 결합이며;

V는 CH, CR 또는 N이고;

p는 0 내지 6의 수이고;

R, R', R^2, R^3 및 R^4 는 H; C1-C10 알킬; C2-C10 알케닐; C3-C8 사이클로알킬; C3-C8 헤테로사이클로알킬, 아릴, 알콕시, 아릴옥시, 알킬티오, 아릴티오, 아미노, 아미도, 에스테르, 카복실산, 카바메이트, 우레아, 케톤, 알데히드, 시아노, 니트로; 헤테로아릴; 알킬-아릴; 알킬-헤테로아릴; (사이클로알킬)알킬 및 (헤테로사이클로알킬)알킬[여기서, 상기 사이클로알킬은 3 내지 8개의 탄소 원자, 0 내지 6개의 산소, 질소, 황 또는 인 원자로 만들어지고, 상기 알킬은 탄소수 1 내지 6이다]로 이루어진 그룹 중에서 독립적으로 선택되는데, 상기 알킬, 헤테로알킬, 알케닐, 헤테로알케닐, 아릴, 헤테로아릴, 사이클로알킬 및 헤테로사이클로알킬 잔기는 임의로 치환될 수 있으며, 상기 용어 " 치환된" 이란 알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴, 아르알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클릭, 할로겐, 하이드록시, 티오, 알콕시, 아릴옥시, 알킬티오, 아릴티오, 아미노, 아미도, 에스테르, 카복실산, 카바메이트, 우레아, 케톤, 알데히드, 시아노, 니트로, 설폰아미드, 설폭사이드, 설폰, 설포닐 우레아, 하이드라지드, 하이드록사메이트 및 티오우레아로 이루어진 그룹 중에서 선택된 하나 이상의 잔기에 의해 임의로 적합하게 치환되는 것을 지칭한다.

달리 언급되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 용어 및 과학 용어들은 본 발명이 속하는 기술 분야의 당업자에게 통상적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다. 따라서, 예를 들면, 용어 알킬(알콕시의 알킬 부분 포함)은 1 내지 8개, 바람직하게는 1 내지 6개의 탄소 원자를 갖는, 단일 원자를 제거함으로써 직쇄 또는 측쇄 포화 탄화수소로부터 유도된 1가 그룹을 지칭한다.

아릴은 6 내지 14개의 탄소 원자와 하나 이상의 벤제노이드 환을 갖는 카보사이클릭 그룹을 나타내는데, 이러한 카보사이클릭 그룹의 모든 이용 가능하고 치환 가능한 방향족 탄소 원자가 가능한 접촉점으로서 고려된다. 바람직한 아릴 그룹으로는 페닐, 1-나프틸, 2-나프틸 및 인다닐이 있으며, 특히 페닐 및 치환된 페닐이 바람직하다.

아르알킬은 저급 알킬을 통하여 연결된 아릴 그룹을 함유하는 잔기를 나타낸다.

알킬아릴은 아릴 그룹을 통하여 연결된 저급 알킬을 함유하는 잔기를 나타낸다.

사이클로알킬은 3 내지 8개, 바람직하게는 5 또는 6개의 탄소 원자를 갖는, 임의로 치환된 포화 카보사이클릭 환을 나타낸다.

헤테로사이클릭은 다음에 정의된 헤테로아릴 그룹 이외에도, 1개 이상의 환으로 이루어진 카보사이클릭 환 구조를 차단하는 1개 이상의 O, S 및/또는 N 원자를 갖는 포화 및 불포화 사이클릭 유기 그룹을 나타내는데, 상기 각 환은 5, 6 또는 7원이고, 비국소 pi 전자가 결여된 이중 결합을 가지거나 가지지 않을 수 있으며, 상기 환 구조는 2 내지 8개, 바람직하게는 3 내지 6개의 탄소 원자를 가지며, 예를 들면, 2- 또는 3-피페리디닐, 2- 또는 3-피페라지닐, 2- 또는 3-모르폴리닐, 또는 2- 또는 3-티오모르폴리닐이다.

할로겐은 불소, 염소, 브롬 및 요오드를 나타낸다.

헤테로아릴은 카보사이클릭 환 구조를 차단하는 1개 이상의 O, S 및/또는 N을 갖고 방향족 특징을 제공하기에 충분한 수의 비국소 pi 전자를 갖는 사이클릭 유기 그룹을 나타내는데, 방향족 헤테로사이클릭 그룹은 2 내지 14개, 바람직하게는 4 또는 5개의 탄소 원자를 가지며, 예를 들면, 2-, 3- 또는 4-피리딜, 2- 또는 3-푸릴, 2- 또는 3-티에닐, 2-, 4- 또는 5-티아졸릴, 2- 또는 4-이미다졸릴, 2-, 4- 또는 5-피리미디닐, 2-피라지닐, 또는 3- 또는 4-피리다지닐 등이다. 바람직한 헤테로아릴 그룹은 2-, 3- 및 4-피리딜이고; 이러한 헤테로아릴 그룹은 임의로 치환될 수도 있다.

또한, 본 발명에는 화학식 I의 화합물의 토토머(tautomer), 로타머(rotamer), 에난티오머 및 기타 광학 이성체 뿐만 아니라 이의 약제학적으로 허용되는 염 및 용매화물이 포함된다.

본 발명의 추가의 양태는 활성 성분으로서 화학식 I의 화합물(또는 이의 염, 용매화물 또는 이성체)을 약제학적으로 허용되는 담체 또는 부형제와 함께 함유하는 약제학적 조성물이다.

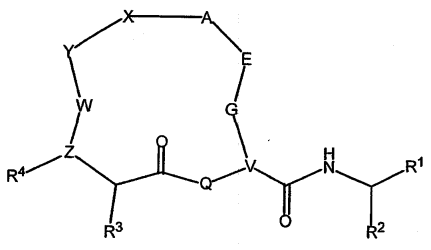
본 발명은 또한, 화학식 I의 화합물의 제조 방법, 및 질환, 예를 들면, HCV 및 관련 질환을 치료하는 방법을 제공한다. 이러한 치료 방법은 상기 질환에 걸린 환자에게 치료학적 유효량의 화학식 I의 화합물 또는 이러한 화학식 I의 화합물을 포함하는 약제학적 조성물을 투여하는 것을 포함한다.

또한, HCV 및 관련 질환 치료용 약제를 제조하기 위한, 화학식 I의 화합물의 용도가 제공된다.

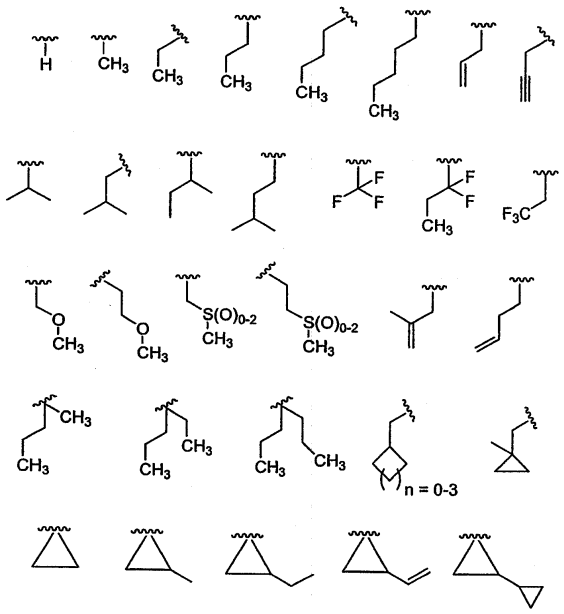
발명의 상세한 설명

한 양태에서는, 본 발명이 HCV 프로테아제, 특히 HCV NS3/NS4a 세린 프로테아제의 억제제로서의 화학식 I의 화합물에 관한 것이다:

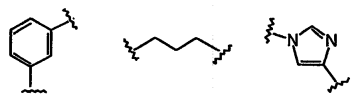
화학식 I



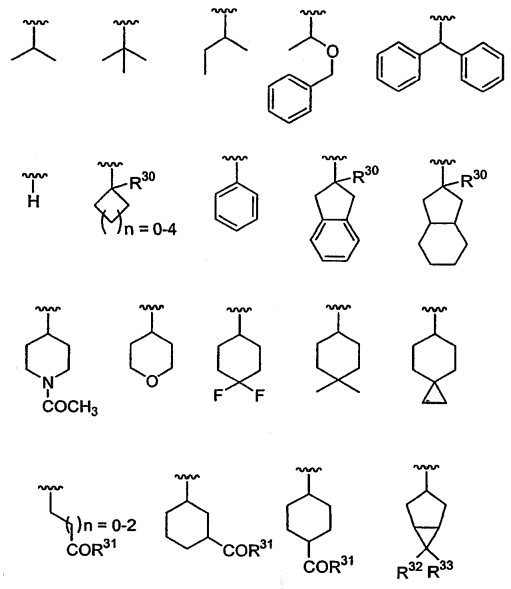
상기식에서, 각종 잔기들은 상기 정의된 바와 같다. 몇몇 바람직한 양태에는 상기 화학식 I에서 각종 작용기의 다음 정의들이 포함되지만, 이에 제한되지는 않으며; 동일한 작용기 및 부가의 작용기에 대한 기타 바람직한 정의들이 본원의 구조들과 청구의 범위(이들 역시 본 발명의 범주 내에 속한다)에 언급될 수 있다. 바람직한 양태 중에서, 화학식 I 중의 R^2는 다음 잔기들 중에서 선택될 수 있다:



E는 치환되거나 치환되지 않은 알킬, 치환되거나 치환되지 않은 아릴, 치환되거나 치환되지 않은 헤테로알킬, 치환되거나 치환되지 않은 헤테로아릴 또는 치환되거나 치환되지 않은 사이클로알킬일 수 있고, 바람직한 E는 다음과 같다:



R^3에 대한 바람직한 양태에는 다음 잔기가 포함된다:



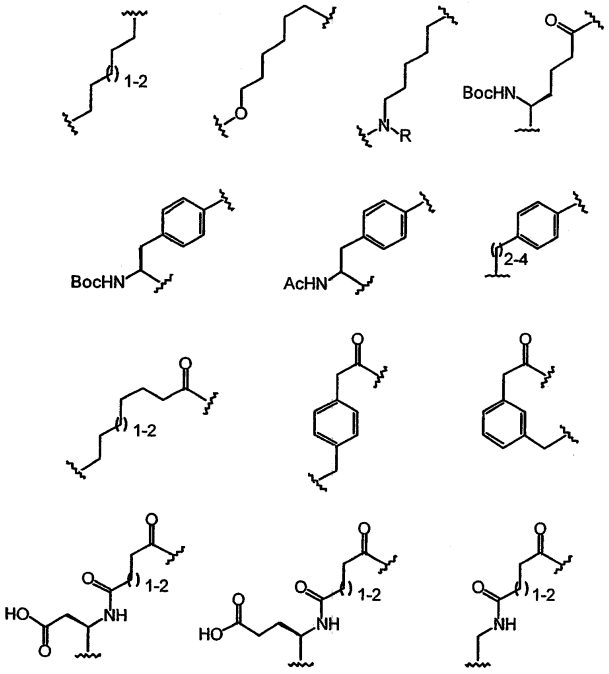
상기식에서,

R^{30} 은 H, CH_3 또는 기타 알킬 그룹이고;

R^{31} 은 OH, 0-알킬, NH_2 또는 N-알킬이며;

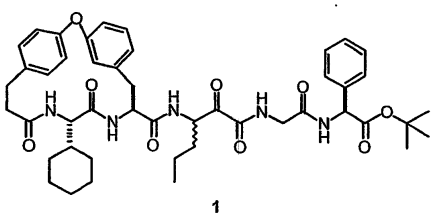
R^{32} 및 R^{33} 은 동일하거나 상이할 수 있고, H, F, Cl, Br 및 CH_3 중에서 독립적으로 선택된다.

잔기 X-Y에 대한 바람직한 양태는 다음 구조이다:

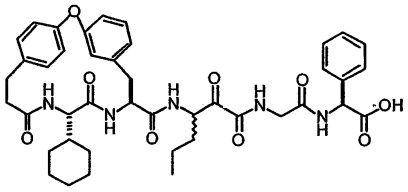


화학식 I의 화합물에 대한 상기 언급된 각종 정의의 몇몇 부가 및 추가의 정수가 본원의 청구의 범위에 언급되어 있다. 이들은 또한, 본 명세서 및 청구의 범위에 열거된 각종 화합물로써 나타낸다. 이러한 정수, 정의 및 제한들은 본원의 전체 발명을 나타내는 것으로 간주되어야 한다.

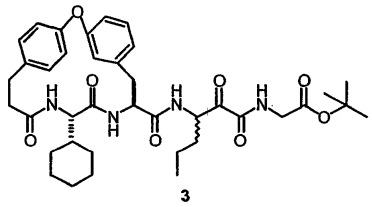
탁월한 HCV 프로테아제 억제 활성을 나타내는 본 발명의 대표적인 화합물이 다음에 열거되어 있다:



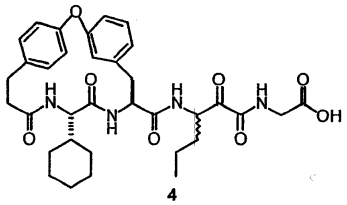
1



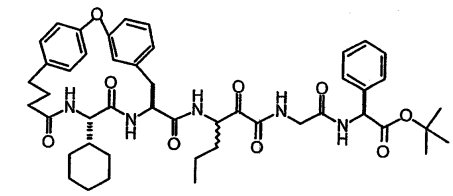
2



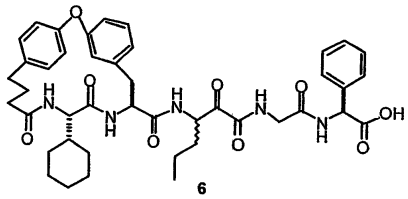
3



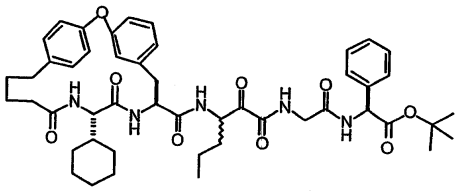
4



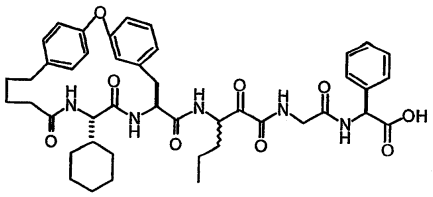
5



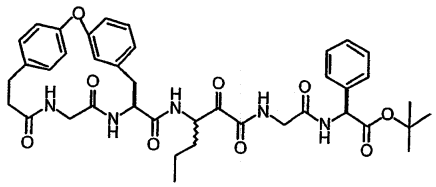
6



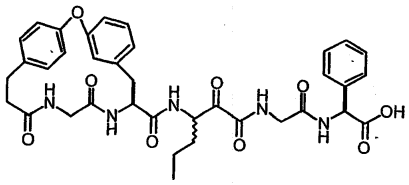
7



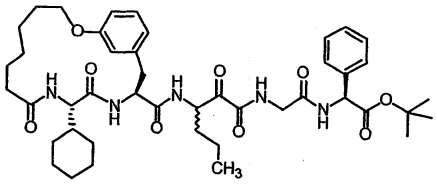
8



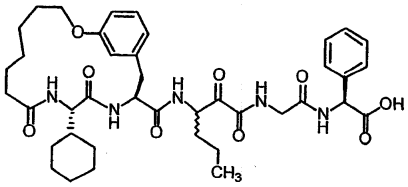
9



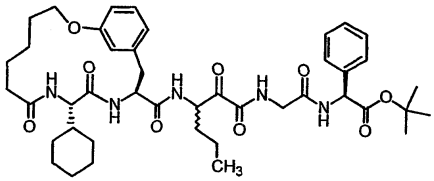
10



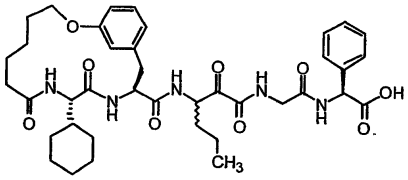
11



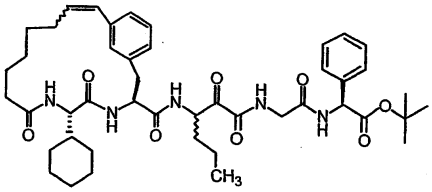
12



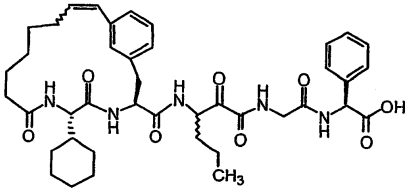
13



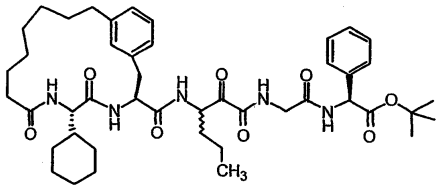
14



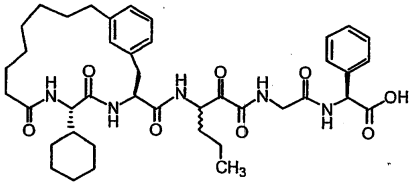
15



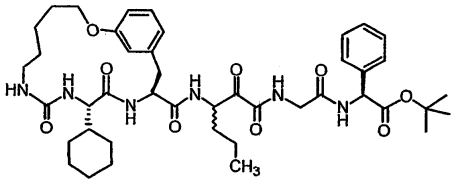
16



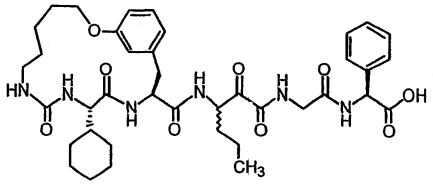
17



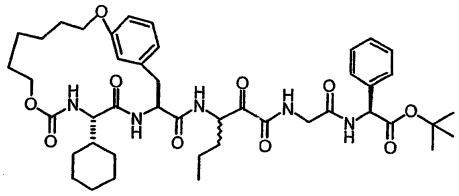
18



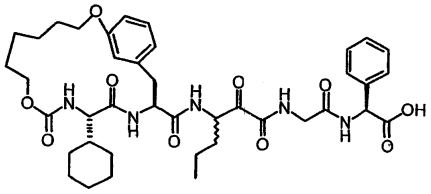
19



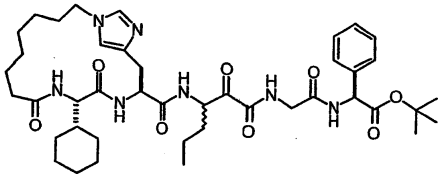
20



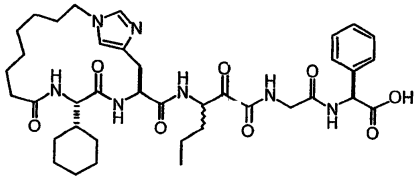
21



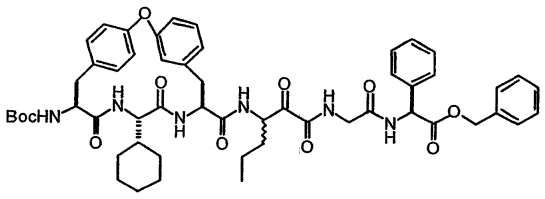
22



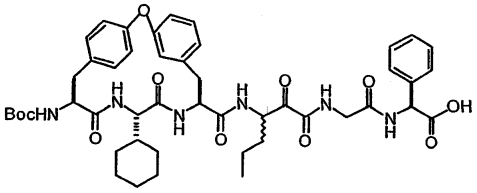
23



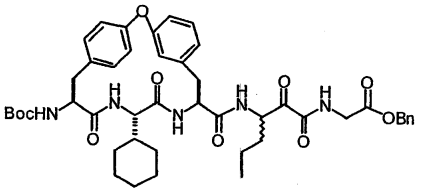
24



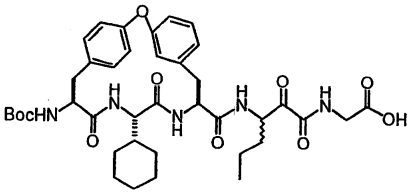
25



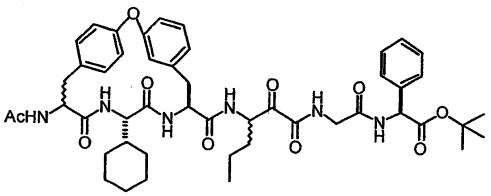
26



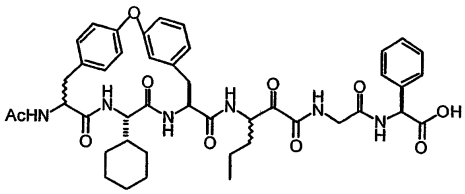
27



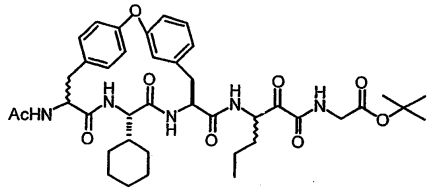
28



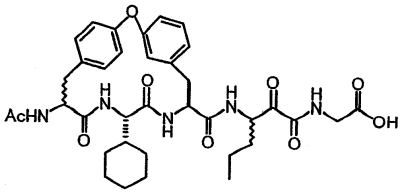
29



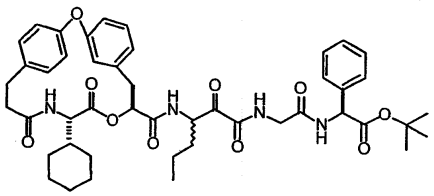
30



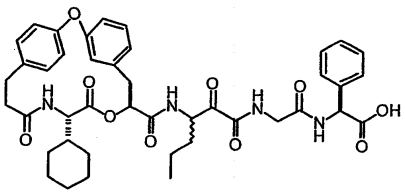
31



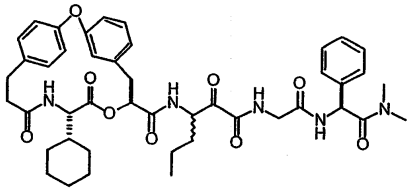
32



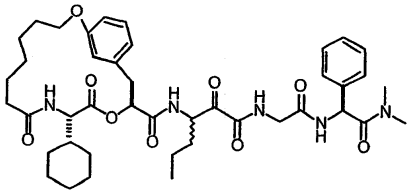
33



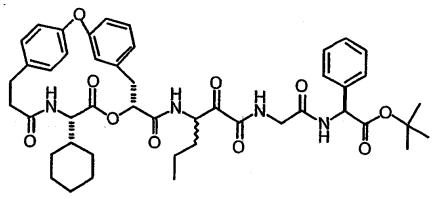
34



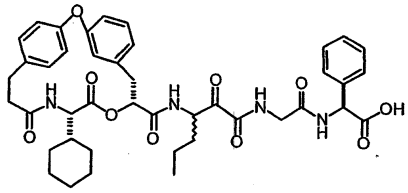
35



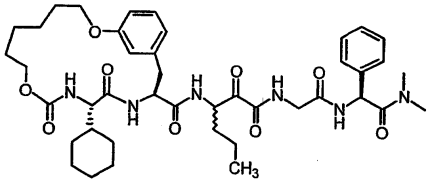
36



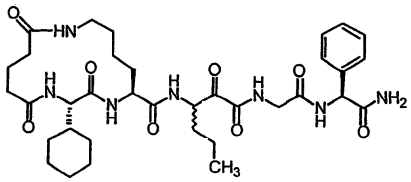
37



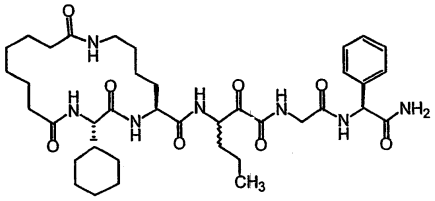
38



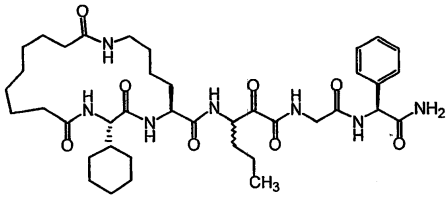
39



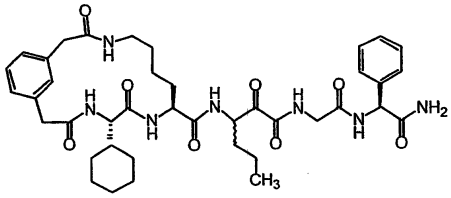
40



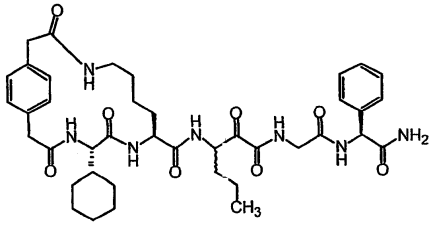
41



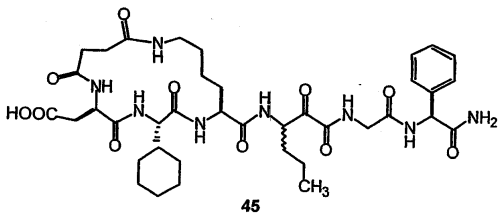
42



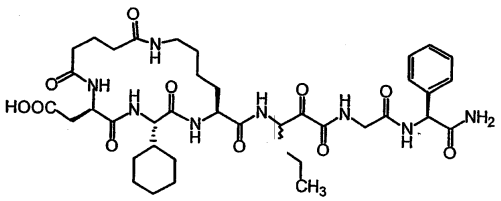
43



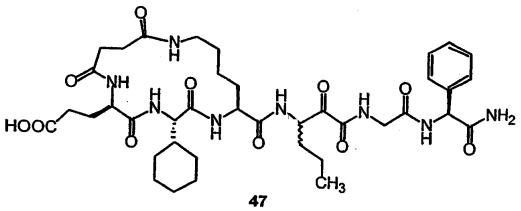
44



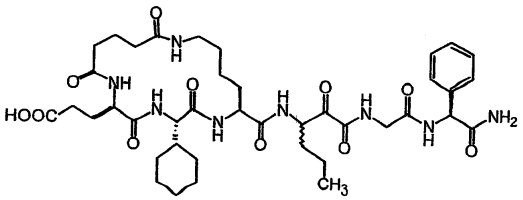
45



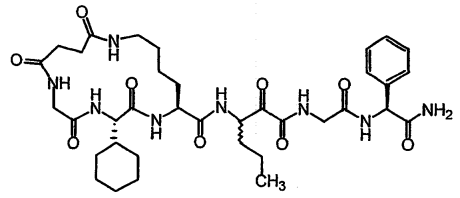
46



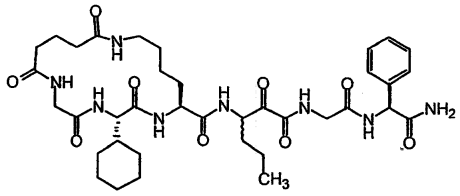
47



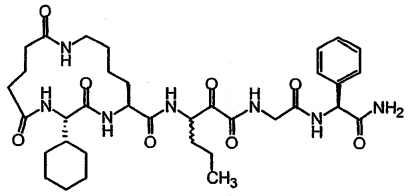
48



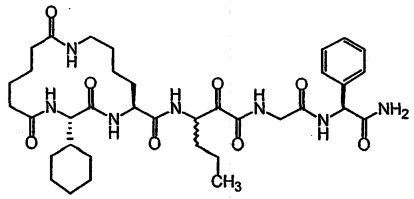
49



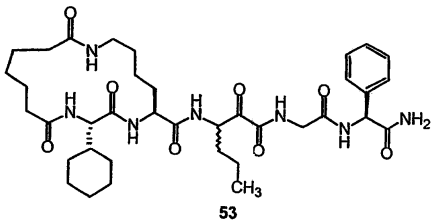
50



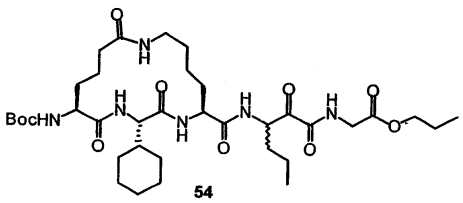
51



52



53



54

상기 화합물 몇몇의 활성이 K_i값(나노몰, nM)으로서 표 1에 제시되어 있다. 표 1에서의 실시예 번호는 본원의 후반부에 제시된 실시예 섹션에서의 각종 구조에 대한 번호를 지칭한다.

[표 1]

HCV 프로테아제 연속 검정 결과

실시예 번호	Ki* nM
1	B
2	A
3	B
4	B
5	B
6	A
7	B
8	A
9	B
10	B
11	B
12	A
13	B
14	B
15	B
16	A
17	B
18	A
19	B
20	A
21	B
22	A
23	B
24	B
25	B
26	B
27	B
28	B
29	B
30	A
31	B
32	B
33	B
34	B
35	B
36	B
37	B
38	B

39	A
40	B
41	A
42	B
43	A
44	A
45	B
46	B
47	B
48	B
49	B
50	B
51	B
52	A
53	A
54	B

HCV 연속 검정 Ki* 범위:

카테고리 A = 0.001 - 1.0 μM; 카테고리 B = 1.1 - 100 μM.

각종 유형의 본 발명의 화합물을 합성하는 방법 몇몇이 다음에 열거되어 있고, 반응식으로 제시된 다음, 실시예에 예시되어 있다.

구조에 따라서, 본 발명의 화합물은 유기 또는 무기 산, 또는 유기 또는 무기 염기와 약제학적으로 허용되는 염을 형성할 수 있다. 이러한 염 형성에 적합한 산의 예는 염산, 황산, 인산, 아세트산, 시트르산, 옥살산, 말론산, 살리실산, 말산, 푸마르산, 석신산, 아스코르브산, 말레산, 메탄설폰산, 및 당업자에게 널리 공지된 기타 무기산 및 카복실산이다. 염기와의 염 형성에 적합한 염기는 예를 들면, NaOH, KOH, NH_4OH, 테트라알킬암모늄 하이드록사이드 등이다.

또 다른 양태에서는, 본 발명이 활성 성분으로서 상기 언급된 본 발명의 매크로사이클을 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 이러한 약제학적 조성물은 일반적으로, 약제학적으로 허용되는 담체 희석제, 부형제 또는 담체(집합적으로 본원에서 담체 물질로서 지칭됨)를 부가적으로 포함한다. 이들의 HCV 억제 활성으로 인해, 상기 약제학적 조성물은 C형 간염 및 관련 질환을 치료하는데 유용하다.

또 다른 양태에서는, 본 발명이 활성 성분으로서 본 발명의 매크로사이클 화합물을 포함하는 약제학적 조성물의 제조 방법을 제공한다. 본 발명의 약제학적 조성물 및 방법에서는, 활성 성분이 전형적으로, 의도된 투여형, 즉 경구용 정제, 캅셀제(고형 충진되거나, 반고형 충진되거나 또는 액상 충진됨), 구성용 산제, 경구용 젤, 엘릭서제, 분산성 과립제, 시럽, 현탁제 등에 대해 적합하게 선택되고 통상적인 약제학적 실시에 일관되게, 적합한 담체 물질과 함께 투여될 것이다. 예를 들면, 정제 또는 캅셀제 형태의 경구 투여형에서는, 활성 약물 성분을, 모든 경구용 비독성의 약제학적으로 허용되는 불활성 담체, 예를 들면, 락토즈, 전분, 슈크로즈, 셀룰로즈, 마그네슘 스테아레이트, 인산이칼슘, 황산칼슘, 탈크, 만니톨, 에틸 알코올(액상형) 등과 조합할 수 있다. 더우기, 필요에 따라, 적합한 결합제, 윤활제, 붕해제 및 착색제를 상기 혼합물에 혼입할 수도 있다. 산제 및 정제는 본 발명의 조성물을 약 5 내지 약 95% 포함할 수 있다. 적합한 결합제로는 전분, 젤라틴, 천연 당, 옥수수 감미제, 천연 및 합성 검, 예를 들면, 아카시아 검, 나트륨 알지네이트, 카복시메틸

셀룰로즈, 폴리에틸렌 글리콜 및 왁스가 있다. 이들 투여형에 사용하기 위한 윤활제로는, 붕산, 나트륨 벤조에이트, 나트륨 아세테이트, 염화나트륨 등이 언급될 수 있다. 붕해제로는 전분, 메틸셀룰로즈, 구아 검 등이 있다.

감미제, 향미제 및 방부제가 경우에 따라 포함될 수도 있다. 상기 언급된 용어 중 몇몇, 즉 붕해제, 희석제, 윤활제, 결합제 등이 다음에 보다 상세히 논의된다.

부가적으로, 본 발명의 조성물은 치료 효과, 즉 HCV 억제 활성 등을 최적화하기 위해 하나 이상의 성분 또는 활성 성분을 속도 제어 방출시키도록 지속 방출 형태로 제형화시킬 수 있다. 지속 방출시키는데 적합한 투여형에는 각종 붕해율을 나타내는 층 또는 활성 성분이 함침된 제어 방출 중합체성 매트릭스를 함유하는 층 형성된 정제, 및 상기 함침되거나 캡슐화된 다공성 중합체성 매트릭스를 함유하는 정제형 또는 캅셀제가 포함된다.

액상 형 제제로는 용제, 현탁제 및 유제가 있다. 한 예로서, 비경구 주사용수 또는 물-프로필렌 글리콜 용액, 또는 경구용 용제, 현탁제 및 유제를 위한 감미제 및 유백화제의 부가물이 언급될 수 있다. 액상 형 제제에는 또한 비내 투여용 용제가 포함될 수 있다.

흡입용으로 적합한 에어로졸 제제로는 불활성 압착 기체(예: 질소)와 같은 약제학적으로 허용되는 담체와 조합될 수 있는, 분말 형태의 고형물 및 용제가 포함될 수 있다.

좌제를 제조하기 위해서는, 지방산 글리세라이드, 예를 들면, 코코아 버터의 혼합물과 같은 저융점 왁스를 먼저 용융시키고, 이 안에 활성 성분을 교반시키거나 유사하게 혼합시킴으로써 균질하게 분산시킨다. 이어서, 이와 같이 용융된 균질한 혼합물을 통상적인 크기의 주형에 따라 붓고, 냉각시킴으로써 고형화시킨다.

또한, 사용 직전에 경구 또는 비경구 투여용 액상 형 제제로 전환되도록 의도된 고형 제제가 포함된다. 이러한 액상 형으로는 용제, 현탁제 및 유제가 있다.

본 발명의 화합물은 또한 경피적으로 전달될 수 있다. 이러한 경피용 조성물은 크림, 로션, 에어로졸 및/또는 유제의 형태를 취할 수 있으며 이러한 목적을 위해 당해 분야에 통상적인 바와 같은 매트릭스 또는 저장기 유형의 경피용 패치에 포함될 수 있다.

바람직하게는, 당해 화합물을 경구 투여한다.

바람직하게는, 당해 약제학적 제제가 단위 투여형으로 존재한다. 이러한 형태에서는, 상기 제제가 적당한 양의 활성 성분, 예를 들면, 목적하는 바를 달성하기에 유효한 양을 함유하는, 적합한 크기의 단위 용량으로 작게 나누어진다.

단위 용량 제제 내의 본 발명의 활성 조성물의 양은 특정 적용 분야에 따라서, 일반적으로 약 1.0mg 내지 약 1,000mg, 바람직하게는 약 1.0mg 내지 약 950mg, 보다 바람직하게는 약 1.0mg 내지 약 500mg, 전형적으로 약 1 내지 약 250mg으로 다양하거나 조정할 수 있다. 이용된 실제적인 투여량은 환자의 연령, 성별, 체중 및 치료하고자 하는 질환의 중증도에 따라서 결정될 수 있다. 이러한 기술은 당업자에게 널리 공지되어 있다.

일반적으로, 활성 성분을 함유하는 사람 경구 투여형은 1일 1 또는 2회 투여할 수 있다. 투여량 및 투여 횟수는 담당의의 판단에 따라서 조절될 것이다. 경구 투여의 경우에 전형적으로 권장되는 1일 투여량 섭생은 약 1.0mg/일 내지 약 1,000mg/일을 단일 용량으로 투여하거나 수 회분으로 나누어 투여하는 것이다.

몇몇 유용한 용어는 다음에 기재되어 있다:

캅셀제는 활성 성분을 포함하는 조성물을 보유 또는 함유하기 위한, 메틸 셀룰로즈, 폴리비닐 알코올, 또는 변성 젤라틴 또는 전분으로 만든 특수 용기 또는 봉입물을 지칭한다. 경질 쉘(shell) 캅셀제는 전형적으로, 비교적 높은 겔 강도 뼈와 돼지고기 피부 젤라틴의 블렌드로 만든다. 캅셀제 자체는 소량의 염료, 유백화제, 가소제 및 방부제를 함유할 수 있다.

정제는 활성 성분을 적합한 희석제와 함께 함유하는 압착 또는 성형된 고형의 투여형을 지칭한다. 정제는 습식 과립화, 건식 과립화 또는 조밀화에 의해 수득된 혼합물 또는 과립화물을 압착시킴으로써 제조할 수 있다.

경구용 젤은 친수성 반고형 매트릭스 내에 분산 또는 가용화된 활성 성분을 지칭한다.

구성용 산제는 물 또는 쥬스에 현탁될 수 있는 적합한 희석제와 활성 성분을 함유하는 분말 블렌드를 지칭한다.

희석제는 대부분의 조성물 또는 투여형을 통상적으로 구성하는 물질을 지칭한다. 적합한 희석제로는 당, 예를 들면, 락토즈, 슈크로즈, 만니톨 및 솔비톨; 밀, 옥수수, 벼 및 감자로부터 유도된 전분; 및 셀룰로즈, 예를 들면, 미세결정성 셀룰로즈가 있다. 당해 조성물 중의 희석제의 양은 조성물의 총 중량을 기준으로 하여 약 10 내지 90%, 바람직하게는 약 25 내지 약 75%, 더욱 바람직하게는 약 30 내지 약 60%, 더욱 더 바람직하게는 약 12 내지 약 60%의 범위일 수 있다.

붕해제는 약제를 파괴 분리(붕해)시켜 이를 방출시키는 것을 도와주기 위해 해당 조성물에 부가된 물질을 지칭한다. 적합한 붕해제로는 전분; " 냉수 가용성" 개질된 전분, 예를 들면, 나트륨 카복시메틸 전분; 천연 및 합성 검, 예를 들면, 로커스트 빈(locust bean), 카라야, 구아, 트라가칸드 및 한천; 셀룰로즈 유도체, 예를 들면, 메틸셀룰로즈 및 나트륨 카복시메틸셀룰로즈; 미세결정성 셀룰로즈 및 가교결합된 미세결정성 셀룰로즈, 예를 들면, 나트륨 크로스카멜로즈; 알지네이트, 예를 들면, 알진산 및 나트륨 알지네이트; 점토, 예를 들면, 벤토나이트; 및 비등성 혼합물이 있다. 당해 조성물 내의 붕해제의 양은 이러한 조성물의 총 중량을 기준으로 하여 약 2 내지 약 15중량%, 더욱 바람직하게는 약 4 내지 약 10중량%의 범위일 수 있다.

결합제는 분말을 함께 결합 또는 " 접착" 시키고, 과립을 형성시킴으로써 이들을 접착성이 되게 하므로, 제형 내에서 접착제로서 작용하도록 하는 물질을 지칭한다. 결합제는 희석제 또는 벌크제에서 이미 이용 가능한 접착 강도를 부가한다. 적합한 결합제로는 당, 예를 들면, 슈크로즈; 밀, 옥수수, 벼 및 감자로부터 유도된 전분; 천연 검, 예를 들면, 아카시아, 젤라틴 및 트라가칸드; 해초의 유도체, 예를 들면, 알진산, 나트륨 알지네이트 및 암모늄 칼슘 알지네이트; 셀룰로즈성 물질, 예를 들면, 메틸셀룰로즈 및 나트륨 카복시메틸셀룰로즈 및 하이드록시프로필메틸셀룰로즈; 폴리비닐피롤리돈; 및 무기물, 예를 들면, 마그네슘 알루미늄 실리케이트가 있다. 당해 조성물 중의 결합제의 양은 조성물의 총 중량을 기준으로 하여 약 2 내지 20중량%, 바람직하게는 약 3 내지 약 10중량%, 더욱 바람직하게는 약 3 내지 약 6중량%의 범위일 수 있다.

윤활제는 정제, 과립제 등을 압착시킨 후, 마찰이나 마모를 감소시킴으로써 상기 제형을 주형 또는 다이로부터 방출시키도록 해주기 위해, 해당 투여형에 부가된 물질을 지칭한다. 적합한 윤활제로는 금속성 스테아레이트, 예를 들면, 마그네슘 스테아레이트, 칼슘 스테아레이트 또는 칼륨 스테아레이트; 스테아르산; 고융점 왁스; 및 수용성 윤활제, 예를 들면, 염화나트륨, 나트륨 벤조에이트, 나트륨 아세테이트, 나트륨 올레에이트, 폴리에틸렌 글리콜 및 d'l-루이신이 있다. 윤활제는 통상적으로, 압착전 가장 마지막 단계에 가하는데, 이는 이들이 과립 표면 상에 존재해야 하고, 과립과 정제 압착부 사이에 존재해야 하기 때문이다. 당해 조성물 중의 윤활제의 양은 조성물의 총 중량을 기준으로 하여 약 0.2 내지 5중량%, 바람직하게는 약 0.5 내지 약 2중량%, 더욱 바람직하게는 약 0.3 내지 약 1.5중량%의 범위일 수 있다.

활탁제는 케이킹을 방지하고 과립화물의 유동 특징을 개선시켜, 유동이 평활하고 균일하게 되도록 해주는 물질을 지칭한다. 적합한 활탁제로는 이산화규소 및 탈크가 있다. 당해 조성물 중의 활탁제의 양은 조성물의 총 중량을 기준으로 하여 약 0.1 내지 5중량%, 바람직하게는 약 0.5 내지 약 2중량%의 범위일 수 있다.

착색제는 해당 조성물 또는 투여형을 착색시키는 부형제이다. 이러한 부형제에는 식품 등급의 색소, 및 점토 또는 산화알루미늄과 같은 적합한 흡착제 상에 흡착된 식품 등급의 색소가 포함될 수 있다. 이러한 착색제의 양은 조성물의 총 중량을 기준으로 하여 약 0.1 내지 5중량%, 바람직하게는 약 0.1 내지 약 1중량%의 범위일 수 있다.

생체내 이용 효율은 표준물 또는 대조군과 비교해서, 활성 약물 성분 또는 치료학적 잔기가, 투여된 투여형으로부터 전신 순환계 내로 흡수되는 속도 및 정도를 지칭한다.

정제를 제조하는 통상적인 방법이 공지되어 있다. 이러한 방법에는 건식 방법, 예를 들면, 직접적인 압착법 및 조밀화에 의해 생성된 과립물을 압착시키는 방법, 또는 습식 방법 또는 기타 특수 과정이 포함된다. 기타 투여형, 예를 들면, 캅셀제, 좌제 등을 제조하는 통상적인 방법이 또한 널리 공지되어 있다.

본 발명의 또 다른 양태는 C형 간염 등과 같은 질환을 치료하기 위한, 상기 언급된 약제학적 조성물의 용도에 관한 것이다. 상기 방법은 본 발명의 약제학적 조성물의 치료학적 유효량을 상기 질환(들)에 걸려 본 치료를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함한다.

앞서 언급된 바와 같이, 본 발명은 또한, 당해 화합물의 토토머, 에난티오머 및 기타 입체이성체를 포함한다. 따라서, 당업자에게 공지된 바와 같이, 본 발명의 화합물 중의 몇몇은 이성체 형태로 존재할 수 있다. 이러한 변이물도 본 발명의 범주 내에 속하는 것으로 고려된다.

본 발명의 또 다른 양태는 본원에 기재된 매크로사이클릭 화합물의 제조 방법에 관한 것이다. 상기 화합물은 당해 분야에 공지된 몇몇 기술에 의해 제조할 수 있다. 대표적인 방법의 예가 다음 반응식에 제시되어 있다. 다음의 예시적 반응식에는 P2 위치에서 메타-티로신 또는 리신으로부터 주로 유도된 매크로사이클의 제조 방법이 기재되어 있긴 하지만, 천연 아미노산과 천연이 아닌 아미노산 둘 다의 적합한 어떠한 치환도, 이러한 치환에 근거하여 목적하는 매크로사이클을 형성할 수 있다는 것을 인지해야 한다.

다음 반응식, 제조 방법 및 실시예에 관한 기재에 사용된 약어는 다음과 같다:

THF: 테트라하이드로푸란

DMF: N,N-디메틸포름아미드

EtOAc: 에틸 아세테이트

AcOH: 아세트산

HOOBt: 3-하이드록시-1,2,3-벤조트리아진-4(3H)-온

EDCl: 1-(3-디메틸아미노프로필)-3-에틸카보디이미드 하이드로클로라이드

NMM: N-메틸모르폴린

ADDP: 1,1'-(아조디카보빌)디피페리딘

DEAD: 디에틸아조디카복실레이트

MeOH: 메탄올

EtOH: 에탄올

Et_2O: 디에틸 에테르

Bn: 벤질

Boc: 3급-부틸옥시카보닐

Cbz: 벤질옥시카보닐

Cp: 사이클로펜틸디에닐

Ts: p-톨루엔설포닐

Me: 메틸

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

Chg: 사이클로헥실글리신

Tyr: 티로신

G: 글리세롤

TG: 티오글리세롤

alloc: 알릴옥시카보닐

FMOC: 9-플루오레닐 메틸옥시카보닐

Dde: N-1-(4,4-디메틸-2,6-디옥소사이클로헥스-1-일리덴)에틸

tBu: 3급-부틸

equiv: 당량

rel.int.: 상대 세기

aq: 수성

rt: 실온

satd: 포화

Hex: 헥산(들)

NBA: 니트로벤조산

PyBrOP: 트리스(피롤리디노)브로모포스포늄 헥사플루오로포스페이트

DMSO: 디메틸 설폭사이드

TFA: 트리플루오로아세트산

HOBt: 하이드록시벤조트리아졸

위니그스(Hunigs) 염기: 디이소프로필에틸 아민

BOP: 벤조트리아졸-1-일옥시트리스(디메틸아미노)포스포늄 헥사플루오로포스페이트

LDA: 리튬 디이소프로필 아미드

Ph_3P: 트리페닐 포스핀

LAH: 리튬 알루미늄 하이드라이드

DMAP: 4-디메틸 아미노피리딘

DCC: 디사이클로헥실카보디이미드

MCPBA: 메타-클로로퍼벤조산

BINAP: 2,2'-비스(디페닐포스피노)-1,1'-비나프톨

MeCN: 아세토니트릴

Pr: 프로필

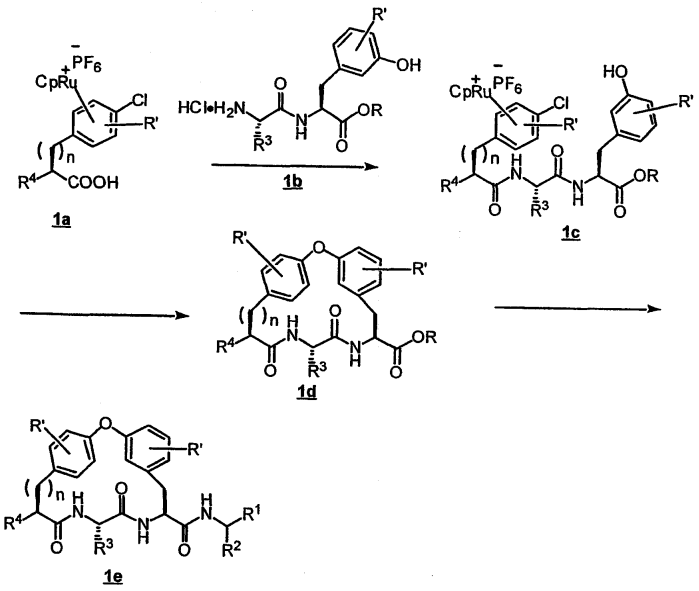
Ac: 아세틸

Ph: 페닐.

본 발명의 화합물을 합성하기 위한 일반적인 반응식:본 발명의 화합물을 합성하기 위한 일반적인 반응식:

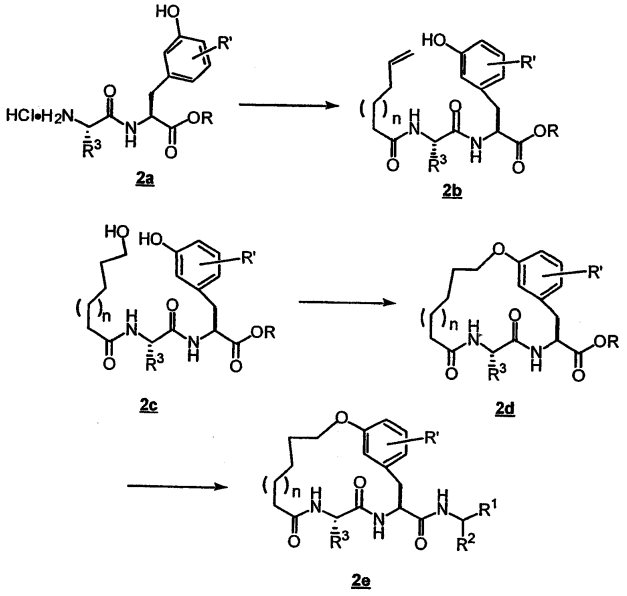
다음 반응식에서, n은 1 내지 6의 수이다.

[반응식 1]



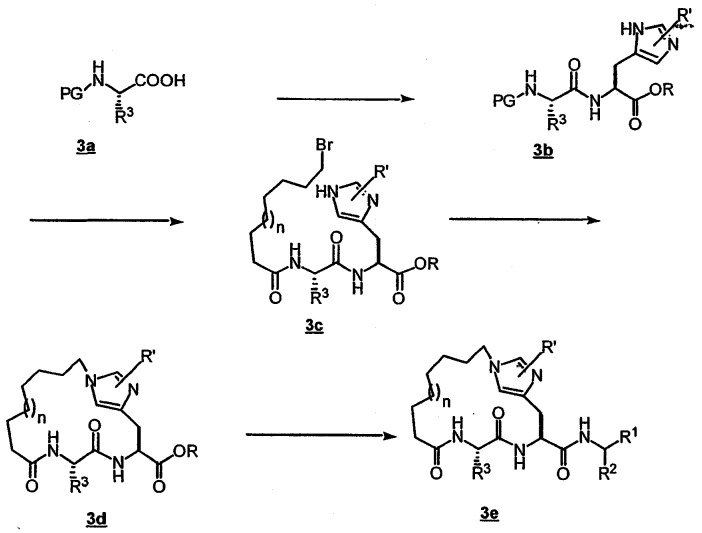
유형 1e의 화합물의 합성[여기서, R^1, R^2, R^3, R'은 상기 정의한 바와 같고, R^4는 아미드, 카바메이트 또는 수소이며, R은 알킬, 아릴 또는 아릴알킬이다]은 NMM, HOBt 및 EDCl을 사용하여 1a를 디펩티드 1b와 커플링시킴으로써 시작하여, 중간체 1c를 수득한다. 중간체 1c를 DMF 중의 Cs_2CO_3로 처리한 다음 광분해시켜 화합물 1d를 수득한다. 매크로사이클릭 에스테르 1d를 가수분해시키고, 이를 적합한 아민 중간체와 커플링시켜 유형 1e의 화합물을 생성시킨다.

[반응식 2]



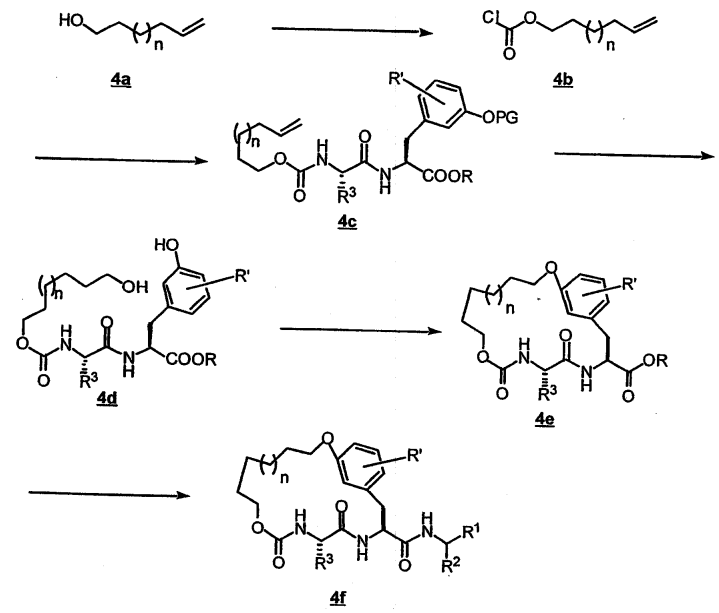
식 2e의 화합물의 제조 방법[여기서, R^1, R^2, R^3 및 n은 상기 정의한 바와 같고, R'는 알킬, 헤테로알킬(OR", SR", NR" R"'(여기서, R" 및 R"'은 알킬 그룹이다)), 산소 원자에 대한 오르토, 메타 또는 파라 위치에서의 할로 치환체이고; R은 알킬, 아릴, 또는 알킬아릴 그룹이며; n은 0 내지 5이다]이 반응식 2에 제시되어 있다. 메타-티로신-디펩티드 2a를 HOOBt, EDCl·HCl 및 NMM의 존재 하에 알케닐 카복실산과 커플링시킨다. 이로써 생성된 생성물을 수소화붕소 첨가 반응시켜 화합물 2c를 수득한다. 트리페닐포스핀 및 ADDP를 사용함으로써 미쓰노부(Mitsunobu) 조건 하에 매크로사이클화(macrocyclization)를 달성한다[미쓰노부 반응은 문헌(D.L. Hughes, Org. Reactions, 42(1992) 335, John Wiley & Sons, New York, L. Paquette, ed.)에 기재되어 있다]. 수산화리튬을 이용하여 상기 에스테르를 가수분해시켜 산을 수득한 후, 이를 아민 중간체와 커플링시켜 2e를 수득한다.

[반응식 3]



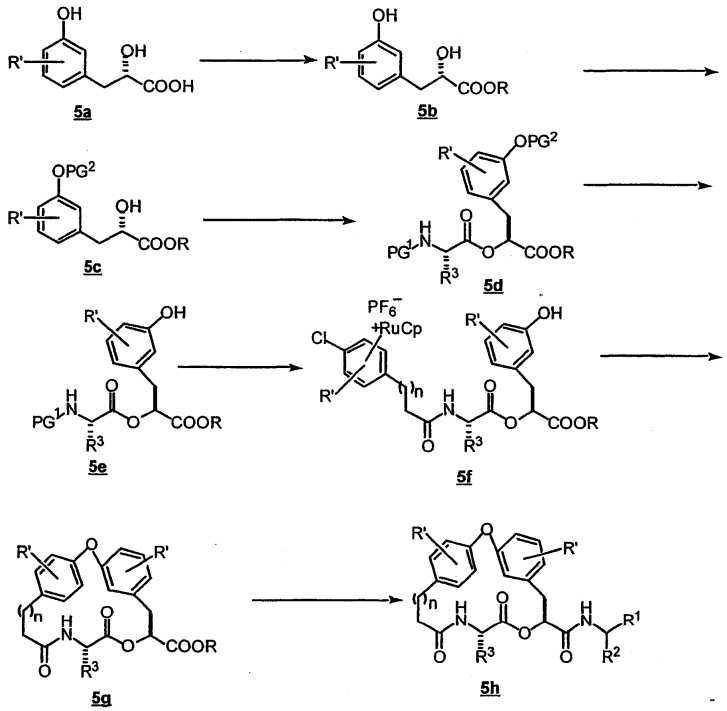
식 3e의 화합물의 제조 방법[여기서, R', R^1, R^2, R^3, R 및 n는 반응식 1에서 정의한 바와 같고 PG는 Cbz, Boc 또는 alloc이다]이 반응식 3에 제시되어 있다. DCC를 사용하여, 화합물 3a를 치환된 히스티딘 유도체와 커플링시킨다. 이 화합물 3b를 탈보호시키고, ω-브로모 산으로 추가로 처리하여 유형 3c의 화합물을 수득한다. 비등하는 메틸비닐 케톤 중의 NaI 및 Na_2CO_3를 사용하여 3c를 폐환시켜 3d를 수득한다. 상기 에스테르를 가수분해시킨 다음 이를 적당한 아민 중간체와 커플링시킴으로써, 화합물 3d를 유형 3e의 화합물로 전환시킨다.

[반응식 4]



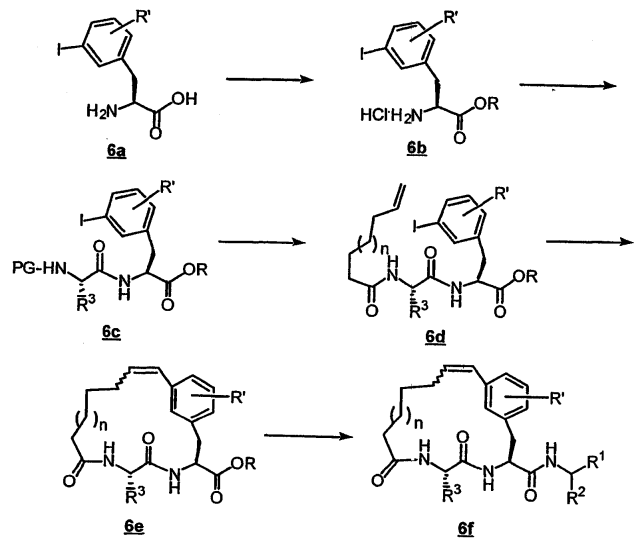
유형 4f의 화합물의 제조 방법[여기서, R', R^1, R^2, R^3, R, n 및 PG는 반응식 1에서 정의한 바와 같다]은 유형 4a의 화합물로부터 개시한다. 알코올 4a를 포스겐으로 처리함으로써 4b로 전환시킨다. 4b를 alloc 보호된 1b 및 Et_3N과 커플링시킴으로써 이를 4c로 전환시킨다. 4c의 alloc 그룹을 $Pd(PPh_3)_4$을 사용하여 탈보호시켜 4d를 수득하고, 이를 미쓰노부 조건 하에 폐환 반응시켜 4e를 수득한다. 4e의 에스테르를 가수분해시키고, EDCl, HOOBt를 사용하여 아민과 추가로 커플링시켜 유형 4f의 화합물을 수득한다.

[반응식 5]



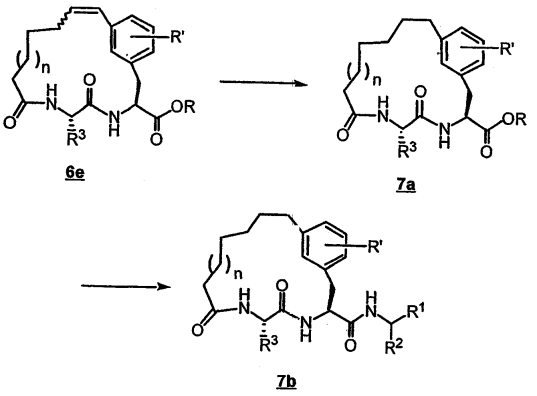
유형 5h의 화합물의 제조 방법[여기서, R^1, R^2, R^3, R', PG 및 n는 반응식 1 내지 3에서 정의한 바와 같고 PG^1는 Cbz 또는 Boc이며 PG^2는 alloc이다]은 공지된 화합물 5a로 시작한다. 산 5a를 ROH 및 TsOH로 환류시킴으로써, 상기 산을 에스테르로 전환시킨다. 5b의 페놀계 산소를 alloc-클로라이드 및 트리에틸 아민으로 처리함으로써 이를 alloc 그룹으로 전환시켜 5c를 수득한다. 5c의 2급 알코올을, DCC 및 HOBt를 사용하여 보호된 사이클로헥실 글리신과 커플링시킴으로써 이를 유형 5d의 화합물로 전환시킨다. $Pd(Ph_3P)_4$ 및 디메돈을 사용하여, 화합물 5d의 alloc 그룹을 탈보호시킨다. 5e를 탈보호시키고, 이를 EDCl, HOOBt 및 적당하게 활성화된 루테늄 착물로 처리하여 식 5f의 화합물을 수득한다. Cs_2CO_3를 사용한 다음, 연속해서 루테늄을 광분해적 제거함으로써, 유형 5f의 화합물을 식 5g의 사이클릭 화합물로 전환시킨다. 5g의 에스테르 그룹을 가수분해시키고, 아민 중간체와 커플링시켜 유형 5h의 화합물을 수득한다.

[반응식 6]



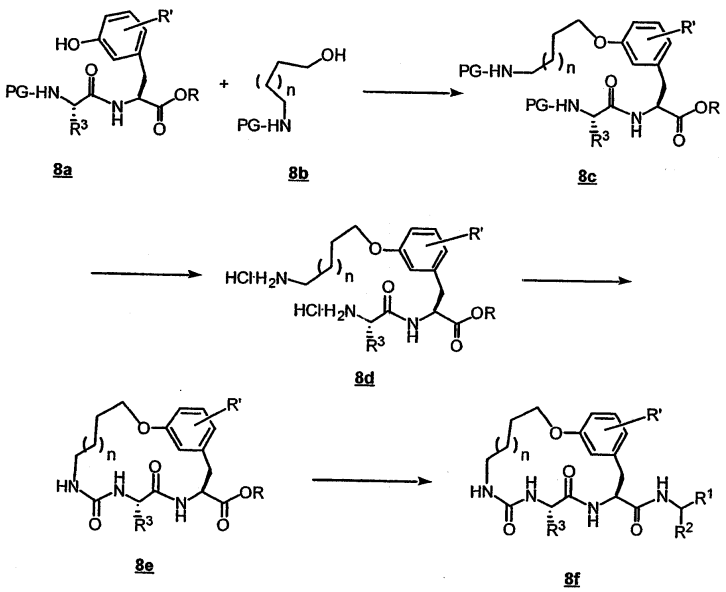
식 6f의 화합물의 제조 방법[여기서, R^1, R^2, R^3은 상기 정의한 바와 같고, R'는 알킬, 헤테로알킬(OR", SR" ', NR" R" '(여기서, R" 및 R" '은 알킬 그룹이다)), 산소 원자에 대한 오르토, 메타 또는 파라 위치에서의 할로 치환체이고; R은 알킬, 아릴, 또는 알킬아릴 그룹이며; PG는 Cbz 또는 Boc이고, n은 0 내지 5이다]이 반응식 6에 제시되어 있다. 메타-요오도페닐글리신 6a를 통상적인 에스테르화 조건(ROH, HCl) 하에 이의 에스테르로 전환시킨다. 이어서, 상기 생성물을 HOOBt, EDCl·HCl 및 NMM의 존재하에 N-보호된 아미노산과 커플링시킨다. 탈보호 후, 이로써 생성된 아민을 다시 말단 알케닐 카복실산과 커플링시켜 생성물 6d를 수득한다. 팔라듐 촉매와의 분자내 헥(Heck) 반응시켜 목적하는 매크로사이클릭 화합물 6e를 제공한다[헥 반응은 문헌(R.F. Heck, Org. React., 27(1989) 345-390)에 상세히 기재되어 있다]. 수산화리튬을 사용하여 상기 에스테르를 가수분해시켜 산을 수득한 후, 이를 아민 중간체와 커플링시켜 6f를 수득한다.

[반응식 7]



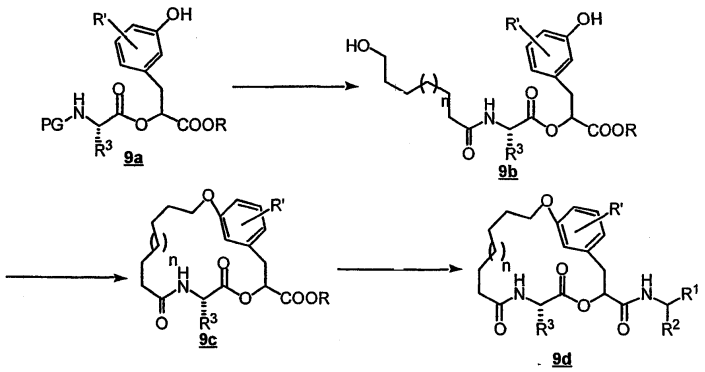
식 7b의 화합물의 제조 방법[여기서, R^1, R^2, R^3은 상기 정의한 바와 같고, R'는 알킬, 헤테로알킬(OR", SR", NR"R"(여기서, R" 및 R"은 알킬 그룹이다)), 산소 원자에 대한 오르토, 메타 또는 파라 위치에서의 할로 치환체이고; R은 알킬, 아릴, 또는 알킬아릴 그룹이며; n은 0 내지 5이다]이 반응식 7에 제시되어 있다. 6e의 이중 결합을 수소화반응시켜 매크로사이클 7a를 수득한다. 상기 에스테르를 가수분해시켜 산을 수득한 다음, 연속해서 이를 아민 중간체와 커플링시켜 7b를 수득한다.

[반응식 8]



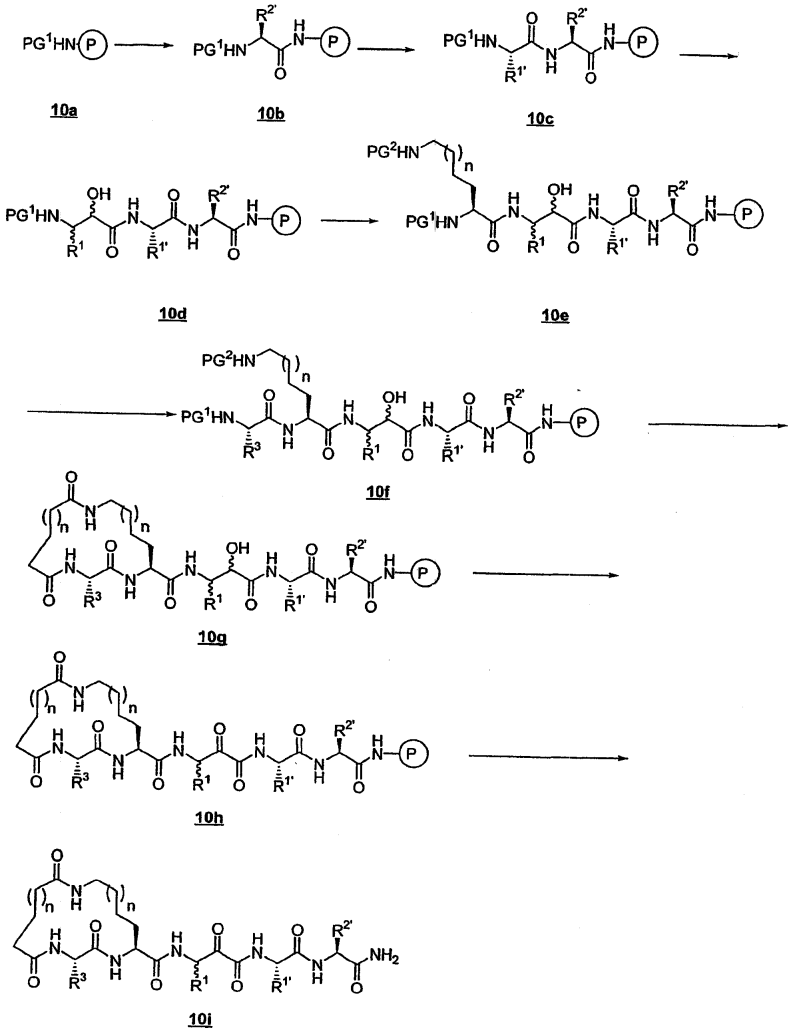
식 8f의 화합물의 제조 방법[여기서, R^1, R^2, R^3은 상기 정의한 바와 같고, R'는 알킬, 헤테로알킬(OR", SR", NR"R"(여기서, R" 및 R"은 알킬 그룹이다)), 산소 원자에 대한 오르토, 메타 또는 파라 위치에서의 할로 치환체이고; R은 알킬, 아릴, 또는 알킬아릴 그룹이며; PG는 Boc이고, n은 0 내지 5이다]이 반응식 8에 제시되어 있다. 메타-티로신-디펩티드 8a를 미쓰노부 조건(트리페닐포스핀 및 ADDP) 하에 말단 N-보호된 아미노 알코올 8b와 커플링시킨다. 보호 그룹을 제거하여 디아민 하이드로클로라이드 8d를 수득한다. 포스겐 또는 카보닐 디이미다졸을 사용하여 우레아 연결을 형성함으로써 매크로사이클화를 달성한다. 이어서, 이로써 생성된 에스테르를 수산화리튬을 사용하여 가수분해시켜 산을 수득한 다음, 이를 아민 중간체와 커플링시켜 목적 생성물 8f를 수득한다.

[반응식 9]



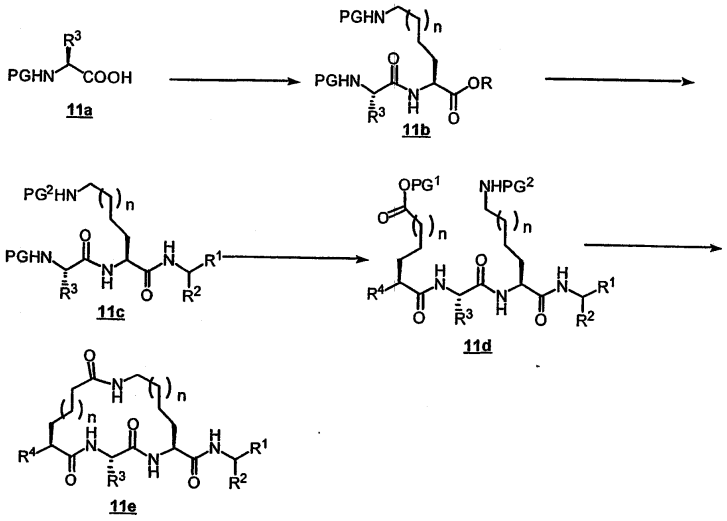
유형 9d의 화합물의 합성[여기서, R^1, R^2, R^3, R', R 및 PG는 반응식 1에 정의되어 있다]은, 9a를 디옥산 중의 HCl로 탈보호시키고 이를 EDCl, HOOBt를 사용하여 ω-하이드록시 산과 커플링시킴으로써 개시하여 유형 9b의 화합물을 수득한다. Ph_3P, ADDP를 사용하여 유형 9b의 화합물을 추가로 폐환시켜 유형 9c의 화합물을 생성시킨다. 사이클릭 화합물 9c를 탈보호시키고, 이를 적당한 아민 중간체와 커플링시켜 유형 9d의 화합물을 생성시킨다.

[반응식 10]



유형 10i의 화합물의 합성[여기서, $R^{2'}$, $R^{1'}$, R^1, R^3은 반응식 1에 정의되어 있고, PG^1 및 PG^2는 보호 그룹, 즉 Fmoc 및 Dde로서 정의되며, P는 해당 화합물이 고정화되는 중합체 지지체로서 정의되고 n은 1 내지 6의 수이다]. 유형 10i의 분자의 합성에 사용된 방법은 Fmoc 보호 그룹을 이용한 표준 고체 상 펩티드 합성법이다. Fmoc 보호된 사사린(Sasarin) 수지 10a를 먼저, 피페리딘으로 처리한 다음 HATU를 사용하여 Fmoc 보호된 아미노산과 커플링시킴으로써 탈보호시켜 유형 10b의 화합물을 수득한다. 10b의 보호 그룹을 제거하고, HATU를 사용하여 이를 아미노산과 커플링시켜 10c를 수득한다. 중합체 지지된 10c를 피페리딘으로 처리한 다음 하이드록시 산과 커플링시킴으로써 탈보호시켜 유형 10d의 하이드록시 아민을 수득한다. 10d의 보호 그룹을 절단하고, 이를 HATU를 사용하여 보호된 리신 유도체와 커플링시켜 유형 10e의 화합물을 수득한다. 10e의 보호 그룹을 다시 한번 탈보호시키고, 이를 Fmoc 보호된 아미노산과 커플링시켜 유형 10f의 화합물을 수득한다. 보호 그룹 PG^1 및 PG^2를 제거하고, 이산(diacid) 및 HATU를 사용하여 폐환시켜 매크로사이클 10g를 수득한다. 데스-마틴(Dess-Martin) 시약을 사용하여 10g의 화합물을 산화시키고, TFA를 사용하여 상기 수지로부터 최종적으로 절단하여 화합물 10i를 수득한다.

[반응식 11]

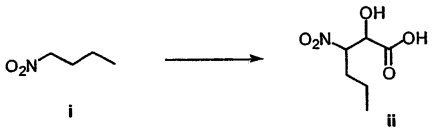


유형 11e의 화합물의 합성[여기서, R^1, R^2, R^3, R^4 및 n은 반응식 1에 정의되어 있고, PG^2는 Cbz이고 PG^1은 Bn이며 PG는 Boc이다]은 보호된 산 11a로부터 개시한다. 11a를, EDCl, HOOBt 방법론을 이용하여 리신 유도체와 커플링시킴으로써, 유형 11b의 화합물로 전환시킨다. 11b의 에스테르 그룹을, $LiOH \cdot H_2O$를 사용하여 가수분해시킨 다음 이를 적당한 아민 중간체와 커플링시킴으로써 화합물 11c를 수득한다. 이를 디옥산 중의 HCl로 추가로 처리하고, EDCl, HOOBt를 사용하여 리신 중간체와 커플링시켜 유형 11d의 화합물을 형성시킨다. 화합물 11d를 탈보호시키고, EDCl, HOOBt를 사용하여 폐환시켜 유형 11e의 화합물을 형성시킨다.

중간체의 제조:중간체의 제조:

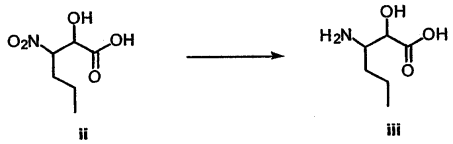
중간체 A:중간체 A:

단계 1:



0 내지 5℃에서 H_2O 및 MeOH(122ml) 중의 1-니트로부탄(16.5g, 0.16mol) 및 글리옥실산(28.1g, 0.305mol)의 교반된 용액에 트리에틸아민(93ml, 0.667mol)을 2시간에 걸쳐 적가한다. 이 용액을 실온으로 가온시키고, 밤새 교반시키며, 건조 농축시켜 오일을 수득한다. 이어서, 이 오일을 H_2O에 용해시키고, 10% HCl를 사용하여 pH 1로 산성화시킨 다음, EtOAc로 추출한다. 합한 유기 용액을 염수로 세척하고, Na_2SO_4상으로 건조시키며, 여과시킨 다음 건조 농축시켜 생성물 ii(28.1g, 99% 수율)을 수득한다.

단계 2:



ii iii

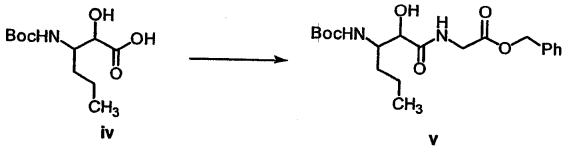
아세트산(1.25L) 중의 출발 물질 ii(240g, 1.35mol)의 교반된 용액에 10% Pd/C(37g)을 가한다. 이로써 생성된 용액을 59psi에서 3시간 동안 수소화 반응시킨 다음 60psi에서 밤새 수소화 반응시킨다. 이어서, 아세트산을 증발시키고 톨루엔으로 3회 공비시킨 다음, MeOH 및 에테르로 연마한다. 이어서, 상기 용액을 여과시키고, 톨루엔으로 2회 공비시켜 iii을 회색 고체(131g, 0.891mol, 66%)로서 수득한다.

단계 3:

iii iv

0℃에서 디옥산(10ml) 및 H_2O(5ml) 중의 아미노산 iii(2.0g, 13.6mmol)의 교반된 용액에 1N NaOH 용액(4.3ml, 14.0mmol)을 가한다. 이로써 생성된 용액을 10분 동안 교반시킨 다음, 디-t-부틸디카보네이트(0.110g, 14.0mmol)을 가하고 0℃에서 15분 동안 교반시킨다. 이어서, 이 용액을 실온으로 가온시키고, 45분 동안 교반시키며, 냉장고에서 밤새 유지시킨 다음, 건조 농축시켜 조 물질을 수득한다. EtOAc(100ml) 및 얼음 중의 상기 조 물질의 용액에 $KHSO_4$ (3.36g) 및 H_2O(32ml)을 가하고, 4 내지 6분 동안 교반시킨다. 이어서, 유기 층을 분리시키고 수성 층을 EtOAc로 2회 추출하며, 합한 유기 층을 물, 염수로 세척하고, Na_2SO_4상으로 건조시킨 다음, 여과시키고 건조 농축시켜 생성물 iv를 청정한 검(3.0g, 89% 수율)으로서 수득한다.

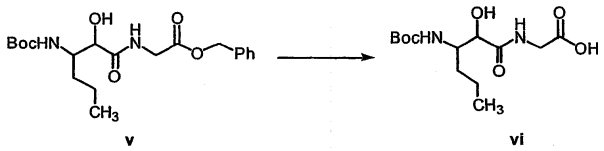
단계 4:



iv v

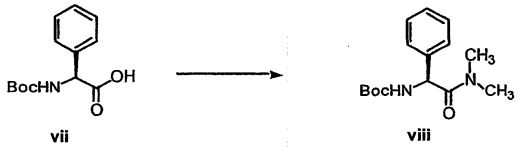
-20℃에서 DMF(15ml) 및 CH_2Cl_2 (15ml) 중의 iv(3.00g, 12.0mmol)의 교반된 용액에 HOOBt(1.97g, 12.0mmol), N-메틸 모르폴린(4.0ml, 36.0mmol) 및 EDCl(2.79g, 14.5mmol)을 가하고, 10분 동안 교반시킨 다음, HCl·H_2N-Gly-OBn(2.56g, 13.0mmol)을 가한다. 이로써 생성된 용액을 -20℃에서 2시간 동안 교반시킨 다음, 냉장고에서 밤새 유지시키고, 건조 농축시킨 후, EtOAc(150ml)로 희석시킨다. 이어서, 상기 EtOAc 용액을 포화 $NaHCO_3$, H_2O, 5% H_3PO_4, 염수로 2회 세척하고, Na_2SO_4 상으로 건조시키며, 여과시킨 다음 건조 농축시켜 생성물 v(4.5g, 94%)을 수득한다. LRMS m/z MH^+ =395.1.

단계 5:



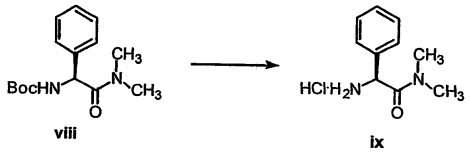
무수 에탄올(300ml) 중의 출발 물질 v(7.00g, 17.8mmol)의 용액을 Pd-C(300mg, 10%)의 존재하 수소 대기 하에 실온에서 교반시킨다. 반응 진행 과정을 TLC로 모니터한다. 2시간 후, 상기 혼합물을 셀라이트 패드 상으로 여과시키고, 이로써 생성된 용액을 진공하에 농축시켜 생성물 vi(5.40g, 정량적)을 수득한다. LRMS m/z MH^+ =305.1.

단계 6:



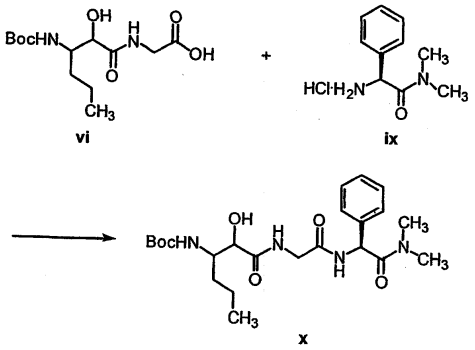
-20℃에서 무수 DMF(200ml) 및 CH_2Cl_2 (150ml) 중의 디메틸아민 하이드로클로라이드(1.61g, 19.7mmol), N-Boc-페닐글리신(4.50g, 17.9mmol), HOOBt(3.07g, 18.8mmol) 및 EDCl(4.12g, 21.5mmol)의 용액에 NMM(5.90ml, 53.7mmol)을 가한다. 이 온도에서 30분 동안 교반시킨 후, 반응 혼합물을 냉동고에서 밤새(18시간) 유지시킨다. 이어서, 이를 실온으로 가온시키고, EtOAc(450ml), 염수(100ml) 및 5% H_3PO_4 (100ml)을 가한다. 층을 분리시킨 후, 유기 용액을 5% H_3PO_4 (100ml), 포화 중탄산나트륨 수용액(2 X 150ml), 물(150ml) 및 염수(150ml)로 세척하고, 건조시키며($MgSO_4$), 여과시킨 다음 진공하에 농축시켜 조 생성물 viii(4.86g)을 백색 고체로서 수득하고, 이를 추가의 정제없이 사용한다.

단계 7:



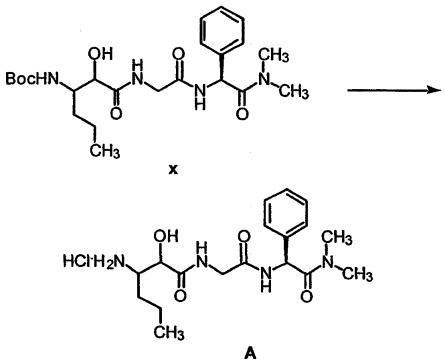
N-Boc-페닐글리신 디메틸아미드 viii(4.70g, 조)을 4N HCl(60ml, 240mmol)에 용해시키고, 이로써 생성된 용액을 실온에서 교반시킨다. 이 반응의 진행 과정을 TLC로 모니터한다. 4시간 후, 상기 용액을 진공하에 농축시켜 ix를 백색 고체로서 수득하고, 이를 추가의 정제없이 다음 단계에 사용한다. LRMS m/z MH^+ =179.0.

단계 8:



단계 4에 기재된 커플링 과정에 따라서 목적 화합물 x를 제조한다. LRMS m/z MH^+ =465.1.

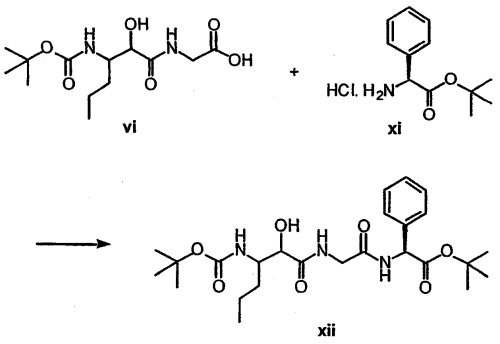
단계 9:



단계 7에 기재된 과정에 따라서, 트리펩티드 x로부터 목적하는 중간체 A를 제조한다. LRMS m/z MH^+ =365.1.

중간체 B:중간체 B:

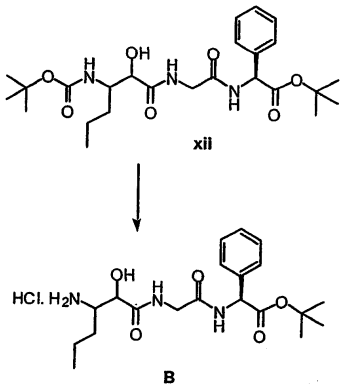
단계 1:



커플링 파트너로서 시판용 xi를 사용하여 중간체 A, 단계 8에 대해 기재된 과정에 의해 목적 생성물 xii를 수득한다. 이러한 조 물질은 추가의 연구에 충분할 정도로 순수한다. 이 생성물의 일정 부분을, 97/3 디클로로메탄/MeOH를 사용하여 섬광 크로마토그래피함으로써 정제한다.

HRMS (FAB) 계산치 $C_{25}H_{40}N_3O_7$: 494.2866 $(M+H)^+$. 실측치 : 494.2863.

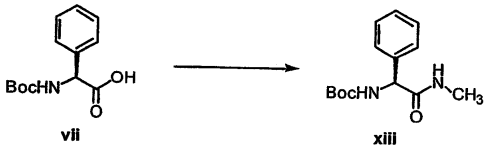
단계 2:



중간체 A, 단계 7에 대해 기재된 과정에 의해 목적 생성물 B를 수득한다. 이러한 조 물질을 추가의 정제없이 사용한다.

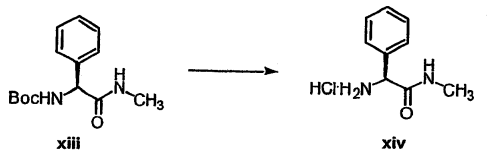
중간체 C:중간체 C:

단계 1:



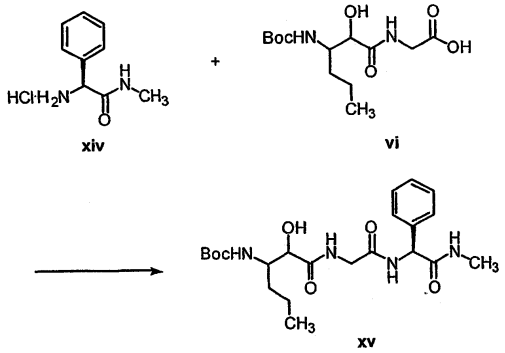
중간체 A에 대한 단계 6에 기재된 커플링 과정에 따라서 목적 화합물 xiii를 제조한다.

단계 2:



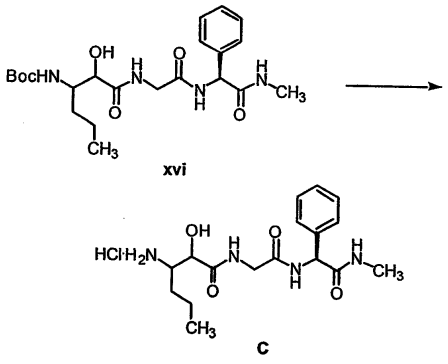
중간체 A에 대한 단계 7에 기재된 과정에 따라서 목적 화합물 xiv를 제조한다.

단계 3:



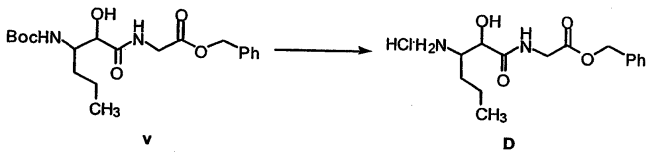
중간체 A에 대한 단계 6에 기재된 커플링 과정에 따라서, 목적 화합물 xv를 제조한다. LRMS m/z MH^+ =451.1.

단계 4:



중간체 A에 대한 단계 7에 기재된 과정에 따라서, 목적 중간체 C를 제조한다. LRMS m/z MH^+ =351.1. 이를 추가의 정제없이 사용한다.

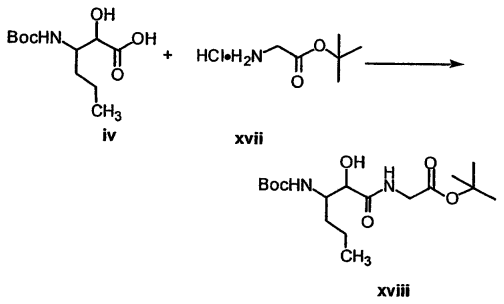
중간체 D:중간체 D:



중간체 A에 대한 단계 7에 기재된 과정에 따라서, 화합물 v로부터 목적 중간체 D를 제조한다. 이를 추가의 정제없이 사용한다.

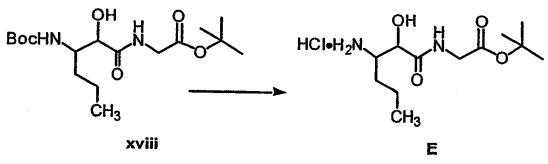
중간체 E:중간체 E:

단계 1:



커플링 파트너로서 시판용 xvii를 사용하여 중간체 A, 단계 8에 대해 기재된 과정에 의해 목적 생성물 xviii를 수득한다. 이러한 조 물질은 추가의 연구에 충분할 정도로 순수한다.

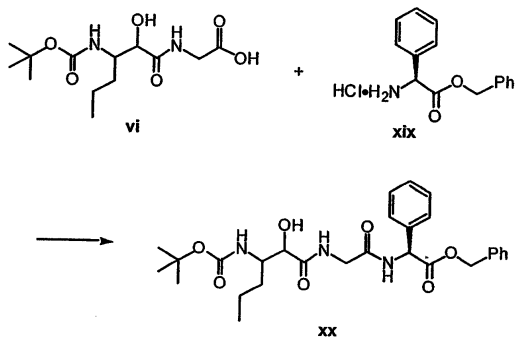
단계 2:



중간체 A, 단계 7에 대해 기재된 과정에 의해 목적 생성물 E를 수득한다. 이러한 조 물질을 추가의 정제없이 사용한다.

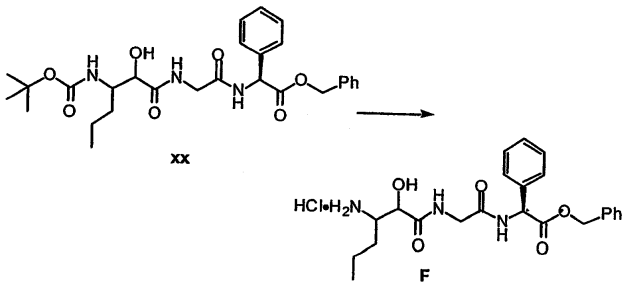
중간체 F:중간체 F:

단계 1:



커플링 파트너로서 시판용 xix를 사용하여 중간체 A, 단계 4에 대해 기재된 과정에 의해 목적 생성물 xx를 수득한다. 이러한 조 물질은 추가의 연구에 충분할 정도로 순수한다.

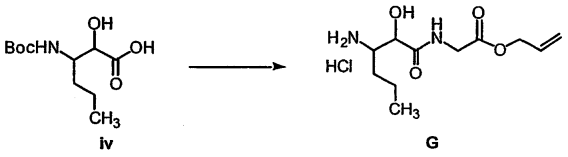
단계 2:



중간체 D에 대해 기재된 과정에 의해 목적 생성물 F를 수득한다.

중간체 G:중간체 G:

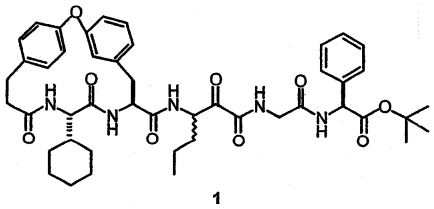
단계 1:



커플링 파트너로서 알릴글리신을 사용하여 중간체 A, 단계 4에 대해 기재된 과정에 의해 목적 생성물 G를 수득한다. 이러한 조 물질은 충분할 정도로 순수한다. 이러한 조 생성물을 4N HCl/디옥산으로 처리하고, 실온에서 50분 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 건조 농축시켜 중간체 G를 수득하고, 이를 추가의 정제없이 사용한다.

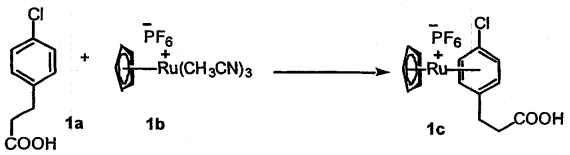
실시예

실시예 1: 식 1의 화합물의 제조실시예 1: 식 1의 화합물의 제조



1

단계 A:

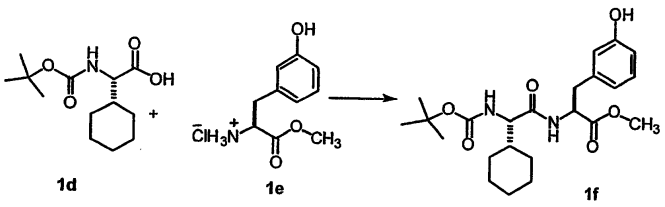


1a 1b 1c

디클로로에탄(200ml) 중의 1a의 4-클로로프로피온산(2.0g, 10.8mmol)의 용액을 $CpRu(CH_3CN)_3PF_6$ (4.7g, 10.8mmol, 1.0당량)으로 처리하고 2시간 동안 환류 가열한다. 생성물 1c의 무색 결정이 침전되면, 상기 반응 혼합물을 실온으로 냉각시킨다. 이 결정을 여과시키고 Et_2O/CH_2Cl_2의 1:1 혼합물로 세척한 다음 진공하에 건조시킨다. 무색 결정(3.3g)은 분석적으로 순수하다.

^1H NMR ($CD_3C(O)CD_3$, 400 MHz, ppm, δ, J) 6.77 (d, 2 H, J = 7.0 Hz), 6.53 (d, 2 H, J =7 Hz), 5.64 (s, 5 H), 2.87 (t, 2 H, J =7.0 Hz), 2.74 (t, 2 H, J =7.0Hz)
MS: (전자분무, *m/z* 상대 세기): 350.9 ($C_{14}H_{14}ClRu^+$, M^+, 100);
CHN 계산치 $C_{14}H_{14}ClF_6O_2PRu$ C=33.92% H=2.85% Cl=7.15% P=6.25%
실측치: C=34.04% H=3.04% Cl=7.09% P=5.71%.

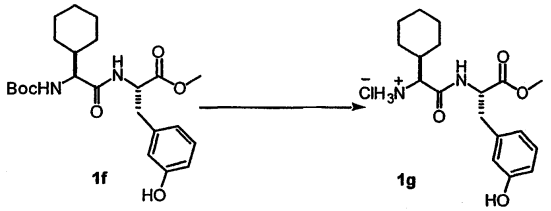
단계 B:



1d 1e 1f

무수 CH_2Cl_2 (50.0ml) 중의 Boc-사이클로헥실글리신 모노하이드레이트 1d(6.17g, 24.00mmol)의 용액을 4-메틸 모르폴린(2.64g, 26.0mmol)으로 처리하고, -10℃로 냉각시킨다. 이 혼합물에 이소부틸 클로로포르메이트(3.62g, 3.5ml, 1.1당량)을 가하고, 욕 온도가 -5℃로 될때까지 상기 백색 현탁액을 교반시킨다. 메타-티로신 메틸 에스테르 하이드로클로라이드 염(6.5g, 26.5mmol, 1.1당량)을 별도의 비이커 내의 DMF(30ml)에 용해시키고, 4-메틸 모르폴린(2.64g, 26.0mmol, 1.1당량)으로 처리한 다음, 실온에서 15분 동안 교반시킨다. 이 혼합물을 상기 반응물에 가하고, 이를 대상으로 CO_2를 방출시킨다. 이 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반시키고, 1M 수성 HCl(100ml)로 희석시킨다. 수성 층을 에틸 아세테이트(3 x 200ml)로 추출하고, 합한 유기 층을 1M HCl(1 x 100ml), 수성 NaOH(1 x 100ml), 염수(1 x 100ml)로 추출하고, 건조시키며(Na_2SO_4), 진공하에 농축시키고, 크로마토그래피(SiO_2, EtOAc/헥산 3/7)함으로써 정제하여 커플링된 화합물 1f를 무색 포말로서 5.3g(53%) 수득한다.

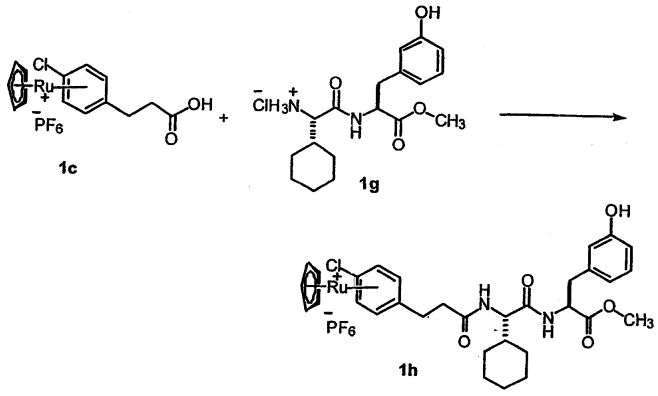
단계 C:



1f(10g, 23.04mmol)의 용액을 HCl(디옥산 중의 4M 용액, 100ml)에 용해시키고, 실온에서 2 내지 4시간 동안 교반시킨다. 이 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 고체를 에테르에 재현탁시킨다. 이를 여과시키고 고체를 에테르로 세척한 다음 건조시켜 무색 고체 1g(8.2g, 96%)를 수득한다.

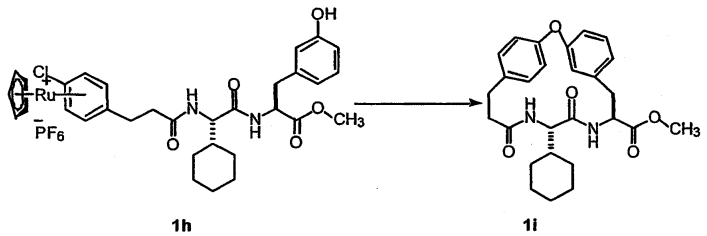
^{1}H NMR (d_4-CD_3OD, 400 MHz, δ, ppm) 7.09 (t, 1 H, *J*=8.0 Hz), 6.71-6.36 (m, 3 H), 4.69 (dd, 1H, *J*=6.0 Hz, 3.2 Hz), 3.69 (s, 3 H), 3.66 (d, 1 H, *J*=5.2 Hz), 3.15 -3.10 (dd, 1 H, *J*=5.6 Hz, 4.0 Hz), 1.87-1.69 (m, 6 H), 1.32-1.10 (m, 5 H).

단계 D:



DMF(20ml) 중의 사이클로펜타디엔-η^6-4-클로로페닐프로피온산-루테늄 헥산사플루오로포스페이트 1c(2.0g, 4.0mmol)의 용액을 HOBt(810mg, 6.0mmol, 1.5당량) 및 위니그스 염기(2.6g, 16.0mmol, 4.0당량)으로 처리한다. 반응 혼합물을 0℃로 냉각시키고, EDCl·HCl(888mg, 5.0mmol, 1.25당량)으로 처리한다. 반응 혼합물을 0℃에서 30분 동안 교반시키고, 아민 염 1g(1.48g, 4.0mmol)을 상기 혼합물에 가하고 실온에서 12시간 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔사를 H_2O(200ml)로 희석시키고, CH_2Cl_2 (3 x 100ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 수성 HCl(1 x 100ml), $NaHCO_3$ (1 x 100ml) 및 염수(1 x 100ml)로 추출하고, 건조시키며(Na_2SO_4), 여과시키고 진공하에 농축시킨다. 갈색 고체 1h를 추가의 정제없이 폐환 반응에 사용한다.

단계 E:

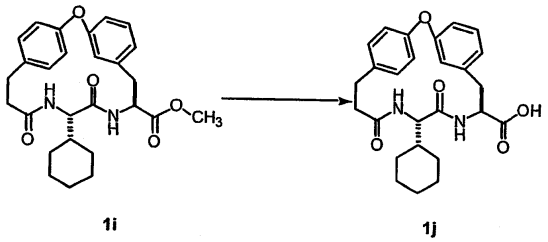


1h 1i

무수 DMF(150ml) 중의 사이클로펜타디엔-η^6-루테늄-4-클로로페닐프로피온산-사이클로헥실글리신-메타-티로신-OCH_3 1h(1.47g 조)의 용액을 Cs_2CO_3 (2.40g, 7.37mmol, 5.0당량)으로 처리하고, 무수 N_2를 상기 반응 혼합물 내로 버블링시킴으로써 탈기시킨다. 이 반응 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반시키고, 과량의 DMF를 증류 제거한다. 잔사를 H_2O(200ml)에 용해시키며, CH_2Cl_2 (3 x 100ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 염수(100ml)로 추출하고, 건조시키며(Na_2SO_4), 여과시키고, 진공하에 농축시키며, 상기 잔사를 추가의 정제없이 루테늄의 광분해적 탈착물화에 사용한다.

상기 조 루테늄 착물을 아세토니트릴(35ml)에 용해시키고, 탈기시키며, 레이낫(Raynot) 기기(λ=350nm)에서 48시간 동안 광분해시킨다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔사를 크로마토그래피(SiO_2, EtOAc/헥산 7:3)함으로써 정제하여 무색 고체 1i를 360mg(52%) 수득한다.

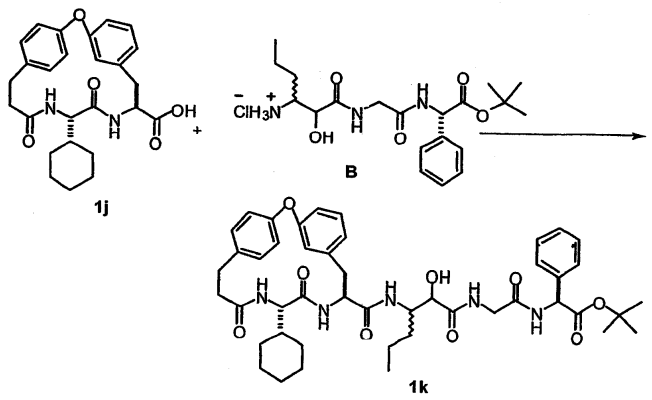
단계 F:



1i 1j

CH_3OH(10ml), CH_2Cl_2 (20ml) 및 H_2O(5ml) 중의 비페닐 에테르 1i(300mg, 0.65mmol)의 용액을 LiOH·H_2O(90mg, 2.2mmol, 3.4당량)으로 처리하고, 실온에서 2시간 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 수성 HCl(6M)으로 산성화시키고, CH_2Cl_2 (3 x 30ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 건조시키고(Na_2SO_4), 여과시키며, 진공하에 농축시켜 무색 산 1j(200mg, 66%)을 수득한다.

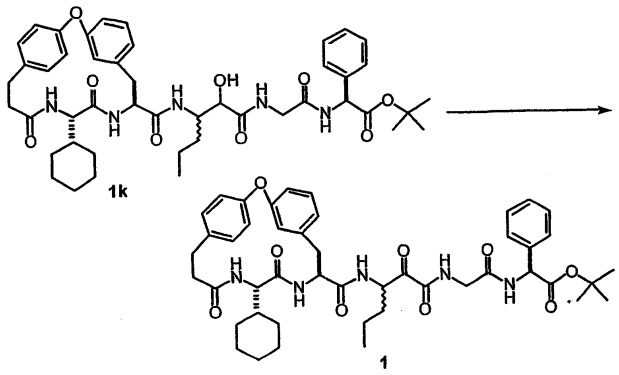
단계 G:



무수 DMF(2.5ml) 중의 산 1j(100mg, 0.22mmol)의 용액을 HOOBt(45mg, 0.33mmol) 및 위니그스 염기(141mg, 1.1mmol, 5.0당량)로 처리한다. 이 반응 혼합물을 0℃로 냉각시키고 EDCl(63mg, 0.33mmol, 1.5당량)으로 처리하고 20분 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 아민 B(118mg, 0.27mmol, 1.22당량)으로 처리하고 실온에서 12시간 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, H_2O(30ml)로 희석시킨다. 수성 층을 CH_2Cl_2 (3 x 50ml) 및 EtOAc(3 x 50ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 수성 HCl(2M), 수성 NaOH(2M)로 추출하고, 건조시키며(Na_2SO_4), 여과시키고, 진공하에 농축시켜 무색 고체 1k(79mg)를 수득하고, 이를 산화 반응에 사용한다.

MS: (전자분무, *m/z* 상대세기): 826 [$(M+1)^+$, 100], 494 (20), 94 (30).

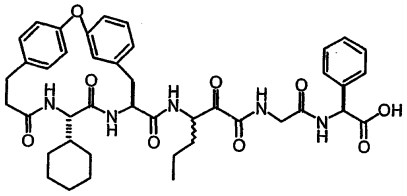
단계 H:



DMF(2.0ml) 중의 하이드록시 아미드 1k(130mg, 0.16mmol)의 용액을 데스-마틴 시약(130mg, 0.32mmol, 2.0당량)으로 처리한다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시키고, 혼합물을 진공하에 농축시킨다. 잔사를 크로마토그래피(SiO_2, CH_3OH/CH_2Cl_2 1:49)함으로써 정제하여 산화된 생성물 1(55mg, 42%)를 무색 고체로서 수득한다.

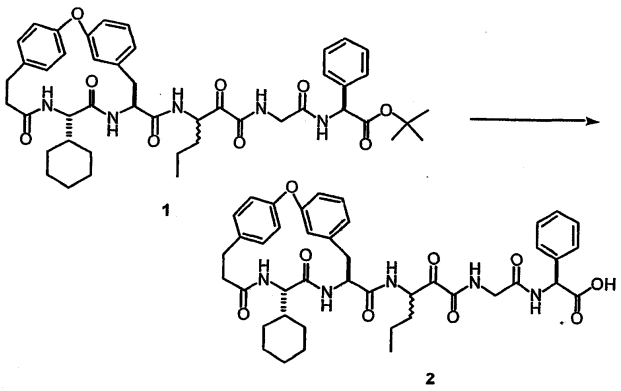
MS: (전자분무, *m/z* 상대세기): 858 [$(M+CH_3OH+1)^+$, 100], 824 [$(M+1)^+$, 63).

실시예 2: 식 2의 화합물의 제조실시예 2: 식 2의 화합물의 제조



2

단계 A:



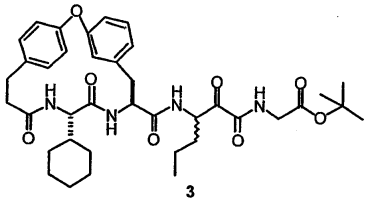
1

2

3급-부틸 에스테르 1(50.0mg, 60.0μmol)의 용액을 TFA/CH_2Cl_2 (1:1, 4ml)로 처리하고, 실온에서 2시간 동안 교반시킨다. 기선에 대한 상기 에스테르의 소멸을 TLC(CH_3OH/CH_2Cl_2 1:24)로 모니터한다. 탈보호를 완료한 후, 상기 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔사를 헵탄(4.0ml)으로 반복해서 처리하고, 농축시켜 백색 고체 2(49mg, 100%)를 수득한다.

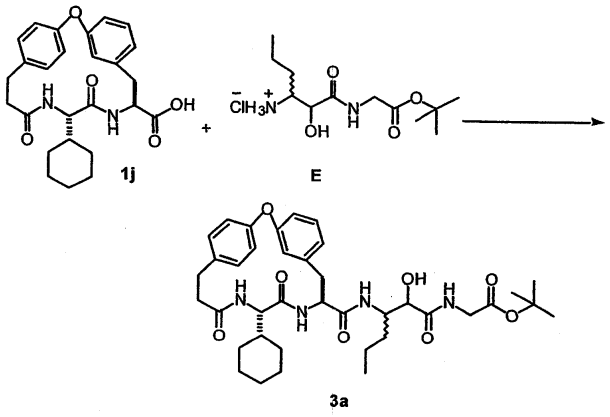
MS: (전자분무, *m/z* 상대세기): 768 [$(M+1)^+$, 100).

실시예 3: 식 3의 화합물의 제조실시예 3: 식 3의 화합물의 제조



3

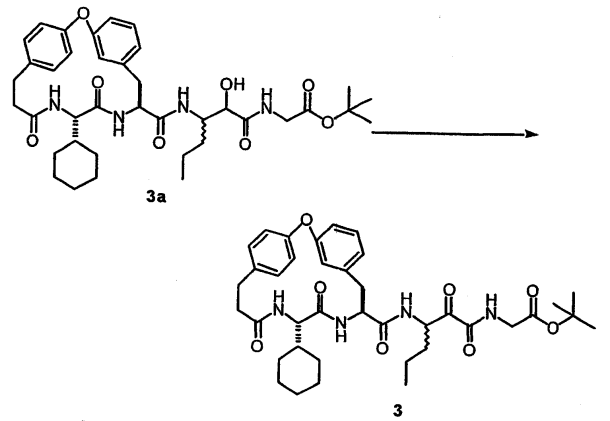
단계 A:



무수 DMF(2.5ml) 중의 산 1j(100mg, 0.22mmol)의 용액을 HOOBt(45mg, 0.33mmol) 및 위니그스 염기(141mg, 1.1mmol, 5.0당량)로 처리한다. 이 반응 혼합물을 0℃로 냉각시키고 EDCl(63mg, 0.33mmol, 1.5당량)으로 처리하고 20분 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 아민 E(79mg, 0.27mmol, 1.22당량)으로 처리하고 실온에서 12시간 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, H_2O(30ml)로 희석시킨다. 수성 층을 CH_2Cl_2 (3 x 50ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 수성 HCl(1M, 30ml), 수성 NaOH(1M, 30ml)로 추출하고, 건조시키며(Na_2SO_4), 여과시키고, 진공하에 농축시켜 무색 고체 3a(58mg)를 수득하고, 이를 산화 반응에 사용한다.

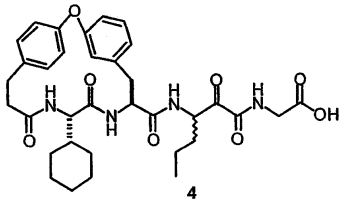
MS: (전자분무, *m/z* 상대세기): 693 [$(M+1)^+$, 100], 637 (41), 494 (55), 394 (51), 338 (13).

단계 B:



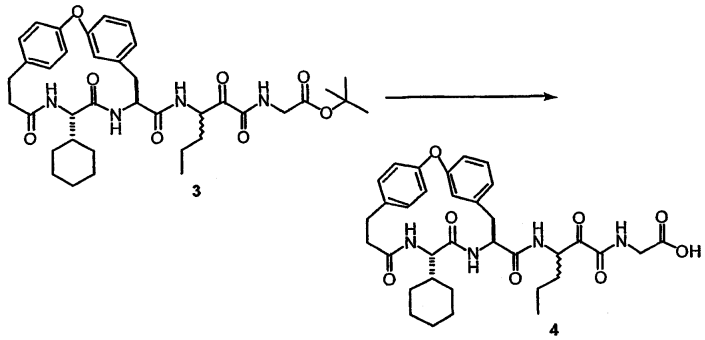
CH_2Cl_2 (2.0ml) 중의 알코올 3a(95mg, 0.14mmol)의 용액을 데스-마틴 시약(116mg, 0.28mmol, 2.0당량)으로 처리한다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시키고, 혼합물을 진공하에 농축시킨다. 잔사를 크로마토그래피(SiO_2, CH_3OH/CH_2Cl_2 1:32)함으로써 정제하여 산화된 생성물 3(47mg, 42%)를 무색 고체로서 수득한다. MS: (전자분무, m/z 상대세기): 691 $(M+1)^+$

실시예 4: 식 4의 화합물의 제조실시예 4: 식 4의 화합물의 제조



4

단계 A:



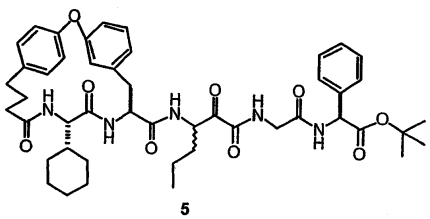
3

4

3급-부틸 에스테르 3(47.0mg, 68.0μmol)의 용액을 HCl(디옥산 중의 4M, 5ml)로 처리하고, 실온에서 25시간 동안 교반시킨다. 기선에 대한 상기 에스테르의 소멸을 TLC(CH_3OH/CH_2Cl_2 1:24)로 모니터한다. 탈보호를 완료한 후, 상기 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔사를 헵탄(5.0ml)으로 반복해서 처리하고, 농축시켜 백색 고체 4(43mg, 100%)를 수득한다.

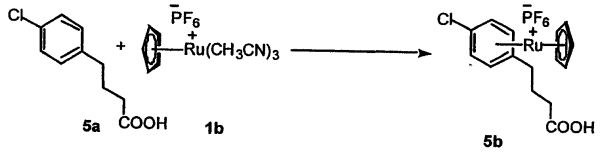
MS: (전자분무, *m/z* 상대세기): 635 [$(M+1)^+$, 100)], 465 (62), 336 (62).

실시예 5: 식 5의 화합물의 제조실시예 5: 식 5의 화합물의 제조



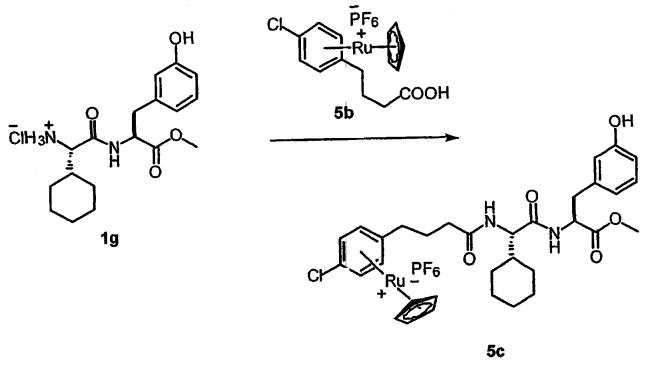
5

단계 A:



디클로로에탄(200ml) 중의 4-클로로부티르산 5a(3.0g, 15.10mmol)의 용액을 CpRu(CH $_3$CN)$_3$PF$_6$ 1b(6.6g, 15.10mmol, 1.0당량)으로 처리하고, 2.5시간 동안 환류 가열한다. 이 반응 혼합물을 0℃로 냉각시키고 여과시킨다. 여액을 진공하에 농축시키고, CH_3CN(10ml)에 용해시키고, 과량의 Et_2O로 처리한다. 에테르를 경사제거함으로써 분리되는 검을 분리시키고, 잔사를 CH_2Cl_2/CH_3OH(1:1, 100ml)에 용해시키며, 진공하에 농축시켜 5b를 갈색 검으로서 수득하는데, 이는 고형화된다(3.5g, 46%).

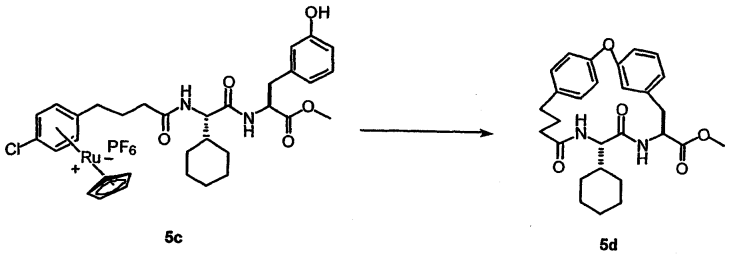
단계 B:



무수 DMF(20ml) 중의 카복실산 5b(3.12g, 5.95mmol)의 용액을 위니그스 염기(3.07g, 24.0mmol, 4.0당량, 4.4ml) 및 HOBt(1.2g, 8.93mmol, 1.5당량)으로 처리한다. 반응 혼합물을 0℃로 냉각시키고, EDCl(1.35g, 7.43mmol, 1.25당량)으로 처리하고, 실온에서 1시간 동안 교반시킨다. 이 반응 혼합물에 아민 하이드로클로라이드 1g(2.65g, 7.14mmol, 1.2당량)을 가하고, 이 반응 혼합물을 실온에서 12시간 동안 교반시킨다. DMF를 증류 제거하고, 잔사를 물로 희석시키고, 수성 층을 CH_2Cl_2로 추출한다. 합한 유기 층을 수성 $NaHCO_3$, 수성 HCl 및 염수로 추출하고, 건조시키며(Na_2SO_4), 여과시키고 진공하에 농축시킨다. 조 생성물 5c(4.3g)를 추가의 정제없이 폐환 반응에 사용한다.

^{1}H NMR (d4-CD_3OD, 400 MHz, δ, ppm) 7.35 (t, 1H), 6.72-6.60 (m, 5 H), 6.33-6.20 (dd, 2 H), 5.51 (s, 5 H), 4.19 (d, 1 H), 3.68 (s, 3 H), 3.19-2.83 (m, 2 H), 2.51-2.40 (m, 2 H), 2.40-2.25 (m, 2 H), 1.99-1.59 (m, 8 H), 1.35-0.98 (m, 5 H); MS (FAB, NBA-G/TG-DMSO, *m/z* 상대세기) 695.3 ([M-PF_6]$^+$, 100), 232 (20), 171(30); HRMS 계산치 $C_{34}H_{42}N_2O_5ClRu^+$ (M-PF_6)$^+$ 695.1832; 실측치 695.1845.

단계 C:



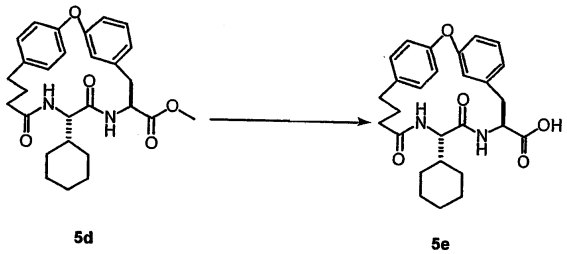
5c 5d

무수 DMF(300ml) 중의 클로로-화합물 5c(3.0g, 3.6mmol)의 용액을 무수 N_2 및 Cs_2CO_3 (5.2g, 16mmol, 4.0당량)으로 탈기시키고, 실온에서 16시간 동안 교반시킨다. 용매 DMF를 증류 제거하고 잔사를 물로 희석시키며, CH_2Cl_2 (3 x 100ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 건조시키며(Na_2SO_4), 여과시키고, 진공하에 농축시키며, 진공하에 밤새 건조시킨다. 상기 잔사를 추가의 정제없이 Ru의 광분해적 제거에 사용한다. MS FAB(NBA-G/TG-DMSO 695([M-PF6]$^+$, 100).

앞서 단계로부터 페환된 화합물을 CH_3CN(35ml)에 용해시키고, 레이낫 기기(λ=350nm)에서 48시간 동안 광분해시킨다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔사를 크로마토그래피(SiO_2, EtOAc/헥산 1:1)함으로써 정제하여 갈색 고체 5d(600mg, 34%)을 수득한다.

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz, δ, ppm) 7.58 (d, 1H, *J*=7.6 Hz), 7.14 (t, 1 H, *J*=8.0 Hz), 6.94 (d, 2 H, *J*=8.4 Hz), 6.87 (dd, 1 H, *J*=2.4, 5.6 Hz), 6.73 (d, 1 H,.*J*=7.2 Hz), 6.59 (s, 1 H), 6.57 (s, 2 H), 6.39 (d, 1 H, *J*=8.0 Hz), 4.51 (dt, 1 H, *J*=2.8, 8.0 Hz), 3.80-3.62 (m, 1 H), 3.62 (s, 3 H), 3.05-3.00 (dd, 1H, *J*=2.8, 11.6 Hz) , 2.85 (dd, 1 H, *J*=8.4, 6.0 Hz), 2.76-2.72 (m, 1 H), 2.36-2.19 (m, 3 H), 2.02 (dd, 1 H, *J*=6.4, 9.2 Hz), 1.8-1.73 (m, 1 H), 1.61-1.34(m, 7H), ,1.41-0.71 (m, 7 H).
MS (FAB, NBA-G/TG-DMSO, *m/z* 상대세기), 493 [(M+1)$^+$, 100], 465 (20), 232 (30), 171 (40); HRMS 계산치 $C_{29}H_{37}N_2O_5$ (M+1)$^+$: 493.2702; 실측치 493.2699.

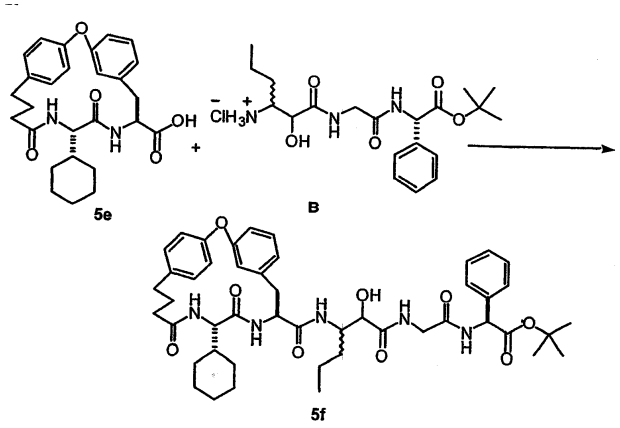
단계 D:



5d 5e

CH_3OH(5ml), CH_2Cl_2 (10ml) 및 H_2O(0.5ml) 중의 에테르 5d(200mg, 0.42mmol)의 용액을 LiOH · H_2O(18mg, 0.44mmol, 1.1당량)으로 처리하고, 실온에서 12시간 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 수성 HCl(12N, 1ml)으로 산성화시키고, 진공하에 농축시켜 산 5e를 수득하고, 이를 추가의 정제없이 커플링 반응에 직접 사용한다.

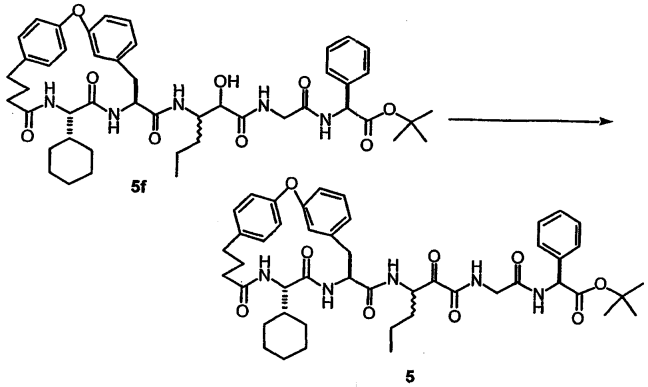
단계 E:



무수 DMF(5.0ml) 중의 산 5e의 용액을 HOOBt(103mg, 0.63mmol, 1.5당량), 위니그스 염기(216mg, 1.68mmol, 4.0당량) 및 아민 B(270mg, 0.63mmol, 1.47당량)로 처리한다. 이 반응 혼합물을 0℃로 냉각시키고 EDCl(101mg, 0.52mmol, 1.25당량)으로 처리하고 실온에서 12시간 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고 H_2O(30ml)로 희석시킨다. 수성 층을 CH_2Cl_2 (3 x 50ml) 및 EtOAc(3 x 50ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 수성 HCl(2M), 수성 NaOH(2M)로 추출하고, 건조시키며(Na_2SO_4), 여과시키고, 진공하에 농축시켜 무색 고체 5f(177mg)를 수득하고, 이를 산화 반응에 사용한다.

MS: (전자분무, *m/z* 상대세기): 840 [$(M+1)^+$, 100], 394 (100).

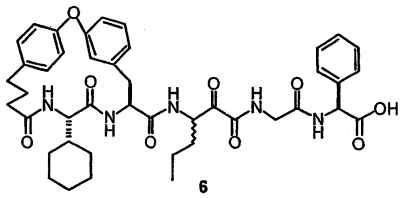
단계 F:



CH_2Cl_2 (10.0ml) 중의 알코올 5f(177mg, 0.21mmol)의 용액을 데스-마틴 시약(178mg, 0.42mmol, 2.0당량)으로 처리한다. 반응 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반시키고, 혼합물을 진공하에 농축시킨다. 잔사를 크로마토그래피(SiO_2, CH_3OH/CH_2Cl_2 1:49)함으로써 정제하여 산화된 생성물 5(23mg, 13%)를 무색 고체로서 수득한다.

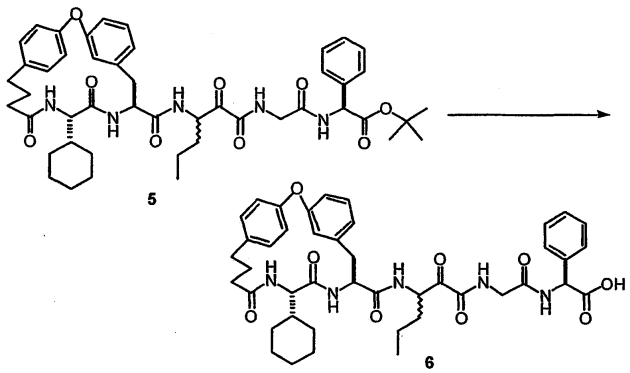
MS: (전자분무 , *m/z* 상대세기): 870 [$(M+CH_3OH+1)^+$, 50], 838 [$(M+1)^+$, 100).

실시예 6: 식 6의 화합물의 제조실시예 6: 식 6의 화합물의 제조



6

단계 A:



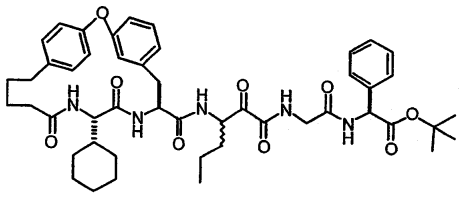
5

6

3급-부틸 에스테르 5(50.0mg, 60.0μmol)의 용액을 TFA/CH_2Cl_2 (1:1, 4ml)로 처리하고, 실온에서 7시간 동안 교반시킨다. 기선에 대한 상기 에스테르의 소멸을 TLC(CH_3OH/CH_2Cl_2 1:24)로 모니터한다. 탈보호를 완료한 후, 상기 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔사를 헵탄(4.0ml)으로 반복해서 처리하고, 농축시켜 백색 고체 6(14mg, 100%)를 수득한다.

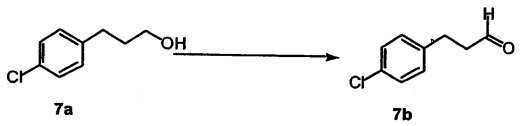
MS: (전자분무, *m/z* 상대세기): 782 [$(M+1)^+$, 100).

실시예 7: 식 7의 화합물의 제조실시예 7: 식 7의 화합물의 제조



7

단계 A:

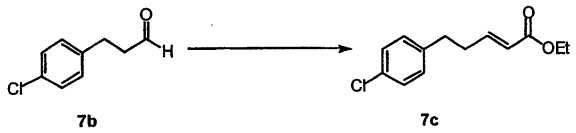


7a 7b

무수 CH_2Cl_2 (200ml) 중의 알코올 7a(9.2g, 54.1mmol)의 용액을 DMSO(35ml) 및 Et_3N(16.4g, 16.3mmol, 23.4ml)으로 처리한다. 반응 혼합물을 0℃로 냉각시키고, $Py \cdot SO_3$ (12.9g, 81.2mmol, 1.50당량)으로 처리하며, DMSO(30ml)에 용해시킨다. 이 반응 혼합물을 0℃에서 0.5시간 동안 교반시킨 다음 실온에서 6시간 동안 교반시킨다. 이 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, Et_2O(100ml) 및 H_2O(200ml)로 희석시킨다. 층을 분리시키고 수성 층을 Et_2O(3 x 100ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 HCl(2M, 3 x 100ml), 염수(1 x 100ml)로 추출하고, 진공하에 농축시키며, 크로마토그래피(SiO_2, EtOAc/헥산 1:7)함으로써 정제하여 알데히드 7b를 수득하는데, 이는 정치시 왁스상 고체로 고형화된다(7.1g, 77%).

CHN 계산치 C_9H_9ClO: C=64.11% H=5.38%; 실측치: C=64.08% H=5.30%.

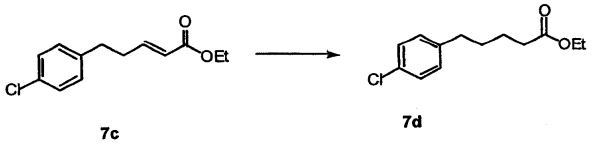
단계 B:



7b 7c

무수 THF(100ml) 중의 티에틸포스포노아세테이트(6.72g, 30.0mmol, 1.2당량)의 용액을 0℃에서 NaH(60% 현탁액, 1.5g, 35mmol, 1.4당량)으로 처리한다. H_2 방출이 중지될 때까지 상기 반응 혼합물을 25℃에서 1시간 동안 교반시킨다. 무수 THF(5.0ml) 중의 알데히드 7b(4.2g, 25.0mmol)의 용액을 가하고, 반응 혼합물을 36시간 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 H_2O(100ml)로 희석시키고, Et_2O(3 x 70ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 건조시키며($MgSO_4$), 여과시키고, 진공하에 농축시키며 크로마토그래피하여 α,β-불포화 에스테르 7c(4.2g, 71%)를 수득하고, 이를 환원 반응에 사용한다.

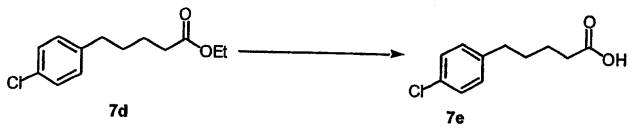
단계 C:



7c 7d

EtOAc(50ml) 중의 α,β-불포화 에스테르 7c(4.2g, 8.0mmol)의 용액을 Pd/C(10% w/w, 500mg)으로 처리한 다음 50psi에서 12시간 동안 수소화 반응시킨다. 이 반응 혼합물을 셀라이트 플러그를 통해 여과시키고, 여액을 진공하에 농축시켜 환원된 화합물 7d(3.9g, 93%)를 수득한다.

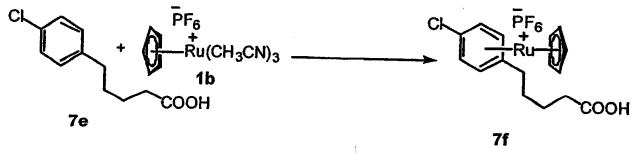
단계 D:



$CH_3OH/THF/H_2O$(1:1:0.1, 110ml) 중의 에스테르 7d(3.9g, 16.2mmol)의 용액을 LiOH · H_2O(1.2g, 30mmol, 2.0당량)으로 처리하고, 실온에서 5시간 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔사를 H_2O(100ml)로 희석시키고 Et_2O(3 x 50ml)로 추출한다. 수성 층을 산성화하여 pH 약 1(13M HCl)이 되도록 하고, 혼탁한 수성 층을 Et_2O(3 x 100ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 건조시키고($MgSO_4$), 여과시키며, 진공하에 농축시켜 무색 고체 7e(3.1g, 96%)을 수득한다.

CHN 계산치 $C_{11}H_{13}ClO_2$ C=62.12% H=6.16%; 실측치: C=62.27% H=6.23%.

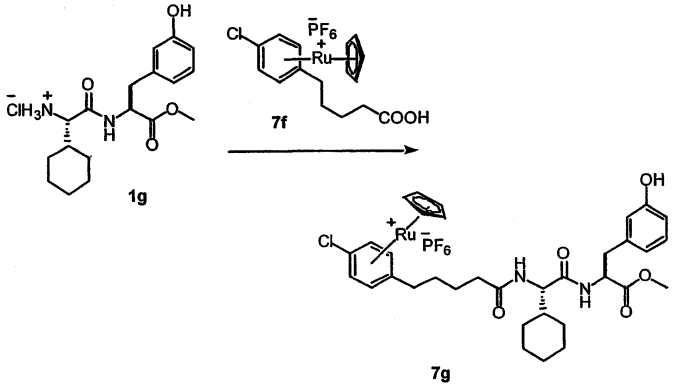
단계 E:



디클로로에탄(150ml) 중의 4-클로로페닐 펜타노산 7e(3.0g, 14.15mmol)의 용액을 $CpRu(CH_3CN)_3PF_6$ 1b(6.75g, 15.10mmol, 1.0당량)으로 처리하고, 2.5시간 동안 환류 가열한다. 이 반응 혼합물을 0℃로 냉각시키고 여과시킨다. 여액을 진공하에 농축시키고, CH_3CN(20ml)에 용해시키고, 과량의 Et_2O로 처리한다. 에테르를 경사제거함으로써 분리되는 검을 분리시키고, 잔사를 CH_2Cl_2/CH_3OH(1:1, 100ml)에 용해시키며, 진공하에 농축시켜 7f를 갈색 검으로서 수득하는데, 이는 고형화된다(4.36g, 58%).

MS: (전자분무, *m/z* 상대세기): 379 $[(M-PF_6)^+$, 100].

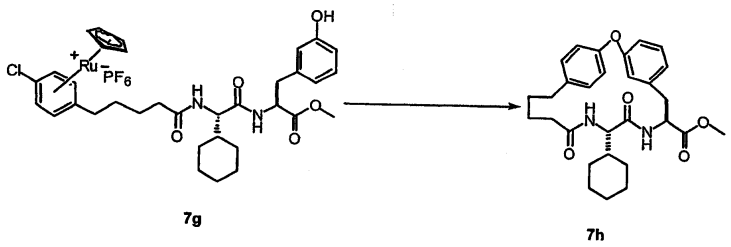
단계 F:



무수 DMF(20ml) 중의 카복실산 7f(3.12g, 5.95mmol)의 용액을 위니그스 염기(3.07g, 24.0mmol, 4.0당량, 4.4ml) 및 HOBt(1.2g, 8.93mmol, 1.5당량)으로 처리한다. 반응 혼합물을 0℃로 냉각시키고, EDCl(1.35g, 7.43mmol, 1.25당량)으로 처리하고, 실온에서 1시간 동안 교반시킨다. 이 반응 혼합물에 아민 하이드로클로라이드 1g(2.65g, 7.14mmol, 1.2당량)을 가하고, 이 반응 혼합물을 실온에서 12시간 동안 교반시킨다. DMF를 증류 제거하고, 잔사를 물로 희석시키고, 수성 층을 CH_2Cl_2로 추출한다. 합한 유기 층을 수성 $NaHCO_3$, 수성 HCl 및 염수로 추출하고, 건조시키며(Na_2SO_4), 여과시키고 진공하에 농축시킨다. 조 생성물 7g(4.3g)를 추가의 정제없이 폐환 반응에 사용한다.

^{1}H NMR (d4- CD_3OD, 400 MHz, δ, ppm) 7.35 (t, 1H), 6.72-6.60 (m, 5 H), 6.33-6.20 (dd, 2 H), 5.51 (s, 5 H), 4.19 (d, 1 H), 3.68 (s, 3 H), 3.19-2.83 (m, 2 H), 2.51-2.40 (m, 2 H), 2.40-2.25 (m, 2 H), 1.99-1.59 (m, 8 H), 1.35-0.98 (m, 5 H); MS (FAB, NBA-G/TG-DMSO, *m/z* 상대세기) 695.3 ($[M-PF_6]^+$, 100), 232 (20), 171 (30); HRMS 계산치 $C_{34}H_{42}N_2O_5ClRu^+$ (M-PF_6) 695.1832; 실측치 695.1845.

단계 G:



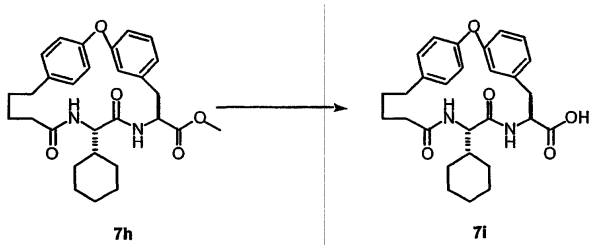
7g 7h

무수 DMF(300ml) 중의 클로로-화합물 7g(3.0g, 3.6mmol)의 용액을 무수 N_2 및 Cs_2CO_3 (5.2g, 16mmol, 4.0당량)으로 탈기시키고, 실온에서 16시간 동안 교반시킨다. 용매 DMF를 증류 제거하고 잔사를 물로 희석시키며, CH_2Cl_2 (3 x 100ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 건조시키며(Na_2SO_4), 여과시키고, 진공하에 농축시키며, 진공하에 밤새 건조시킨다. 상기 잔사를 추가의 정제없이 Ru의 광분해적 제거에 사용한다. MS FAB(NBA-G/TG-DMSO 695($[M-PF6]^+$, 100).

앞서 단계로부터 폐환된 화합물을 CH_3CN(35ml)에 용해시키고, 레이낫 기기(λ=350nm)에서 48시간 동안 광분해시킨다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔사를 크로마토그래피(SiO_2, EtOAc/헥산 1:1)함으로써 정제하여 갈색 고체 7h(600mg, 34%)을 수득한다.

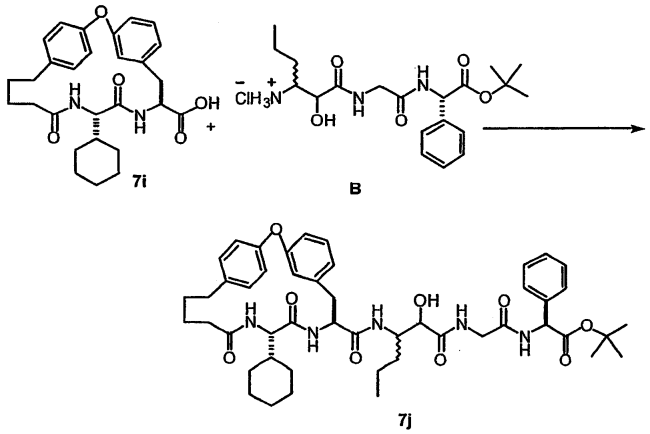
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz, δ, ppm) 7.58 (d, 1H, *J*=7.6 Hz), 7.14 (t, 1 H, *J*=8.0 Hz), 6.94 (d, 2 H, *J*=8.4 Hz), 6.87 (dd, 1 H, *J*=2.4, 5.6 Hz), 6.73 (d, 1 H, *J*=7.2 Hz), 6.59 (s, 1H), 6.57 (s, 2 H), 6.39 (d, 1 H, *J*=8.0 Hz), 4.51 (dt, 1 H, *J*=2.8, 8.0 Hz), 3.80-3.62 (m, 1 H), 3.62 (s, 3 H), 3.05-3.00 (dd, 1H, *J*=2.8, 11.6 Hz), 2.85 (dd, 1 H, *J*=8.4, 6.0 Hz), 2.76-2.72 (m, 1 H), 2.36-2.19 (m, 3 H), 2.02 (dd, 1 H, *J*=6.4, 9.2 Hz), 1.8-1.73 (m. 1 H), 1.61-1.34(m, 7H), ,1.41-0.71 (m, 7 H). MS(FAB, NBA-G/TG-DMSO, *m/z* 상대세기), 493 [$(M+1)^+$, 100], 465 (20), 232 (30), 171 (40); HRMS 계산치 $C_{29}H_{37}N_2O_5$ $(M+1)^+$: 493.2702; 실측치 ; 493.2699.

단계 H:



CH_3OH(3.0ml), CH_2Cl_2 (10ml) 및 H_2O(0.5ml) 중의 에테르 7h(220mg, 0.46mmol)의 용액을 LiOH · H_2O(18mg, 0.44mmol, 1.1당량)으로 처리하고, 실온에서 12시간 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 수성 HCl(13M, 1ml)으로 산성화시키고, 진공하에 농축시켜 산 7i를 수득하고, 이를 추가의 정제없이 커플링 반응에 직접 사용한다.

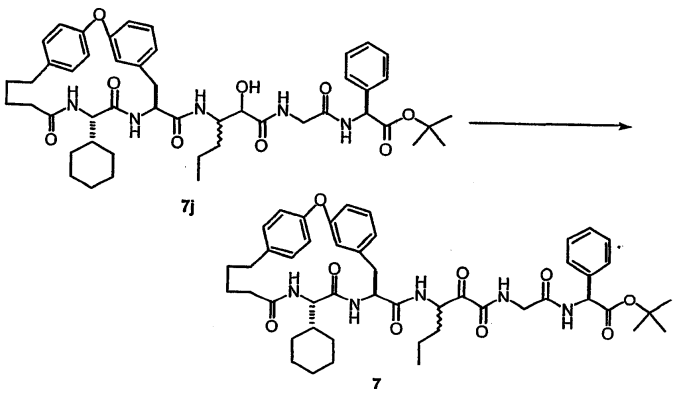
단계 I:



무수 DMF(3.0ml) 중의 산 7i의 용액을 HOOBt(94mg, 0.75mmol, 1.6당량), 위니그스 염기(237mg, 1.84mmol, 4.0당량) 및 아민 B(246mg, 0.58mmol, 1.47당량)로 처리한다. 이 반응 혼합물을 0℃로 냉각시키고 EDCl(110mg, 0.58mmol, 1.25당량)으로 처리하고 0℃에서 25분 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고 H_2O(30ml)로 희석시킨다. 합한 수성 층을 CH_2Cl_2 (3 x 30ml)로 추출한다. 유기 층을 수성 HCl(1M, 60ml), 수성 NaOH(60ml)로 추출하고, 건조시키며(Na_2SO_4), 여과시키고, 진공하에 농축시켜 무색 고체 7j(230mg)를 수득하고, 이를 산화 반응에 사용한다.

MS: (전자분무, *m/z* 상대세기): 854 [$(M+1)^+$,100], 479 (70), 327 (50), 271.1 (100).

단계 J:

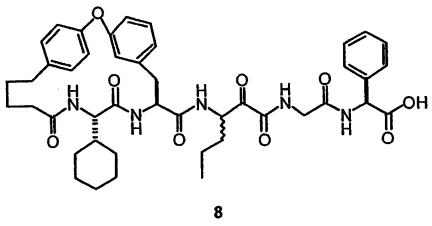


7j 7

CH_2Cl_2 (3.0ml) 중의 알코올 7j(220mg, 0.26mmol)의 용액을 데스-마틴 시약(218mg, 0.51mmol, 2.0당량)으로 처리한다. 반응 혼합물을 실온에서 교반시키고, 혼합물을 진공하에 농축시킨다. 잔사를 크로마토그래피(SiO_2, CH_3OH /CH_2Cl_2 1:24)함으로써 정제하여 산화된 생성물 7(23mg, 13%)를 무색 고체로서 수득한다.

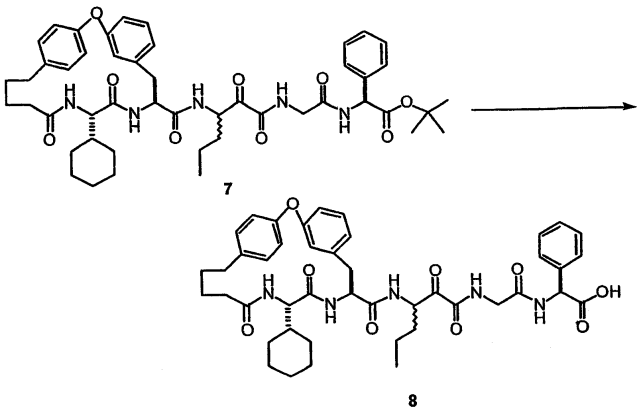
MS: (FAB, *m/z*, 상대. 세기.) 852 [(M+1)$^+$, 43), 796 (100), 768 (20), 461 (20), 433 (50), 405 (50), 336 (30), 294, (50).

실시예 8: 식 8의 화합물의 제조실시예 8: 식 8의 화합물의 제조



8

단계 A:

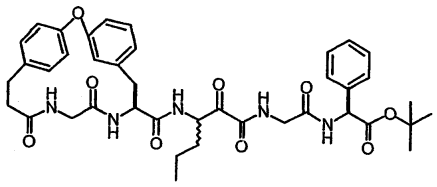


8

3급-부틸 에스테르 7(32.0mg, 37.0μmol)의 용액을 TFA/CH_2Cl_2 (1:1, 5.0ml)로 처리하고, 실온에서 4시간 동안 교반시킨다. 기선에 대한 상기 에스테르의 소멸을 TLC(CH_3OH/CH_2Cl_2 1:24)로 모니터한다. 탈보호를 완료한 후, 상기 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔사를 헵탄/CH_3OH(4.0ml)으로 반복해서 처리하고, 농축시켜 갈색 고체 8(29.0mg, 100%)를 수득한다.

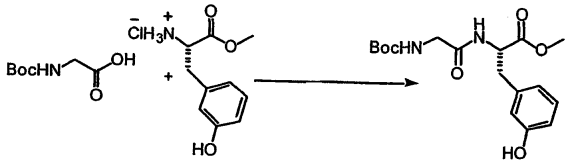
MS: (전자분무, *m/z* 상대세기): 796 [(M+1)$^+$, 100).

실시예 9: 식 9의 화합물의 제조실시예 9: 식 9의 화합물의 제조



9

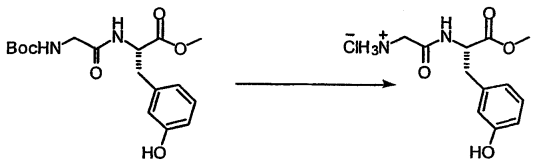
단계 A:



9a 1e 9b

무수 DMF(50ml) 중의 Boc-글리신 9a(1.75g, 10.0mmol)의 용액을 HOOBt(2.65g, 15mmol, 1.5당량) 및 EDCl(2.86g, 15.0mmol, 1.5당량)로 처리한다. 이 반응 혼합물을 위니그스 염기(5.16g, 40mmol, 4.0당량, 7.3ml)로 처리한다. 이 반응 혼합물을 1시간 동안 교반시키고, 메타-티로신-OCH_3 · HCl 1e(2.5g, 11.5mmol, 1.1당량)을 가하고 25℃에서 12시간 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고 수성 $NaHCO_3$로 희석시키고 CH_2Cl_2로 추출한다. 합한 유기 층을 농축시키고, 잔사를 크로마토그래피(SiO_2, EtOAc/헥산 1:1)함으로써 정제하여 무색 고체 9b(3.4g, 90%)를 수득한다.

단계 B:

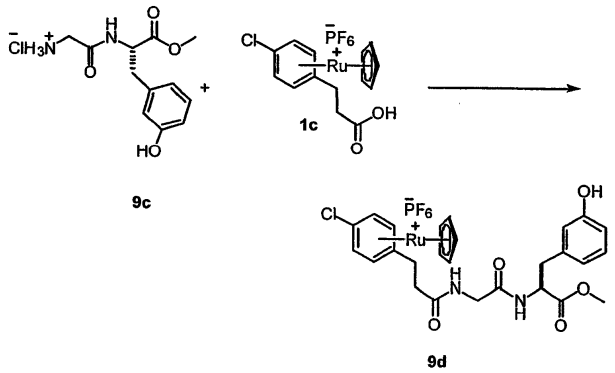


9b 9c

HCl(디옥산 중의 4M 용액, 50ml) 중의 9b(4.6g, 13.06mmol)의 용액을 실온에서 3시간 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔사를 고진공 하에 건조시켜 9c를 미세한 분말로서 수득하고, 이를 다음 단계에 사용한다.

^{1}H NMR (CD_3OD, 400 MHz, δ, ppm) 8.67 (d, 1 H, *J*=7.9 Hz),7.10- 7.07 (m, 1 H), 6.68-6.64 (m, 2 H), 4.75-4.70 (m, 1 H), 3.75-3.61 (m, 2 H), 3.66 (s, 3 H), 3.10 (dd, 1 H, *J*= 5.2, 8.5 Hz), 2.90 (dd, 1 H, *J*=8.8 Hz, 5.0 Hz) .

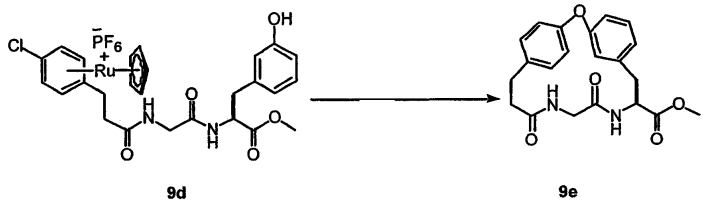
단계 C:



무수 DMF(60ml) 중의 [CpRu(η ^{6}-4-클로로페닐프로피온산)]PF_6 1c(3.0g, 46.01mmol)의 용액을 HOBt(1.3g, 9.16mmol, 1.5당량) 및 위니그스 염기(3.22g, 4.60ml, 25.0mmol, 4.0당량)으로 처리한다. 반응 혼합물을 0℃로 냉각시키고, EDCl(1.75g, 9.16mmol, 1.5당량)으로 처리한다. 반응 혼합물을 0℃에서 30분 동안 교반시키고, 글리신 암모늄 염 9c(1.75g, 6.06mmol, 1.0당량)을 가한다. 반응 혼합물을 실온에서 12시간 동안 교반시키고, 진공하에 DMF를 증류 제거한다. 잔사를 수성 HCl(1M, 100ml)로 희석시키고, CH_2Cl_2 (3 x 100ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 수성 $NaHCO_3$ (1 x 100ml) 및 염수(50ml)로 추출하고, 건조시키며(Na_2SO_4), 여과시킨 다음, 진공하에 농축시켜 갈색 고체 9d(1.5g, 34%)을 수득하고, 이를 폐환 반응에 사용한다.

MS: (전자분무, *m/z* 상대세기): 585 [(M-PF_6)$^+$, 100], 459 (30), 373 (30), 198 (20).

단계 D:

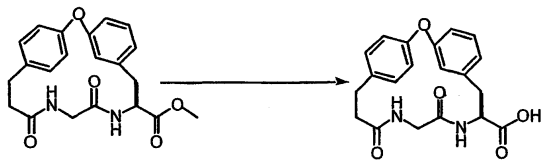


무수 DMF(100ml) 중의 루테늄 착물 9d(1.5g, 2.05mmol)의 용액을 실온에서 무수 N_2로 탈기시키고, Cs_2CO_3 (5.0 g, 15mmol, 7.5당량)을 가하고, 실온에서 12시간 동안 교반시킨다. 용매 DMF를 증류 제거하고 잔사를 물(100ml)로 희석시키며, CH_2Cl_2 (3 x 100ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 염수(100ml)로 추출하고, 건조시키며(Na_2SO_4), 여과시키고, 진공하에 농축시키며, 진공하에 밤새 건조시킨다. 상기 잔사를 추가의 정제없이 Ru의 광분해적 제거에 사용한다.

앞서 단계로부터 폐환된 화합물을 CH_3CN(30ml)에 용해시키고, 석영 튜브 내로 여과시킨다. 상기 용액을 탈기시키고, 레이낫 기기(λ=350nm)에서 48시간 동안 광분해시킨다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔사를 크로마토그래피(SiO_2, EtOAc)함으로써 정제하여 갈색 고체 9e(230mg, 30%)을 수득한다.

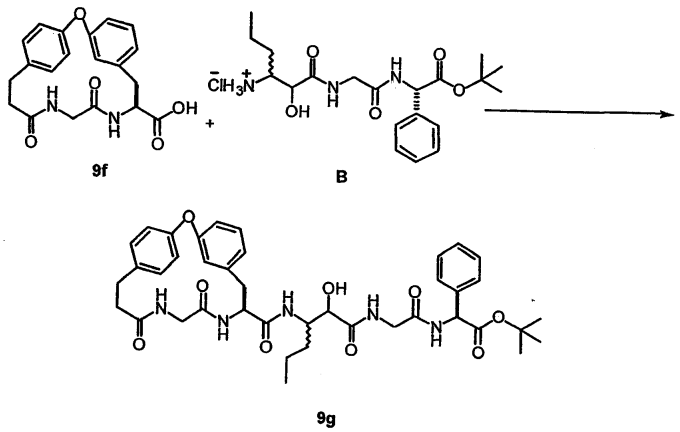
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz, δ, ppm) 7.23-7.18 (m, 2 H), 7.09-7.01 (m, 3 H), 6.76 (dd, 1 H, *J*=2.4, 8.8 Hz), 6.66 (d, 1 H, *J*=7.6 Hz), 6.47 (d, 1 H, *J*=5.6 Hz), 6.17 (s, 1 H), 5.64 (s, 1 H), 4.69 (q, 1H, *J*=4.4 Hz), 3.77 (s, 3 H), 3.68-3.51 (m, 2 H), 3.35 (dd, 1 H, *J*=4.0, 10.8 Hz), 3.05 (dd, 1 H, *J*=5.2, 9.2 Hz), 2.96-2.92 (m, 2 H), 2.61-2.56 (m, 1 H), 2.30-2.29 (m, 1 H);
^{13}C NMR : ($CDCl_3$, 100 MHz, δ ppm) 172.3, 171.4, 168.1, 159.9, 155.4, 137.6, 136.4, 131.0, 130.0, 129.5, 123.3, 122.4, 121.0, 117.7, 117.1, 53.6, 53.0, 43.6, 39.9, 36.1, 32.3. MS: (전자분무, *m/z* 상대세기): 383 [$(M+1)^+$, 100], 279 (20)

단계 E:



THF(4.0ml) 및 H_2O(4.0ml) 중의 사이클릭 화합물 9e(150mg, 0.4mmol)의 용액을 실온에서 3시간 동안 $LiOH \cdot H_2O$(41.0mg, 1.0mmol, 2.5당량)과 함께 교반시킨다. 반응 혼합물을 진한 HCl(2.0ml)으로 산성화시키고, 진공하에 농축시킨다. 고체 9f를 진공하에 건조시키고, 이를 추가의 정제없이 커플링 반응에 사용한다.

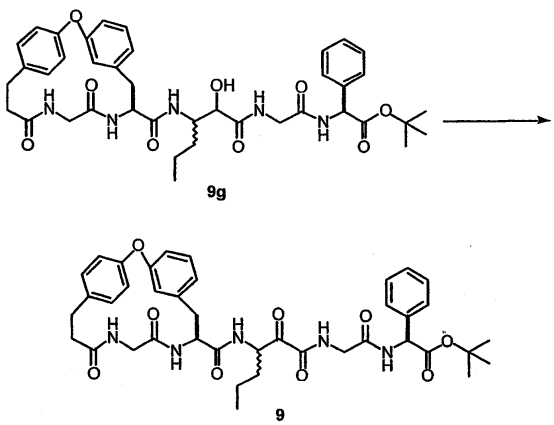
단계 F:



9f B 9g

무수 DMF(4.0ml) 및 CH_2Cl_2 (4.0ml) 중의 가수분해된 산 9f의 용액을 HOOBt(103mg, 0.58mmol, 1.5당량)으로 처리하고 0℃로 냉각시킨 다음, 위니그스 염기(206mg, 1.60mmol, 4.0당량, 295μℓ)을 가한다. 이 반응 혼합물에 EDCl(112mg, 0.58mmol, 1.5당량)을 가하고, 반응 혼합물을 0℃에서 30분 동안 교반시키고, 아민 하이드로클로라이드 B(206mg, 0.48mmol, 1.2당량)로 처리한다. 반응 혼합물을 냉동고에서 48시간 동안 저장하고, 진공하에 농축시켜 DMF와 CH_2Cl_2 을 제거한다. 잔사를 수성 HCl(2M)로 희석시키고, CH_2Cl_2 (3 x 50ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 수성 HCl(1M, 3 x 50ml), 수성 NaOH(2M) 및 염수(100ml)로 추출하고, 건조시킨 다음(Na_2SO_4) 진공하에 농축시킨다. 잔사 9g(200mg)을 추가의 정제없이 산화시킨다.

단계 G:

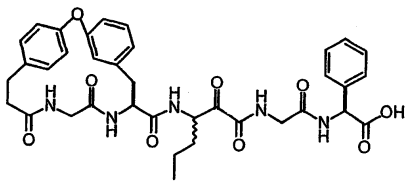


9g 9

CH_2Cl_2 (3.0ml) 중의 알코올 9g(200mg, 0.27mmol)의 용액을 데스-마틴 시약(342mg, 0.81mmol, 3.0당량)으로 처리한다. 반응 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반시키고, 수성 $NaHCO_3$ 및 수성 $Na_2S_2O_3$ 으로 희석시킨다. 반응 혼합물을 실온에서 20분 동안 교반시키고, 반응 혼합물을 CH_2Cl_2 (3 x 30ml)으로 추출한다. 합한 유기 층을 염수(50ml)로 추출하고, 건조시키며(Na_2SO_4), 여과시키고, 진공하에 농축시키고, 잔사를 크로마토그래피(SiO_2, CH_3OH(2M NH_3)/CH_2Cl_2 1:19)함으로써 정제하여 케토아미드 9(100mg, 50%)를 무색 고체로서 수득한다.

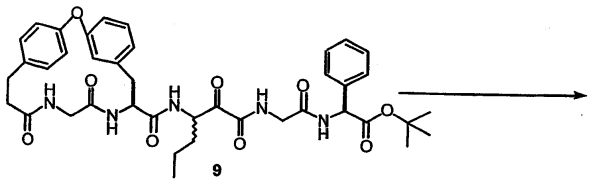
MS: (전자분무, *m/z* 상대세기): 742 ($[M+1]^+$, 100), 686 (80).

실시예 10: 식 10의 화합물의 제조 실시예 10: 식 10의 화합물의 제조

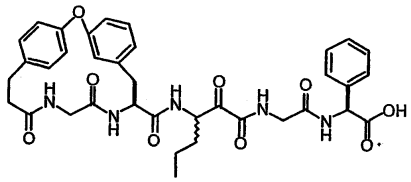


10

단계 A:



9

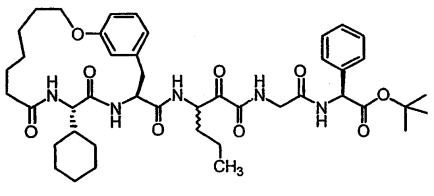


10

무수 CH_2Cl_2 (4.0ml) 중의 3급-부틸 에스테르 9(100mg, 0.13mmol)의 용액을 TFA(4.0ml)로 처리하고, 실온에서 5시간 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔사를 톨루엔/CH_2Cl_2에 반복해서 용해시키고, 수회 진공하에 농축시켜 미색의 고체 10을 수득한다.

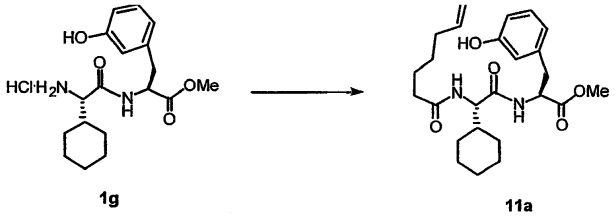
MS (FAB, NBA/DMSO, *m/z* 상대세기), 686 [$(M+1)^+$, 40], 460 (20), 307 (100), 289 (60); HRMS 계산치 $C_{36}H_{40}N_5O_9$ $(M+1)^+$: 686.2825: 실측치: 686.2840.

실시예 11: 식 11의 화합물의 제조 실시예 11: 식 11의 화합물의 제조



11

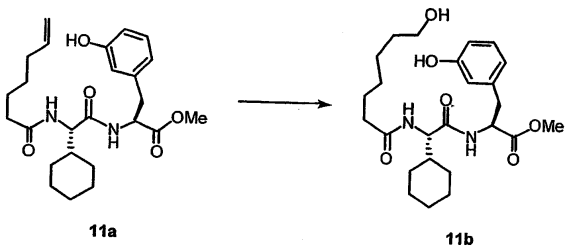
단계 A:



-20℃에서 무수 DMF(50ml) 및 CH_2Cl_2 (50ml) 중의 아민 하이드로클로라이드 1g(1.20g, 3.23mmol), 6-헵테노산(0.610g, 4.68mmol), HOOBt(0.765g, 4.69mmol) 및 EDCl(1.07g, 5.58mmol)의 용액에 NMM(1.55ml, 14.1mmol)을 가한다. 이 온도에서 30분 동안 교반시킨 후, 반응 혼합물을 냉동고에서 18시간 동안 유지시킨다. 이어서, 실온으로 가온시킨다. EtOAc(150ml), 염수(50ml) 및 5% H_3PO_4 (50ml)을 가한다. 분리 후, 유기 용액을 5% H_3PO_4 (80ml), 포화 중탄산나트륨 수용액(2 X 80ml), 물(80ml) 및 염수(80ml)로 세척하고, 황산마그네슘으로 건조시키며, 여과시킨 다음 진공하에 농축시킨다. 섬광 크로마토그래피(2 내지 5% MeOH-CH_2Cl_2)하여 11a(1.46g, 3.28mmol, 정량적)를 백색 고체로서 수득한다.

^{1}H NMR (400 MHz, d_6-DMSO) δ 9.25 (s, 1 H), 8.31 (d, *J* =7.2 Hz, 1 H), 7.70 (d, *J* =9.2 Hz, 1 H), 7.05-7.01 (m, 1 H), 6.62-6.58 (m, 3 H), 5.82-5.72 (m, 1 H), 5.02-4.91 (m, 1 H), 4.43-4.38 (m, 1 H), 4.23-4.19 (m, 1 H), 3.55 (s, 3 H), 2.93-2.80 (m,2 H), 2.51-1.97 (m, 2 H), 1.66-0.86 (m, 15H); ^{13}C NMR (d_6-DMSO, 125 MHz), δ 171.9, 171.8, 171.1, 157.2, 138.6, 138.4, 129.1, 119.5, 115.8, 114.6, 113.5, 56.5, 53.5, 51.6, 36.5, 34.8, 32.8, 29.0, 28.0, 27.8, 25.8, 25.5, 24.8; HRMS, *m/z* 445.2683 (계산치 $C_{25}H_{36}N_2O_5$: 445.2702, 에러: 4 ppm).

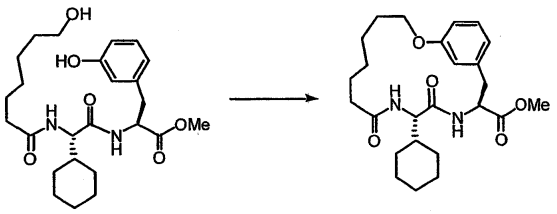
단계 B:



질소 하 0℃에서 무수 THF(60ml) 중의 11a(1.46g, 3.28mmol)의 용액에 보란-THF 용액(12ml, 1.0M, 12mmol)을 가한다. 이로써 생성된 용액을 질소하 0℃에서 1시간 40분 동안 교반시킨다. 이어서, 에탄올(4ml) 및 pH 7 완충액(8ml)을 가한 다음, 수성 30% H_2O_2 용액(7.5ml)을 가한다. 0℃에서 20분 동안 교반시킨 후, 이를 실온으로 가온시키고, 2시간 동안 교반시킨다. EtOAc(200ml) 및 염수(100ml)을 가하고, 층을 분리시킨다. 수용액을 EtOAc(2 x 150 ml)으로 추출한다. 합한 유기 용액을 황산마그네슘으로 건조시키고, 여과시키며, 진공하에 농축시킨다. 섬광 크로마토그래피(2 내지 5% MeOH-CH_2Cl_2)하여 11b(1.05g, 2.18mmol, 68%)를 백색 고체로서 수득한다.

^{1}H NMR (400 MHz, d6-DMSO) δ 9.25 (s, 1H), 8.30 (d, *J* =7.2 Hz, 1 H), 7.68 (d, *J* =9.2 Hz, 1 H), 7.05-7.01 (m, 1 H), 6.62-6.58 (m, 3 H), 4.43-4.18 (m, 3 H), 3.55 (s, 3 H), 3.37-3.33 (m,2 H), 2.93-2.80 (m, 2 H), 2.20-2.03 (m, 2 H), 1.66-0.87 (m, 19H); ^{13}C NMR (d6-DMSO, 125 MHz), d 172.1, 171.8, 171.2, 157.2, 138.4, 129.1, 119.5, 115.8, 113.5, 60.7. 56.5, 53.5, 51.7, 36.5, 35.1, 32.6, 32.4, 29.0, 28.5, 28.0, 25.8, 25.6, 25.4, 25.2; HRMS, *m/z* 463.2813 (계산치 $C_{25}H_{36}N_2O_5$: 463.2808, 에러:1 ppm).

단계 C:

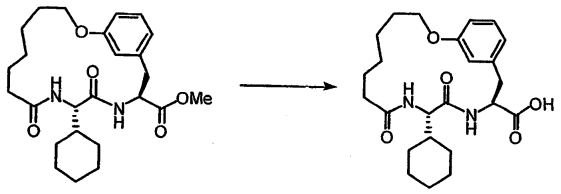


11b 11c

무수 CH_2Cl_2 (100ml) 및 THF(40ml) 중의 페놀 알코올 11b(1.00g, 2.16mmol) 및 트리-n-부틸포스핀(1.0ml, 4.28mmol)의 용액에 ADDP(1.08g, 4.28mmol)을 가한다. 0℃에서 1시간 동안 교반시킨 후, 상기 용액을 실온으로 가온시키고, 질소하에 3시간 동안 교반시킨다. TLC는 출발 물질이 완전히 소모되었음을 지시해준다. 용매를 진공하에 제거한 후, 잔사를 섬광 크로마토그래피(CH_2Cl_2 중의 0 내지 3% MeOH)함으로써 부분적으로 정제하여, 매크로사이클 11c(650mg, 1.46mmol, 68%)을 수득한다.

^{1}H NMR (400 MHz, d6-DMSO) δ 8.58 (d, *J* =8.3 Hz, 1 H), 7.76 (d, *J* =9.2 Hz, 1 H), 7.18-7.14 (m, 1 H), 6.76-6.65 (m, 3 H), 4.77-4.71 (m, 1 H), 4.32 (t, *J* = 8.5 Hz, 1 H), 3.97-3.93 (m, 1 H), 3.82-3.78 (m, 1 H), 3.67 (s, 3 H), 3.18-3.14 (m, 1 H), 2.98-2.92 (m, 2 H), 2.32-2.25 (m, 1 H), 2.02-2.01 (m, 1 H), 1.99-0.87 (m, 19H); ^{13}C NMR (d6-DMSO, 125 MHz), δ 172.1, 171.6, 171.4, 160.1, 158.8, 139.0, 129.1, 121.1, 113.0, 111.9, 66.4, 56.1, 52.0, 50.1, 40.6, 34.9, 34.2, 28.7, 28.3, 26.8, 26.3, 25.9, 25.5, 25.2, 24.2; HRMS, *m/z* 445.2685 (계산치 $C_{25}H_{36}N_2O_5$: 445.2702, 에러:4 ppm).

단계 D:

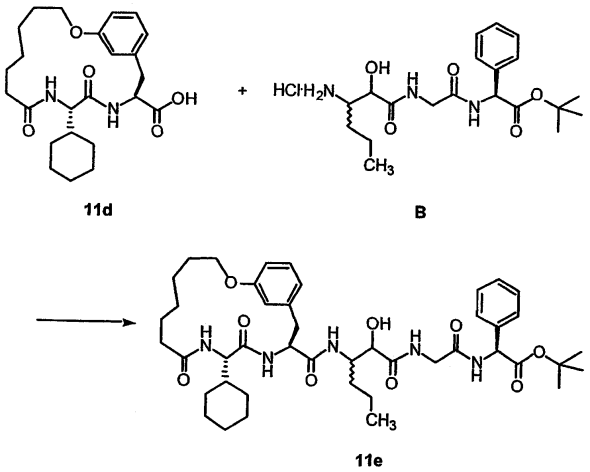


11c 11d

수산화리튬 수용액(15ml H_2O 중의 70mg, 2.92mmol)을 실온에서 THF(20ml) 및 에탄올(10ml) 중의 메틸 에스테르 11c(330mg, 0.742mmol)의 용액에 가한다. 이 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반시킨다. 이 반응의 진행 과정을 TLC로 모니터한다. 상기 용액을 진공하에 농축시킨 후, EtOAc(100ml), 6N HCl 용액(10ml) 및 물(50ml)을 가하고, 층을 분리시킨다. 상기 수용액을 EtOAc(2 x 80ml)로 추출한 다. 유기 용액을 합하고, 황산마그네슘으로 건조시키며, 여과시킨 다음 진공하에 농축시켜 11d(260mg, 0.604mmol, 81%)를 백색 고체로서 수득한다.

^{1}H NMR (400 MHz, d$_6$-DMSO) δ 8.43 (d, *J* =8.3 Hz, 1 H), 7.73 (d, *J* =9.3 Hz, 1 H), 7.17-7.13 (m, 1 H), 6.77-6.66 (m, 3 H), 4.67-4.62 (m, 1 H), 4.32-4.28 (m, 1 H), 3.98-3.93 (m, 1 H), 3.81-3.75 (m, 1 H), 3.17-3.13 (m, 1 H), 2.97-2.90 (m, 1 H), 2.32-2.26 (m, 1 H), 2.01-1.97 (m, 1 H), 1.67-0.85 (m, 19H); ^{13}C NMR (d$_6$-DMSO, 125 MHz), δ 173.2, 171.6, 171.3, 158.8, 139.3, 129.0, 121.1, 113.1, 111.9, 66.4, 56.1, 50.8, 35.1, 34.3, 28.8, 28.3, 26.9, 26.3, 25.9, 25.6, 25.5, 25.2, 24.2; HRMS, *m/z* 431.2564 (계산치 $C_{25}H_{36}N_2O_5$: 431.2546, 에러: 4 ppm).

단계 E:

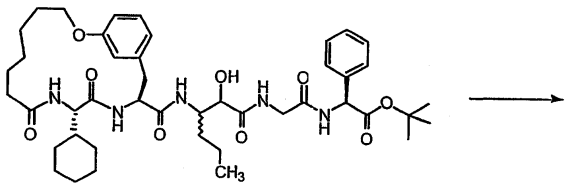


11d B

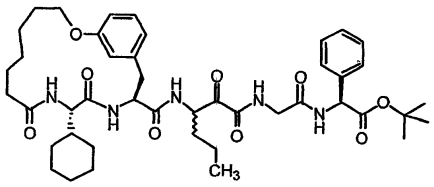
11e

-20℃에서 무수 DMF(40ml) 및 CH_2Cl_2(20ml) 중의 산 11d(0.140g, 0.325mmol), 아민 B(0.140g, 0.325mmol), HOOBt(56mg, 0.343mmol) 및 EDCl(75mg, 0.391mmol)의 용액에 NMM(0.107ml, 0.973mmol)을 가한다. 이 온도에서 30분 동안 교반시킨 후, 반응 혼합물을 냉동고에서 18시간 동안 유지시킨다. 이어서, EtOAc, 염수 및 5% H_3PO_4을 가한다. 분리된 유기 용액을 5% H_3PO_4, 포화 중탄산나트륨 수용액, 물 및 염수로 연속적으로 세척하고, 황산마그네슘으로 건조시키며, 여과시킨 다음 진공하에 농축시킨다. 섬광 크로마토그래피(2 내지 5% MeOH-CH_2Cl_2)하여 11e를 부분입체이성체의 혼합물(0.170g, 0.211mmol, 65%)로서 백색 고체로서 수득하고, 이를 추가의 정제없이 다음 단계에 사용한다.

단계 F:



11e

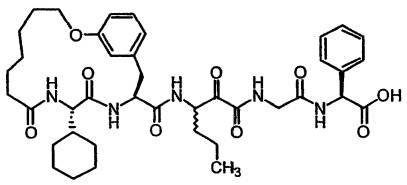


11

실온에서 하이드록시 아미드 11e(0.29g, 0.36mmol)과 데스-마틴 시약(0.45g, 1.06mmol)의 혼합물에 무수 CH_2Cl_2(60ml), DMF(3ml) 및 DMSO(3ml)을 가한다. 이로써 생성된 용액을 실온에서 2.5시간 동안 격렬하게 교반시킨다. 데스-마틴 시약(300mg, 0.71mmol)을 더 가하고, 반응 혼합물을 1시간 더 교반시킨다. 포화 중탄산나트륨 수용액 및 중아황산나트륨 용액(각 40ml)을 가하고, 이 혼합물을 10분 동안 격렬하게 교반시킨 후, EtOAc(200ml) 및 물(30ml)을 가하고 층을 분리시킨다. 상기 유기 수용액을 5% H_3PO_4 용액(2 x 100ml) 및 포화 $NaHCO_3$ 용액(100ml)으로 세척하고, 황산마그네슘으로 건조시키고, 여과시킨 다음 진공하에 농축시킨다. 섬광 크로마토그래피(1 내지 5% MeOH-CH_2Cl_2)하여 11(100mg, 0.124mmol, 35%)를 백색 고체로서 수득한다.

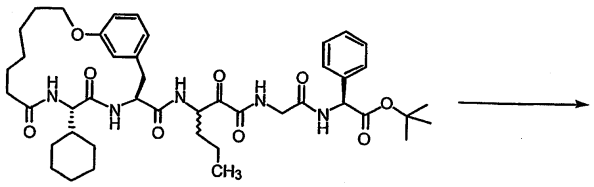
^{1}H NMR (400 MHz, d_6-DMSO) δ 8.79-8.69 (m, 2 H), 8.36-8.16 (m, 2 H), 7.72-7.68 (m, 1 H), 7.42-7.33 (m, 5 H), 7.17-7.13 (m, 1 H), 6.77-6.63 (m, 3 H), 5.30-5.27 (m, 1 H), 5.09-5.04 (m, 1 H), 4.85-4.76 (m, 1 H), 4.29-4.25 (m, 1 H), 3.98-3.74 (m, 1 H), 3.02-2.85 (m, 2 H), 2.32-2.27 (m, 1 H), 2.04-1.96 (m, 1 H), 1.72-0.81 (m, 35 H); ^{13}C NMR (d_6-DMSO, 125 MHz), δ 196.5, 196.2, 171.65, 171.61, 171.5, 171.14, 171.07, 169.4, 167.6, 160.7, 158.84, 158.79, 139.5, 139.3, 136.6, 136.5, 128.92, 128.90, 128.7, 128.6, 128.1, 127.7, 127.4, 124.9, 121.34, 121.28, 113.1, 112.9, 112.0, 111.9, 81.3, 66.34, 66.30, 56.92, 56.87, 56.3, 56.2, 53.4, 53.3, 51.5, 50.9, 41.5, 41.4, 40.8, 40.7, 36.6, 36.1, 34.4, 34.3, 31.8, 31.6, 30.4, 29.1, 28.9, 28.4, 28.3, 27.5, 26.8, 26.21, 26.17, 25.9, 25.59, 25.55, 25.0, 24.2, 18.74, 18.66, 13.5, 13.4 ; HRMS, *m/z* 804.4542 (계산치 $C_{25}H_{36}N_2O_5$: 804.4548, 에러 1 ppm).

실시예 12: 식 12의 화합물의 제조: 실시예 12: 식 12의 화합물의 제조:

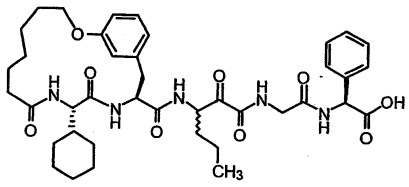


12

단계 A:



11

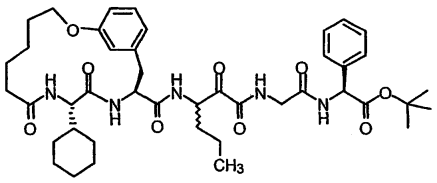


12

트리플루오로아세트산(15ml) 및 CH_2Cl_2 (15ml) 중의 t-부틸 에스테르 11(56.8mg, 0.0706mmol)의 용액을 실온에서 4시간 동안 교반시킨다. 휘발성 물질을 진공하에 제거한 후, 잔사를 50% MeOH-CH_2Cl_2 (3ml)에 용해시키고, 진공하에 건조 농축시켜 회색 고체 12(50mg, 0.0669mmol, 95%)를 수득한다:

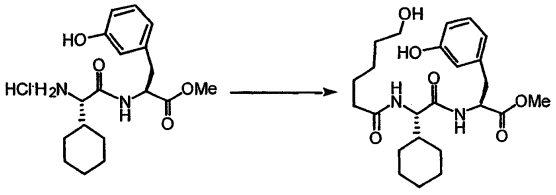
^{1}H NMR (400 MHz, d6-DMSO) δ 8.75-8.71 (m, 2 H), 8.36-8.16 (m, 2 H), 7.72-7.69 (m, 1 H), 7.39-7.31 (m, 5 H), 7.17-7.13 (m, 1 H), 6.76-6.63 (m, 3 H), 5.37-5.35 (m, 1 H), 5.07-5.04 (m, 1 H), 4.85-4.76 (m, 1 H), 4.29-4.25 (m, 1 H), 3.97-3.74 (m, 4 H), 3.02-2.86 (m, 2 H), 2.32-2.26 (m, 1 H), 2.01-1.97 (m, 1 H), 1.70-0.82 (m, 26 H); ^{13}C NMR (d6-DMSO, 125 MHz), δ 196.5, 196.2, 171.63, 171.59, 171.52, 171.48, 171.1, 171.06, 167.4, 160.6, 158.82, 158.78, 153.4, 139.4, 137.1, 137.0128.91, 128.88, 128.7, 128.65, 128.61, 128.5, 128.43, 128.39, 128.33, 128.32, 128.14, 128.12, 128.0, 127.7, 128.7, 127.63, 127.59, 127.5, 127.4, 126.8, 121.3, 115.9, 113.1, 112.9, 112.8, 112.0, 111.9, 111.88, 66.33, 66.29, 56.3, 56.2, 56.17, 53.34, 53.31, 53.27, 51.1, 50.9, 41.5, 40.84, 40.77, 40.7, 40.6, 40.56, 40.53, 40.5, 38.7, 38.6, 38.56, 38.53, 36.6, 36.1, 34.4, 34.3, 31.8, 31.6, 29.4, 29.1, 29.0, e28.9, 28.4, 28.3, 28.2, 26.9, 26.8, 26.79, 26.20, 26.16, 25.88, 25.86, 25.79, 25.75, 25.71, 25.66, 25.57, 25.54, 25.4, 25.0, 24.2, 18.7, 18.6, 13.5, 13.4; HRMS, *m/z* 748.3947 (계산치 $C_{25}H_{36}N_2O_5$: 748.3922, 에러: 3 ppm).

실시예 13: 식 13의 화합물의 제조 실시예 13: 식 13의 화합물의 제조



13

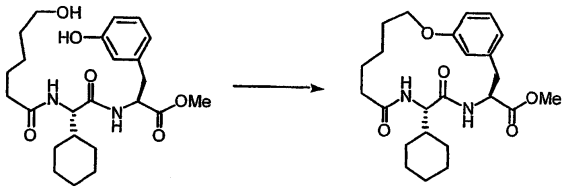
단계 A:



1g 13a

6-헵테노산을 6-하이드록시헥사노산으로 대체하는 것을 제외하고는, 실시예 11, 단계 A의 방법에 따라서 목적 화합물 13a를 제조한다(39%).

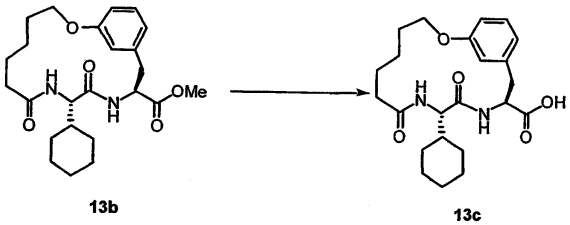
단계 B:



13a 13b

실시예 11, 단계 C의 방법에 따라서, 13a로부터 목적 화합물 13b를 74% 수율로 제조한다.

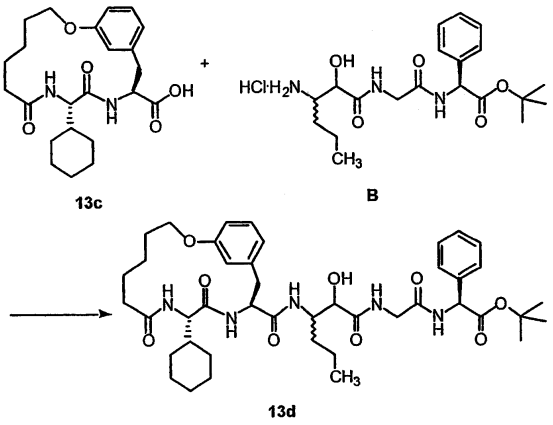
단계 C:



13b 13c

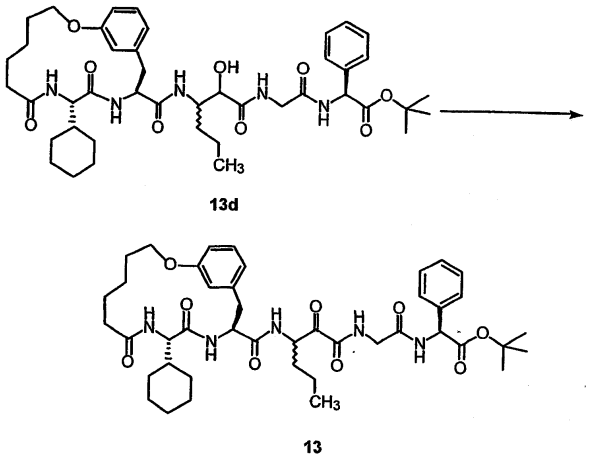
실시예 11, 단계 D의 방법에 따라서, 이의 상응하는 메틸 에스테르 13b로부터 목적하는 매크로사이클릭 산 13c를 88 % 수율로 백색 고체로서 제조한다.

단계 D:



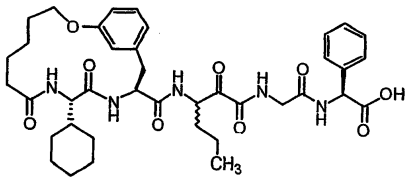
실시예 11, 단계 E의 방법에 따라서, 13c 및 B로부터 목적 화합물 13d를 48% 수율로 제조한다.

단계 E:



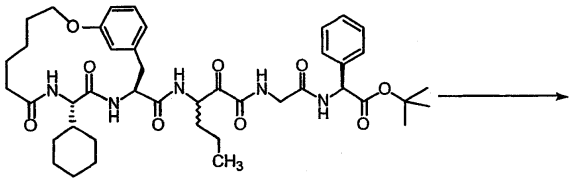
실시예 11, 단계 F의 방법에 따라서, 13d로부터 목적 화합물 13을 70% 수율로 제조한다.

실시예 14: 식 14의 화합물의 제조 실시예 14: 식 14의 화합물의 제조

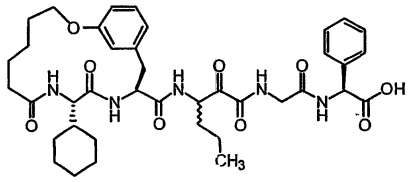


14

단계 A:



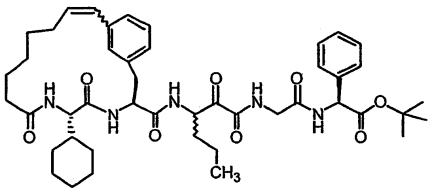
13



14

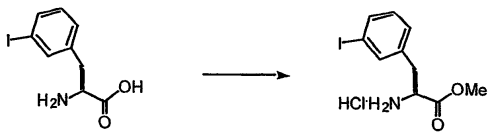
실시예 12, 단계 A의 방법에 따라서 13으로부터 목적 화합물 14를 정량적 수율로 제조한다.

실시예 15: 식 15의 화합물의 제조 실시예 15: 식 15의 화합물의 제조



15

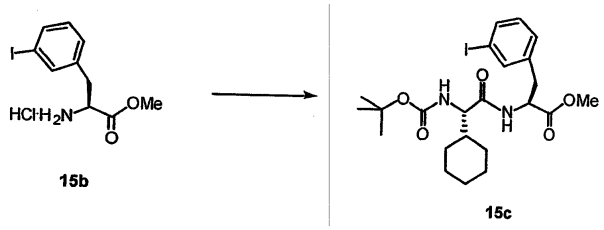
단계 A:



15a 15b

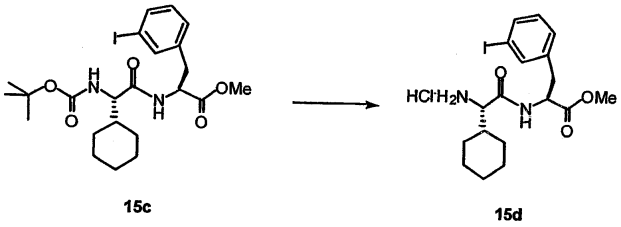
메탄올 중의 3-요오도-페닐아날린 15a(2.50g, 8.59mmol) 및 진한 염산(2ml, 24mmol)의 용액을 18시간 동안 환류 가열한다. 용매를 진공하에 제거하여 백색 고체 15b를 수득하고, 이를 추가의 정제없이 단계 B에 사용한다.

단계 B:



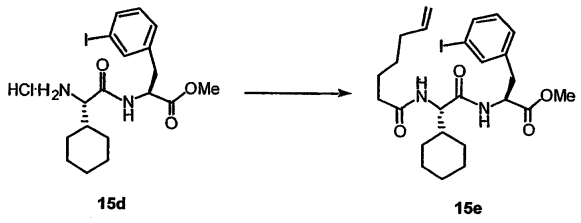
실시예 11, 단계 A의 방법에 따라서, 15b로부터 목적 화합물 15c를 84% 수율로 제조한다. 이를 추가의 정제없이 다음 반응에 사용한다.

단계 C:



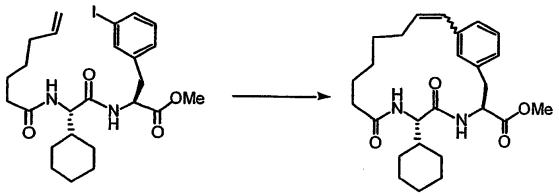
실시예 11, 단계 A의 방법에 따라서, 15c로부터 목적 화합물 15d를 제조한다(정량적). 이를 추가의 정제없이 다음 반응에 사용한다.

단계 D:



실시예 11, 단계 A의 방법에 따라서, 15d로부터 목적 화합물 15e를 68% 수율로 제조한다. 이를 추가의 정제없이 다음 반응에 사용한다.

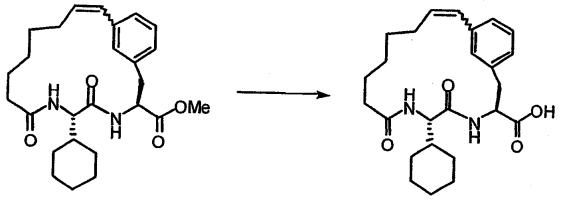
단계 E:



15e 15f

벽이 두터운 튜브 내에서 무수 아세토니트릴(25ml) 및 DMF(20ml) 중의 15e(1.16g, 2.04mmol), 트리에틸아민(2.90ml, 20.6mmol)의 용액을 아르곤 하에 5분 동안 버블링시킨다. 이 용액에 테트라키스트리페닐포스핀 팔라듐(O)(235mg, 0.203mmol)을 실온에서 신속하게 가한다. 상기 튜브를 테플론 스크류 캡으로 밀봉하고 오일 욕 속에서 85 내지 90℃로 가열한다. 3시간 동안 교반시킨 후, 이를 실온으로 냉각시키고, 조심스럽게 개봉한 후, EtOAc(100ml) 상으로 따라 붓는다. 이 용액을 5% H_3PO_4 (4 x 50ml) 및 물(50ml)로 세척한다. 유기 층을 황산마그네슘으로 건조시키고, 여과시키며, 진공하에 농축시킨다. 섬광 크로마토그래피(1 내지 4% MeOH-CH_2Cl_2)하여 매크로사이클 15f(330mg, 0.749mmol, 37%)을 수득한다.

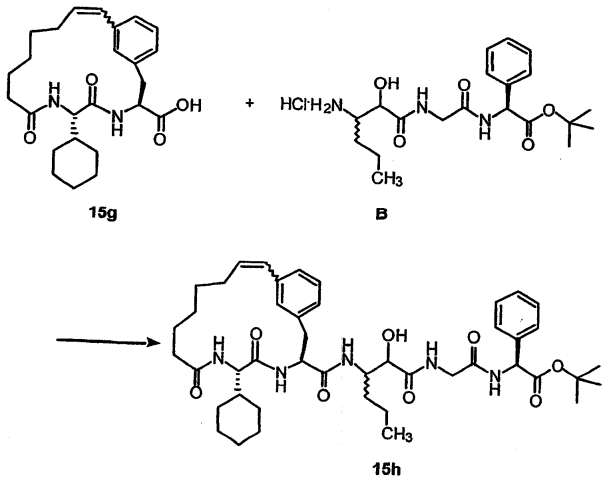
단계 F:



15f 15g

실시예 11, 단계 D의 방법에 따라서, 15f로부터 목적 화합물 15g를 정량적으로 제조한다. 이를 추가의 정제없이 다음 반응에 사용한다.

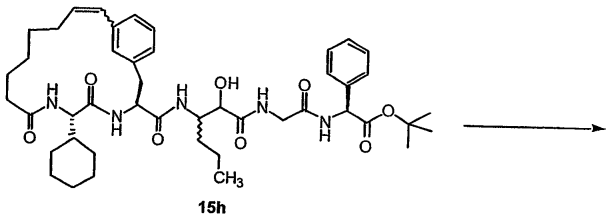
단계 G:



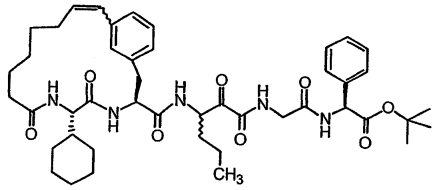
15g B 15h

실시예 11, 단계 F의 방법에 따라서, 15g로부터 목적 화합물 15h를 77% 수율로 제조한다. 이를 추가의 정제없이 다음 반응에 사용한다.

단계 H:



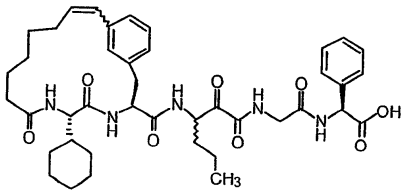
15h



15

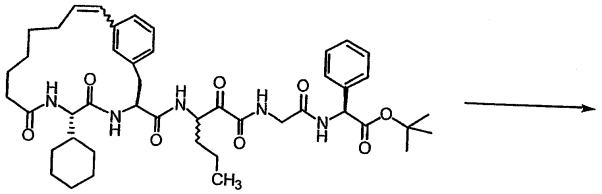
실시예 1, 단계 H의 방법에 따라서, 15h로부터 목적 화합물 15를 55% 수율로 제조한다.

실시예 16: 식 16의 화합물의 제조 실시예 16: 식 16의 화합물의 제조

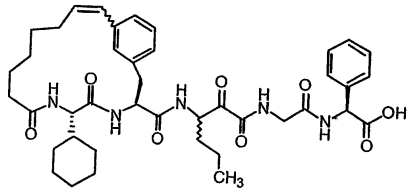


16

단계 A:



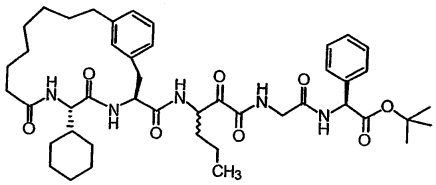
15



16

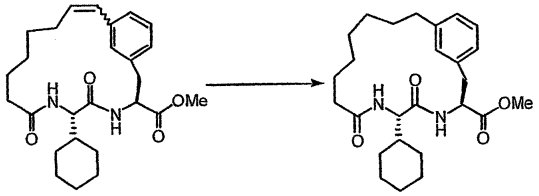
실시예 12, 단계 A의 방법에 따라서, 15로부터 목적 화합물 16을 정량적으로 제조한다.

실시예 17: 식 17의 화합물의 제조 실시예 17: 식 17의 화합물의 제조



17

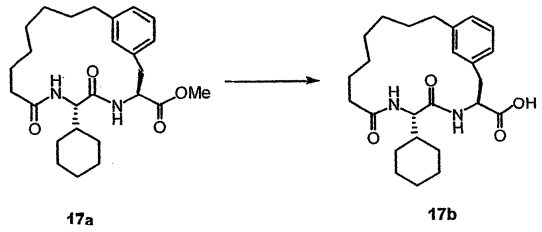
단계 A:



15f 17a

EtOH(10ml) 및 EtOAc(5ml) 중의 15f(150mg, 0.340mmol)의 용액에 10% 탄소상 팔라듐(20mg)을 가한다. 이 현탁액을 수소하에서 8시간 동안 교반시키고, 이 동안에 반응 진행 과정을 TLC로 모니터한다. 셀라이트 패드를 통하여 여과시킨 후, 용매를 진공하에 제거하여 생성물을 백색 고체 17a(150mg, 0.339mmol, 정량적)로서 수득한다. 이를 추가의 정제없이 다음 반응에 사용한다.

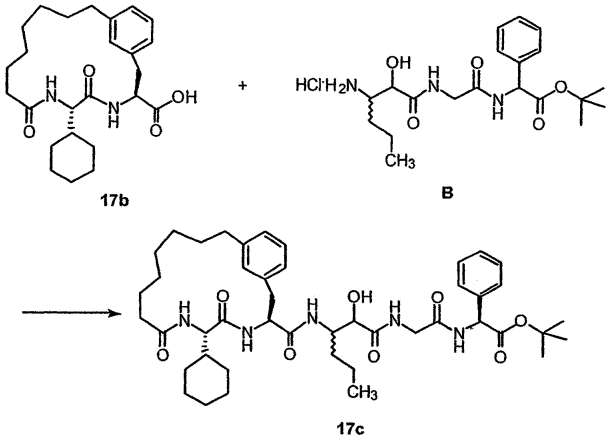
단계 B:



17a 17b

실시예 11, 단계 D의 방법에 따라서, 17a로부터 목적 화합물 17b를 제조한다. 이를 추가의 정제없이 다음 반응에 사용한다.

단계 C:

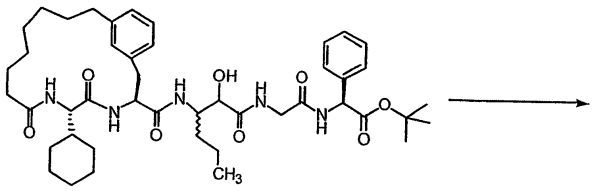


17b B

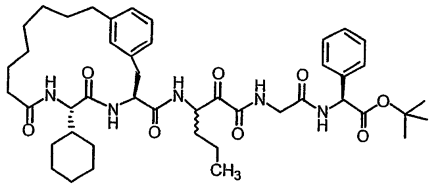
17c

실시예 11, 단계 E의 방법에 따라서, 17b로부터 목적 화합물 17c를 73% 수율(단계 B 및 C)로 제조한다. 이를 추가의 정제없이 다음 반응에 사용한다.

단계 D:



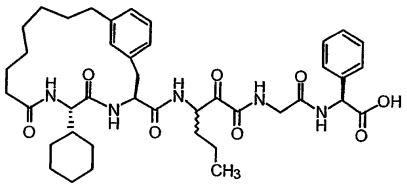
17c



17

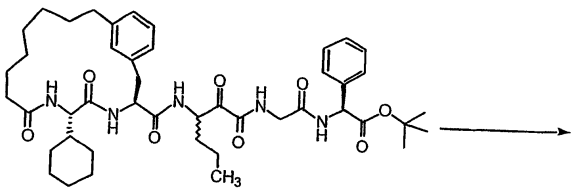
실시예 11, 단계 F의 방법에 따라서, 17c로부터 목적 화합물 17를 46% 수율로 제조한다.

실시예 18: 식 18의 화합물의 제조 실시예 18: 식 18의 화합물의 제조

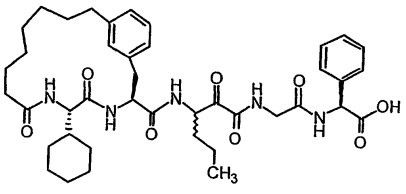


18

단계 A:



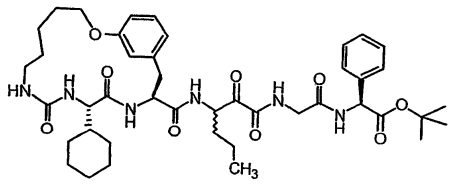
17



18

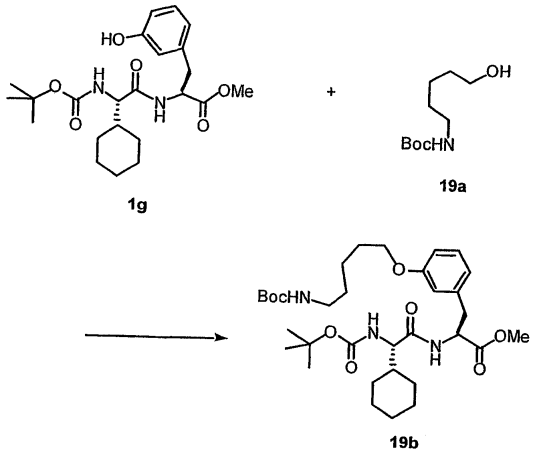
실시예 12, 단계 A의 방법에 따라서 17로부터 목적 화합물 18를 정량적 수율로 제조한다.

실시예 19: 식 19의 화합물의 제조 실시예 19: 식 19의 화합물의 제조



19

단계 A:

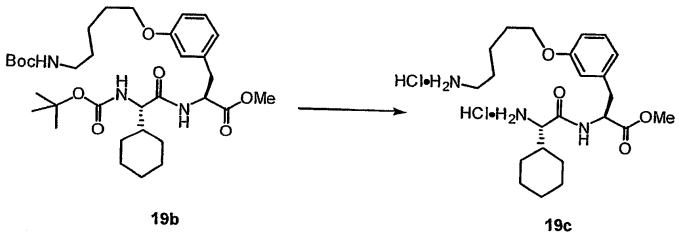


1g 19a

19b

실시예 11, 단계 C의 방법에 따라서 1g 및 19a로부터 목적 화합물 19b를 64% 수율로 제조한다.

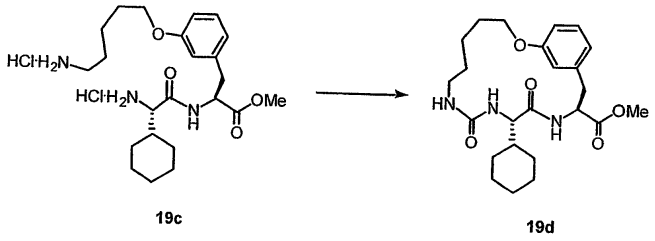
단계 B:



19b 19c

실시예 1, 단계 C의 방법에 따라서, 19b로부터 목적 화합물 19c를 제조한다. 이를 추가의 정제없이 다음 반응에 사용한다.

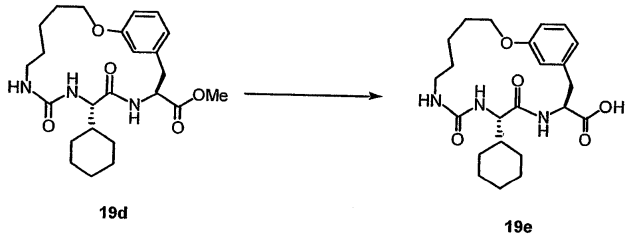
단계 C:



19c 19d

실온에서 아세토니트릴(400ml) 중의 디-아민 염 19c(75mg, 1.52mmol) 및 카보닐 디이미다졸(260mg, 1.60mmol)의 현탁액에 트리에틸아민(0.26ml, 1.85mmol)을 가한다. 이 혼합물을 3일 동안 교반시킨다. 용매를 진공하에 제거한다. 잔사를 EtOAc/THF(100/50ml)에 용해시키고, 이 용액을 5% H_3PO_4으로 세척하며, 황산마그네슘으로 건조시키고, 여과시킨 다음 진공하에 농축시킨다. 섬광 크로마토그래피(2 내지 10% MeOH-CH_2Cl_2)하여 19d(290mg, 0.651mmol, 43%)을 백색 고체로서 수득한다.

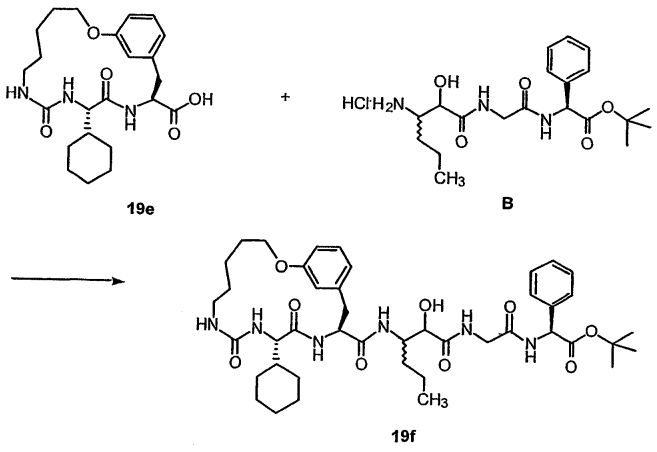
단계 D:



19d 19e

실시예 11, 단계 D의 방법에 따라서, 19d로부터 목적 화합물 19e를 97% 수율로 제조한다. 이를 추가의 정제없이 다음 반응에 사용한다.

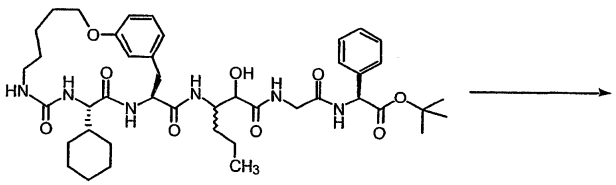
단계 E:



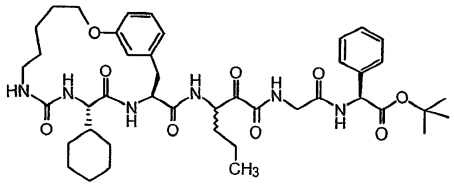
19e B 19f

실시예 11, 단계 E의 방법에 따라서, 19e 및 B로부터 목적 화합물 19f를 66% 수율로 제조한다.

단계 F:



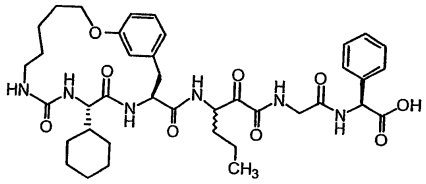
19f



19

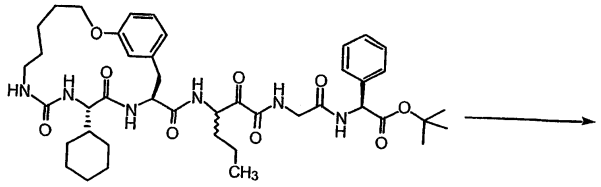
실시예 11, 단계 F의 방법에 따라서, 19f로부터 목적 화합물 19를 66% 수율로 제조한다. 두 생성물을 섬광 크로마토그래피(0 내지 5% MeOH-CH_2Cl_2)하여 부분적으로 분리시킨다.

실시예 20: 식 20의 화합물의 제조 실시예 20: 식 20의 화합물의 제조

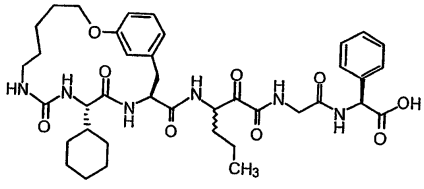


20

단계 A:



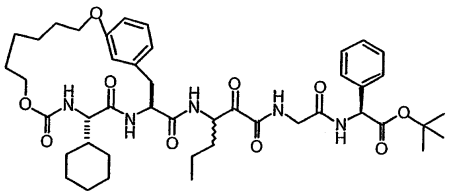
19



20

실시예 12, 단계 A의 방법에 따라서 19로부터 목적 화합물 20를 제조한다.

실시예 21: 식 21의 화합물의 제조 실시예 21: 식 21의 화합물의 제조



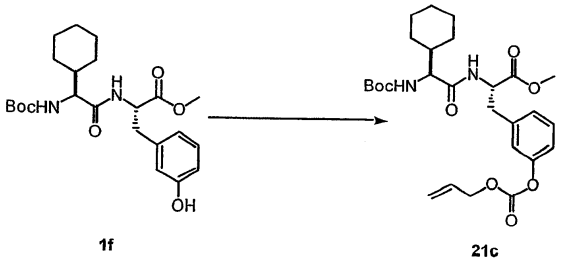
21

단계 A:

21a 21b

디에틸에테르(100ml) 중의 5-헥센-1-올 21a(10g, 50mmol)의 용액을 트리에틸아민(10.1g, 100mmol, 2.0당량)으로 처리하고 0℃로 냉각시킨다. 벤젠 중의 포스겐(20%, 100ml, 20g, 200mmol, 4.0당량) 용액을 적가하고, 반응 혼합물을 실온에서 12시간 동안 교반시킨다. 분리된 트리에틸아민 하이드로클로라이드를 여과시키고, 여액을 진공하에 농축시킨다. 잔사 21b를 정제없이 추가의 연구에 직접 사용한다.

단계 B:

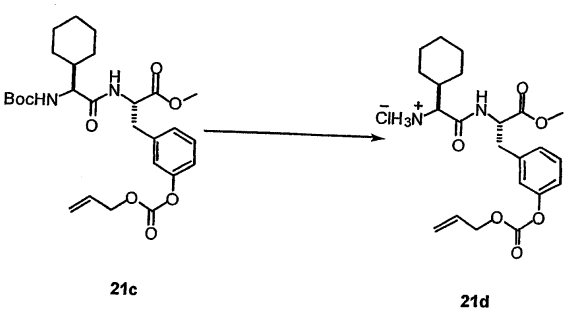


1f 21c

CH_2Cl_2 (100ml) 중의 1f(8.0g, 18.43mmol)의 용액을 트리에틸아민(2.43g, 24.0mmol, 1.3당량)으로 처리한다. 반응 혼합물을 -78℃로 냉각시키고, 알릴클로로포르메이트(2.9g, 24mmol, 1.3당량)을 적가한다. 이 반응 혼합물을 실온에서 12시간 동안 교반시키고, 반응 혼합물을 H_2O(100ml) 및 수성 HCl(2M, 200ml)으로 희석시킨다. 수성 층을 EtOAc(3 x 200ml)로 추출한다. 합한 EtOAc 층을 염수로 추출하고, 건조시키며(Na_2SO_4), 여과시킨 다음 진공하에 농축시키고, 잔사 21c를 Boc 탈보호에 직접 사용한다.

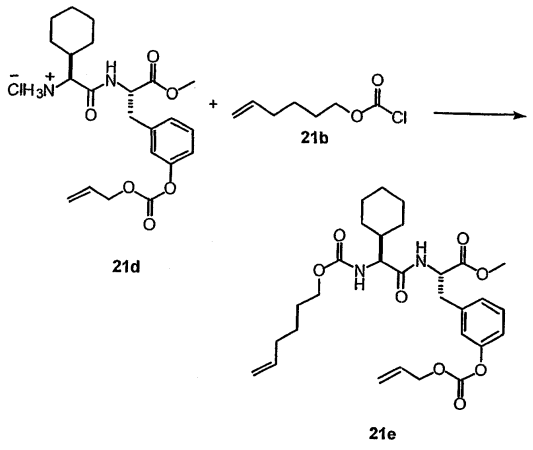
^{1}H NMR ($CHCl_3$, 300 MHz, δ, ppm) 7.29 (t, 1 H, *J*= 6.0 Hz), 7.06-6.98 (m, 3 H), 6.41 (d, 1 H, *J*=5.4 Hz), 6.05-5.95 (m, 1H), 5.42 (dd, 1H, *J*=1.2, 13.2), 5.31 (dd, 1 H, *J*=1.2, 13.2), 5.10 (d, 1 H, *J*=6.6 Hz), 4.91-4.87 (q, 1H), 4.74 (d, 1H, *J*=4.5 Hz), 3.95-3.92 (m, 1 H), 3.70 (s, 3 H), 3.12 (d, 1 H *J*=4.2 Hz),1.81-1.51 (m, 6H), 1.43 (s, 9 H), 1.21-0.91 (m, 6 H).

단계 C:



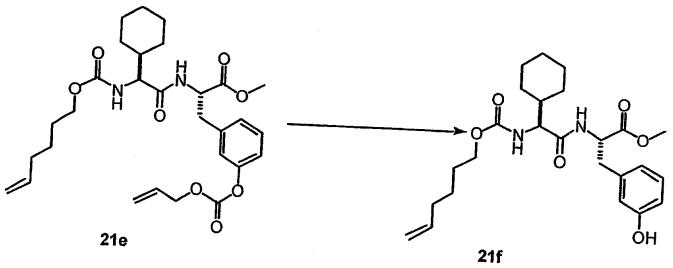
HCl(디옥산 중의 4M 용액, 100ml) 중의 21c(1.5g)의 용액을 실온에서 3시간 동안 교반시킨다. 이 출발 물질을 대상으로 하여, 출발 물질이 사라졌는지를 알아보기 위해 TLC하고, 출발 물질이 일단 사라지면, 상기 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔사 21d를 펌프 속에서 건조시킨다. 이를 추가의 정제없이 커플링 반응에 사용한다.

단계 D:



CH_2Cl_2 (50ml) 중의 아민 하이드로클로라이드 21d(4.0g, 8.9mmol)의 용액을 트리에틸아민(2.73g, 27mmol, 3.0당량, 3.8ml)으로 처리하고, -78℃로 냉각시킨다. CH_2Cl_2 (30ml) 중의 클로로포르메이트 21b(2.3g, 13.3mmol, 1.5당량) 용액을 적가한다. 상기 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반시키고, 수성 HCl(1M, 150ml)로 희석시킨다. 수성 층을 EtOAc(3 x 100ml)로 추출한다. 합한 에틸 아세테이트 층을 H_2O(100ml) 및 염수(100ml)로 추출하며, 건조시키고(Na_2SO_4), 여과시킨 다음, 진공하에 농축시키며, 잔사를 크로마토그래피(SiO_2, EtOAc/헥산 3:7)함으로써 정제하여 21e를 무색 고체(5g, 80%)로서 수득한다.

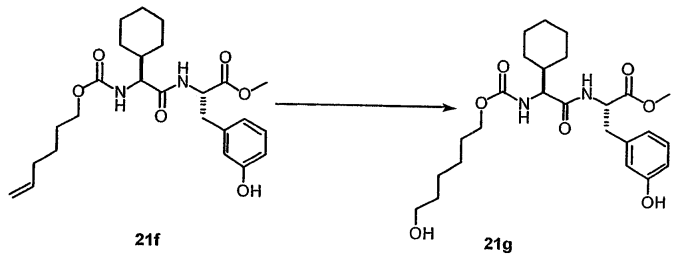
단계 E:



무수 THF(60.0ml) 중의 alloc-보호된 화합물 21e(4.0g, 7.2mmol)의 용액을 0℃에서 디메디온(2.01g, 14.4mmol, 2.0당량), $Pd(PPh_3)_4$ (830mg, 0.71mmol, 10몰%)로 처리하고, 실온에서 1시간 동안 교반시킨다. 이 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔사를 크로마토그래피(SiO_2, EtOAc/헥산 3:7)함으로써 정제하여 탈보호된 알코올 21f를 무색 고체(2.7g, 79%)로서 수득한다.

^1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz, δ ppm) 7.44 (bs, 1 H), 7.09 (s, 1 H, *J*=6.0 Hz), 6.75-6.72 (m, 2 H), 6.58-6.48 (m, 2 H), 5.81-5.71 (m, 1 H), 5.55 (d, 1 H, *J*=7.2 Hz, 4.98 (ddd, 1 H, *J*=1.5, 1.2, 9 Hz), 4.92 (dd, 1H, *J*=4.5, 0.9 Hz), 4.88-4.83 (m, 1 H), 4.12-3.97 (m, 1 H), 3.71 (s, 3 H), 3.09-2.98 (m, 2 H), 2.08-2.03 (m, 2 H), 1.722-1.40 (m, 10 H), 1.24-0.94(m, 5 H); ^{13}C NMR (100 MHz, δ) 171.6, 157.3, 156.6, 138.3, 136.6, 129.8, 123.5, 120.6, 117.0,114.9, 114.6, 65.7, 60.1, 53.2, 52.5, 40.4, 37.1, 33.3, 29.6, 28.6, 28.3, 26.0, 25.9, 25.1;.CHN: 계산치 $C_{25}H_{36}N_2O_6$: C=65.20% H=7.88% N=6.08%; 실측치 : C=64.90% H=7.98% N= 6.01%.

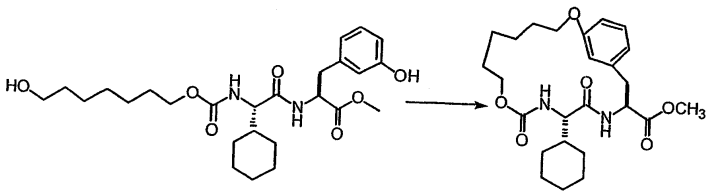
단계 F:



무수 THF(5.2ml) 중의 알켄 21f(650mg, 1.4mmol)의 용액을 0℃로 냉각시키고, $BH_3 \cdot THF$(THF 중의 1M 용액, 4.2ml, 4.2mmol, 3.0당량)으로 처리한다. 이 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시키고, 수소 기체의 방출과 함께 EtOH(2.0ml)을 조심스럽게 가한다. H_2 방출이 완료된 후, 0℃에서 상기 반응 혼합물을 pH 7 완충액으로 처리하고, 수성 H_2O_2 (30%, 5.0ml)로 처리한다. 빙욕을 꺼내고 혼합물을 실온에서 3 내지 4시간 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 EtOAc(3 x 100ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 H_2O, 염수로 추출하고, 건조시키며($MgSO_4$), 여과시키며, 진공하에 농축시키고, 잔사를 크로마토그래피(SiO_2, EtOAc/헥산 3:7)함으로써 정제하여 수소화붕소 첨가된 생성물 21g를 무색 고체(400mg, 60%)로서 수득한다.

$[\alpha]_D$ 86.4 (*c* 0.3 $CHCl_3$, 25 °C); ^1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz, δ) 7.26 (s, 1 H), 7.08 (t, 1 H, *J*=5.7Hz), 6.83 (d, 1 H, *J*=6.0 Hz), 6.71 (dd, 1 H, *J*=1.2, 4.5 Hz), 6.57 (bs, 1 H), 6.54 (d, 1 H, *J*=5.7 Hz), 5.68 (d, 1 H, *J*=6.9 Hz), 4.85 (dq, 1 H, *J*=4.2, 1.8 Hz), 4.05-3.97 (m, 3 H), 3.69 (s, 3 H), 3.60 (t, 2 H, *J*=4.8 Hz), 3.08- 2.97 (m, 2 H), 1.77-1.53 (m, 10H), 1.42 1.25 (m, 4 H), 1.24-0.92 (m, 5 H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz, δ) 171.8, 171.8, 157.6, 156.9, 136.9, 130.0, 120.8, 117.0, 114.8, 65.7, 62.7, 60.3, 53.3, 52.7, 40.5, 37.4, 32.5, 29.7, 29.0, 28.8, 26.2, 26.0, 25.6, 25.4 MS (FAB, NBA/DMSO, *m/z*, 상대 세기) 479 ($[M+1]^+$,100), 296 (40), 196 (25), 156 (25), 136 (25), 112 (20). HRMS 계산치 $C_{25}H_{39}N_2O_7$ $(M+1)^+$: 479.2760; 실측치 479.2757.

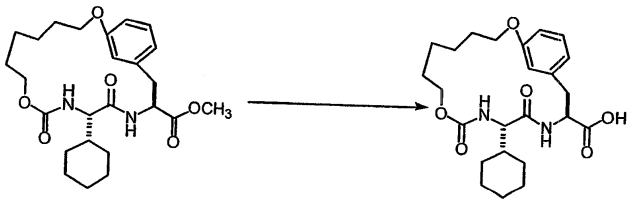
단계 G:



21g 21h

CH_2Cl_2 (10ml) 중의 PPh_3 (385mg, 1.47mmol, 1.75당량)의 용액을 화합물 21g(400mg, 0.84mmol)로 처리하고 0 °C로 냉각시킨다. CH_2Cl_2 (10ml) 중의 DEAD(220mg, 1.26mmol, 1.5당량) 용액을 적가하고, 실온에서 3시간 동안 교반시킨다. 이 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔사를 크로마토그래피(SiO_2, EtOAc/헥산 1:9)함으로써 정제하여 사이클릭 생성물 21h를 무색 고체(110mg, 25%)로서 수득한다.

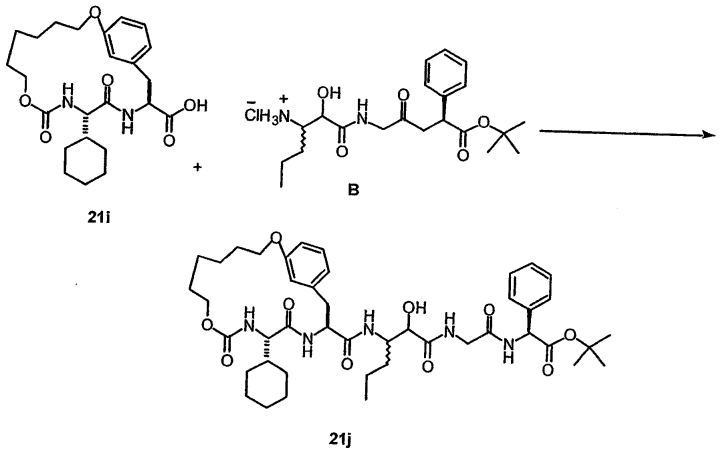
단계 H:



21h 21i

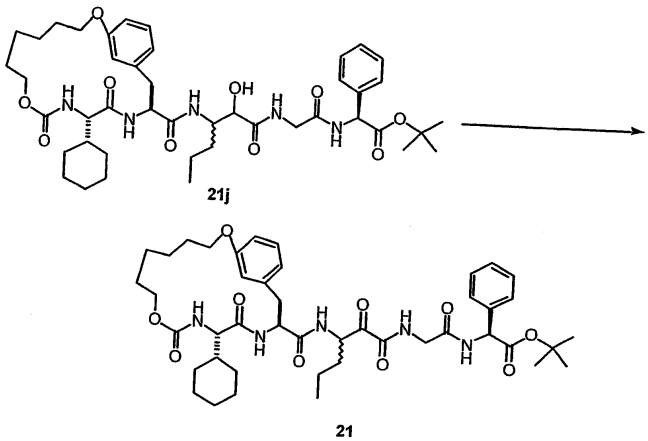
디옥산(30ml), CH_3OH(20ml) 및 CH_2Cl_2 (20ml)중의 사이클릭 카바메이트 21h(200mg, 0.44mmol)의 용액을 LiOH · H_2O(80mg, 2.0mmol, 4.5당량)으로 처리하고, 실온에서 4시간 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, HCl(디옥산 중의 4M 용액, 10ml)으로 희석시킨다. 물을 동결건조기로 제거하여 결정성 산 21i를 수득하고, 이를 다음의 커플링 반응에 직접 사용한다.

단계 I:



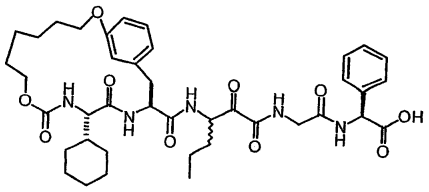
무수 DMF(5.0ml) 및 CH_2Cl_2 (5.0ml) 중의 가수분해된 산 21i(210mg, 0.47mmol)의 용액을 HOOBt(125mg, 0.70mmol, 1.5당량)으로 처리하고, 0℃로 냉각시키며, 위니그스 염기(258mg, 2.0mmol, 4.0당량, 369㎕)을 가한다. 이 혼합물에 EDCl(134mg, 0.70mmol, 1.5당량)를 가하고 반응 혼합물을 0℃에서 0.5시간 동안 교반시키며, 아민 하이드로클로라이드 B(253mg, 0.58mmol, 1.25당량)으로 처리한다. 반응 혼합물을 냉동고에서 24시간 동안 저장하고, 진공하에 농축시켜 DMF와 CH_2Cl_2 을 제거한다. 잔사를 수성 HCl(2M, 30ml)로 희석시키고, CH_2Cl_2 (3 x 50ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 수성 HCl(2M, 30ml), 수성 NaOH(1M) 및 염수(2 x 50ml)로 추출하고, 건조시키며($MgSO_4$), 진공하에 농축시킨다. 잔사 21j(220mg)을 추가의 정제없이 산화시킨다.

단계 J:



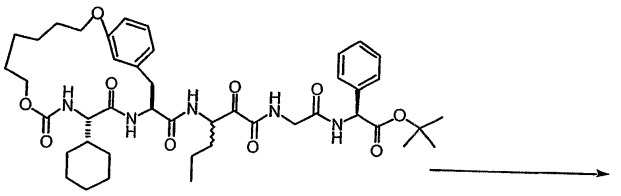
CH_2Cl_2 (5.0ml) 중의 알코올 21j(220mg, 0.26mmol)의 용액을 데스-마틴 시약(200mg, 0.47mmol, 1.8당량)으로 처리한다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반시키고, 수성 $NaHCO_3$ (15ml) 및 수성 $Na_2S_2O_3$ (15ml)로 희석시킨다. 반응 혼합물을 실온에서 20분 동안 교반시키고, 반응 혼합물을 CH_2Cl_2 (3 x 30ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 수성 Na_2CO_3 로 추출하고, 건조시키며(Na_2SO_4), 여과시킨 다음 진공하에 농축시키고, 잔사를 크로마토그래피(SiO_2, CH_3OH(2M-NH_3)/CH_2Cl_2 1:20)함으로써 정제하여 케토아미드 21(60mg, 27%)를 무색 고체로서 수득한다.

실시예 22: 식 22의 화합물의 제조 실시예 22: 식 22의 화합물의 제조

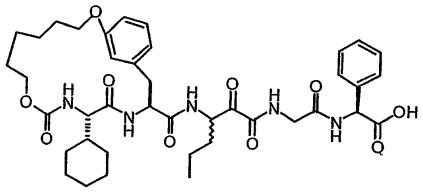


22

단계 A:



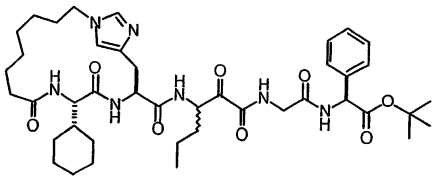
21



22

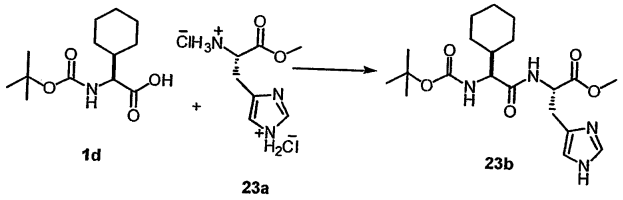
무수 CH_2Cl_2 (2.0ml) 중의 3급-부틸 에스테르 21(50mg, 0.059mmol)의 용액을 TFA(2.0ml)로 처리하고, 실온에서 4시간 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔사를 헵탄/CH_2Cl_2 에 반복해서 용해시키고, 진공하에 수회 농축시켜 순수한 갈색의 고체 22(47mg)를 수득하고, 이를 진공하에 건조시킨다.

실시예 23: 식 23의 화합물의 제조 실시예 23: 식 23의 화합물의 제조



23

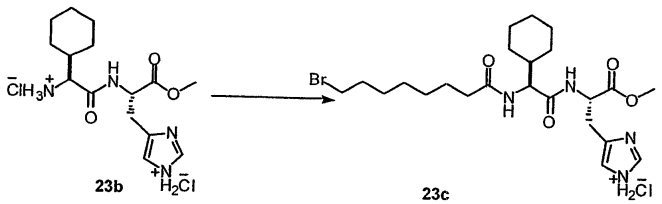
단계 A:



DMF(2.0ml) 중의 산 1d(255mg, 1.0mmol)의 용액을 HOBt(202mg, 1.5당량) 및 위니그스 염기(517mg, 4.0ml, 4.0당량, 738μℓ)으로 처리한다. 반응 혼합물을 0℃로 냉각시키고, DCC(258mg, 1.25mmol, 1.25당량)으로 처리한다. 이 혼합물을 1시간 동안 교반시킨 후, 히스티딘-OCH_3 · 2HCl 23a(242.0mg, 1.0mmol)을 가하고 실온에서 밤새 교반시킨다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, EtOAc(3 x 50ml) 및 수성 $NaHCO_3$(50ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 진공하에 농축시키고 잔사를 크로마토그래피(SiO_2, CH_3OH/CH_2Cl_2 1:19)함으로써 정제하여 디펩티드 23b를 무색 고체(380mg, 93%)로서 수득한다.

^{1}H NMR (d$_6$-DMSO, 400 MHz, δ, ppm) 8.17 (d, 1 H, *J*=7.2 Hz), 7.48 (s, 1 H), 6.77 (s, 1 H) 6.57 (bs, 1 H), 5.54 (d, 1H, *J*=7.6 Hz), 4.47 (q, 1 H, *J*=7.2 Hz), 3.79 (t, 1 H, *J*=8.4 Hz), 3.55 (s, 3 H), 3.36-3.20 (m,2 H), 2.94-2.82 (m, 2 H), 1.70-1.47 (bm, 6H), 1.35 (s, 9 H), 1.46-0.85 (m, 5 H): ^{13}C NMR (d$_6$-DMSO, 100 MHz, δ ppm) 172.5, 171.9, 157.3, 155.9, 135.4, 78.6, 59.5, 52.9, 52.3, 34.1, 29.6, 28.9, 28.6, 26.5, 26.3, 26.0, 25.2 FAB MS: (NBA-G/TG-DMSO, *m/z* 상대 세기) 409. [(M+1)$^+$, 100], 353. (10), 170 (20); HRMS 계산치 $C_{20}H_{33}N_4O_6$: 409.2451: 실측치 409.2466; CHN 계산치 $C_{20}H_{32}N_4O_5$: C=58.81% H=7.90%. N=13.72%; 실측치 : C=58.70% H=7.78% N=13.43% .

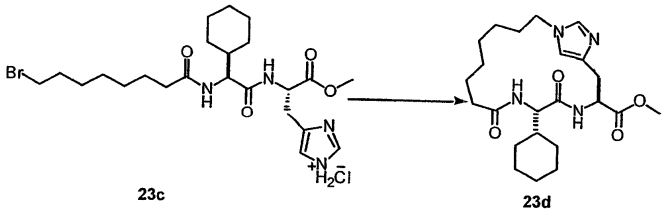
단계 B:



DMF(3.0ml) 중의 ω-브로모헵테노산(223mg, 1.0mmol)의 용액을 탈보호된 아민 하이드로클로라이드 23b(380mg, 1.0mmol, 1.0당량)으로 처리하고 위니그스 염기(387mg, 3.0mmol, 3.0당량)를 가한다. 이 반응 혼합물을 PyBrOP(465mg, 1.0mmol)으로 처리하고, 실온에서 3시간 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 크로마토그래피(SiO_2, CH_3OH/CH_2Cl_2 1:19)함으로써 정제하여 무색 고체(220mg, 50%)를 수득한다.

MS (FAB) 515.2 [(M+1)$^+$, 100], 513.2 [(M+1)$^+$, 95)], 469 (60), 433 (20), 170 (40).
HRMS 계산치 $C_{23}H_{38}BrN_4O_4$: 513.2076 실측치: 513.2073.

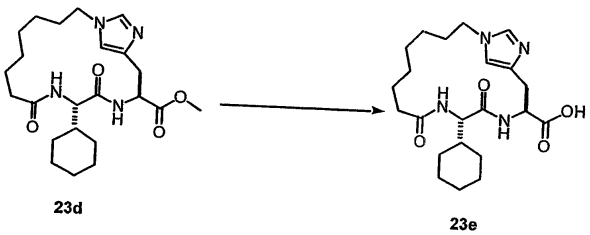
단계 C:



2-부탄온(4.0ml) 중의 브로모-화합물 23c(100mg, 0.23mmol)의 용액을 Na_2CO_3 (31.0mg, 0.29mmol, 1.25당량) 및 LiI(50mg, 0.37mmol, 1.3당량)으로 처리하고 24시간 동안 환류 가열한다. 이 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔사를 물로 희석시킨다. 잔사를 CH_2Cl_2 (3 x 30ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 건조시키고(Na_2SO_4) 크로마토그래피(SiO_2, CH_3OH:CH_2Cl_2 1:19)함으로써 정제하여 폐환된 화합물 23d(25mg, 31%)을 수득한다. R_F: 0.68(CH_3OH 중의 2M NH_3:CH_2Cl_2:1:19)

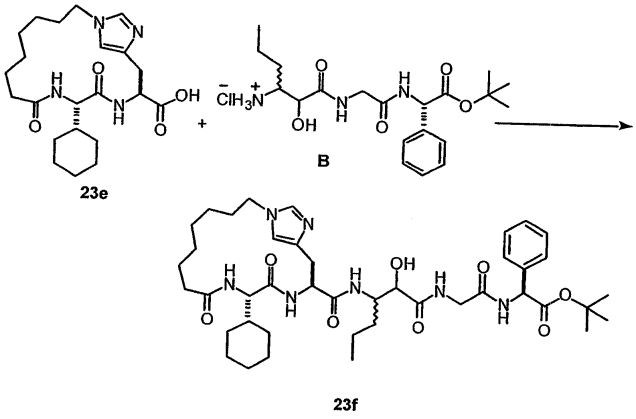
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz, δ, ppm) 8.17 (d, 1 H, *J*=8.8 Hz) 7.33 (s, 1 H), 6.48 (d, 1 H, *J*=8.4 Hz), 4.90-4.85 (m, 1H), 4.26 (t, 1 H, *J*=8.0 Hz), 3.82-3.74 (m, 2 H), 3.69 (s, 3H), 3.16- 3.11 (m, 2 H) 2.91-2.84 (m, 1 H), 2.30-2.01 (m, 2 H), 1.65-1.59 (m, 11 H), 1.18-0.96 (m, 11H): ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz, δ ppm): 172.8, 172.4, 171.9, 138.2, 136.8, 57.6, 52.5, 51.7, 46.6, 41.6, 36.0, 30.9, 29.5, 28.8, 27.3, 26.7, 26.4, 26.3, 26.2, 25.2, 24.8 MS: (전자 분무, *m/z* 상대 세기): 433.1 [(M+1)$^+$,100]; HRMS: 계산치 $C_{23}H_{37}N_4O_4$ 433.2815 실측치 433.2822.

단계 D:



CH_3OH(5.0ml) 및 H_2O(0.5ml) 중의 메틸 에스테르 23d(200g, 0.46mmol)의 용액을 LiOH · H_2O(30mg, 0.75mmol, 1.6당량)으로 처리한다. 실온에서 15시간 동안 교반시키고, 진공하에 농축시키며 펌프 속에서 건조시켜 가수분해된 화합물 23e를 수득하고, 이를 커플링 반응에 직접 사용한다.

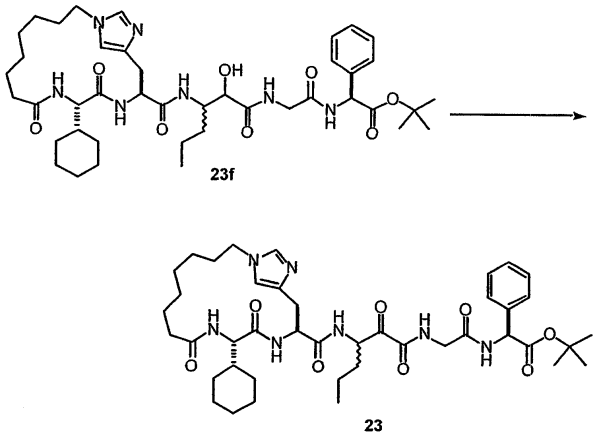
단계 E:



CH_2Cl_2 (3.0ml) 및 DMF(5.0ml) 중의 산 23e의 용액을 HOOBt(115mg, 0.70mmol, 1.5당량) 및 EDCl(113mg, 0.60mmol, 1.25당량)으로 처리한다. 이 반응 혼합물을 Et_3N(190mg, 1.88mmol, 271μℓ, 4.0당량) 및 아민 하이드로클로라이드 B(201mg, 0.5mmol, 1.1당량)으로 처리한다. 반응 혼합물을 실온에서 13시간 동안 교반시키고 H_2O로 희석시킨다. 수성 층을 CH_2Cl_2 (3 x 50ml)로 추출하고, 합한 유기 층을 수성 NaOH(1M, 50ml)로 추출하고, 건조시킨다(Na_2SO_4). 이와 같이 건조된 유기 층을 여과시키고 진공하에 농축시켜 무색 잔사 23f(442mg)을 수득하고, 이를 진공하에 건조시키고, 추가의 산화에 직접 사용한다.

MS: (전자분무, *m/z* 상대세기): 794 [$(M+1)^+$, 100].

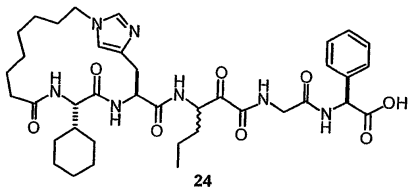
단계 F:



CH_2Cl_2 (3.0ml) 중의 하이드록시-아미드 23f(50mg, 0.064mmol)의 용액을 데스-마틴 시약(53mg, 0.13mmol, 2.0당량)으로 처리하고 실온에서 3시간 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 수성 포화 $Na_2S_2O_3$ (20ml)로 희석시키고 실온에서 15분 동안 교반시킨다. 수성 층을 CH_2Cl_2 (3 x 30ml)로 추출한다. 유기 층을 건조시키며(Na_2SO_4), 여과시킨 다음 진공하에 농축시키고, 잔사를 크로마토그래피(SiO_2, CH_3OH/CH_2Cl_2 1:15)함으로써 정제하여 케토아미드 23(20mg, 40%)를 수득한다.

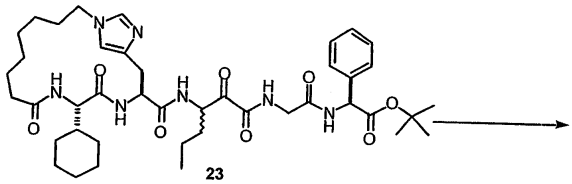
MS (FAB, NBA-G/TG-DMSO, *m/z* 상대 세기) 824 [$(M+CH_3OH)^+$, 100], 792 [$(M+1)^+$, 60], 447 (20); HRMS 계산치 $C_{42}H_{62}N_7O_8$ $(M+1)^+$: 792.4660: 실측치 792.4659.

실시예 24: 식 24의 화합물의 제조 실시예 24: 식 24의 화합물의 제조

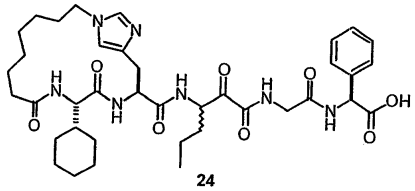


24

단계 A:



23

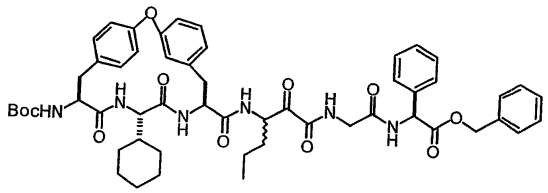


24

무수 CH_2Cl_2 (2.0ml) 중의 3급-부틸 에스테르 23(17mg, 21.5μmol)의 용액을 TFA(2.0ml)로 처리하고, 실온에서 8시간 동안 교반시킨다. 기선에 대한 상기 에스테르의 소멸을 TLC(CH_3OH/CH_2Cl_2 1:19)로 모니터한다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔사를 CH_3OH/헵탄/CH_2Cl_2에 반복해서 용해시키고, 진공하에 수회 농축시켜 24를 순수한 무색의 고체(7mg)로서 수득한다.

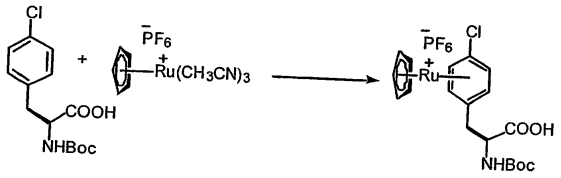
MS: (전자 분무, *m/z* 상대 세기): 768 [$(M+CH_3OH)^+$, 100], 736 [$(M+1)^+$, 60], 46 (10).

실시예 25: 식 25의 화합물의 제조실시예 25: 식 25의 화합물의 제조



25

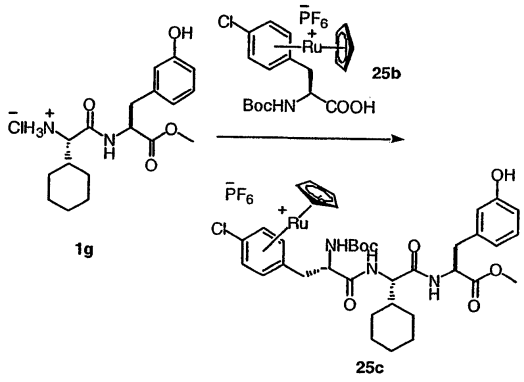
단계 A:



25a 1b 25b

디클로로에탄(37ml) 중의 Boc-4-클로로페닐알라닌 25a(523mg, 1.75mmol)의 용액을 CpRu(CH $_3$CN)$_3$PF$_6$ 1b(760mg, 1.75mmol, 1.0당량)으로 처리하고 2시간 동안 환류 가열한다. 반응 혼합물을 0℃로 냉각시키고, 여과시킨다. 여액을 진공하에 농축시키고, 최소한의 CH_3CN에 용해시키고, 과량의 Et_2O로 처리한다. 분리되는 고체를 분리시키고, CH_2Cl_2/CH_3OH(1:1, 50ml)에 용해시키며, 진공하에 농축시켜 25b를 갈색 포말(640mg, 69%)로서 수득한다.

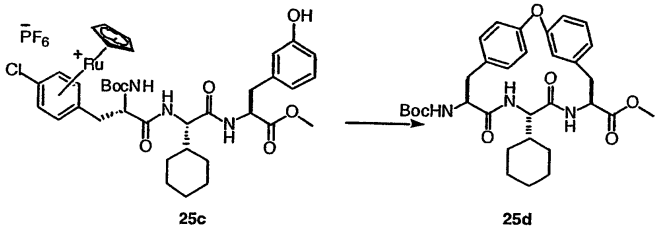
단계 B:



1g 25c

무수 DMF(15ml) 중의 카복실산 25b(2.4g, 3.80mmol)의 용액을 위니그스 염기(1.64g, 12.64mmol, 4.0당량, 2.9 ml) 및 HOBt(661mg, 4.38mmol, 1.5당량)으로 처리한다. 반응 혼합물을 0℃로 냉각시키고, EDCl(699mg, 3.95mm ol, 1.25당량)으로 처리하며, 15분 동안 교반시킨다. 이 반응 혼합물에 아민 하이드로클로라이드 1g(1.50g, 4.00mm ol, 1.2당량)을 가하며, 반응 혼합물을 실온에서 12시간 동안 교반시킨다. DMF를 증류 제거시키고 잔사를 물(30m)로 희석시키며, 수성 층을 CH_2Cl_2 (3 x 50ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 수성 $NaHCO_3$ (30ml), 수성 HCl(30ml) 및 염수로 추출하고 건조시키며(Na_2SO_4), 여과시킨 다음 진공하에 농축시키고, 조 생성물 25c(2.5g, 69%)를 정제없이 추가의 폐환 반응에 사용한다.

단계 C:



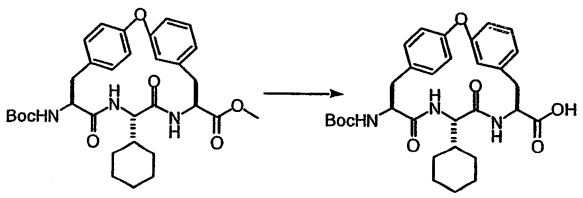
25c 25d

무수 DMF(10ml) 중의 화합물 25c(100mg, 0.11mmol)의 용액을 무수 N_2 하에 탈기시키고, Cs_2CO_3 (170mg, 0.5m mol, 5.0당량)으로 처리하며, 실온에서 12시간 동안 교반시킨다. 용매 DMF를 증류 제거하고, 잔사를 물(35ml)로 희석시키며, CH_2Cl_2 (3 x 100ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 건조시키며(Na_2SO_4), 여과시키고, 진공하에 농축시키며, 진공하에 밤새 건조시킨다. 이를 추가의 정제없이 Ru의 광분해적 제거에 사용한다.

앞서 단계로부터 폐환된 화합물을 CH_3CN에 용해시키고, 이를 레이낫 기기(λ=350nm)에서 48시간 동안 광분해시킨다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔사를 크로마토그래피(SiO_2, EtOAc/헥산 2:1)함으로써 정제하여 25d를 갈색 고체(29mg, 46%)로서 수득한다.

MS (FAB, NBA-G/TG-DMSO, *m/z* 상대 세기), 580 [(M+1)$^+$, 80], 524 (100), 418 (40), 462 (30), 452 (20), 313 (60), 253 (20).

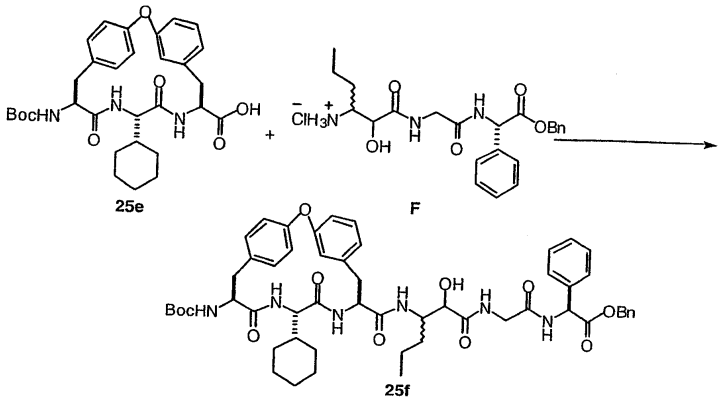
단계 D:



25d 25e

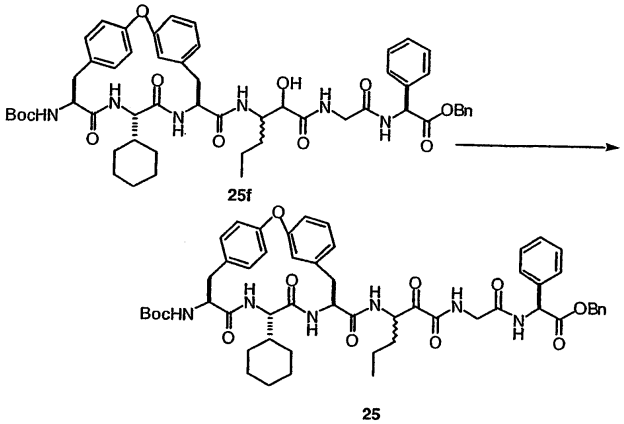
THF(3ml), CH_3OH(3.0ml) 및 H_2O(3.0ml) 중의 에스테르 25d(150mg, 0.26mmol)의 용액을 LiOH·H_2O(18mg, 0.43mmol, 1.65당량)으로 처리하고, 실온에서 35분 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 진한 HCl(13M, 1ml)로 산성화시키고 CH_2Cl_2 (3 x 50ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 건조시키고(Na_2SO_4), 여과시키며, 진공하에 농축시켜 산 25e를 수득하고, 이를 정제없이 다음의 커플링 반응에 직접 사용한다.

단계 E:



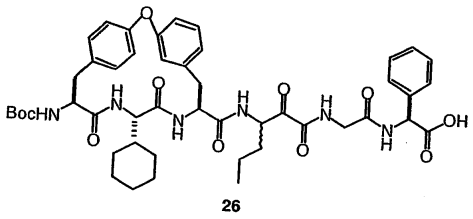
무수 CH_2Cl_2 (2.0ml) 중의 산 25e(150mg, 0.27mmol)의 용액을 HOBt(62mg, 0.40mmol) 및 위니그스 염기(139 mg, 1.1mmol, 4.0당량)로 처리한다. 이 반응 혼합물을 0℃로 냉각시키며, EDCl(53mg, 0.34mmol, 1.25당량)으로 처리하고, 30분 동안 교반시킨다. 이 반응 혼합물을 아민 F(88mg, 0.29mmol, 1.22당량)로 처리하고 냉동고에서 12시간 동안 저장한다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, H_2O(50ml)로 희석시킨다. 수성 층을 CH_2Cl_2 (3 x 50ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 수성 HCl(1M, 3 x 20ml), 수성 NaOH(1M, 3 x 20ml)로 추출하고, 건조시키며(Na_2SO_4), 여과시키고 진공하에 농축시켜 무색 고체 25f(138mg)을 산화 반응에 사용한다.

단계 F:



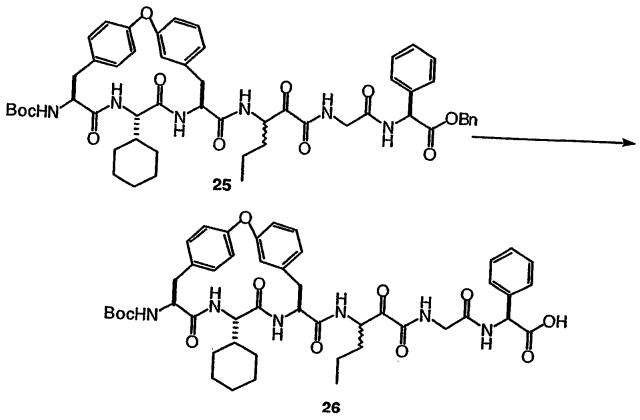
CH_2Cl_2:THF(1:1, 5.0ml) 중의 알코올 25f(140mg, 0.143mmol)의 용액을 데스-마틴 시약(121mg, 0.42mmol, 3.0당량)으로 처리한다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시키고, 혼합물을 진공하에 농축시킨다. 잔사를 크로마토그래피(SiO_2, CH_3OH/CH_2Cl_2 1:32)함으로써 정제하여 산화된 생성물 25(57mg, 41%)를 무색 고체로서 수득한다.

실시예 26: 식 26의 화합물의 제조 실시예 26: 식 26의 화합물의 제조



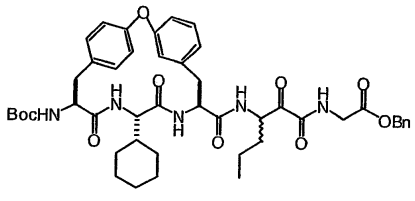
26

단계 A:



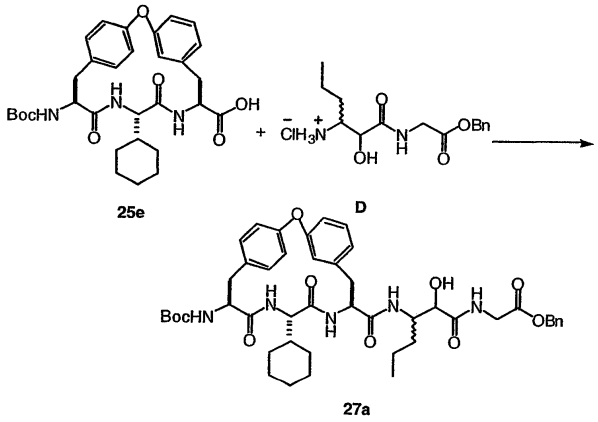
CH_3OH/THF(1:1, 4.0ml) 중의 벤질 에스테르 25(30mg, 38.0μmol)의 용액을 Pd/C(20mg, 10%)로 처리하고, H_2를 그 내부로 버블링시킨다. 아세트산 1방울을 가하여 환원 반응을 가속시킨다. 상기 반응 혼합물을 셀라이트 플러그를 통해 여과시키고, 여액을 진공하에 농축시킨다. 잔사 26을 추가의 정제없이 분석한다.

실시예 27: 식 27의 화합물의 제조 실시예 27: 식 27의 화합물의 제조



27

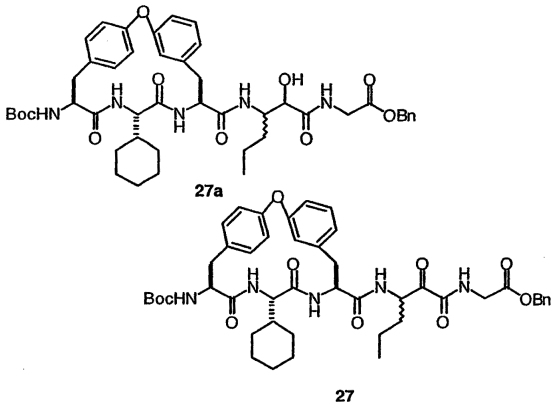
단계 A:



무수 CH_2Cl_2 중의 산 25e(100mg, 0.17mmol)의 용액을 HOOBt(41mg, 0.26mmol) 및 위니그스 염기(91mg, 0.70 mmol, 4.0당량)로 처리한다. 이 반응 혼합물을 0℃로 냉각시키며, EDCl(35mg, 0.22mmol, 1.25당량)으로 처리하고, 30분 동안 교반시킨다. 이 반응 혼합물을 아민 D(71mg, 0.22mmol, 1.22당량)로 처리하고 냉동고에서 12시간 동안 저장한다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, H_2O(30ml)로 희석시킨다. 수성 층을 CH_2Cl_2 (3 x 30ml)로 추출한다. 유기 층을 수성 HCl(1M, 30ml), 수성 Na_2CO_3 (1M, 30ml)로 추출하고, 건조시키며(Na_2SO_4), 여과시키고 진공하에 농축시켜 무색 고체 27a(119mg)을 수득하고, 이를 산화 반응에 사용한다.

MS (FAB), 842 [(M+1), 100], 765 (20), 735 (10), 657 (20), 575 (10), 492 (10), 464 (20), 446 (30). HRMS 계산치 $C_{46}H_{60}N_5O_{10}$ $(M+1)^+$: 842.4339; 실측치 842.4336.

단계 B:

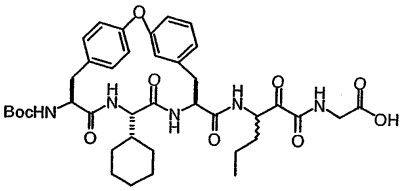


CH_2Cl_2:THF(1:1, 3.0ml) 중의 알코올 27a(120mg, 0.143mmol)의 용액을 데스-마틴 시약(180mg, 0.42mmol, 3.0당량)으로 처리한다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시키고, 혼합물을 진공하에 농축시킨다. 잔사를 크로마토그래피(SiO_2, CH_3OH/CH_2Cl_2 1:32)함으로써 정제하여 산화된 생성물 27를 무색 고체로서 수득한다.

MS (FAB, NBA-G/TG-DMSO, *m/z* 상대 세기), 840 [$(M+1)^+$, 50].

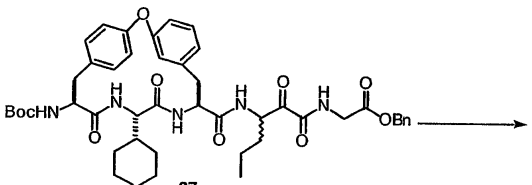
HRMS 계산치 $C_{46}H_{58}N_5O_{10}$ $(M+1)^+$: 840.4184; 실측치 840.4199.

실시예 28: 식 28의 화합물의 제조 실시예 28: 식 28의 화합물의 제조

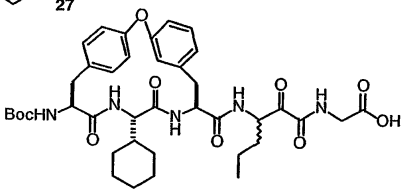


28

단계 A:



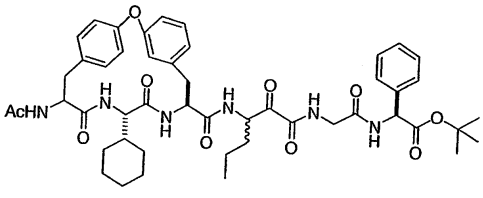
27



28

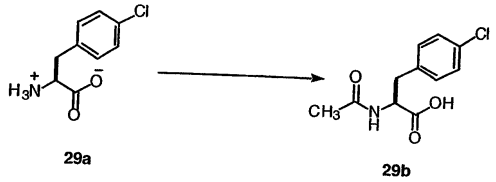
CH_3OH/THF(1:1, 6.0ml) 중의 벤질 에스테르 27(40mg, 47.0μmol)의 용액을 Pd/C(30mg, 10%)로 처리하고, H_2를 그 내부로 버블링시킨다. 아세트산 1방울을 가하여 환원 반응을 가속시킨다. 상기 반응 혼합물을 셀라이트 플러그를 통해 여과시키고, 여액을 진공하에 농축시켜 28을 수득한다.

실시예 29: 식 29의 화합물의 제조 실시예 29: 식 29의 화합물의 제조



29

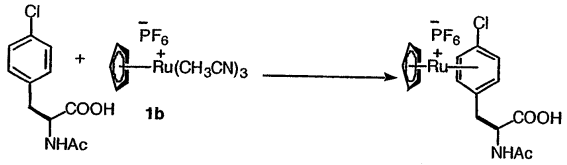
단계 A:



29a 29b

THF(20ml) 및 H_2O(20ml) 중의 4-클로로페닐알라닌 29a(1.5g, 7.5mmol)의 용액을 NaOH(900mg, 22.5mmol, 3.0당량)으로 처리하고 0℃로 냉각시킨다. THF(10ml) 중의 아세틸 클로라이드(707mg, 9.00mmol, 1.25mmol) 용액을 적가하고, 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반시킨다. 반응 혼합물을 수성 HCl(1M, 10ml)로 산성화시키고 CH_2Cl_2 (3 x 30ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 건조시키고(Na_2SO_4), 여과시키며, 진공하에 농축시켜 29b를 수득하고, 이를 정제없이 다음 반응에 사용한다.

단계 B:

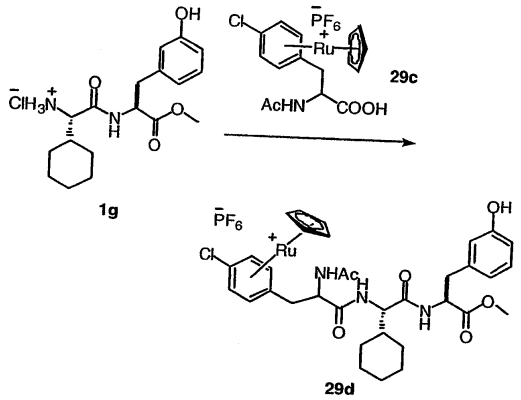


29b 1b 29c

디클로로에탄(118ml) 중의 N-아세틸-4-클로로페닐알라닌 29b(1.39g, 5.75mmol)의 용액을 $CpRu(CH_3CN)_3PF_6$ 1b(2.5g, 5.8mmol, 1.0당량)으로 처리하고 2시간 동안 환류 가열한다. 반응 혼합물을 0℃로 냉각시키고, 여과시킨다. 여액을 진공하에 농축시키고, CH_3CN(15ml)에 용해시키고, Et_2O(150ml)로 처리한다. 분리되는 검을, 에테르를 경사 제거함으로써 분리시키고, 잔사를 CH_2Cl_2/CH_3OH(1:1, 50ml)에 용해시키며, 진공하에 농축시켜 29c를 갈색 포말(2.2g, 69%)로서 수득한다.

MS: (전자분무, *m/z* 상대세기): 408 [$(M-PF_6)^+$, 100].

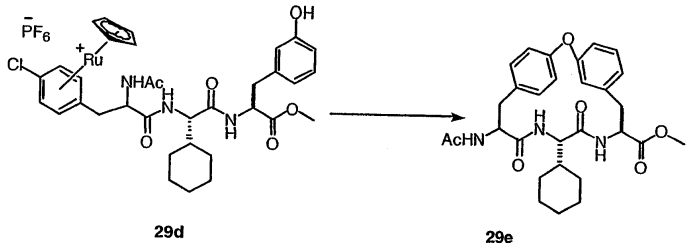
단계 C:



1g 29c 29d

무수 DMF(20ml) 중의 카복실산 29c(2.0g, 4.00mmol)의 용액을 위니그스 염기(2.06g, 16.0mmol, 4.0당량, 2.9ml) 및 HOBt(810mg, 6.0mmol, 1.5당량)으로 처리한다. 반응 혼합물을 0℃로 냉각시키고, EDCl(888mg, 5.0mmol, 1.25당량)으로 처리하며, 0.5시간 동안 교반시킨다. 이 반응 혼합물에 아민 하이드로클로라이드 1g(1.48g, 7.14mmol, 1.2당량)을 가하며, 반응 혼합물을 실온에서 12시간 동안 교반시킨다. DMF를 증류 제거시키고 잔사를 물로 희석시키며, 수성 층을 CH_2Cl_2 (3 x 100ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 수성 $NaHCO_3$ (200ml), 수성 HCl(100ml) 및 염수로 추출하고 건조시키며(Na_2SO_4), 여과시킨 다음 진공하에 농축시키고, 조 생성물 29d(1.2g, 38%)를 추가의 정제없이 폐환 반응에 사용한다.

단계 D:



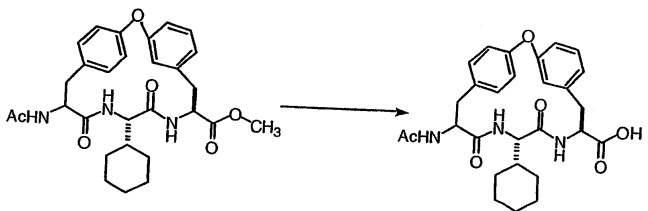
29d 29e

무수 DMF(120ml) 중의 클로로-화합물 29d(1.2g, 1.5mmol)의 용액을 무수 N_2 하에 탈기시키고, Cs_2CO_3 (2.4g, 7.4mmol, 5.0당량)으로 처리하며, 실온에서 23시간 동안 교반시킨다. 용매 DMF를 증류 제거하고, 잔사를 물(300ml)로 희석시키며, 프로피온니트릴(3 x 100ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 건조시키며(Na_2SO_4), 여과시키고, 진공하에 농축시키며, 진공하에 밤새 건조시킨다. 이를 추가의 정제없이 Ru의 광분해적 제거에 사용한다.

앞서 단계로부터 폐환된 화합물을 CH_3CN(40ml)에 용해시키고, 이를 레이낫 기기(λ=350nm)에서 48시간 동안 광분해시킨다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔사를 크로마토그래피(SiO_2, EtOAc/헥산 4:1)함으로써 정제하여 갈색 고체 29e(240mg, 38%)를 수득한다.

MS (FAB, NBA-G/TG-DMSO, *m/z* 상대세기), 522[$(M+1)^+$, 100].

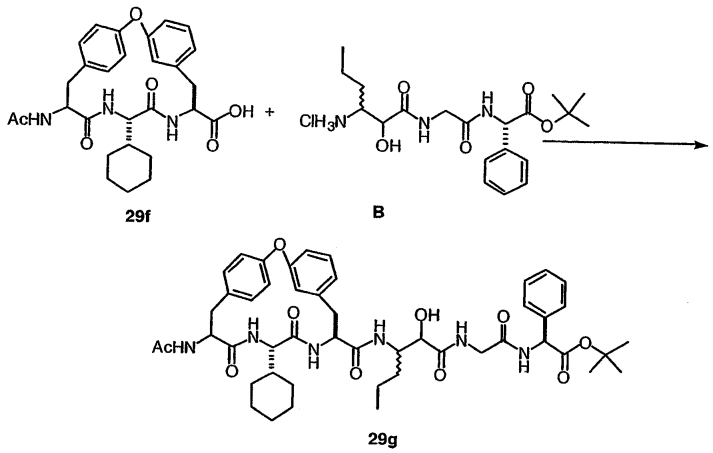
단계 E:



29e 29f

CH_3OH(5ml), CH_2Cl_2 (13ml) 및 H_2O(2.0ml) 중의 에스테르 29e(200mg, 0.42mmol)의 용액을 $LiOH \cdot H_2O$(41mg, 1.0mmol, 2.4당량)으로 처리하고, 실온에서 3시간 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 수성 HCl(13M, 1ml)로 산성화시키고 CH_2Cl_2 (3 x 50ml) 및 EtOAc(3 x 50ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 건조시키고(Na_2SO_4), 여과시키며, 진공하에 농축시켜 산 29f(178mg)를 수득하고, 이를 추가의 정제없이 커플링 반응에 직접 사용한다.

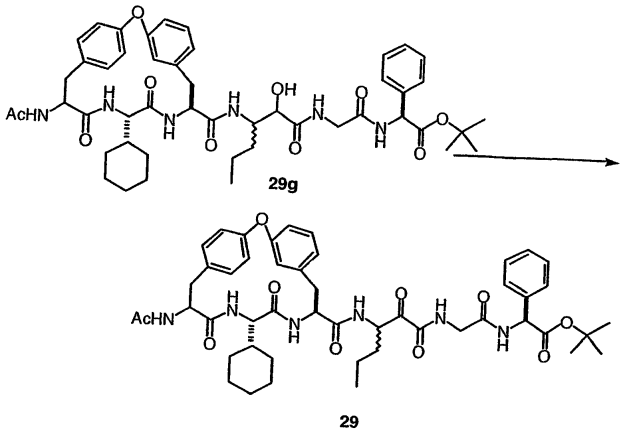
단계 F:



무수 DMF(1.0ml) 중의 산 29f(90mg, 0.18mmol)의 용액을 HOBt(45mg, 0.33mmol, 1.6당량), 위니그스 염기(142mg, 1.1mmol, 5.0당량) 및 아민 B(118mg, 0.28mmol, 1.47당량)로 처리한다. 이 반응 혼합물을 0℃로 냉각시키며, EDCl(63mg, 0.33mmol, 1.6당량)으로 처리하고, 0℃에서 20분 동안 교반시킨 다음 12시간 동안 교반시킨다. 이 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, H_2O(30ml)로 희석시킨다. 합한 수성 층을 CH_2Cl_2 (3 x 30ml) 및 EtOAc(3 x 30ml)로 추출한다. 유기 층을 수성 NaOH(2M, 30ml)로 추출하고, 건조시키며(Na_2SO_4), 여과시키고 진공하에 농축시켜 무색 고체 29g(50mg, 32%)을 수득하고, 이를 산화 반응에 사용한다.

MS: (전자 분무, *m/z* 상대 세기): 883 [$(M+1)^+$, 100], 522 (30), 394 (60).

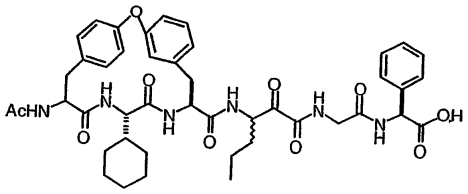
단계 G:



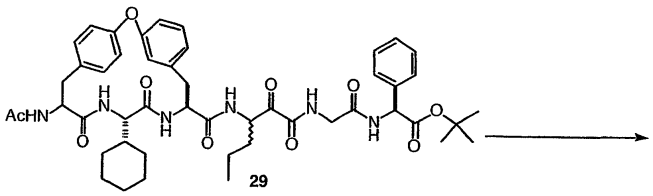
CH_2Cl_2 (2.0ml) 중의 알코올 29g(50mg, 60.0μmol)의 현탁액을 데스-마틴 시약(40mg, 0.94mmol, 2.0당량)으로 처리한다. 반응 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반시키고, 혼합물을 진공하에 농축시킨다. 잔사를 크로마토그래피(SiO_2, CH_3OH/CH_2Cl_2 1:32)함으로써 정제하여 산화된 생성물 29(41mg, 80%)를 무색 고체로서 수득한다.

MS: (FAB, *m/z*, 상대 세기) 881 [(M+1)$^+$, 100), 825 (170), 248 (100).

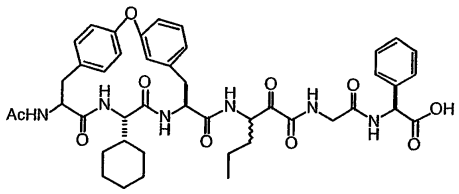
실시예 30: 식 30의 화합물의 제조실시예 30: 식 30의 화합물의 제조



30



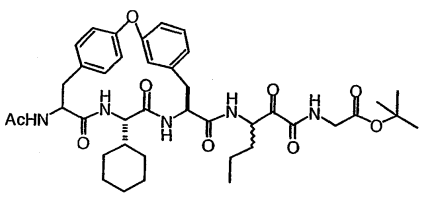
29



30

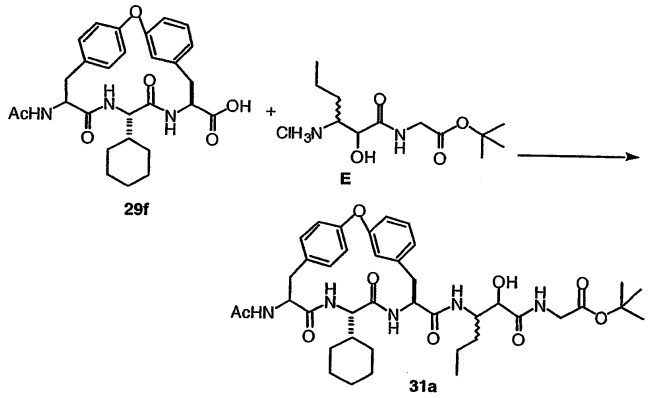
3급-부틸 에스테르 29(23.0mg, 26.0μmol)의 용액을 TFA/CH_2Cl_2 (1:1, 2.0ml)로 처리하고, 실온에서 4시간 동안 교반시킨다. 기선에 대한 상기 에스테르의 소멸을 TLC(CH_3OH/CH_2Cl_2 1:24)로 모니터한다. 탈보호를 완료한 후, 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔사를 헵탄/CH_2Cl_2 (4.0ml)으로 반복해서 처리하고, 농축시켜 갈색 고체 30(13.0mg, 100%)를 수득한다. MS: (전자 분무), m/z 상대 세기): 825[(M+1)$^+$, 100].

실시예 31: 식 31의 화합물의 제조실시예 31: 식 31의 화합물의 제조



31

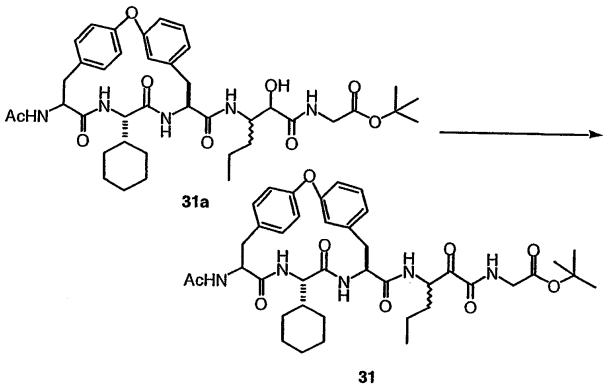
단계 A:



무수 DMF(4.0ml), CH_2Cl_2 (3.0ml) 중의 산 29f(150mg, 0.29mmol)의 용액을 HOBt(58mg, 0.44mmol) 및 위니그스 염기(149mg, 1.1mmol, 4.0당량)로 처리한다. 이 반응 혼합물을 0℃로 냉각시키며, EDCl(82mg, 0.44mmol, 1.5당량)으로 처리하고, 30분 동안 교반시킨다. 이 반응 혼합물을 아민 E(88mg, 0.29mmol, 1.22당량)로 처리하고 실온에서 12시간 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, H_2O(30ml)로 희석시킨다. 수성 층을 CH_2Cl_2 (3 x 30ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 수성 HCl(1M, 3 x 20ml), 수성 NaOH(1M, 3 x 20ml)로 추출하고, 건조시키며(Na_2SO_4), 여과시키고 진공하에 농축시켜 무색 고체 31a(56mg)을 수득하고, 이를 산화 반응에 사용한다.

MS: (전자분무, *m/z* 상대 세기): 750 [$(M+1)^+$, 20], 663 (10), 522 (10), 416 (20), 247 (30).

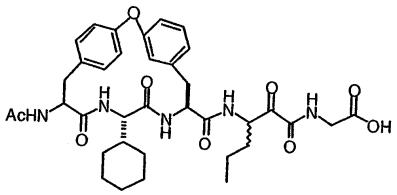
단계 B:



CH_2Cl_2 (5.0ml) 중의 알코올 31a(56mg, 75μmol)의 용액을 데스-마틴 시약(93mg, 0.22mmol, 3.0당량)으로 처리한다. 반응 혼합물을 실온에서 4시간 동안 교반시키고, 혼합물을 진공하에 농축시킨다. 잔사를 크로마토그래피(SiO_2, CH_3OH/CH_2Cl_2 1:19)함으로써 정제하여 산화된 생성물 31(34mg, 60%)를 무색 고체로서 수득한다.

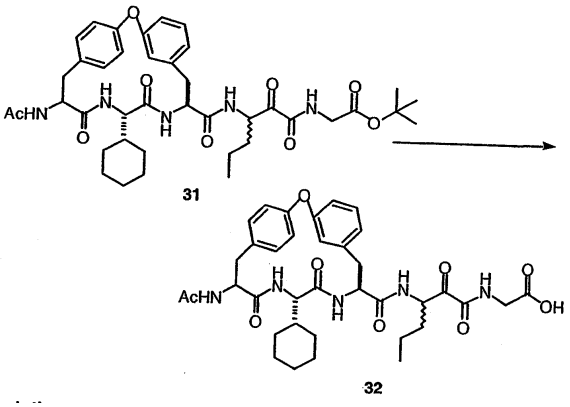
MS: (전자 분무, *m/z* 상대 세기): 748 [$(M+1)^+$, 35], 692 (5), 279 (100).

실시예 32: 식 32의 화합물의 제조 실시예 32: 식 32의 화합물의 제조



32

단계 A:

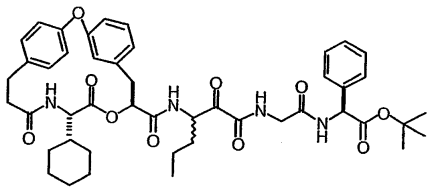


31

32

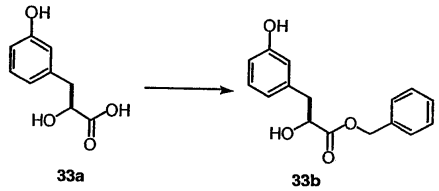
3급-부틸 에스테르 31의 용액을 TFA/CH_2Cl_2 (1:1, 4.0ml)로 처리하고, 실온에서 4시간 동안 교반시킨다. 기선에 대한 상기 에스테르의 소멸을 TLC(CH_3OH/CH_2Cl_2 1:24)로 모니터한다. 탈보호를 완료한 후, 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔사를 헵탄/CH_2Cl_2 (4.0ml)으로 반복해서 처리하고, 농축시켜 32를 갈색 고체로서 수득한다.

실시예 33: 식 33의 화합물의 제조 실시예 33: 식 33의 화합물의 제조



33

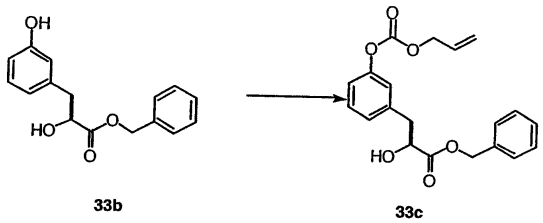
단계 A:



디옥산(30ml) 및 벤젠(80ml) 중의 산 33a(4.5g, 25.0mmol)의 용액을 BnOH(8.0g, 74mmol, 3.0당량) 및 TsOH · H_2O(713mg, 3.75mmol, 10몰%)로 처리한다. 반응 혼합물을 5시간 동안 환류 가열하고, 이때 딘-스타크(Dean-Stark) 장치를 사용하여 물을 분리시킨다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고 잔사를 크로마토그래피(SiO_2, EtOAc/헥산 3:7)함으로써 정제하여 벤질 에스테르 33b를 무색 오일(4.2g, 62%)로서 수득한다. R_f: 0.22(EtOAc/헥산 3:7);

^{13}C NMR (CH_3OD, 75 MHz, δ): 175.1, 158.2, 139.7, 130.3, 129.5, 129.3, 121.7, 117.4, 114.6, 73.1, 67.6, 41.6; MS (FAB, G/TG-DMSO, *m/z*, 상대 세기): 351 ($[M+DMSO]^+$, 70), 273 ($[M+1]^+$, 100), 255 (20), 227 (30), 181 (40); HRMS: 계산치 $C_{16}H_{17}O_4$ $(M+1)^+$ 272.1049; 실측치 272.1054.

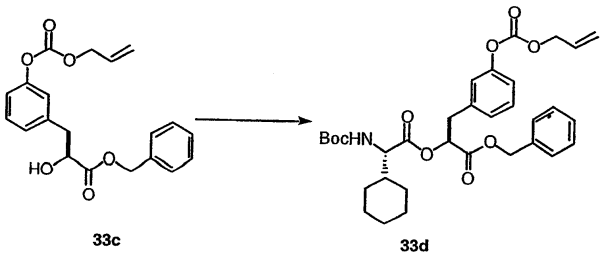
단계 B:



CH_2Cl_2 (100ml) 중의 벤질 에스테르 33b(3.8g, 12.9mmol)의 용액을 Et_3N(1.55g, 15.4mmol, 2.2ml, 1.1당량)으로 처리하고, -78℃로 냉각시키며(2-PrOH, 드라이 아이스) CH_2Cl_2 (10ml) 중의 알릴 클로로포르메이트(1.84g, 15.36mmol, 1.1당량) 용액을 적가한다. 상기 반응 혼합물을 실온으로 가온시키고, 수성 HCl(1M, 100ml)로 희석시킨다. 반응 혼합물을 EtOAc(3 x 100ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 수성 HCl(100ml, 1M) 및 염수(100ml)로 추출하며, 건조시키고($MgSO_4$), 진공하에 농축시켜 33c를 수득하고, 이를 추가의 정제없이 다음 단계에 사용한다. R_f: 0.43 (EtOAc/Hex 7:13);

^{13}C NMR (CH_3OD, 75 MHz, δ) 174.8, 162.5, 155.0, 152.5, 140.3, 137.1, 132.8, 130.3, 129.6, 129.5, 129.4, 123.2, 120.3, 119.4, 72.7, 70.1, 67.7, 41.2, 29.9.

단계 C:

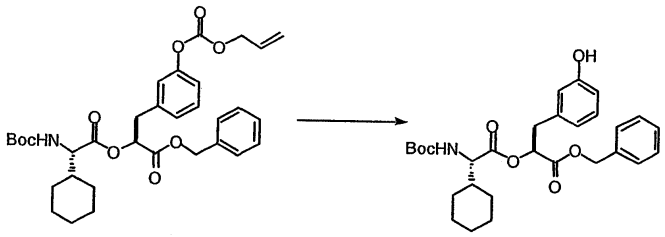


33c 33d

Boc-사이클로헥실글리신 모노하이드레이트 1d(6.02g, 23.4mmol, 2.0당량)의 용액을 CH_2Cl_2에 용해시키고 건조시킨다($MgSO_4$). 이 혼합물을 여과시키고 잔사를 톨루엔으로 추가로 공비 건조시킨다. 잔사를 CH_2Cl_2에 용해시키고, HOBt(4.73g, 35.1mmol, 2.9당량), EDCl(6.7g, 35.1mmol, 2.9당량) 및 위니그스 염기(8.31g, 64.3mmol, 11ml)으로 처리한다. 이를 실온에서 30분 동안 교반시키고 alloc 보호된 알코올 33c(4.3g, 12.04mmol)을 가한다. 반응 혼합물을 실온에서 36시간 동안 교반시키고, 수성 HCl(1M, 100ml)로 희석시키며 EtOAc(3 x 100ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 수성 NaOH(1M, 100ml), 염수(100ml)로 추출하며, 건조시키고, 진공하에 농축시키고 크로마토그래피(SiO_2, EtOAc/Hex 1:4)함으로써 정제하여 뎁시펩티드 33d(7.1g, 100%)를 수득한다.

R_f: 0.18 (EtOAc/Hex 1:4); HRMS: 계산치 $C_{28}H_{34}O_7$ $(M\text{-}Boc)^+$ 496.2335 : 실측치 496.2333.

단계 D:



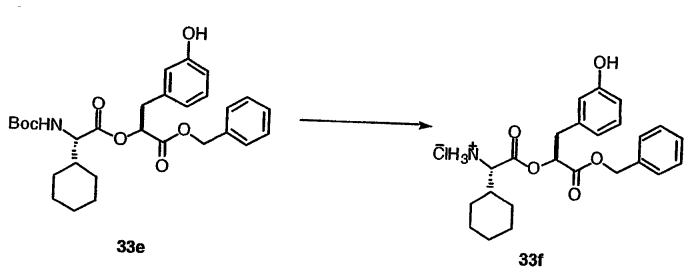
33d 33e

무수 THF(200ml) 중의 alloc-보호된 뎁시펩티드 33d(7.8g, 13.0mmol)의 용액을 N_2하에 디메디온(3.27g, 23.4mmol, 2.0당량) 및 $Pd(Ph_3P)_4$(780mg, 0.67mmol, 5몰%)로 처리한다. 이 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반시키고 반응물의 소멸을 TLC(EtOAc/Hex 1:4)로 확인한다. 이 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔사를 크로마토그래피(SiO_2, EtOAc/헥산 1:4)함으로써 정제하여 페놀 33e(5.2g, 78%)를 무색 포말로서 수득한다. R_f: 0.52(EtOAc/헥산 3:7);

^1H NMR (d_4-CD_3OD, 300 MHz, δ) 7.4-7.19 (m, 5 H), 7.15-6.99 (m, 1 H), 6.68-6.55 (m,4 H) 5.43-5.01 (m,3 H), 4.6 (bs, 2H), 4.11-4.00 (m, 1 H), 3.18-2.91 (m, 2 H), 1.80-1.55 (bs, 6H) 1.39 (s, 9 H) 1.21-0.89 (m, 6 H); ^{13}C NMR (CH_3OD,

75 MHz, δ, 부분입체이성체의 혼합물) 171.6, 169.4, 169.3, 161.1, 157.1, 157.0, 137.2, 136.9, 135.4, 135.3, 129.2, 129.1, 128.2, 128.2, 128.0, 120.3, 120.1, 116.0, 115.9, 113.6, 94.8, 79.3, 73.6, 73.5, 66.7, 66.6, 58.6, 58.5, 40.0, 39.9, 36.8, 29.1, 27.7, 27.3, 25.5.
MS (전자 분무, *m/z,* 상대 세기) 1023 ($[2M+1]^+$, 20), 512 ($[M+1]^+$, 20), 412 ($[M-Boc]^+$, 100), 202 (40) HRMS 계산치 $C_{24}H_{30}NO_5$ $(M-Boc)^+$ 412.2123 : 실측치 412.2119.

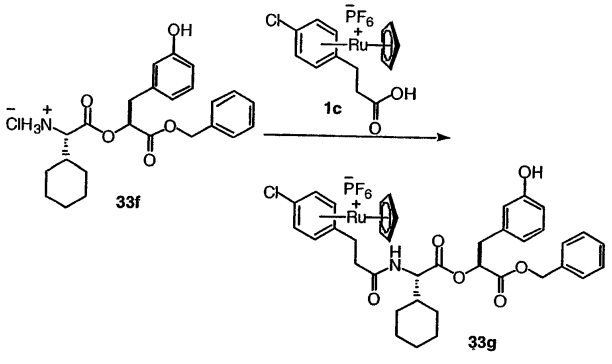
단계 E:



Boc 보호된 아민 33e(5.2g, 10.7mmol)의 용액을, 기선에 대한 출발 물질의 소멸이 TLC(EtOAc/Hex 3:7)로써 지시될 때까지 HCl(4M, 디옥산, 200ml, 800mmol, 80당량)과 함께 교반시킨다. 이 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고 고 진공에서 건조시키며, 잔사 33f를 다음 단계에 직접 사용한다.

^{1}H NMR (d_4-CD_3OD, 300 MHz, δ) 7.40-3.23 (m, 5 H), 7.07 (q, 1 H, J=13 Hz) 6.77-6.6 (m, 3 H), 5.33-5.41 (m, 1 H), 5.3-5.05 (2 AB, 2 H) 3.99-3.85 (m, 1 H) 3.35-22 (m, 2 H) 2.00-1.5 (m, 5 H), 1.50-0.80 (m, 6 H); MS (FAB, G/TG-DMSO, *m/z,* 상대 세기): 412 ($[M+1]^+$, 100); HRMS: 계산치 $C_{24}H_{30}NO_5$; M^+ 412.2123 : 실측치 412.2139.

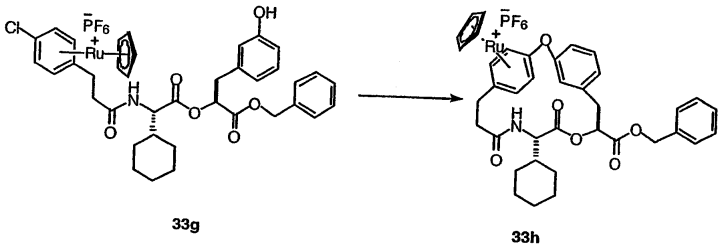
단계 F:



무수 DMF(20ml) 중의 [CpRu(η ^{6}-4-클로로페닐프로피온산)]PF_6 1c(2.0g, 4.03mmol)의 용액을 HOBt(835mg, 6.0mmol, 1.5당량) 및 위니그스 염기(2.06g, 2.95ml, 16mmol, 4.0당량)으로 처리한다. 반응 혼합물을 0℃로 냉각시키고, EDCl(1.15g, 6.0mmol, 1.5당량)으로 처리한다. 반응 혼합물을 0℃에서 30분 동안 교반시키고, 무수 DMF(10ml) 중의 아민 하이드로클로라이드 33f(1.8g, 4.03mmol, 1.0당량)을 가한다. 반응 혼합물을 실온에서 12시간 동안 교반시키고, 진공하에 DMF를 증류 제거한다. 잔사를 수성 HCl(1M, 100ml)로 희석시키고, CH_2Cl_2 (3 x 100ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 수성 $NaHCO_3$ (3 x 50ml) 및 염수(100ml)로 추출하고, 건조시키며(Na_2SO_4), 여과시킨 다음, 진공하에 농축시켜 갈색 고체 33g(3.5g)을 수득하고, 이를 폐환 반응에 사용한다.

MS: 전자 분무, m/z, 상대 세기) 743 [$(M-PF_6)^+$, 100], 304 (60); HRMS: 계산치 $C_{38}H_{41}NO_6Cl^{102}Ru$ $(M-PF_6)^+$ 744.1666 : 실측치 744.1694.

단계 G:

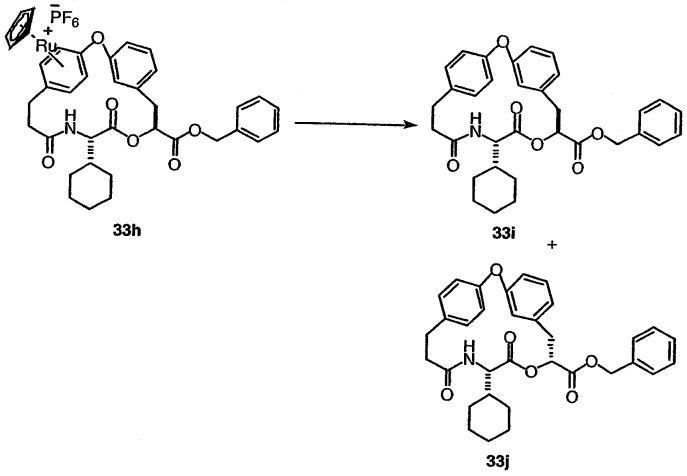


33g 33h

무수 DMF(300ml) 중의 η ^{6}-루테늄 착물 33g(3.5g, 3.93mmol)의 용액을 무수 N_2로 탈기시키고, Cs_2CO_3 (6.5g, 19.95mmol, 5.0당량)으로 처리하며, 실온에서 16시간 동안 교반시킨다. 상기 반응 혼합물을 진공하에 농축시켜 DMF를 제거하고 잔사를 H_2O(100ml)로 희석시킨다. 반응 혼합물을 CH_2Cl_2 (3 x 100ml)로 추출한다. 합한 CH_2Cl_2 층을 염수로 추출하고, 건조시키며(Na_2SO_4), 여과시키고, 진공하에 농축시켜 33h를 수득하고, 이를 광분해에 직접 사용한다.

MS: (전자 분무, m/z, 상대 세기) 708 [$(M-PF_6)^+$, 100]; HRMS: 계산치 $C_{38}H_{40}NO_{61}0_2Ru$ $(M-PF_6)^+$:708.1892 ; 실측치: 708.1918.

단계 H:

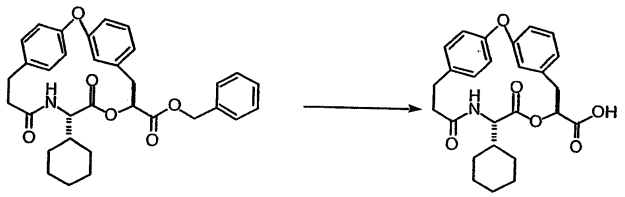


33h 33i + 33j

CH_3CN(60ml) 중의 폐환된 루테늄 착물 33h(3.5g, 3.9mmol)의 용액을 탈기시키고, 이를 2개의 배치 내에서 λ=350nm 하에 석영 튜브에서 각각 48시간 동안 광분해시킨다. 반응 혼합물을 함께 모으고, 크로마토그래피(SiO_2, CH_2Cl_2/Et_2O 9/1)함으로써 정제하여 사이클릭 뎁시펩티드를 부분입체이성체의 혼합물(700mg, 34%)로서 수득한다. 이러한 부분입체이성체를 부가의 크로마토그래피(헥산/CH_2Cl_2/Et_2O 6:3:1)함으로써 분리시켜 2개의 부분입체이성체 33i(370mg, 18%) 및 33j(216mg, 11%)를 무색 고체로서 수득한다. R_f: 0.28(헥산:EtOAc 3:2);

[α]D= 25 (*c* 0.15, $CHCl_3$, 20 °C): IR (니트, cm^{-1}) 3329 (w), 2960 (m) 2926 (s), 2854 (s), 1745 (s), 1680 (m), 1589 (m), 1506 (m), 1446 (m), 1365 (w), 1259 (s) 1099 (m), 1030 (s), 800 (s), 752 (m), 698 (w) 619 (w): ^1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz, δ) 7.36-7.23 (m, 5 H), 7.18- 6.99 (m, 4 H), 6.81 (d, 1 H, *J*=7.5 Hz), 6.74 (dd, 1 H, *J*=2.7, 5.7 Hz), 6.30 (s, 1 H), 5.75 (d, 1 H, *J*=7.2 Hz), 5.61 (dd, 1 H, *J*=2.4 Hz, 5.4 Hz), 5.18, 5.14 (AB, 2 H, *J*=12.3 Hz), 4.23 (dd, 1 H, *J*=4.2 Hz, 3.3 Hz), 3.26-3.01 (m, 2 H), 2.98-2.85 (m, 2 H), 2.68-2.64 (m, 1H) 2.38-2.34 (m, 1H),1.96-1.51 (m, 6 H), 1.51-0.96 (M, 5H) ^{13}C NMR: ($CDCl_3$, 75 MHz, δ, ppm) 177.3, 171.1, 168.7, 159.8, 155.3, 138.6, 135.4, 134.9, 131.2, 129.7, 129.2, 128.7, 126.6, 126.1, 123.3, 120.8, 120.8, 117.5, 114.2, 71.8, 57.5, 56.9, 41.5, 39.0, 35.7, 32.6, 31.3, 29.0, 27.6, 26.0, 25.9. FAB (NBA/DMSO, *m/e,* 상대 세기) 542 [(M+1)$^+$ 100], 514 (15), 450 (5), 307 (8), 232 (5), 154.1 (17), 136 (14) HRMS: 계산치 $C_{33}H_{36}NO_6$ (M+1)$^+$ 542.2543:실측치: 542.2541 CHN 계산치 $C_{33}H_{35}NO_6.0.5H_2O$; C 71.98% H 6.59% N 2.54%; : 실측치 C 72.56% H 7.05% N 2.63%.

단계 I:

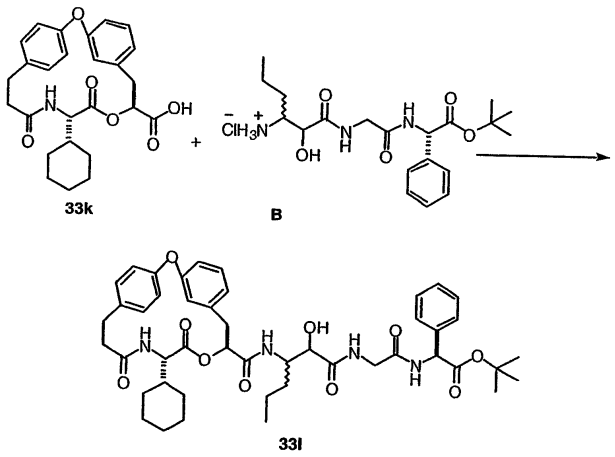


33i 33k

CH_3OH/EtOAc(1:1, 50ml) 중의 벤질 에스테르 33i(360mg, 0.66mmol)의 용액을 $Pd(OH)_2$로 처리하고, 12시간 동안 수소화시킨다(50psi). 상기 반응 혼합물을 셀라이트 플러그를 통해 여과시키고, 케이크를 CH_3OH/CH_2Cl_2 (1:1, 50ml)로 세정한다. 여액을 진공하에 농축시키고 잔사 33k(330mg)을 정제없이 커플링에 사용한다.

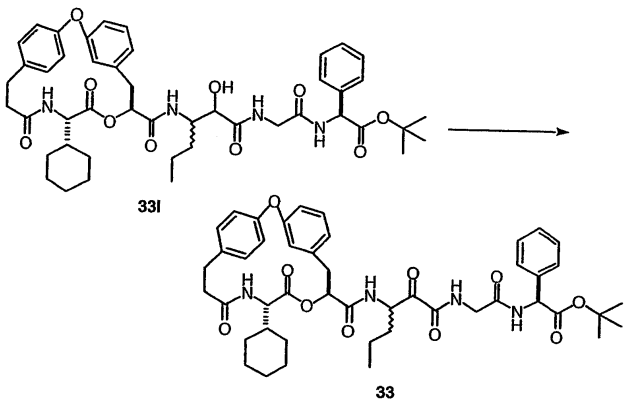
R_f : 0.58 (CH_3OH/CH_2Cl_2 1:19): MS: (전자 분무, m/z, 상대 세기) 827.2 [(M+1)$^+$, 100], 694 (20), 539 (40), 466 (10), 174 (70). HRMS: 계산치 $C_{46}H_{58}N_4O_{10}$ (M+1)$^+$ 827.4231:실측치: 827.4215.

단계 J:



무수 DMF(5.0ml) 및 CH_2Cl_2 (5.0ml) 중의 산 33k(165mg, 0.31mmol)의 용액을 HOBt(83mg, 0.46mmol, 1.5당량)으로 처리하고, 0℃로 냉각시키며, 위니그스 염기(159mg, 1.23mmol, 4.0당량, 229㎕)을 가한다. 이 혼합물에 EDCl(89mg, 0.47mmol, 1.5당량)를 가하고 반응 혼합물을 0℃에서 1시간 동안 교반시키며, 아민 하이드로클로라이드 B(159mg, 0.372mmol, 1.2당량)으로 처리한다. 반응 혼합물을 실온에서 48시간 동안 교반시키고, 진공하에 농축시켜 DMF와 CH_2Cl_2을 제거한다. 잔사를 물로 희석시키고, CH_2Cl_2 (3 x 50ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 수성 HCl(1M, 3 x 50ml), 수성 NaOH(1M, 3 x 50ml) 및 염수(100ml)로 추출하고, 진공하에 농축시킨다. 잔사 33l을 추가의 정제 없이 산화시킨다.

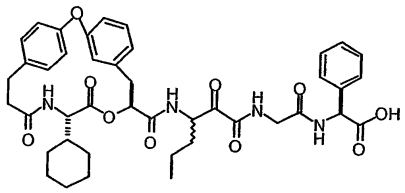
단계 K:



CH_2Cl_2 (5.0ml) 중의 알코올 33l(330mg, 0.4mmol)의 용액을 데스-마틴 시약(424mg, 1.00mmol, 2.5당량)으로 처리한다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반시키고, 수성 $NaHCO_3$ (50ml) 및 수성 $Na_2S_2O_3$ (50ml)로 희석시킨다. 반응 혼합물을 실온에서 20분 동안 교반시키고, 반응 혼합물을 CH_2Cl_2 (3 x 50ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 염수(50ml)로 추출하고, 건조시키며(Na_2SO_4), 여과시킨 다음 진공하에 농축시키고, 잔사를 크로마토그래피(SiO_2, EtOAc/헥산 1:1)함으로써 정제하여 케토아미드 33(180mg, 55%)를 무색 고체로서 수득한다.

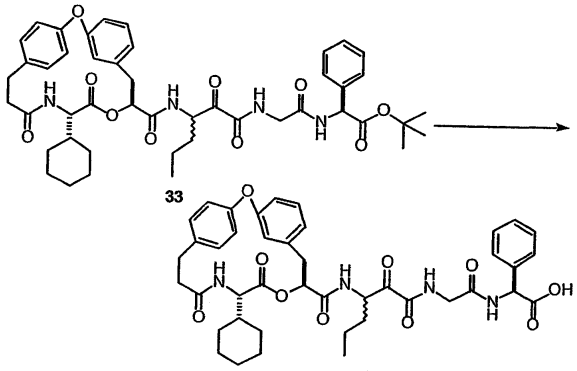
R_f : 0.63 (CH_3OH/CH_2Cl_2 1:19); MS (전자 분무, *m/z* 상대 세기):
857.2 ($[M+CH_3OH]^+$, 40), 825.2 ($[M+1]^+$ 100).

실시예 34: 식 34의 화합물의 제조 실시예 34: 식 34의 화합물의 제조



34

단계 A:



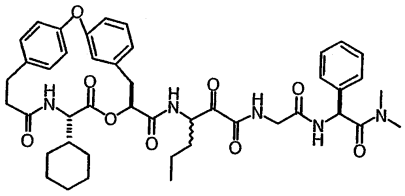
33

34

무수 CH_2Cl_2 (5.0ml) 중의 산화된 뎁시펩티드 33(160mg, 0.2mmol)의 용액을 TFA(5.0ml)로 처리하고, 실온에서 7시간 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔사를 CH_3OH/CH_2Cl_2/헥산(1:1:1)에 반복해서 용해시키고, 진공하에 수회 농축시켜 갈색 고체 34(133mg, 86%)를 수득하고, 이를 진공하에 건조시킨다.

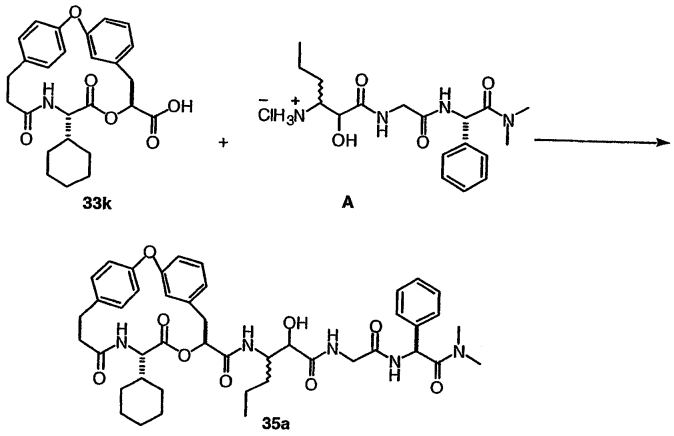
MS: (전자 분무, *m/z* 상대 세기): 769.2 [$(M+1)^+$,100], 481 (5), 269 (25) 191 (90).

실시예 35: 식 35의 화합물의 제조 실시예 35: 식 35의 화합물의 제조



35

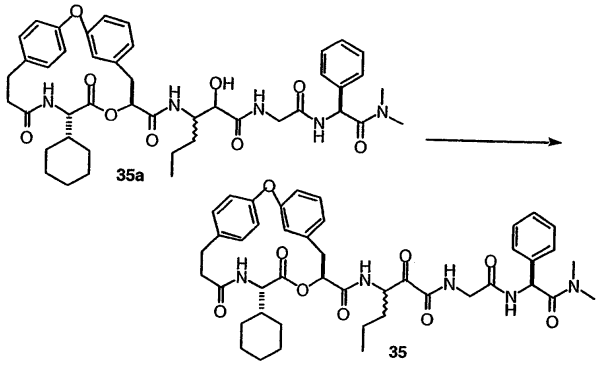
단계 A:



무수 DMF(5.0ml) 및 CH_2Cl_2 (5.0ml) 중의 산 33k(165mg, 0.31mmol)의 용액을 HOBt(83mg, 0.46mmol, 1.5당량)으로 처리하고, 0℃로 냉각시키며, 위니그스 염기(159mg, 1.23mmol, 4.0당량, 229μℓ)을 가한다. 이 혼합물에 EDCl(89mg, 0.47mmol, 1.5당량)를 가하고 반응 혼합물을 0℃에서 1시간 동안 교반시키며, 아민 하이드로클로라이드 A(159mg, 0.372mmol, 1.2당량)으로 처리한다. 반응 혼합물을 실온에서 48시간 동안 교반시키고, 진공하에 농축시켜 DMF와 CH_2Cl_2을 제거한다. 잔사를 물로 희석시키고, CH_2Cl_2 (3 x 50ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 수성 HCl (1M, 3 x 50ml), 수성 NaOH(1M, 3 x 50ml) 및 염수(100ml)로 추출하고, 진공하에 농축시킨다. 잔사 35a를 추가의 정제없이 산화시킨다.

MS: (전자 분무, *m/z* 상대 세기): 798.2 $[(M+1)^+$, 30], 479 (10), 391 (20) 180 (100).

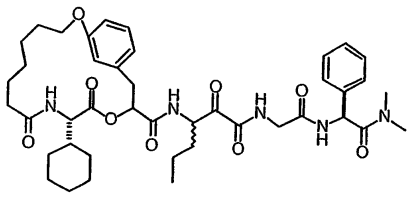
단계 B:



CH_2Cl_2 (10ml) 중의 알코올 35a(190mg, 0.24mmol)의 용액을 데스-마틴 시약(423mg, 1.0mmol, 4.0당량)으로 처리하고 실온에서 1시간 동안 교반시킨다. 이 반응 혼합물을 수성 $NaHCO_3$ (50ml)로 희석시키고, CH_2Cl_2 (3 x 50ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 수성 포화 $Na_2S_2O_3$, 염수(3 x 50ml)로 추출하고, 건조시키며(Na_2SO_4), 여과시킨 다음 진공하에 농축시키고, 크로마토그래피(SiO_2, 아세톤/헥산 3:7→1:1)함으로써 정제하여 산화된 생성물 35(163mg, 86%)를 무색 고체로서 수득한다.

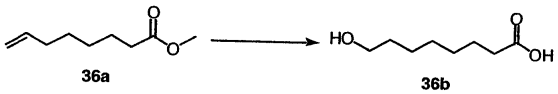
MS (전자 분무, *m/z* 상대 세기): 796 [(M+1)$^+$, 100], 508 (20), 269 (20).

실시예 36: 식 36의 화합물의 제조 실시예 36: 식 36의 화합물의 제조



36

단계 A:



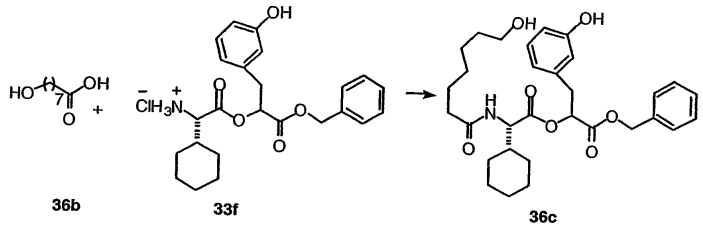
36a 36b

0℃에서 THF(100ml) 중의 알켄(5.0g, 35mmol)의 용액에 $BH_3 \cdot THF$(THF 중의 1M, 100mmol, 100ml, 3.0당량)의 용액을 적가하고, 1시간 동안 교반시킨다. 이 반응 혼합물을 에탄올(20ml)로 적가 처리한다. 수소 기체의 방출이 완료된 후, 반응 혼합물을 pH 7 완충액(100ml) 및 H_2O_2 (30용적, 100ml)로 처리한다. 상기 반응 혼합물을 실온에서 4시간 동안 교반시키고 수성 HCl(100ml)로 급냉시킨다. 수성 층을 Et_2O(3 x 100ml)로 추출한다. 합한 에테르 층을 수성 NaOH(1M, 100ml), 염수(100ml)로 추출하고, 건조시키며($MgSO_4$), 여과시키며, 진공하에 농축시키고, 크로마토그래피(SiO_2, EtOAc/헥산 2/3)함으로써 정제하여 알코올을 무색 액체(2.9g, 52%)로서 수득한다.

$THF/H_2O/CH_3OH$(100ml, 1:1:1) 중의 하이드록시화 에스테르의 용액을 $LiOH \cdot H_2O$(2.1g, 51.2mmol, 3.0당량)으로 처리하고, 실온에서 3일 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 수성 층을 에테르(2 x 40ml)로 추출한다. 수성 층을 산성화시켜 pH 1이 되게하고 EtOAc(3 x 50ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 염수(100ml)로 추출하고, 건조시키고($MgSO_4$), 여과시키며, 진공하에 농축시키고 잔사 36b를 그 자체로서 단계 B에서의 커플링 반응에 사용한다.

^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD, δ) 3.53 (t, 2 H, *J*=6.6 Hz), 2.72 (t, 2 H, *J*=7.2 Hz), 1.59 (t, 2 H, *J*=7.5 Hz), 1.5 (t, 2 H, *J*=7.5 Hz), 1.38-1.33 (m, 6 H).

단계 B:

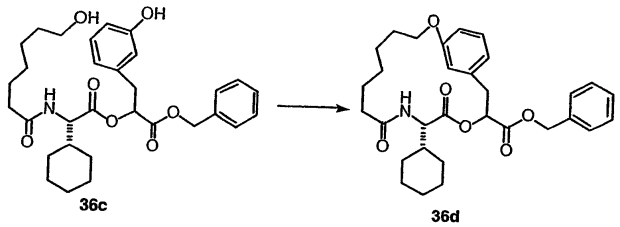


36b 33f 36c

CH_2Cl_2 (40ml) 중의 ω-하이드록실 헵타노산 36b(1.01mg, 6.93mmol)의 용액을 위니그스 염기(1.97g, 15.24mmol, 2.2당량, 2.81ml) 및 아민 하이드로클로라이드 33f(3.1g, 6.93mmol, 1.0당량)으로 처리한다. 이 반응 혼합물을 0℃로 냉각시키고, PyBrOP(3.22g, 6.93mmol, 1.0당량)으로 처리한다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반시키고 진공하에 농축시킨다. 잔사를 크로마토그래피(EtOAc/헥산 1:1)함으로써 정제하여 뎁시펩티드 36c(2.5g, 66%)를 무색 점성 오일로서 수득한다.

^{1}H NMR (CD_3OD, 400 MHz, δ, ppm) 8.07 (t, 1 H), 7.33-7.21 (m, 4 H), 7.09-7.02 (m, 1 H), 6.67-6.63 (m, 3 H), 5.25-5.06 (m, 1 H), 5.08 (q, 2 H, *J*=7.5 Hz), 4.36-4.33 (m, 1 H), 3.51 (dd, 2 H, *J*=5.4 Hz, 0.9 Hz), 3.11-2.96 (m, 2 H), 2.22-2.17 (m, 1 H), 1.99-0.90 (m, 14 H). ^{13}C NMR : (CD_3OD, 75 MHz, δ, ppm, 부분입체이성체의 혼합물): 172.1, 172.0, 171.8, 171.1, 170.9, 169.5, 169.3, 157.1, 157.0, 137.3, 137.0, 135.3, 135.2, 129.2, 129.1, 128.2, 128.0, 127.9, 120.3, 120.0, 116.0, 115.9, 113.6, 94.8, 73.6, 73.4, 66.8, 66.7, 60.2, 57.3, 39.6, 36.7, 28.9, 28.0, 25.6, 20.9, 19.5, 13;. MS (FAB, NBA DMSO, *m/z* 상대 세기): 562. [$(M+Na)^+$, 20], 540. [$(M+1)^+$, 100), 412 (15), 240 (50), 112 (80).

단계 C:

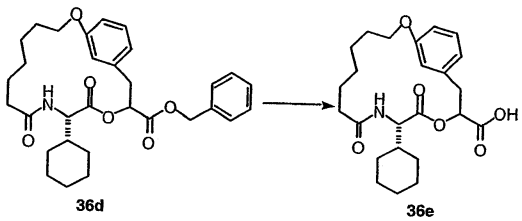


36c 36d

무수 CH_2Cl_2 (50ml) 중의 알코올 36c(2.5g, 4.63mmol)의 용액을 N_2 하에 트리페닐포스핀(2.67g, 10.2mmol, 2.2당량)으로 처리하고 0℃로 냉각시킨다. 이 반응 혼합물을 CH_2Cl_2 (30ml) 중의 DEAD(1.61g, 9.26mmol, 2.0당량)으로 처리한다. 이 반응 혼합물을 실온으로 가온시키고 2시간 동안 교반시킨다. 이 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 크로마토그래피(Et_2O/Hex 1:3)함으로써 정제하여 사이클릭 생성물 36d(530mg, 21%)을 무색 고체로서 수득한다.

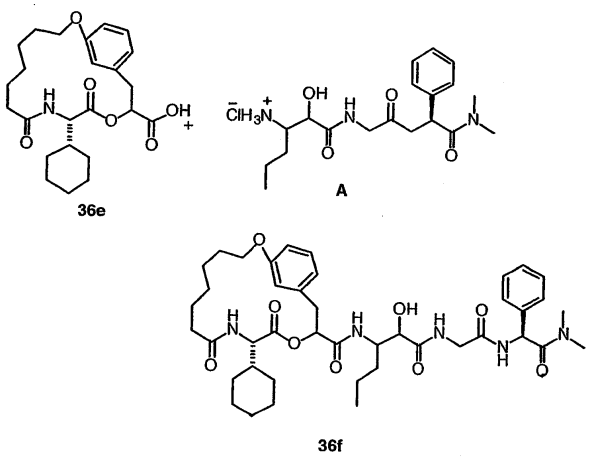
MS (FAB, NBA, DMSO, *m/z* 상대세기), 522 [$(M+1)^+$, 100], 494. (60), 268 (20), 222(20); HRMS 계산치 $C_{31}H_{40}NO_6$:($M+1)^+$: 522.2856; 실측치 : 522. 2864.

단계 D:



메탄올(30ml) 중의 벤질 에스테르(242mg, 0.47mmol)의 용액을 Pd/C(10중량%)로 처리하고, 40psi 하의 파르 상에서 14시간 동안 수소화시킨다. 상기 반응 혼합물을 셀라이트 플러그를 통해 여과시키고, 여액을 진공하에 농축시켜 무색 고체 36e(181mg, 93%)을 수득하고, 이를 커플링 반응에 사용한다.

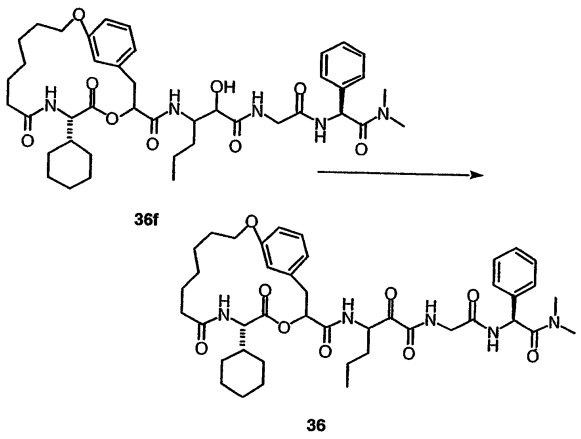
단계 E:



CH_2Cl_2 (4.0ml) 중의 가수분해된 산 36e(167mg, 0.39mmol)의 용액을 HOOBt(95mg, 0.58mmol, 1.5당량)으로 처리하고, 0℃로 냉각시키며, 위니그스 염기(202mg, 1.56mmol, 4.0당량, 288μℓ)을 가한다. 이 혼합물에 EDCl(111mg, 0.58mmol, 1.5당량)를 가하고 반응 혼합물을 0℃에서 0.5시간 동안 교반시키며, 아민 하이드로클로라이드(186mg, 0.47mmol, 1.20당량)으로 처리한다. 반응 혼합물을 냉동고에서 24시간 동안 저장하고, 진공하에 농축시켜 DMF와 CH_2Cl_2을 제거한다. 잔사를 수성 HCl(2M, 30ml)로 희석시키고, CH_2Cl_2 (3 x 50ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 수성 HCl(2M, 30ml), 수성 NaOH(1M) 및 염수(2 x 50ml)로 추출하고, 건조시키며($MgSO_4$), 진공하에 농축시킨다. 잔사 36f(100mg)를 추가의 정제없이 산화시킨다.

HRMS 계산치 $C_{42}H_{60}N_5O_9$ $(M+1)^+$: 778.4391; 실측치: 778.4399.

단계 F:



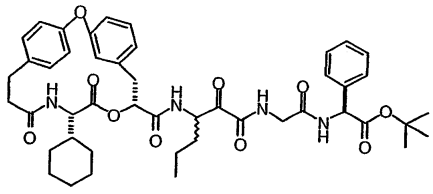
36f

36

CH_2Cl_2 (5.0ml) 중의 알코올 36f(100mg, 0.13mmol)의 용액을 데스-마틴 시약(100mg, 0.23mmol, 1.8당량)으로 처리하고 실온에서 2시간 동안 교반시킨다. 이 반응 혼합물을 수성 $NaHCO_3$ (15ml) 및 수성 $Na_2S_2O_3$ (15ml)로 희석시킨다. 이 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔사를 크로마토그래피(SiO_2, 아세톤/헥산 3:7)함으로써 정제하여 케토아미드 36(61mg, 61%)를 무색 고체로서 수득한다.

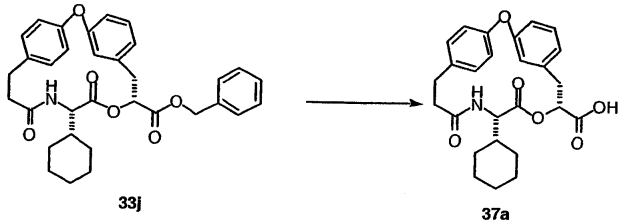
MS (FAB, NBA/DMSO, *m/z* 상대 세기): 776 [(M+1)+, 100], 731 (10), 598 (25), 570 (15), 485 (20), 358 (20), 247 (50).

실시예 37: 식 37의 화합물의 제조 실시예 37: 식 37의 화합물의 제조



37

단계 A:

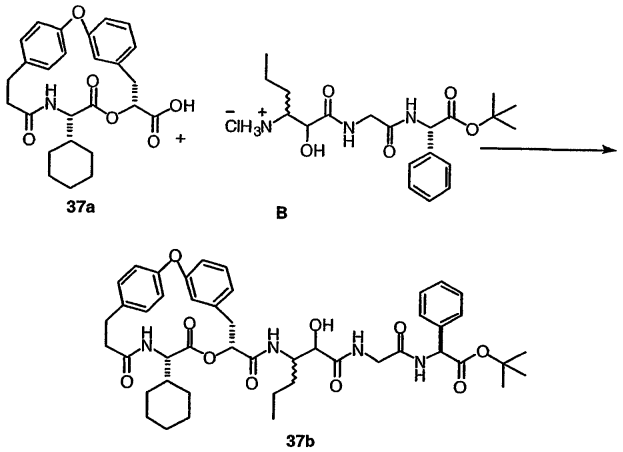


33j

37a

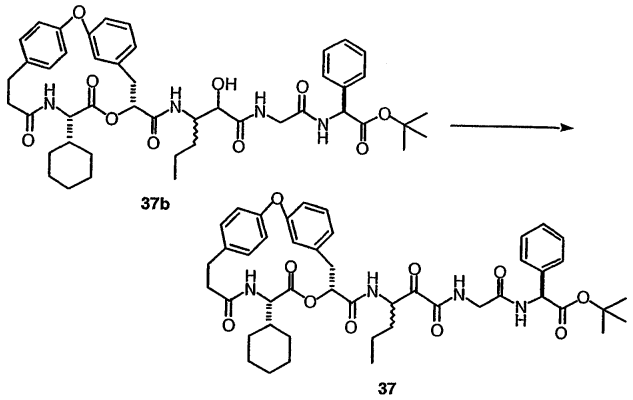
CH_3OH/EtOAc(1:1, 50ml) 중의 벤질 에스테르 33j(230mg, 0.42mmol)의 용액을 Pd(OH)$_2$로 처리하고, 12시간 동안 수소화시킨다(50psi). 상기 반응 혼합물을 셀라이트 플러그를 통해 여과시키고, 케이크를 CH_3OH/CH_2Cl_2 (1:1, 50ml)로 세정한다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고 잔사 37a(177mg, 93%)을 정제없이 커플링에 사용한다.

단계 B:



무수 DMF(5.0ml) 및 CH_2Cl_2 (5.0ml) 중의 산 37a(177mg, 0.33mmol)의 용액을 HOBt(88mg, 0.49mmol, 1.5당량)으로 처리하고, 0℃로 냉각시키며, 위니그스 염기(175mg, 1.35mmol, 4.0당량, 251μℓ)을 가한다. 이 혼합물에 EDCl(95mg, 0.49mmol, 1.5당량)를 가하고 반응 혼합물을 0℃에서 1시간 동안 교반시키며, 아민 하이드로클로라이드 B(170mg, 0.39mmol, 1.2당량)으로 처리한다. 반응 혼합물을 실온에서 48시간 동안 교반시키고, 진공하에 농축시켜 DMF와 CH_2Cl_2을 제거한다. 잔사를 물로 희석시키고, CH_2Cl_2 (3 x 50ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 수성 NaOH(1M, 2 x 50ml) 및 염수(100ml)로 추출하고, 진공하에 농축시킨다. 잔사 37b(315mg)을 추가의 정제없이 산화시킨다.

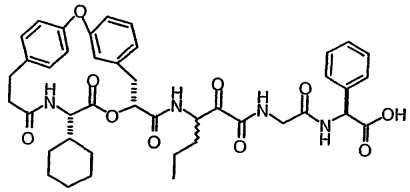
단계 C:



CH_2Cl_2 (5.0ml) 중의 알코올 37b(315mg, 0.4mmol)의 용액을 데스-마틴 시약(424mg, 1.00mmol, 2.5당량)으로 처리한다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반시키고, 수성 $NaHCO_3$ (50ml) 및 수성 $Na_2S_2O_3$ (50ml)로 희석시킨다. 반응 혼합물을 실온에서 20분 동안 교반시키고, 반응 혼합물을 CH_2Cl_2 (3 x 50ml)로 추출한다. 합한 유기 층을 염수로 추출하고, 건조시키며(Na_2SO_4), 여과시킨 다음 진공하에 농축시키고, 잔사를 크로마토그래피(SiO_2, EtOAc/헥산 1:1)함으로써 정제하여 케토아미드 37(210mg, 66%)를 무색 고체로서 수득한다.

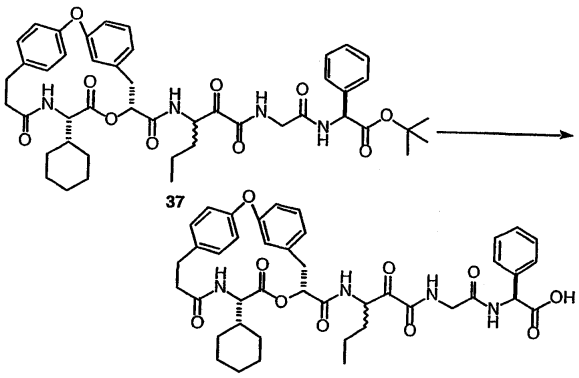
R_f: 0.63 (CH_3OH/CH_2Cl_2 1:19); MS: (전자 분무, *m/z* 상대 세기): 857 ($[M+CH_3OH]^+$, 33), 825 ($[M+1]^+$ 40), 191 (100).

실시예 38: 식 38의 화합물의 제조 실시예 38: 식 38의 화합물의 제조



38

단계 A:



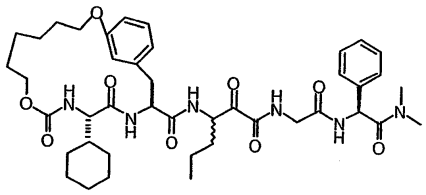
37

38

무수 CH_2Cl_2 (5.0ml) 중의 산화된 뎁시펩티드 37(200mg, 0.24mmol)의 용액을 TFA(5.0ml)로 처리하고, 실온에서 7시간 동안 교반시킨다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔사를 CH_3OH/CH_2Cl_2/헥산(1:1:1)에 반복해서 용해시키고, 진공하에 수회 농축시켜 갈색 고체 38(130mg, 87%)를 수득하고, 이를 진공하에 건조시킨다.

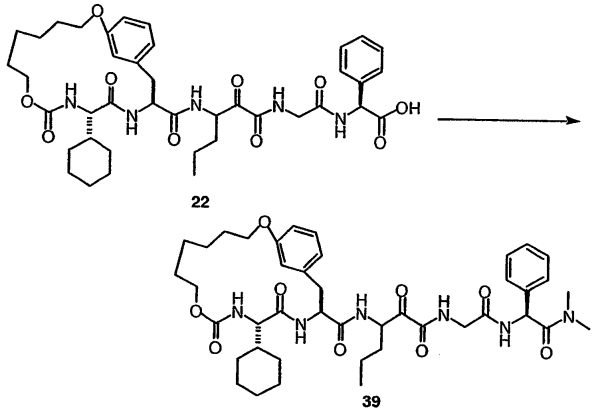
MS: (전자 분무, *m/z* 상대 세기): 769 ($[M+1]^+$, 45), 294 (45), 191 (100).

실시예 39: 식 39의 화합물의 제조실시예 39: 식 39의 화합물의 제조



39

단계 A:



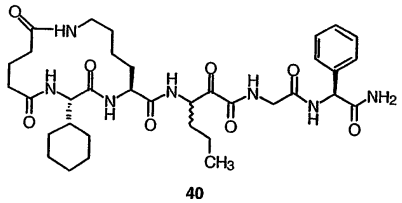
22

39

CH_2Cl_2 (0.5ml) 및 DMF(0.5ml) 중의 산 22(40mg, 0.06mmol)의 용액을 $Me_2NH \cdot HCl$(15mg, 0.18mmol, 3.0당량) 및 위니그스 염기(31mg, 0.24mmol, 44μℓ, 4.0당량)으로 처리한다. 이어서, 상기 반응 혼합물을 PyBrOP(55mg, 0.12mmol, 2.0당량)으로 처리하고, 냉동고에서 12시간 동안 저장한다. 황색 반응 혼합물을 진공하에 농축시키고, 잔사를 크로마토그래피(SiO_2, EtOAc/헥산 구배 3:2→1:0)함으로써 정제하여 불순한 생성물을 수득하고, 이를 아세톤/헥산 1:6을 다시 한번 사용함으로써 정제하여 디메틸 아미드 39를 무색 고체(14mg, 35%)로서 수득한다.

MS: (전자 분무, *m/z* 상대세기): 791 [$(M+1)^+$, 50], 391 (40), 276 (50), 176 (100).

실시예 40: 식 40의 화합물의 제조실시예 40: 식 40의 화합물의 제조

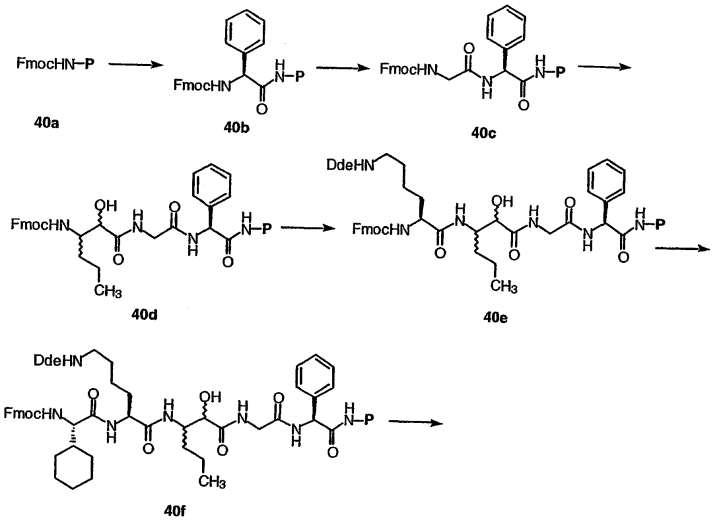


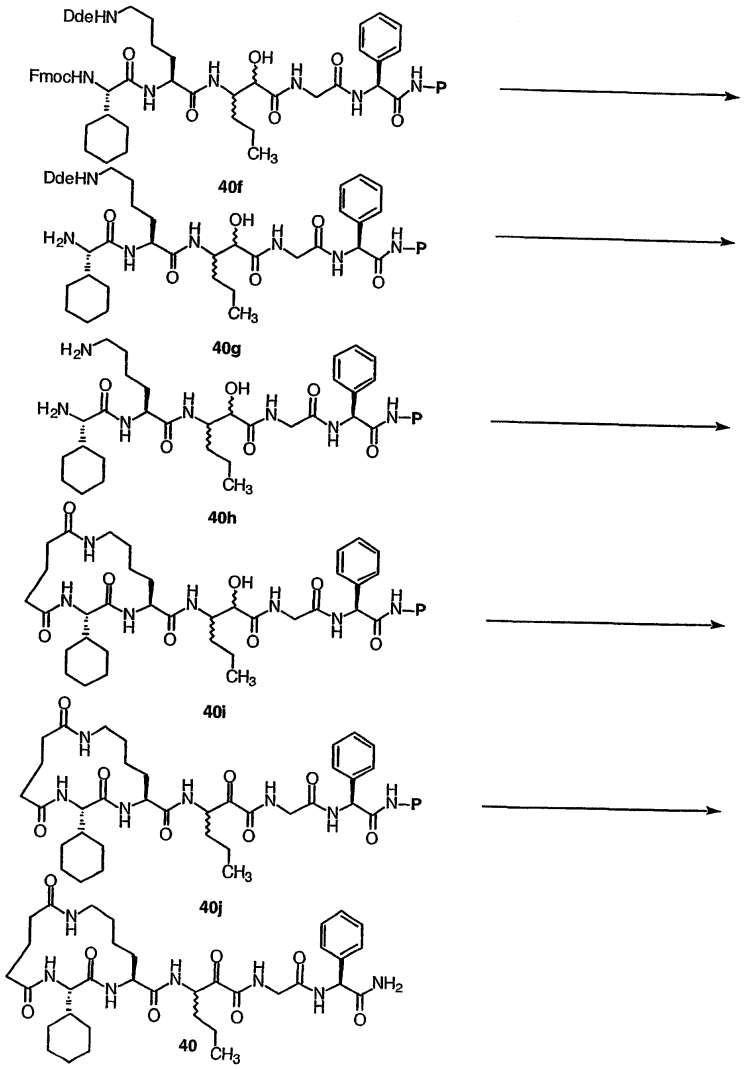
40

고체 상 커플링 반응에 대한 일반적인 과정:고체 상 커플링 반응에 대한 일반적인 과정:

바닥에 폴리프로필렌 프릿이 장착된 폴리프로필렌 시린지 카트릿지로부터 작제된 반응 용기에서 본 합성을 수행하였다. Fmoc-보호된 아미노산을 표준 고체상 기술 하에 커플링시킨다. 각 반응 용기에 출발 Fmoc-시버(Sieber) 수지 100 mg(대략 0.035mmol)을 부하한다. 이 수지를 DMF 2ml 분획으로 세척한다(2회). Fmoc 보호 그룹을, DMF 중의 피페리딘의 20% v/v 용액 2ml으로 20분 동안 처리함으로써 제거한다. 상기 수지를 DMF 2ml 분획으로 세척한다(4회). Fmoc-아미노산 0.12mmol, HATU 0.12mmol 및 DIPEA 0.24mmol을 사용하여, 커플링 반응을 DMF(2ml)에서 수행한다. 2시간 동안 진탕시킨 후, 반응 용기를 탈수시키고, 수지를 DMF 2ml 분획으로 세척한다(4회). 그 다음의 Fmoc-아미노산 또는 캡핑 그룹을 사용하여 커플링 주기를 반복한다.

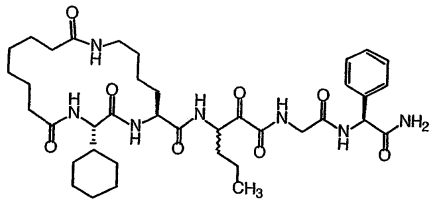
[반응식 10]



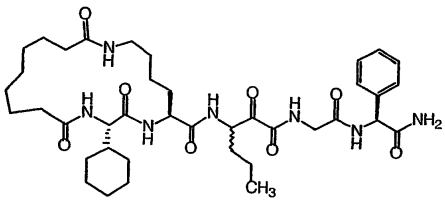

DdeHN
FmocHN
OH
N–P
CH3
40f
DdeHN
H2N
OH
N–P
CH3
40g
H2N
H2N
OH
N–P
CH3
40h
OH
N–P
CH3
40i
N–P
CH3
40j
NH2
CH3
40

Fmoc-시버 수지 40a(0.035mmol)을 DMF 중의 피페리딘의 20% v/v 용액 2ml로 20분 동안 처리한 다음, DMF 2ml 분획으로 세척한다(4회). DMF(2ml)을 수지에 가한 다음, Fmoc-페닐글리신(0.12mmol), HATU(0.12mmol) 및 DIPEA(0.24mmol)을 가한다. 실온에서 2시간 동안 진탕시킨 후, 수지를 DMF 2ml 분획으로 세척하여(4회) 수지-결합된 화합물 40b를 수득한다. 수지-결합된 화합물 40b를 DMF 중의 피페리딘의 20% v/v 용액 2ml로 20분 동안 처리한 다음, DMF 2ml 분획으로 세척한다(4회). DMF(2ml)을 수지에 가한 다음, Fmoc-글리신(0.12mmol), HATU(0.12mmol) 및 DIPEA(0.24mmol)을 가한다. 실온에서 2시간 동안 진탕시킨 후, 수지를 DMF 2ml 분획으로 세척하여(4회) 수지-결합된 화합물 40c를 수득한다. 수지-결합된 화합물 40c를 DMF 중의 피페리딘의 20% v/v 용액 2ml로 20분 동안 처리한 다음, DMF 2ml 분획으로 세척한다(4회). DMF(2ml)을 수지에 가한 다음, N-Fmoc-프로필이소세린(0.12mmol), HATU(0.12mmol) 및 DIPEA(0.24mmol)을 가한다. 실온에서 2시간 동안 진탕시킨 후, 수지를 DMF 2ml 분획으로 세척하여(4회) 수지-결합된 화합물 40d를 수득한다. 수지-결합된 화합물 40d를 DMF 중의 피페리딘의 20% v/v 용액 2ml로 20분 동안 처리한 다음, DMF 2ml 분획으로 세척한다(4회). DMF(2ml)을 수지에 가한 다음, Fmoc-리신(Dde)(0.12mmol), HATU(0.12mmol) 및 DIPEA(0.24mmol)을 가한다. 실온에서 2시간 동안 진탕시킨 후, 수지를 DMF 2ml 분획으로 세척하여(4회) 수지-결합된 화합물 40e를 수득한다. 수지-결합된 화합물 40e를 DMF 중의 피페리딘의 20% v/v 용액 2ml로 20분 동안 처리한 다음, DMF 2ml 분획으로 세척한다(4회). DMF(2ml)을 수지에 가한 다음, Fmoc-사이클로헥실글리신(0.12mmol), HATU(0.12mmol) 및 DIPEA(0.24mmol)을 가한다. 실온에서 2시간 동안 진탕시킨 후, 수지를 DMF 2ml 분획으로 세척하여(4회) 수지-결합된 화합물 40f를 수득한다. 수지-결합된 화합물 40f를 DMF 중의 피페리딘의 20% v/v 용액 2ml로 20분 동안 처리한다. 상기 수지를 DMF 2ml 분획으로 세척하여(4회) 수지-결합된 화합물 40g를 수득한다. 수지-결합된 화합물 40g를 DMF 중의 하이드라진의 2% v/v 용액 2ml 분획으로 5분 동안 처리한다(3회). 상기 수지를 DMF 2ml 분획으로 세척하여(4회) 수지-결합된 화합물 40h를 수득한다. 수지 결합된 화합물 40h를 실온에서 16시간 동안 DMF 2ml 중의 글루타르산 0.035mmol, HATU 0.07mmol 및 DIPEA 0.14mmol으로 처리한다. 수지를 DMF 2ml 분획(4회), THF 2ml 분획(4회) 및 DCM 2ml 분획(4회)으로 세척하여 수지-결합된 화합물 40i를 수득한다. 수지 결합된 화합물 40i를 실온에서 4시간 동안 DMF 2ml 중의 데스-마틴 퍼요오디난 0.14mmol 및 t-BuOH 0.14mmol의 용액으로 처리한다. 수지를 DCM, THF 중의 iPrOH의 20% v/v 용액 2ml 분획, 수중 THF의 50% v/v 용액(4회), THF의 50% v/v 용액(4회) 및 DCM의 50% v/v 용액(4회)으로 세척하여 수지-결합된 화합물 40j를 수득한다. 수지-결합된 화합물 40j를 DCM 중의 TFA의 2% v/v 용액 4ml로 5분 동안 처리한다. 이 여액을 AcOH 1ml에 가하고, 용액을 진공 원심분리시킴으로써 농축시켜 화합물 40(0.0117g, 48% 수율)을 수득한다. MS(LCMS-전자분무) 698.2 MH^+.

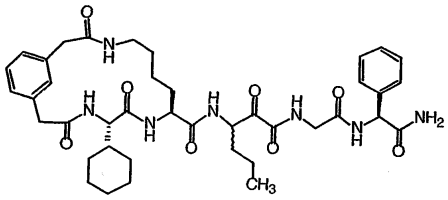
실시예 41 내지 53; 식 41 내지 53의 화합물의 제조: 실시예 41 내지 53; 식 41 내지 53의 화합물의 제조:



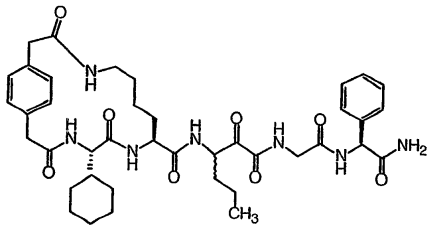
41



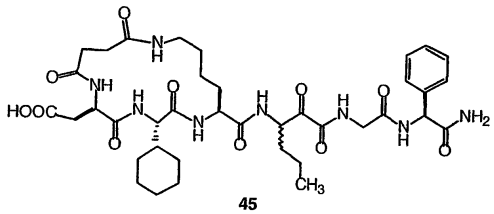
42



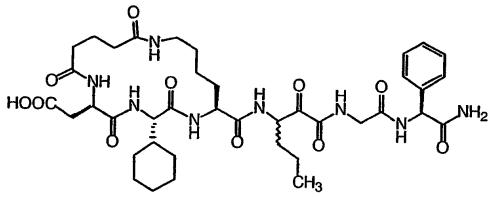
43



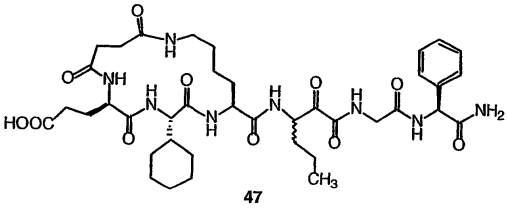
44



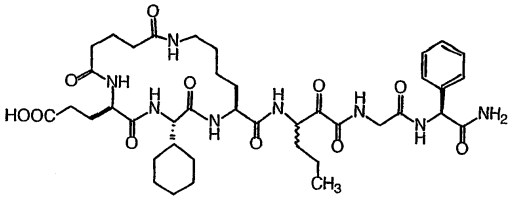
45



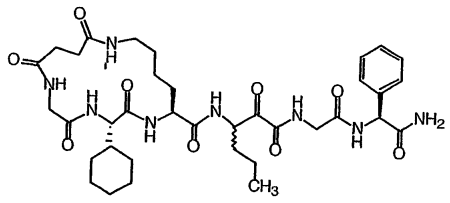
46



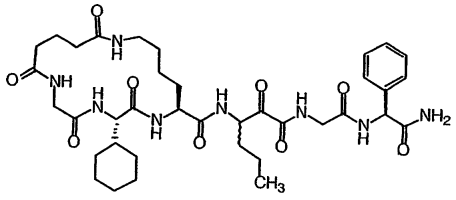
47



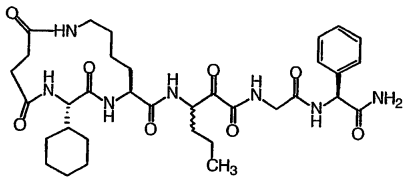
48



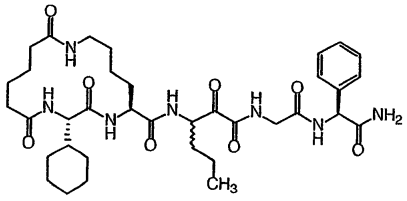
49



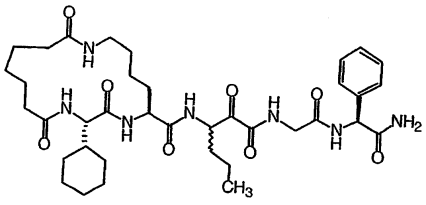
50



51



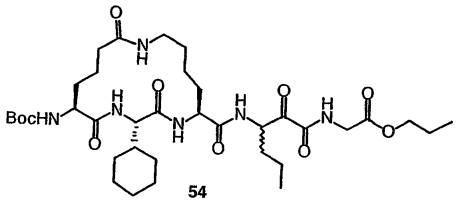
52



53

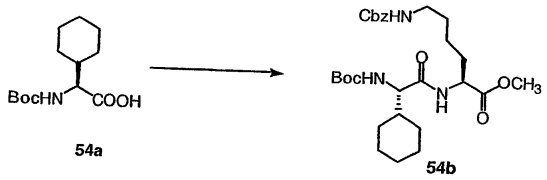
실시예 40의 합성에 대해 제시된 과정과 유사한 고체상 방법을 이용하여 화합물 41 내지 53을 합성한다.

실시예 54: 식 54의 화합물의 제조: 실시예 54: 식 54의 화합물의 제조:



54

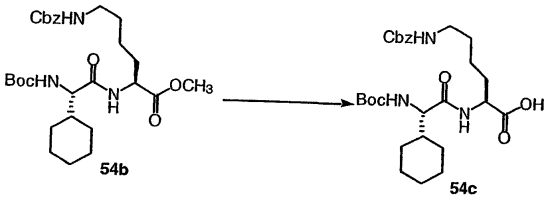
단계 A:



54a 54b

DMF(20ml) 및 CH_2Cl_2(20ml) 중의 Boc-사이클로헥실글리신-OH(2.33g, 9.07mmol)의 교반된 용액에 HOBt(1.48g, 9.07mmol), EDCl(1.91g, 9.97mmol) 및 NMM(2.99ml, 27.2mmol)을 가한다. 상기 용액을 -20℃에서 10분 동안 교반시킨 후, H-Lys(Z)-OMe·HCl을 가하고 -20℃에서 30분 동안 교반시키며 냉동고에서 밤새 유지시킨다. 이어서, 상기 용액을 건조 농축시키고, EtOAc, 포화 $NaHCO_3$로 추출한다. 합한 유기 층을 H_2O 및 염수로 세척하고, Na_2SO_4으로 건조시키며, 건조 농축시켜 백색 고체(4.83g, MH^+=534.1)를 수득한다.

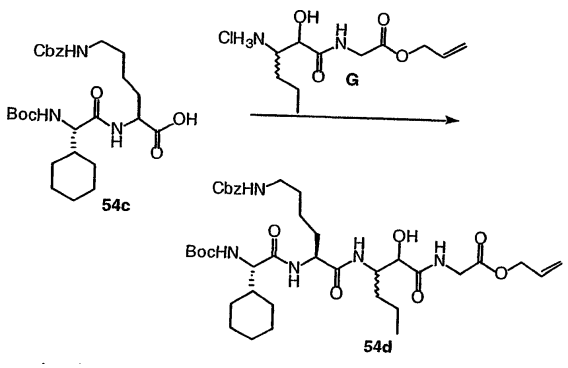
단계 B:



54b 54c

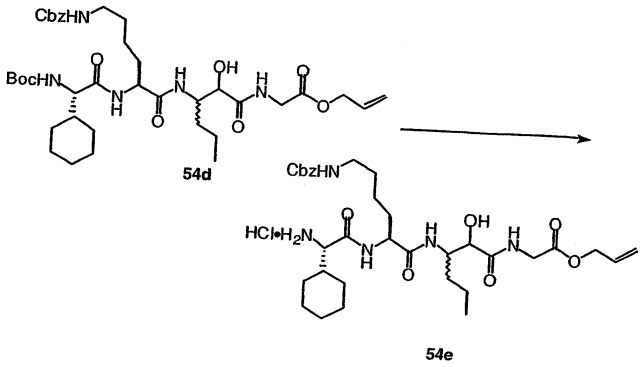
MeOH(10ml) 및 H_2O(7ml) 중의 54b(4.86g, 8.76mmol)의 교반된 용액에 LiOH(70mg, 11.4mmol)을 가한다. 백색 침전물이 형성되며, 이 용액을 실온에서 밤새 교반시킨 다음 건조 농축시킨다. 이어서, 상기 조 물질을 CH_2Cl_2와 물로 분별시킨다. 유기 층을 분리시키고, 염수로 세척하며, Na_2SO_4으로 건조시키며, 여과시키고 건조 농축시켜 54c(4.55g, MH^+=520.1)를 수득한다.

단계 C:



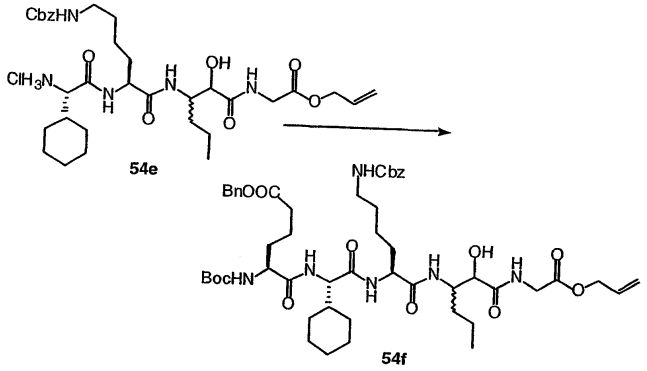
-20℃에서 DMF(40ml) 및 CH_2Cl_2 (40ml) 중의 54c(4.3g, 8.27mmol)의 교반된 찬 용액에 HOBt(1.35g, 8.27mmol), EDCl(1.74g, 9.1mmol) 및 NMM(2.73ml, 8.27mmol)을 가한다. 이로써 생성된 용액을 -20℃에서 10분 동안 교반시킨 후, 아민 G(2.32g, 8.27mmol)을 가하고 -20℃에서 30분 동안 교반시키며 냉동고에서 밤새 유지시킨다. 단계 A로부터의 후처리 과정을 수행하여 54d(6.21g, MH^+ =746.2)를 수득한다.

단계 D:



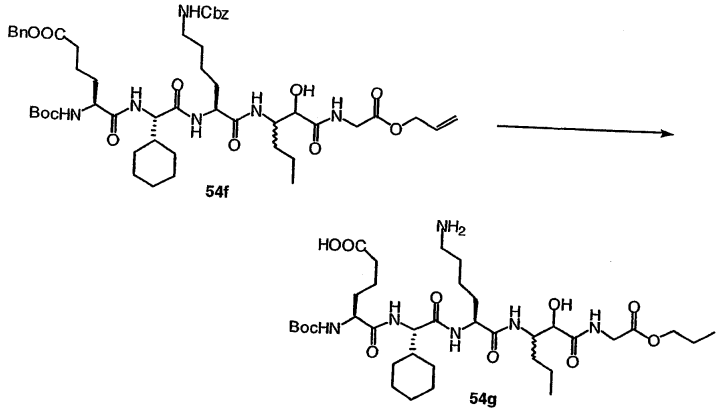
4N HCl/디옥산(40ml) 중의 54d(6.16g, 8.26mmol)의 용액을 실온에서 1시간 동안 교반시키고, 건조 농축시켜 조 생성물 54e(5.70g, 100% 수율, MH^+ =643.3)를 수득한다.

단계 E:



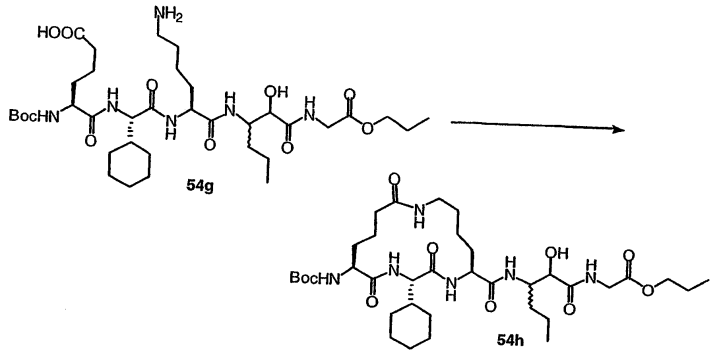
-20℃에서 DMF(25ml) 및 CH_2Cl_2(25ml) 중의 Boc-Glu(OBn)-OH의 교반된 찬 용액에 HOBt(1.29g, 7.92mmol), EDCl(1.66g, 8.71mmol) 및 NMM(2.61ml, 23.7mmol)을 가한다. 이로써 생성된 용액을 -20℃에서 10분 동안 교반시킨 후, 54e(5.4g, 7.916mmol)을 가하고 -20℃에서 30분 동안 교반시키며 냉동고에서 밤새 유지시킨다. 단계 A로부터의 후처리 과정을 수행하여 조 생성물(7.14g, 93.5% 수율)을 수득한다.

단계 F:



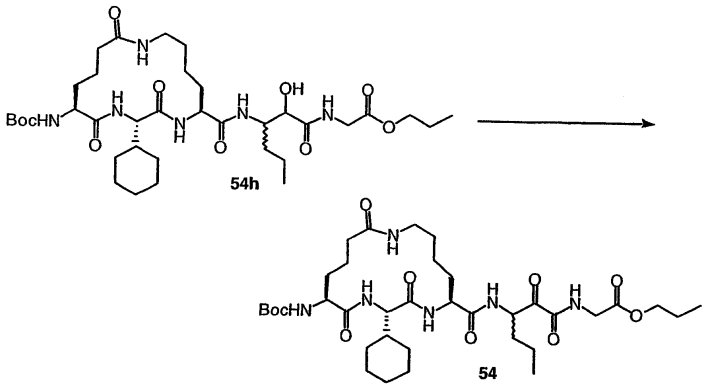
무수 EtOH(350ml) 중의 54f(6.9g, 7.15mmol)의 교반된 용액에 50% H_2O(w/w) 중의 10% Pd/C(2.8g)을 가한다. 이로써 생성된 용액을 H_2로 퍼징하고, H_2 발룬 하에 밤새 교반시킨다. 이어서, 상기 용액을 셀라이트를 통해 여과시키고, 여액을 EtOH/CH_2Cl_2로 세척한 다음, 건조 농축시켜 백색 고체(1.44g)를 수득한다. 이 고체를 25% H_2O/MeOH로 세척하고, 소결로를 통하여 여과시킨 다음, 냉동 건조시켜 54g(4.12g, 77.5% 수율, MH^+=743.2)을 수득한다.

단계 G:



-20℃에서 DMF(50ml) 및 CH_2Cl_2(50ml) 중의 54g(0.5g, 6.7mmol)의 교반된 찬 용액에 HOBt(0.219g, 1.34mmol), EDCl(0.271g, 1.41mmol) 및 NMM(0.296ml, 2.69mmol)을 가한다. 이로써 생성된 용액을 -20℃에서 25분 동안 교반시킨 후, 냉동고에서 밤새 유지시킨다. 이 용액을 건조 농축시킨 다음, EtOAc, 포화 $NaHCO_3$로 추출한다. 이어서, 합한 유기 층을 건조 농축시켜 54h(254mg, MH^+=725.2)를 수득한다.

단계 H:



무수 CH_2Cl_2 (20ml) 중의 54h(0.2g, 0.27mmol)의 교반된 용액에 데스-마틴 퍼요오디난(0.234g, 0.55mmol)을 가한다. 이로써 생성된 용액을 실온에서 1시간 동안 교반시킨다. 이 용액에 CH_2Cl_2 (20ml) 중의 H_2O(0.010ml)의 용액을 30분에 걸쳐 적가하고, 2시간 더 격렬하게 교반시킨다. 이어서, 상기 용액을 50% $Na_2S_2O_3$/50% 포화 $NaHCO_3$와 함께 30분 동안 교반시킨다. 유기 층을 분리시키고, H_2O, 염수로 세척하며, Na_2SO_4로 건조시키며, 여과시키고, 건조 농축시키며, 10% MeOH/CH_2Cl_2으로 용출시키면서 실리카 겔 상에서 칼럼 크로마토그래피함으로써 정제하여 54(17 mg, 62%, MH^+ =723.2)를 수득한다.

HCV 프로테아제 억제 활성에 대한 검정:HCV 프로테아제 억제 활성에 대한 검정:

분광측정 검정:

본 발명의 화합물을 대상으로 하여, 문헌[참조: R. Zhang et al., Analytical Biochemistry, 270(1999) 268-275; 이의 전문이 본원에 참조문헌으로써 삽입됨]에 기재된 과정에 의해 HCV 세린 프로테아제에 대한 분광측정 검정을 수행한다. 색소생성성 에스테르 기질의 단백질 분해에 기초한 상기 검정이 HCV NS3 프로테아제 활성을 지속적으로 모니터하는데 적합하다. 상기 기질은 NS5A-NS5B 연결 서열[Ac-DTEDVVX(Nva)(여기서, X는 A 또는 P이다)]의 P 측면으로부터 유도되는데, 이의 C-말단 카복실 그룹은 4가지 상이한 발색성 알코올(3- 또는 4-니트로페놀, 7-하이드록시-4-메틸-쿠마린 또는 4-페닐아조페놀) 중의 하나로 에스테르된다. 다음에는, 이들 신규한 분광측정 에스테르 기질의 합성, 성상 확인 및 이를 고출력 스크리닝에 적용하는 것과, HCV NS3 프로테아제 억제제의 상세한 역학 평가 내용이 제시되어 있다.

재료 및 방법:

재료: 검정 관련 완충액에 대한 화학 시약은 공급처[Sigma Chemical Company(St. Louis, Missouri)]로부터 수득한다. 펩티드 합성용 시약은 공급처[Aldrich Chemicals, Novabiochem(San Diego, California), Applied Biosystems(Foster City, California) 및 Perseptive Biosystems(Framingham, Massachusetts)]로부터 수득한다. 펩티드는 수동으로 합성하거나 자동화 ABI 모델 431A 합성기[공급처: Applied Biosystems] 상에서 합성한다. UV/VIS 분광계 모델 LAMBDA 12는 공급처[Perkin Elmer(Norwalk, Connecticut)]로부터 구입하고, 96-웰 UV 판은 공급처[Corning(Corning, New York)]로부터 수득한다. 예비가온 블럭(prewarming block)은 공급처[USA Scientific(Ocala, Florida)]로부터 수득하고, 96-웰 판 진동기는 공급처[Labline Instruments(Melrose Park, Illinois)]로부터 수

득한다. 모노크로미터(monochrometer)가 장착된 Spectramax Plus 미세역가판 판독기는 공급처[Molecular Devices(Sunnyvale, California)]로부터 수득한다.

효소 제조:

문헌[참조: D.L. Sali et al., Biochemistry, 37(1998) 3392-3401]에 공개된 과정을 사용하여, 재조합 헤테로 이량체성 HCV NS3/NS4A 프로테아제(균주 1a)를 제조한다. 아미노산 분석에 의해 미리 정량화된 재조합 HCV 프로테아제 표준물을 사용하여 바이오래드(Biorad) 염료 방법에 의해, 단백질 농도를 결정한다. 검정을 개시하기에 앞서, 바이오래드 Bio-Spin P-6 예비패킹된 칼럼을 활용하여, 효소 저장 완충액(50mM 인산나트륨 pH 8.0, 300mM NaCl, 10% 글리세롤, 0.05% 라우릴 말토시드 및 10mM DTT)을 검정용 완충액(25mM MOPS pH 6.5, 300mM NaCl, 10% 글리세롤, 0.05% 라우릴 말토시드, 5μM EDTA 및 5μM DTT)으로 교환한다.

기질 합성 및 정제:

기질 합성을 문헌[참조: R. Zhang et al.(ibid)]에 보고된 바와 같이 수행하고, 표준 프로토콜[참조: K. Barlos et al., Int. J. Pept. Protein Res., 37(1991), 513-520]을 사용하여 Fmoc-Nva-OH가 2-클로로트리틸 클로라이드 수지를 향하게 함으로써 상기 합성을 개시한다. 연속해서, Fmoc 화학을 이용하여 수동으로 또는 자동화 ABI 모델 431 펩티드 합성기 상에서 상기 펩티드를 어셈블리한다. N-아세틸화 및 완전히 보호된 펩티드 단편을, 30분 동안 디클로로메탄(DCM) 중의 10% 아세트산(HOAc) 및 10% 트리플루오로에탄올(TFE)에 의해, 또는 10분 동안 DCM 중의 2% 트리플루오로아세트산(TFA)에 의해 상기 수지로부터 절단한다. 합한 여액과 DCM 세척물을 공비 증발시켜(또는 Na_2CO_3 수용액에 의해 반복적으로 추출시켜) 절단에 사용된 산을 제거한다. DCM 상을 Na_2SO_4으로 건조시킨 다음 증발시킨다.

상기 에스테르 기질을 표준 산-알코올 커플링 과정[참조: K. Holmber et al., Acta Chem. Scand., B33(1979) 410-412]을 사용하여 어셈블리한다. 펩티드 단편을 무수 피리딘(30 내지 60mg/ml)에 용해시키고, 이에 10몰 당량의 발색단 및 촉매량(0.1당량)의 파라-톨루엔설폰산(pTSA)을 가한다. 디사이클로헥실카보디이미드(DCC, 3당량)를 가하여 커플링 반응을 개시시킨다. 생성물 형성을 HPLC로 모니터한 결과, 실온에서 12 내지 72시간 내에 반응이 완료된 것으로 밝혀졌다. 피리딘 용매를 진공하에 증발시키고, 톨루엔으로 공비 증발시켜 추가로 제거한다. 상기 펩티드 에스테르를 2시간 동안 DCM 중의 95% TFA로 탈보호시키고, 무수 에틸 에테르로 3회 추출하여 과량의 발색단을 제거한다. 이와 같이 탈보호된 기질을, 30% 내지 60% 아세토니트릴 구배(6개의 칼럼 용적을 이용함)를 이용하여 C3 또는 C8 칼럼 상에서 역상 HPLC함으로써 정제한다. HPLC 정제 후의 전체 수율은 대략 20 내지 30%이다. 분자량은 전자분무 이온화 질량 분광법으로 확인하였다. 상기 기질을 건조 작용하에 무수 분말 형태로 저장한다.

기질 및 생성물의 스펙트럼:

기질 및 상응하는 발색단 생성물의 스펙트럼을 pH 6.5 검정용 완충액에서 수득한다. 다중 희석물을 사용하여 1cm 큐벳에서의 최적의 오프-피크(optimal off-peak) 파장(3-Np 및 HMC의 경우에는 340nm이고, PAP의 경우에는 370nm이며, 4-Np의 경우에는 400nm이다)에서 감광 계수(extinction coefficient)를 결정한다. 최적의 오프-피크 파장은 기질과 생성물 간의 최대 흡광도 분별차를 가져다 주는 파장으로서 정의된다[(생성물 OD - 기질 OD)/기질 OD].

프로테아제 검정:

96-웰 미세역가판에서 200㎕ 반응 혼합물을 사용하여 30℃에서 HCV 프로테아제 검정을 수행한다. 검정용 완충액 조건(25mM MOPS pH 6.5, 300mM NaCl, 10% 글리세롤, 0.05% 라우릴 말토시드, 5μM EDTA 및 5μM DTT)을 NS3/NS4A 헤테로 이량체에 대해 최적화시킨다[참조: D.L.Sali et al., ibid]. 전형적으로, 완충액, 기질 및 억제제의 150㎕ 혼합물을 웰에 놓아두고(DMSO의 최종 농도 4% v/v), 30℃에서 대략 3분 동안 예비항온배양한다. 이어서, 검정용 완충액 중의 예비가온된 프로테아제 50㎕(12nM, 30℃)를 사용하여 상기 반응을 개시한다(최종 용적 200㎕). 상기 판을 대상으로 하여 일정한 검정 기간(60분)에 걸쳐, 모노크로미터가 장착된 Spectramax Plus 미세역가판 판독기를 사용하여 적당한 파장(3-Np 및 HMC의 경우에는 340nm이고, PAP의 경우에는 370nm이며, 4-Np의 경우에는 400nm이다)에서의 흡광도 변화에 대해 모니터한다[컷오프 필터(cutoff filter)를 활용하는 판 판독기를 이용하여, 허용되는 수준의 결과를 수득할 수 있다]. Nva와 발색단 간의 에스테르 연결을 단백질 분해적으로 절단하는 것은, 비-효소적 가수분해에 대한 대조군으로서 효소가 전혀 없는 블랭크에 대한 적당한 파장에서 모니터한다. 30배 기질 농도 범위(약 6 내지 200μM)에 걸쳐, 기질 역학 파라미터를 평가한다. 선형 회귀를 이용하여 초기 속도를 결정하고, 비-선형 회귀 분석(Mac Curve Fit 1.1, K. Raner)을 이용하여 미카엘리스-멘텐(Michaelis-Menten) 방정식에 해당 데이터를 고정시킴으로써 역학 상수를 수득한다. 해당 효소가 완전히 활성이라는 전제하에 턴오버(turnover) 수(k_{cat})를 계산한다.

억제제 및 불활성화제의 평가:

경쟁적 억제 역학에 대한 재배열된 미카엘리스-멘텐 방정식: $v_o/v_i = 1 + [I]_o/(K_i(1 + [S]_o/K_m))$[여기서, v_o는 억제되지 않은 초기 속도이고, v_i는 소정의 억제제 농도 ($[I]_o$)의 억제제의 존재 하 초기 속도이며, $[S]_o$는 사용된 기질 농도이다]에 따라서 v_o/v_i대 억제제 농도($[I]_o$)를 플롯팅함으로써, 경쟁적 억제제 Ac-D-(D-Gla)-L-I-(Cha)-C-OH(27), Ac-DTEDVVA(Nva)-OH 및 Ac-DTEDVVP(Nva)-OH에 대한 억제 상수(K_i)를, 고정된 농도의 효소 및 기질에서 실험적으로 결정한다. 이로써 생성된 데이터를, 선형 회귀를 이용하여 고정시키고, 생성 기울기 $1/(K_i(1 + [S]_o/K_m))$를 사용하여 K_i값을 계산한다.

본 발명의 각종 매크로사이클에 대해 수득된 K_i값이 전술된 표 1에 제시되어 있고, 여기서는 화합물이 K_i값 범위 순서로 배열되었다. 이들 시험 결과로부터, 당업자는 본 발명의 화합물이 NS3-세린 프로테아제 억제제로서 탁월한 효능을 지니고 있음을 명백히 알 수 있을 것이다.

세포 생검정 방법:세포 생검정 방법:

문헌[참조: S. Agrawal et al., " Development and Characterization of Hepatitis C Virus Serine Protease Cell-based Trans-Cleavage Assay" , Hepatology Supplement to Volume 30(No. 4, Part 2, October 1999), Abstract No. 615(Proceedings of AASLD 50 th Annual Meeting, Dallas, Texas, November 5-9, 1999; 이의 기술 내용이 본원에 참조문헌으로써 삽입됨]에 기재된 과정에 의해, 본 발명의 화합물을 대상으로 하여, HCV 세린 프로테아제에 대한 세포 생검정을 수행한다. 상기 검정을, NS5A/5B 절단 인식 서열 및 1BNS4A $_{21-32}$ GS-GSNS$_{3-81}$ /17K 발현 벡터, 및 세포독성을 제어하기 위한 내부 표준 단백질로서의 YFPn1을 함유하는 리포터(reporter) 단백질 기질을 발현하는 플라스미드로 공동-형질감염시킨 HeLa/Huh7 세포에서 수행한다. 총 세포 용융물을 SDS-PAGE한 다음, 상기 리포터 기질에 대해 지시된 모노클로날 항체를 사용하여 웨스턴 블롯(Western blot) 검출함으로써 프로테아제 활성을 측정한다. 상기 면역블롯(immunoblot)을 포스포이미저(phosphoimager) 상에서 스캐닝함으로써, 기질 절단을 정량화한다.

재료:재료:

플라스미드 DNA

pBFP-5A/5B-GFP: pBFP-5A/5B-GFP:

상기 기질을 발현하는 리포터 유전자는, NS5A/5B 절단 인식 서열로부터 유도된 25개 아미노산에 의해 분리된, N' 말단 블루 형광성 단백질(BFP) 도메인과 C' 말단 그린 형광성 단백질(GFP) 도메인으로 구성된 융합 단백질을 암호화한

다. GFP와 BFP 둘 다는 적당한 파장의 자외선에 의해 여기될 때, 각각 그린 또는 블루 광을 방출하는, 본질적으로 균일한 자가형광성 단백질이다. GFP의 발색단에서 4개의 아미노산이 치환되면, 방사 파장이 변하고 상기 단백질이 BFP로 전환된다.

상기 기질, 및 생성된 GFP 및 BFP 생성물은, 양 단백질을 인식하는 모노클로날 항체를 사용하여 면역학적 방법에 의해 세포 용융물에서 검출할 수 있다.

BFP-5A/5B-GFP 리포터 유전자는, pQB125 클로닝 벡터(Quantum Biotechnologies, Inc.)의 NheI 및 BamHI 제한 엔도뉴클레아제 부위 사이에 클로닝된, NS5A/5B 절단 인식 서열에 의해 분리된 BFP 및 GFP 자가형광성 단백질 암호화 서열(Quantum Biotechnologies, Inc., Montreal, Canada)를 함유한다. 상기 융합 단백질의 발현은 CMV IE 프로모터-인핸서(enhancer)의 조절 하에 이루어진다. 상기 벡터의 소의 성장 호르몬(bovine growth hormone) p(A) 서열은 mRNA에 대한 폴리아데닐화 시그날을 제공해준다. NS5A/5B 절단 서열은 SSGADTEDVVCCSMSYTWTGALVTP이다. DNA 서열 분석을 이용하여 상기 클론을 확인한다.

P1B002: 1bNS4A21-32GS-GS NS 3-81/17K:

아유형 1b 프로테아제는, 벡터 pC1neo 내에서 CMV 프로모터 다음의 Xba1/Not1 단편으로서 클로닝한다.

YFPn1:YFPn1:

YFPn1은 공급처[CLONTECH(Palo Alto, California)]로부터 구입한다. 제3의 플라스미드를 형질감염물에 부가하여, 세포독성을 제어하기 위한 내부 표준 단백질을 공급하는데, 이는 프로테아제 절단율(%)에는 영향을 미치지 않는다.

플라스미드 DNA를 적당한 항생제 선별 하에 LB 배지 중의 DH5α 세포(Life Technologies로부터 수득함)에서 유지 및 증식시킨 다음, 키트[QIAfilter Plasmid Kits(Qiagen; Valencia, California)]를 사용하여 정제한다.

세포 배양:

HeLa세포를, 10% 태아 송아지 혈청(FCS), 2mM 글루타민, 및 100μ/ml 페니실린-스트렙토마이신(BioWhitaker), 2% $NaHCO_3$이 보충된 이글스 최소 필수 배지(Eagle's Minimun Essential Media)(EMEM; BioWhittaker, Walkersville, Maryland)에서 유지 및 증식시킨다.

Huh7세포를, 10% 태아 송아지 혈청(FCS), 100μ/ml 페니실린-스트렙토마이신(BioWhitaker) 및 5ml NEAA(100x; BioWhittaker)/L이 보충된 둘벡코 변형 이글스 배지(Dulbecco's Modified Eagle's medium)(DMEM; BioWhittaker)에서 유지 및 증식시킨다.

SOP 과정SOP 과정

형질감염하기 전날형질감염하기 전날

HeLa 세포를 6 x 10^4 세포/웰의 밀도로 24웰 판(Falcon 3047 판)에 접종하고, 5% CO_2 항온 배양기에서 37℃ 하에 밤새 성장시킨다.

형질감염일:형질감염일:

플라스미드 DNA를 뉴클레아제 자유수(Promega, Madison, Wisconsin, cat#P119C) 중에서 0.05μg/μℓ의 최종 농도

로 희석시킨다. 0.75μg BFP-5A/5B-GFP를 합하고, 0.175μg P1B002(0.23X) 및 0.02μg YFPn1과 혼합한다. 상기 DNA를, FBS, 글루타민 및 항생제가 결핍된 EMEM을 이용하여 최종 용적이 60μℓ가 되도록 한다. 총 DNA μg당 SuperFect 시약(Qiagen, cat#301305) 5μℓ 용적의 비율로 가하고, 상기 혼합물을 약 10초 동안 와동시키며, 실온에서 10분 동안 항온 배양하여 완전히 형성시킨다.

완전한 형성이 진행되는 동안, 세포 배양 판으로부터의 성장 배지를 탈기시키고 세포를 Ca^{2+}, Mg^{2+} 가 없는 1ml PBS(BioWhitaker)로 1X 세척한다. 형질감염 복합체를 함유하는 튜브에 350μℓ EMEM(적당한 보충물-완전 배지가 보충됨)을 가하고, 혼합물을 2 내지 3회 위아래로 피펫팅한다. 총 용적을 24웰 배양판의 1개 웰에 옮긴다. HeLa 세포를 37℃ 및 5% CO_2에서 약 3시간 동안 상기 형질감염 복합체와 함께 항온 배양한다. 이러한 형질감염 복합체를 함유하는 배지를 탈기시킴으로써 상기 세포로부터 제거한다. 이 세포를 약 1ml PBS에서 1회 세척하고, PBS를 탈기시킨 다음, 495μℓ의 완전 EMEM을 가한 다음 5μℓ 화합물/웰을 가한다. 상기 세포를 37℃ 및 5% CO_2에서 22 내지 24시간 동안 항온 배양한다.

세포 용융물의 제조세포 용융물의 제조

각 웰로부터의 배지를 탈기시키고, DPBS로 1회 세척한다. 세포를 100μℓ의 1X 트리스-SDS-BME 샘플 완충액(OWL 분리 시스템, Portsmouth, New Hampshire, cat#ER33)에 수거하고, 이를 미세원심분리용 튜브에 옮긴다. 이어서, 3 내지 5분 동안 비등시켜 세포를 용융시킨다. SDS-PAGE 겔 상에 10μℓ/웰로 부하한다. 트리스-글리신-SDS 완충액(Owl Scientific)에서 30mamp로 수행된 10cm x 10cm 12.5% SDS-PAGE(Owl Scientific, cat#OG-0125B) 상에서 전기영동함으로써, 상기 용융물을 분해한다. 사용하기에 앞서, PVDF 막(Immobilon-P; 0.45㎛ 기공 크기; Millipore, Bedford, Massachusetts)을 100% 메탄올에 10초 동안 침지시킨 다음, 블롯을 증류수에 놓아둔다. 반건조 전기블롯터(electroblotter)를 사용하여 90분 동안 겔당 108mamp로 PVDF 필터 막(0.45㎛, Millipore)에 상기 단백질을 옮긴다.

ECF 웨스턴 블롯에 의한 단백질의 검출ECF 웨스턴 블롯에 의한 단백질의 검출(Amersham Pharmacia Biotech, Little Chalfont, England; catalog #RPN 5780). 2 내지 4℃ 냉장고에서 밤새, 0.05% 트윈(Tween) 20, pH 7.4(Sigma Chemicals, St. Louis, Missouri, cat#3563)을 함유하는 약 10ml PBS 중의 5% 차단용 시약(키트로부터)에 의해, 상기 PVDF 필터 막을 차단시킨다. 그 다음날, 상기 막을, 0.05% 트윈 20 세정용 완충액을 함유하는 TPBS로 2회 간단하게 세정한 다음, 0.05% 트윈 20, pH 7.4을 함유하는 PBS에서 매회 5분 동안 3회 세척한다. 상기 막을 0.05% 트윈 20, pH 7.4을 함유하는 PBS에서 30분 동안 항-GFP 모노클로날 항체(Clontech, Palo Alto, California)의 1:3000 희석물 12ml 하에 항온 배양하는데, 이와 동시에 1% BSA(Alumin, bovine cat#A-2153; Sigma)을 가하여 배경을 감소시킨다. 상기 막을 TPBS로 2회 간단히 세척한 다음, TPBS 세척용 완충액에서 매회 5분 동안 3회 세척한다. 상기 막을 30분 동안 TPBS 중의 항 플루오레세인-연결된 항 마우스 Ig의 1:600 희석물 12ml에서 항온 배양한다. 상기 막을 TPBS로 2회 간단히 세척한 다음, TPBS 세척용 완충액에서 매회 5분 동안 3회 세척한다. ECF 기질을 이용하여 시그날 증폭시키기 위해, 막을 30분 동안 항 플루오레세인 알칼린 포스파타제 접합체의 1:2500 희석물 10ml에서 항온 배양한다. 상기 막을 TPBS로 2회 간단히 세정한 다음, TPBS 세척용 완충액에서 매회 5분 동안 3회 세정한다. 제조업자의 지시에 따라서 ECF 기질 용액을 제조하고(등분하고 동결시킴), 막을 2 내지 3분 동안 항온 배양하며, 과량의 시약을 배수시킨 다음, 필터지로 블롯팅하고, 9 내지 10분 동안 공기 건조시킨 다음 스캐닝한다.

막을 스캐닝함:

상기 블롯을 포스포이미저 스톰(Storm) 860의 유리 상에 놓아둔다. 블루 화학발광성을 200 픽셀 크기, 700 PMT 볼트로 설정한다. 파일을 ImageQuant에서 열고, 기질(S), 생성물(P) 및 내부 대조군(IC)을 나타내는 밴드 주변에 사각형을 만듦으로써 정량화한다. 기질의 절단율(%)은 P/(S+P)x100으로서 측정한다. 약물로 인한 절단 억제율을 측정하고, 이를 각 블롯 상에 포함된 약물 대조군과 중복하여 비교하였다. 엑셀(Excel)을 이용하여 리포터를 작성하였다. 몇몇 화합물에 대한 결과가 다음에 제시되어 있다:

실시예 36의 화합물: EC_{50} = 9㎛

실시예 35의 화합물: EC_{50} = 20㎛

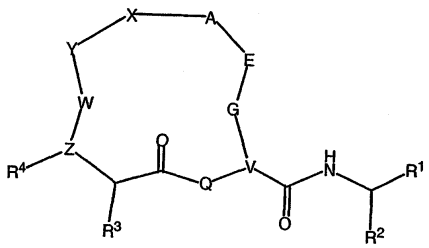
이들 시험 결과로부터, 당업자는 본 발명의 화합물이 NS3-세린 프로테아제 억제제로서 탁월한 효능을 지니고 있음을 명백히 알 수 있을 것이다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

다음 화학식 I의 매크로사이클릭 화합물, 및 이의 에난티오머, 입체이성체, 로토머(rotomer), 토토머(tautomer) 및 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물:

화학식 I



상기식에서,

E, X 및 Y는 독립적으로 존재 또는 부재할 수 있고, 존재하는 경우, 이는 알킬, 아릴, 알킬-아릴, 헤테로알킬, 헤테로아릴, 아릴-헤테로아릴, 알킬-헤테로아릴, 사이클로알킬, 알킬 에테르, 알킬-아릴 에테르, 아릴 에테르, 알킬 아미노, 아릴 아미노, 알킬-아릴 아미노, 알킬 설파이드, 알킬-아릴 설파이드, 아릴 설파이드, 알킬 설폰, 알킬-아릴 설폰, 아릴 설폰, 알킬-알킬 설폭사이드, 알킬-아릴 설폭사이드, 알킬 아미드, 알킬-아릴 아미드, 아릴 아미드, 알킬 설폰아미드, 알킬-아릴 설폰아미드, 아릴 설폰아미드, 알킬 우레아, 알킬-아릴 우레아, 아릴 우레아, 알킬 카바메이트, 알킬-아릴 카바메이트, 아릴 카바메이트, 알킬 하이드라지드, 알킬-아릴 하이드라지드, 알킬 하이드록스아미드, 알킬-아릴 하이드록스아미드, 알킬 설포닐, 아릴 설포닐, 헤테로알킬 설포닐, 헤테로아릴 설포닐, 알킬 카보닐, 아릴 카보닐, 헤테로알킬 카보닐, 헤테로아릴 카보닐, 알콕시카보닐, 아릴옥시카보닐, 헤테로아릴옥시카보닐, 알킬아미노카보닐, 아릴아미노카보닐, 헤테로아릴아미노카보닐 잔기 또는 이들의 조합물 중에서 독립적으로 선택되는데, 단 E, X 및 Y는 방향족 물, 알킬, 알킬-아릴, 헤테로알킬, 아릴-헤테로아릴, 알킬-헤테로아릴, 사이클로알킬, 알킬 에테르, 알킬-아릴 에테르, 알킬 설파이드, 알킬-아릴 설파이드, 알킬 설폰, 알킬-아릴 설폰, 알킬 아미드, 알킬-아릴 아미드, 알킬 설폰아미드, 알킬 아민, 알킬-아릴 아민, 알킬-아릴 설폰아미드, 알킬 우레아, 알킬-아릴 우레아, 알킬 카바메이트, 알킬-아릴 카바메이트, 할로겐, 하이드록실 아미노, 알킬 카바제이트 및 아릴 카바제이트로 이루어진 그룹 중에서 선택된 잔기에 의해 부가적으로 임의로 치환될 수 있고;

R^1 은 COR^5 또는 $B(OR)_2$ 이며, R^5 는 H, OH, OR^8, NR^9R^{10}, CF_3, C_2F_5, C_3F_7, CF_2R^6, R^6, COR^7 이고, R^7 은 H, OH, OR^8, CHR^9R^{10} 또는 NR^9R^{10} 이며, R^6, R^8, R^9 및 R^{10} 은 H, 알킬, 아릴, 헤테로알킬, 헤테로아릴, 사이클로알킬, 사이클로알킬, 아릴알킬, 헤테로아릴알킬, $CH(R^{1'})COOR^{11}$, $CH(R^{1'})CONR^{12}R^{13}$, $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})COOR^{11}$, $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})CONR^{12}R^{13}$, $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})R'$, $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})CONHCH(R^{3'})COOR^{11}$, $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})CONHCH(R^{3'})CONR^{12}R^{13}$, $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})CONHCH(R^{3'})CONHCH(R^{4'})COOR^{11}$, $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})CONHCH(R^{3'})CONHCH(R^{4'})CONR^{12}R^{13}$, $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})CONHCH(R^{3'})CONHCH(R^{4'})CONHCH(R^{5'})COOR^{11}$, $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})CONHCH(R^{3'})CONHCH(R^{4'})CONHCH(R^{5'})CONR^{12}R^{13}$ 으로 이루어진 그룹 중에서 독립적으로 선택되며, $R^{1'}$, $R^{2'}$, $R^{3'}$, $R^{4'}$, $R^{5'}$, R^{11}, R^{12}, R^{13} 및 R' 는 H, 알킬, 아릴, 헤테로알킬, 헤테로아릴, 사이클로알킬, 알킬-아릴, 알킬-헤테로아릴, 아릴-알킬 및 헤테로아르알킬로 이루어진 그룹 중에서 독립적으로 선택되고;

Z는 O, N 또는 CH 중에서 선택되며;

W는 존재 또는 부재할 수 있고, W가 존재하는 경우, W는 C=O, C=S, SO_2 또는 C=NR 중에서 선택되며;

Q는 $(NR)_p$, O, S, CH_2, CHR, CRR', 또는 V에 대한 이중 결합이고;

A는 O, CH_2, $(CHR)_p$, $(CHR-CHR')_p$, $(CRR')_p$, NR, S, SO_2, C=O 또는 결합이며;

G는 $(CH_2)_p$, $(CHR)_p$, $(CRR')_p$, NR, O, S, SO_2, $S(O)_2NH$, C=O, 또는 E 또는 V에 대한 이중 결합이며;

V는 CH, CR 또는 N이고;

p는 0 내지 6의 수이고;

R, R', R^2, R^3 및 R^4 는 H; C1-C10 알킬; C2-C10 알케닐; C3-C8 사이클로알킬; C3-C8 헤테로사이클로알킬, 아릴, 알콕시, 아릴옥시, 알킬티오, 아릴티오, 아미노, 아미도, 에스테르, 카복실산, 카바메이트, 우레아, 케톤, 알데히드, 시아노, 니트로; 헤테로아릴; 알킬-아릴; 알킬-헤테로아릴; (사이클로알킬)알킬 및 (헤테로사이클로알킬)알킬[여기서, 상기 사이클로알킬은 3 내지 8개의 탄소 원자, 0 내지 6개의 산소, 질소, 황 또는 인 원자로 만들어지고, 상기 알킬은 탄소수 1 내지 6이다]로 이루어진 그룹 중에서 독립적으로 선택되는데, 상기 알킬, 헤테로알킬, 알케닐, 헤테로알케닐, 아릴, 헤테로아릴, 사이클로알킬 및 헤테로사이클로알킬 잔기는 임의로 치환될 수 있으며, 상기 용어 " 치환된" 이란 알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴, 아르알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클릭, 할로겐, 하이드록시, 티오, 알콕시, 아릴옥시, 알킬티오, 아릴티오, 아미노, 아미도, 에스테르, 카복실산, 카바메이트, 우레아, 케톤, 알데히드, 시아노, 니트로, 설폰아미드, 설폭사이드, 설폰, 설포닐 우레아, 하이드라지드, 하이드록사메이트 및 티오우레아로 이루어진 그룹 중에서 선택된 하나 이상의 잔기에 의해 임의로 적합하게 치환되는 것을 지칭한다.

청구항 2.

제1항에 있어서, R^1 이 COR^5 이고, R^5 가 H, OH, $COOR^8$, $CONR^9R^{10}$ 인 화합물.

청구항 3.

제2항에 있어서, R^1 이 $COCONR^9R^{10}$ 이고, R^9 가 H이며, R^{10} 이 H, $CH(R^{1'})COOR^{11}$, $CH(R^{1'})CONR^{12}R^{13}$, $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})COOR^{11}$, $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})CONR^{12}R^{13}$ 또는 $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})(R')$인 화합물.

청구항 4.

제3항에 있어서, R^{10} 이 $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})COOR^{11}$, $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})CONR^{12}R^{13}$, 또는 $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})(R')$이고, $R^{1'}$ 가 H 또는 알킬이며, $R^{2'}$ 가 페닐, 치환된 페닐, 헤테로 원자-치환된 페닐, 티오페닐, 사이클로헥실, 사이클로펜틸, 사이클로프로필, 피페리딜, 피리딜 및 2-인다닐로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 화합물.

청구항 5.

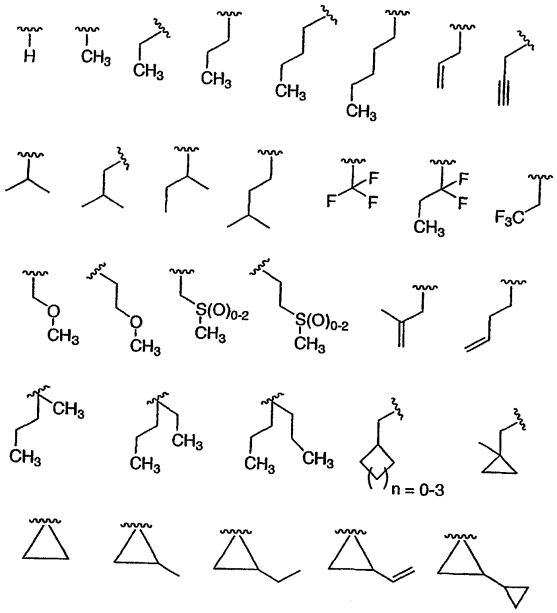
제4항에 있어서, $R^{1'}$ 이 H인 화합물.

청구항 6.

제5항에 있어서, $R^{2'}$ 가 페닐, 티오페닐, 사이클로헥실, 2-인다닐, 사이클로펜틸, 피리딜, 페닐(4-$HNSO_2NH_2$)이고, R^{11} 이 H 또는 3급-부틸이며, R^{12} 및 R^{13} 이 메틸이고, R'이 하이드록시메틸 또는 3급-부톡시메틸인 화합물.

청구항 7.

제1항에 있어서, R^2 가 다음 잔기로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 화합물:



청구항 8.

제7항에 있어서, R^1 이 COR^5 이고, R^5 가 H, OH, $COOR^8$, 또는 $CONR^9R^{10}$ 인 화합물.

청구항 9.

제8항에 있어서, V가 CH인 화합물.

청구항 10.

제9항에 있어서, Q가 NR 또는 O인 화합물.

청구항 11.

제10항에 있어서, G가 CH_2인 화합물.

청구항 12.

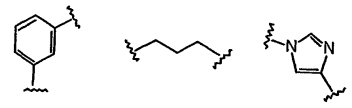
제11항에 있어서, A가 O, NR, CH=CH 또는 CH_2인 화합물.

청구항 13.

제12항에 있어서, E가 알킬, 아릴, 헤테로알킬, 헤테로아릴, 알킬, 아릴 또는 사이클로알킬인 화합물.

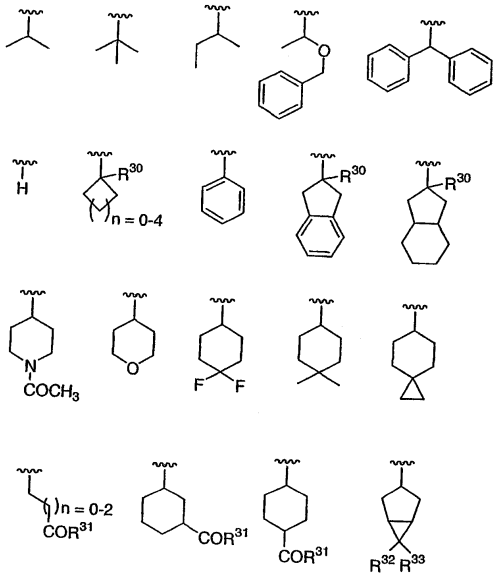
청구항 14.

제13항에 있어서, E가 다음 잔기로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 화합물:



청구항 15.

제14항에 있어서, R^3이 다음 잔기로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 화합물:



상기식에서,

R^{30}은 H, CH_3또는 기타 알킬 그룹이고;

R^{31} 은 OH, 0-알킬, NH_2 또는 N-알킬이며;

R^{32} 및 R^{33} 은 동일하거나 상이할 수 있고, H, F, Cl, Br 및 CH_3 중에서 독립적으로 선택된다.

청구항 16.

제15항에 있어서, Z가 N이고 R^4 가 H인 화합물.

청구항 17.

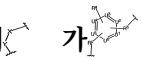
제16항에 있어서, W가 C=O인 화합물.

청구항 18.

제17항에 있어서, 잔기 X-Y가 C1-C10 알킬, 알킬, 사이클로알킬, 헤테로알킬, 아릴알킬, 아릴, 헤테로아릴 및 알킬아릴로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 화합물.

청구항 19.

제18항에 있어서,

잔기  가 인 화합물:

상기식에서,

R^b 는 A에 직접 연결되고; R^c 는 W에 직접 연결되며; U^1 내지 U^6 은 6원 탄소 환을 형성하거나, 또는 하나 이상의 헤테로 원자를 갖는 5원 또는 6원 환을 형성하고;

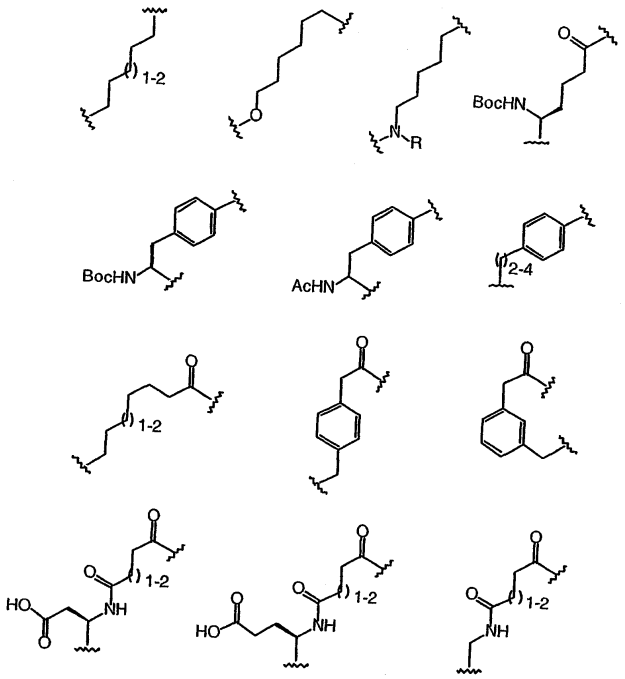
R^a 는 H, 알킬, 알콕시, 하이드록시, 알킬티오, 할로겐, 니트로, 시아노, 카복실산, 에스테르, 아미드, 아미노, 니트릴 또는 CF_3 이며;

R^b 는 결합, C_1 - C_6 알킬, C_2 - C_6 알케닐, C_2 - C_6 알키닐, O, S, SO_2, NH, O(알킬), S(알킬), SO_2(알킬) 또는 N(알킬)이고;

R^c 는 결합, C1-C6 알킬, C2-C6 알케닐, C2-C6 알키닐, O, S, SO_2, NH, O(알킬), S(알킬), SO_2(알킬), N(알킬) 또는 CH_2-N(알킬)인데, CH_2 는 방향족 환에 연결되어 있다.

청구항 20.

제18항에 있어서, 잔기 X-Y가 다음 구조로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 화합물:



청구항 21.

활성 성분으로서 제1항의 화합물을 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 22.

제21항에 있어서, C형 간염 바이러스와 연관된 질환을 치료하는데 사용하기 위한 약제학적 조성물.

청구항 23.

제21항에 있어서, 약제학적으로 허용되는 담체를 부가적으로 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 24.

치료학적 유효량의 제1항의 화합물을 포함하는 약제학적 조성물을, 치료를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하여, HCV 프로테아제와 연관된 질환을 치료하는 방법.

청구항 25.

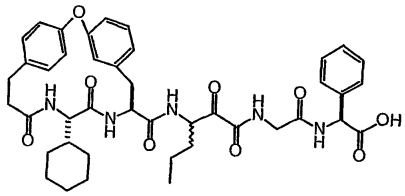
HCV 프로테아제와 연관된 질환을 치료하는 약제를 제조하기 위한, 제1항의 화합물의 용도.

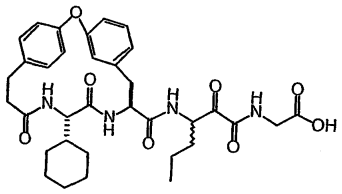
청구항 26.

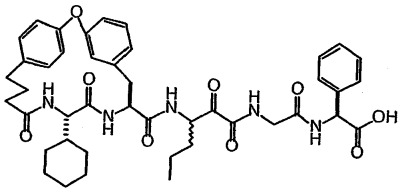
제1항의 화합물과 약제학적으로 허용되는 담체를 친밀하게 접촉시키는 것을 포함하는, HCV 프로테아제와 연관된 질환을 치료하기 위한 약제학적 조성물의 제조 방법.

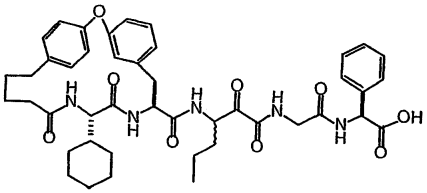
청구항 27.

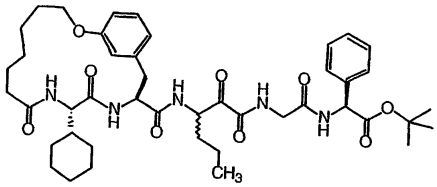
다음에 열거된 구조의 화합물 그룹 중에서 선택된, HCV 프로테아제 억제 활성을 나타내는 화합물, 및 이의 에난티오머, 입체이성체, 로타머, 토토머 및 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물:

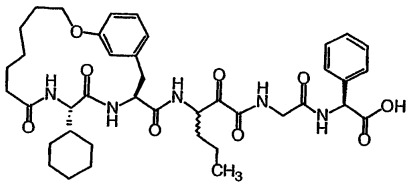


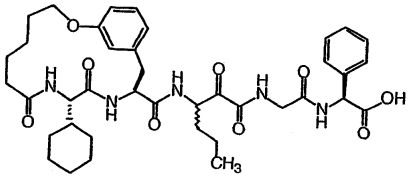


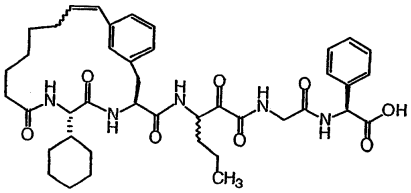


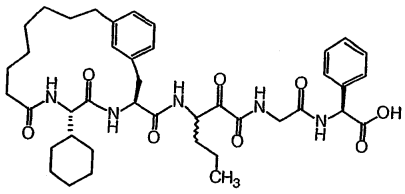


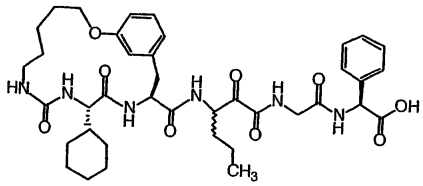


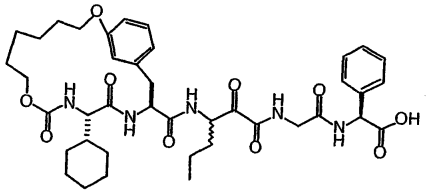


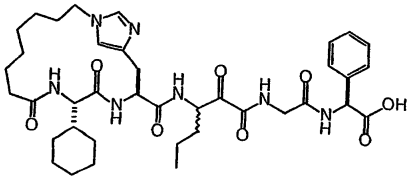


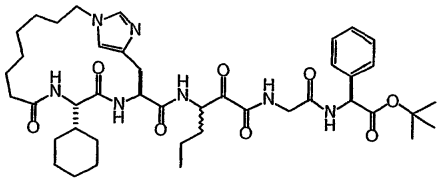


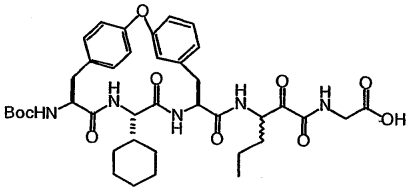


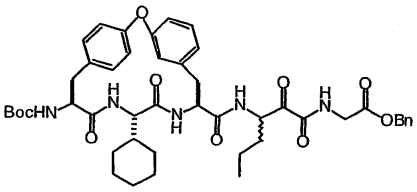


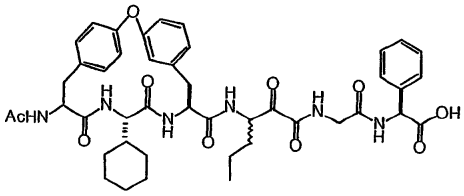


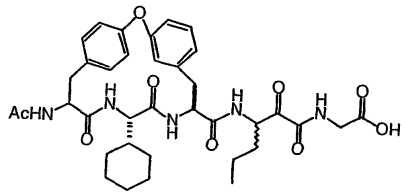


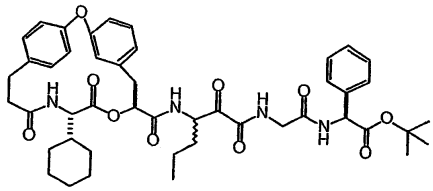


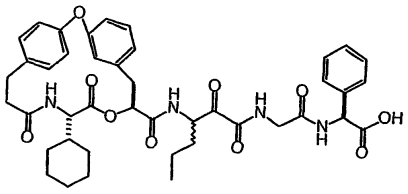


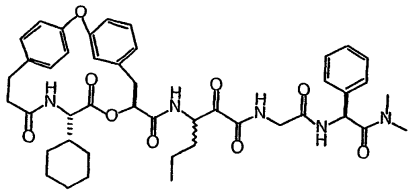


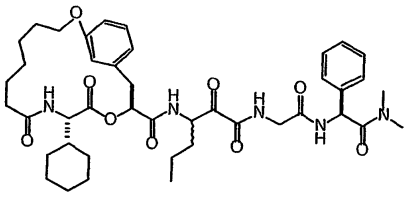


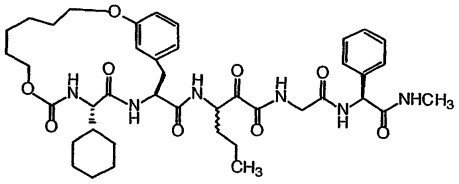


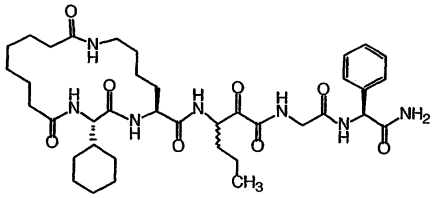


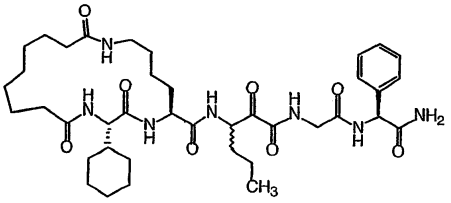


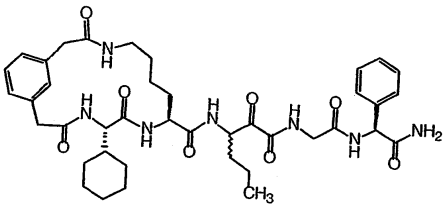


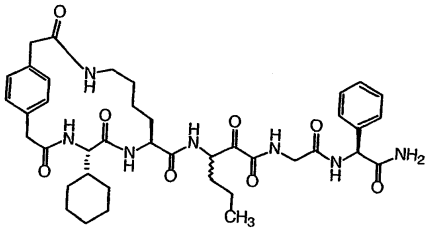


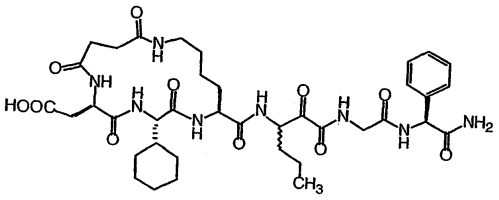


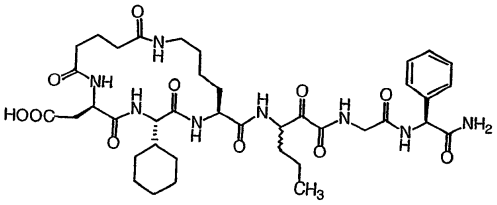


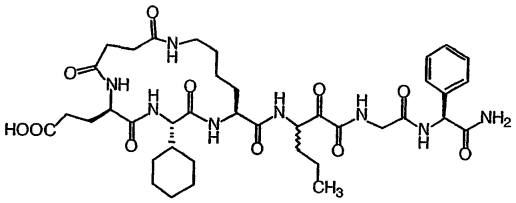


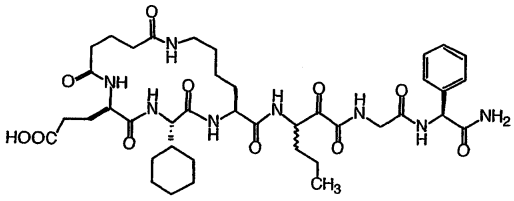


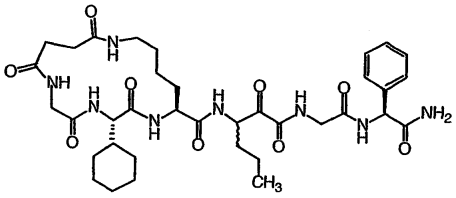


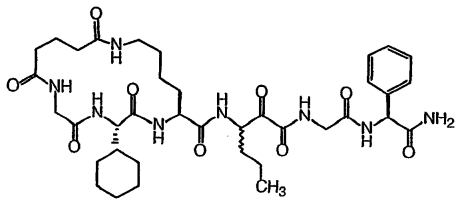












청구항 28.

치료학적 유효량의 제27항의 하나 이상의 화합물과 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는, HCV 프로테아제와 연관된 질환을 치료하기 위한 약제학적 조성물.

청구항 29.

제28항에 있어서, 항바이러스제를 부가적으로 함유하는 약제학적 조성물.

청구항 30.

제28항 또는 제29항에 있어서, 인터페론을 부가적으로 함유하는 약제학적 조성물.

청구항 31.

제30항에 있어서, 상기 항바이러스제가 리바비린이고, 상기 인터페론이 α-인터페론인 약제학적 조성물.