



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2010년03월09일
(11) 등록번호 10-0945975
(24) 등록일자 2010년02월26일

(51) Int. Cl.
C07D 401/12 (2006.01) C07D 403/12 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2007-7029814(분할)
(22) 출원일자 2001년08월31일
심사청구일자 2007년12월20일
(85) 번역문제출일자 2007년12월20일
(65) 공개번호 10-2008-0007515
(43) 공개일자 2008년01월21일
(62) 원출원 특허 10-2003-7002880
원출원일자 2001년08월31일
심사청구일자 2006년08월31일
(86) 국제출원번호 PCT/US2001/026008
(87) 국제공개번호 WO 2002/18369
국제공개일자 2002년03월07일
(30) 우선권주장
60/227,641 2001년03월21일 미국(US)
60/229,398 2000년08월31일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
US19945371072 A1
JP평성09124691 A
전체 청구항 수 : 총 10 항

(73) 특허권자
버텍스 파마슈티칼스 인코포레이티드
미국 매사추세츠주 02139-4242 캠프리지 웨이벌리 스트리트 130
(72) 발명자
베이빈, 로버트, 에드워드
미국 02038 매사추세츠주 프랭클린 콘세타 웨이 19
첸, 슈, 후이
미국 46033 인디애나주 카멜 스노우 아울 드라이브 13256
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
김영, 장수길

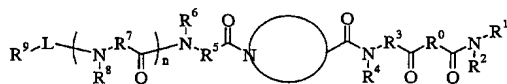
심사관 : 김용

(54) 펩티드유사 프로테아제 억제제

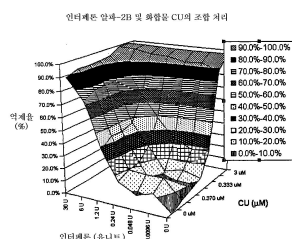
(57) 요약

본 발명은 프로테아제 억제제, 특히 세린 프로테아제 억제제 및 더욱 구체적으로는 C형 간염 NS3 프로테아제 억제제로서 유용한 하기 화학식 1의 펩티드유사 화합물; 그의 중간체; 신규 입체선택적 방법을 포함하는 중간체의 제조 방법에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 제약 조성물, 및 HCV 프로테아제를 억제하거나 HCV 감염 또는 그와 관련된 생리적 증상을 앓는 환자를 치료하기 위해 화합물을 사용하는 방법에 관한 것이다. 또한, 1종 이상의 HCV 세린 프로테아제 억제제 외에, 항-HCV 활성을 나타내는 인터페론 및(또는) 항 HCV 활성을 나타내는 1종 이상의 화합물 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물, 및 상기 조성물을 사용하여 환자에서 HCV 감염증을 치료 또는 예방하는 방법이 제공된다. 또한, 본 발명은 환자에서 HCV 감염증을 치료 또는 예방하기 위한 키트 또는 약제 팩에 관한 것이다.

<화학식 1>



대표도 - 도1



(72) 발명자

라마, 제이슨, 에릭

미국 46218 인디애나주 인디애나폴리스 노쓰 볼튼 애비뉴 2027

스나이더, 낸시, 준

미국 46149 인디애나주 리즈톤 웨스트 850 노쓰 3830

선, 자이첵, 데이비드

미국 80027 콜로라도주 슈페리어 그레이즈 피크 드 라이브 923

테베, 마크, 조우지프

독일 테-22391 함부르크 폴크스도르퍼 베크 32

빅토르, 프란츠

미국 46205 인디애나주 인디애나폴리스 노쓰 텍시도 스트리트4855

왕, 쿤., 메이

미국 46236 인디애나주 인디애나폴리스 문 리버 코우트 12345

있, 이븐느, 예, 메이

미국 46260 인디애나주 인디애나폴리스 배저 드라이브 1441

콜라도, 이반

스페인 28220 마드리드 2씨 씨/산타 바바라 21

가르시아-파레데스, 크리스티나

스페인 28017 마드리드 드카 4 씨/아로요 드 라 엘 리파 1

파커, 레이몬드 사무엘 3세

미국 18901 펜실바니아주 도일스타운 헤일필드 코우트 511

진, 링

미국 46033 인디애나주 카멜 파워 드라이브 3750

구오, 데퀴

미국 46033 인디애나주 카멜 아쿠아 마린 드라이브 5747

글래스, 존, 어빈

미국 46260 인디애나주 인디애나폴리스 브린 마우 드라이브 625

(81) 지정국

국내특허 : 그라나다, 알바니아, 아르메니아, 오스트리아(실용신안포함), 오스트레일리아, 아제르바이잔, 보스니아 헤르체고비나, 바베이도스, 불가리아, 브라질, 벨라루스, 캐나다, 스위스, 쿠바, 체코(실용신안포함), 독일(실용신안포함), 덴마크(실용신안포함), 에스토니아(실용신안포함), 스페인, 핀란드(실용신안포함), 영국, 그루지야, 헝가리, 이스라엘, 아이슬란드, 일본, 케냐, 키르기즈스탄, 북한, 대한민국, 카자흐스탄, 세인트루시아, 스리랑카, 리베이라, 레소토, 리투아니아, 룩셈부르크, 라트비아, 몰도바, 마다가스카르, 마케도니아공화국, 몽고, 말라위, 멕시코, 노르웨이, 뉴질랜드, 슬로베니아, 슬로바키아(실용신안포함), 타지키스탄, 투르크멘, 터어키, 트리니다드토바고, 우크라이나, 우간다, 미국, 우즈베키스탄, 베트남, 폴란드, 포르투갈, 루마니아, 러시아, 수단, 스웨덴, 싱가포르, 아랍에미리트, 안티구와바부다, 코스타리카, 도미니카, 알제리, 모로코, 탄자니아, 남아프리카, 벨리즈, 모잠비크, 에쿠아도르, 필리핀, 가나, 감비아, 크로아티아, 인도네시아, 인도, 시에라리온, 세르비아 앤 몬테네그로, 짐바브웨, 콜롬비아, 중국

AP ARIPO특허 : 케냐, 레소토, 말라위, 수단, 스와질랜드, 우간다, 시에라리온, 가나, 감비아, 짐바브웨, 모잠비크, 탄자니아

EA 유라시아특허 : 아르메니아, 아제르바이잔, 벨라루스, 키르기즈스탄, 카자흐스탄, 몰도바, 러시아, 타지키스탄, 투르크멘

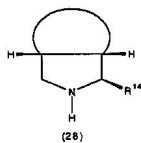
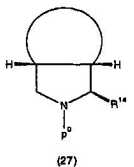
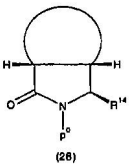
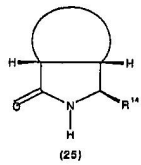
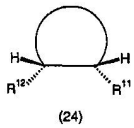
EP 유럽특허 : 오스트리아, 벨기에, 스위스, 독일, 덴마크, 스페인, 프랑스, 영국, 그리스, 아일랜드, 이탈리아, 룩셈부르크, 모나코, 네덜란드, 포르투갈, 스웨덴, 핀란드, 사이프러스, 터어키

OA OAPI특허 : 부르키나파소, 베닌, 중앙아프리카, 콩고, 코트디부아르, 카메룬, 가봉, 기니, 말리, 모리타니, 니제르, 세네갈, 차드, 토고, 기니 비사우, 적도 기니

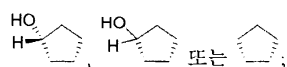
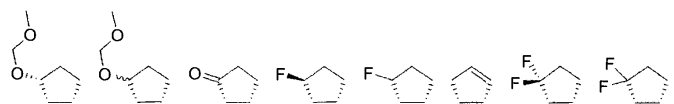
특허청구의 범위

청구항 1

- (a) 하기 화학식 24의 화합물을 분할 및 고리화 조건 하에서 분할하고 고리화하여 화학식 25의 화합물을 형성하는 단계,
- (b) 화학식 25의 화합물에서 락탐 잔기의 질소를 아미드 보호기로 보호하여 화학식 26의 화합물을 형성하는 단계,
- (c) 화학식 26의 화합물을 환원 조건 하에서 환원하여 화학식 27의 화합물을 형성하는 단계, 및
- (d) 화학식 27의 화합물을 탈보호 조건 하에서 탈보호하여 화학식 28의 화합물을 형성하는 단계를 포함하는 화학식 28의 키랄 비시클로프로폴리네이트 화합물의 제조 방법.



상기 화학식 24, 25, 26, 27 및 28에서,



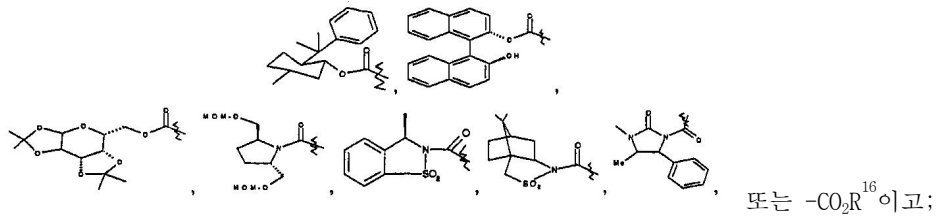
이고,

R^{11} 은 $-CO_2R^{13}$ 이고;

R^{12} 는 이민 글리신이미드 유도체 어덕트이고;

R^{13} 은 산 보호기 또는 치환될 수 있는 지방족 기이고;

R^{14} 은 $-CONR^{15}R^{15}$, $-CN$,



R^{15} 은 치환될 수 있는 지방족 기이고;

R^{16} 은 산 보호기, 치환될 수 있는 아릴 또는 치환될 수 있는 지방족 기이고;

p^o 는 아마이드 보호기이다.

청구항 2

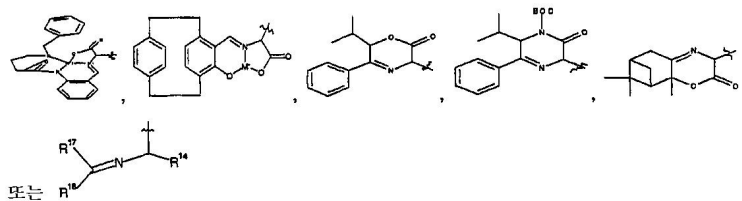
제1항에 있어서,

치환될 수 있는 지방족 기가 1개 이상의 지방족 치환기로 치환될 수 있는 알킬, 알케닐 또는 알키닐이고;

치환될 수 있는 아릴이 1개 이상의 고리 치환기로 치환될 수 있는 탄소 원자수 6 내지 14의 방향족 모노시클릭 또는 멀티시클릭 고리계를 의미하고;

치환될 수 있는 시클로알킬이 1개 이상의 고리 치환기로 치환될 수 있는 탄소 원자수 3 내지 10의 비-방향족 모노- 또는 멀티시클릭 고리계를 의미하고;

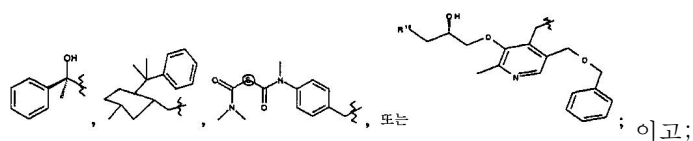
치환될 수 있는 융합 아릴시클로알킬이 1개 이상의 고리 치환기로 치환될 수 있는 융합 아릴시클로알킬을 의미하고; 이민 글리신이미드 유도체 어덕트가



{상기 식에서,

R^{16} 은 산 보호기, 치환될 수 있는 아릴 또는 치환될 수 있는 지방족 기이고;

R^{17} 은 치환될 수 있는 아릴, 치환될 수 있는 지방족 기,



R^{18} 은 수소, 알킬 또는 알킬티오; 또는 치환될 수 있는 아릴이고,

R^{17} 및 R^{18} 은 R^{17} 및 R^{18} 이 부착되어 있는 탄소 원자와 함께



, 또는 ; 를 형성하며;

⑤는 고체상임}로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물이며;

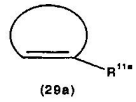
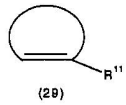
여기서,

(a) 고리 치환기는 방향족 또는 비-방향족 고리계에 부착된 치환기를 의미하며, 아릴, 헤테로아릴, 히드록시, 알콕시, 시클릴옥시, 아릴옥시, 헤테로아릴옥시, 아실 또는 그의 티옥소 동족체, 시클릴카르보닐 또는 그의 티옥소 동족체, 아로일 또는 그의 티옥소 동족체, 헤테로아로일 또는 그의 티옥소 동족체, 아실옥시, 시클릴카르보닐옥시, 아로일옥시, 헤테로아로일옥시, 할로, 니트로, 시아노, 카르복시(산), $-C(O)-NHOH$, $-C(O)-CH_2OH$, $-C(O)CH_2SH$, $-C(O)-NH-CN$, 술포, 포스포노, 알킬술포닐카르바모일, 테트라졸릴, 아릴술포닐카르바모일, N-메톡시카르바모일, 헤테로아릴술포닐카르바모일, 3-히드록시-3-시클로부텐-1,2-디온, 3,5-디옥소-1,2,4-옥사디아졸리디닐 또는 히드록시헤테로아릴, 예를 들어 3-히드록시이속사졸릴, 3-히드록시-1-메틸피라졸릴, 알콕시카르보닐, 시클릴옥시카르보닐, 아릴옥시카르보닐, 헤테로아릴옥시카르보닐, 알킬술포닐, 시클릴술포닐, 아릴술포닐, 헤테로아릴술포닐, 알킬술포닐, 시클릴술포닐, 아릴술포닐, 헤테로아릴술포닐, 알킬티오, 시클릴티오, 아릴티오, 헤테로아릴티오, 시클릴, 아릴디아조, 헤테로아릴디아조, 티올, Y^1Y^2N- , $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ 또는 $Y^1Y^2NSO_2-$ (여기서, Y^1 , Y^2 및 Y^3 는 독립적으로 수소, 알킬, 아릴 또는 헤테로아릴이거나, 치환기가 Y^1Y^2N- 인 경우, Y^1 과 Y^2 중 하나는 본원에서 정의된 바와 같은 아실, 시클릴카르보닐, 아로일, 헤테로아로일, 알콕시카르보닐, 시클릴옥시카르보닐, 아릴옥시카르보닐 또는 헤테로아릴옥시카르보닐이고, Y^1 과 Y^2 중 다른 하나는 상기 정의된 바와 같거나, 또는 치환기가 $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ 또는 $Y^1Y^2NSO_2-$ 인 경우, Y^1 및 Y^2 는 N 원자와 함께 연결되어 4원 내지 7원 아자헤테로시클릴 또는 아자헤테로시클레닐을 형성할 수도 있음)이 포함되고, 고리계가 포화 또는 부분 포화된 경우, 고리 치환기에는 메틸렌($H_2C=$), 옥소($O=$) 및 티옥소($S=$)가 추가로 포함되고;

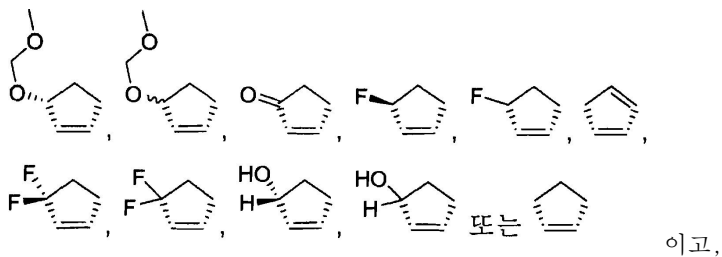
(b) 지방족 치환기는 아릴, 헤테로아릴, 히드록시, 알콕시, 시클릴옥시, 아릴옥시, 헤테로아릴옥시, 아실 또는 그의 티옥소 동족체, 시클릴카르보닐 또는 그의 티옥소 동족체, 아로일 또는 그의 티옥소 동족체, 헤테로아로일 또는 그의 티옥소 동족체, 아실옥시, 시클릴카르보닐옥시, 아로일옥시, 헤테로아로일옥시, 할로, 니트로, 시아노, 카르복시(산), $-C(O)-NHOH$, $-C(O)CH_2OH$, $-C(O)-CH_2SH$, $-C(O)-NH-CN$, 술포, 포스포노, 알킬술포닐카르바모일, 테트라졸릴, 아릴술포닐카르바모일, N-메톡시카르바모일, 헤테로아릴술포닐카르바모일, 3-히드록시-3-시클로부텐-1,2-디온, 3,5-디옥소-1,2,4-옥사디아졸리디닐 또는 히드록시헤테로아릴, 예를 들어 3-히드록시이속사졸릴, 3-히드록시-1-메틸피라졸릴, 알콕시카르보닐, 시클릴옥시카르보닐, 아릴옥시카르보닐, 헤테로아릴옥시카르보닐, 알킬술포닐, 시클릴술포닐, 아릴술포닐, 헤테로아릴술포닐, 알킬술포닐, 시클릴술포닐, 아릴술포닐, 헤테로아릴술포닐, 알킬티오, 시클릴티오, 아릴티오, 헤테로아릴티오, 시클릴, 아릴디아조, 헤테로아릴디아조, 티올, 메틸렌($H_2C=$), 옥소($O=$), 티옥소($S=$), Y^1Y^2N- , $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$, $Y^1Y^2NSO_2-$ 또는 $Y^3SO_2NY^1-$ (여기서, R^2 는 본원에서 정의된 바와 같고, Y^1 및 Y^2 는 독립적으로 수소, 알킬, 아릴 또는 헤테로아릴이고, Y^3 는 알킬, 시클로알킬 아릴 또는 헤테로아릴이거나, 치환기가 Y^1Y^2N- 인 경우, Y^1 및 Y^2 중 하나는 본원에서 정의된 바와 같은 아실, 시클릴카르보닐, 아로일, 헤테로아로일, 알콕시카르보닐, 시클릴옥시카르보닐, 아릴옥시카르보닐 또는 헤테로아릴옥시카르보닐일 수 있고, Y^1 및 Y^2 중 다른 하나는 상기 정의된 바와 같거나, 또는 치환기가 $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ 또는 $Y^1Y^2NSO_2-$ 인 경우, Y^1 및 Y^2 는 또한 N 원자와 함께 연결되어 4원 내지 7원 아자헤테로시클릴 또는 아자헤테로시클레닐을 형성할 수 있음)을 의미하는 것인 방법.

청구항 3

제2항에 있어서, 하기 화학식 29의 화합물 (화학식 29의 화합물은 하기 화학식 29a의 화합물을 에스테르화하여 제조할 수 있음)에 이민 글리신이미드 화합물로 미하엘(Michael) 부가반응을 수행하여 상기 화학식 24의 화합물을 제조하는 단계를 추가로 포함하는 방법.



상기 식에서,



R^{11a} 는 $-CHO$, $-COR^{15}$, $-C\equiv N$ 또는 $-CONR^{15}R^{15}$ 이다.

청구항 4

제3항에 있어서, 0 °C 내지 -78 °C의 온도에서 수행하는 방법.

청구항 5

제4항에 있어서, -60 °C에서 수행하는 방법.

청구항 6

제5항에 있어서, 키랄상 전이 촉매에 의해 촉매화되는 방법.

청구항 7

제5항에 있어서, 비키랄상 전이 촉매에 의해 촉매화되는 방법.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 보호기가 BOC인 방법.

청구항 9

제8항에 있어서, 이민 글리신이미드가 (N-디페닐메틸렌)글리신 tert-부틸 에스테르인 방법.

청구항 10

제8항에 있어서, 화학식 29의 화합물이 1-카르복시-1-시클로펜텐 메틸 에스테르인 방법.

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

청구항 85

삭제

청구항 86

삭제

청구항 87

삭제

청구항 88

삭제

청구항 89

삭제

청구항 90

삭제

청구항 91

삭제

청구항 92

삭제

청구항 93

삭제

청구항 94

삭제

청구항 95

삭제

청구항 96

삭제

청구항 97

삭제

청구항 98

삭제

청구항 99

삭제

청구항 100

삭제

청구항 101

삭제

청구항 102

삭제

청구항 103

삭제

청구항 104

삭제

청구항 105

삭제

청구항 106

삭제

청구항 107

삭제

청구항 108

삭제

청구항 109

삭제

청구항 110

삭제

청구항 111

삭제

청구항 112

삭제

청구항 113

삭제

청구항 114

삭제

청구항 115

삭제

청구항 116

삭제

청구항 117

삭제

청구항 118

삭제

청구항 119

삭제

청구항 120

삭제

청구항 121

삭제

청구항 122

삭제

청구항 123

삭제

청구항 124

삭제

청구항 125

삭제

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

- [0016] 본 발명은 펩티드유사 화합물 및 그의 중간체, 입체 선택적 합성 방법을 포함하는 중간체의 제조 방법, 펩티드유사 화합물을 포함하는 제약 조성물, 및 프로테아제 억제제, 특히 세린 프로테아제 억제제, 및 더욱 특히 C형 간염 바이러스 ("HCV") NS3 프로테아제 억제제로서의 펩티드유사 화합물 또는 이의 조성물의 용도에 관한 것이다. HCV NS3 프로테아제 억제제로서의 펩티드유사 화합물은 C형 간염 바이러스의 생활 주기를 간섭하고, HCV 감염 또는 이와 관련된 생리적 증상을 치료 또는 예방하는데 특히 유용하다. 또한, 본 발명은 펩티드유사 화합물 또는 제약 조성물 또는 이의 키트 및 약제 팩(pack)을 사용하여 세포에서 HCV 복제를 억제하거나, 환자에서 HCV 감염증을 치료 또는 예방하기 위한 조합 치료의 방법에 관한 것이다. 본 발명에 따라 제약 조성물로 포함되는 것은 항-HCV 활성을 갖는 인터페론과 함께 HCV 세린 프로테아제의 억제제를 포함하는 조성물; 인터페론 외의 항-HCV 활성을 갖는 화합물과 함께 HCV 세린 프로테아제 억제제를 포함하는 조성물; 또는 항-HCV 활성을 갖는 인터페론과 인터페론 외의 항-HCV 활성을 갖는 화합물 모두와 함께 HCV 세린 프로테아제의 억제제를 포함하는 조성물이다. 또한, 본 발명은 펩티드유사 화합물의 합성에 유용한 키랄 비시클로프롤리네이트 중간체를 제조하는 입체 선택적 방법에 관한 것이다.
- [0017] <배경기술>
- [0018] HCV에 의한 감염은 어쩔 수 없는 인간의 의료 문제이며, 현재 비-A형, 비-B형 간염의 대부분의 경우에서 병원체로서 인식되고 있다.
- [0019] 세계 인구의 3 %가 HCV에 만성적으로 감염되는 것으로 생각된다 [A. Alberti et al., "Natural History of Hepatitis C," J. Hepatology, 31, (Suppl. 1), 17-24 (1999)]. 미국에서만, 감염율이 1.8 % 또는 390만명에 달한다 [M.J. Alter, "Hepatitis C Virus Infection in the United States," J. Hepatology, 31, (Suppl. 1), 88-91 (1999)]. 감염된 모든 환자의 70 %에서 간경변 및 간세포암종의 주요 원인이 되는 것으로 생각되는 만성 감염이 발병된다 [D. Lavanchy, "Global Surveillance and Control of Hepatitis C," J. Viral Hepatitis, 6, 35-47 (1999)].
- [0020] HCV의 복제는 아미노산 3010 내지 3033의 다단백질의 유전자 인코딩을 포함한다 [Q.-L. Choo, et al., "Genetic Organization and Diversity of the Hepatitis C Virus", Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88, 2451-2455 (1991); N. Kato et al., "Molecular Cloning of the Human Hepatitis C Virus Genome From Japanese Patients with Non-A, Non-B Hepatitis", Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87, 9524-9528 (1990); A. Takamizawa et al., "Structure and Organization of the Hepatitis C Virus Genome Isolated From Human Carriers", J. Virol., 65, 1105-1113 (1991)]. HCV 비구조(NS) 단백질은 바이러스 복제에 필수적인 촉매적 기구를 제공하는 것으로 추정된다. NS 단백질은 다단백질의 단백질분해성 분할에 의해 유도된다 [R. Bartenschlager et al., "Nonstructural Protein 3 of the Hepatitis C Virus Encodes a Serine-Type Proteinase Required for Cleavage at the NS3/4 and NS4/5 Junctions", J. Virol., 67, 3835-3844 (1993); A. Grakoui et al., "Characterization of the Hepatitis C Virus-Encoded Serine Proteinase: Determination of Proteinase-Dependent Polyprotein Cleavage Sites", J. Virol., 67, 2832-2843 (1993); A. Grakoui et al., "Expression and Identification of Hepatitis C Virus Polyprotein Cleavage Products", J. Virol., 67, 1385-1395 (1993); L. Tomei et al., "NS3 is a serine protease required for processing of hepatitis C virus polyprotein", J. Virol., 67, 4017-4026 (1993)]. 실제로, NS3의 맨처음 181개의 아미노산 (바이러스 다단백질의 잔기 1027 내지 1207)이 HCV 다단백질에서 4개의 하류 부위 모두를 포함하는 NS3의 세린 프로테아제 도메인을 함유하는 것으로 나타났다 [C. Lin et al., "Hepatitis C Virus NS3 Serine Proteinase: Trans-Cleavage

Requirements and Processing Kinetics", J. Virol., 68, 8147-8157 (1994)].

[0021] HCV NS 단백질 3 (NS3)는 대부분의 바이러스 효소의 처리를 도와 그 결과 바이러스 복제 및 감염능에 필수적인 것으로 생각되는 세린 프로테아제 활성을 함유한다. NS3 프로테아제의 본질은 황열병 바이러스 NS3 프로테아제에서의 돌연변이가 바이러스 감염능을 감소시킨다는 사실로부터 추측된다 [T.J. Chambers et al., "Evidence that the N-terminal Domain of Nonstructural Protein NS3 From Yellow Fever Virus is a Serine Protease Responsible for Site-Specific Cleavages in the Viral Polyprotein", Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87, 8898-8902 (1990)]. 좀더 최근에, HCV NS3 프로테아제의 활성 부위에서의 돌연변이가 침팬지 모델에서 HCV 감염을 완전하게 없앨 수 있는 것으로 설명되었다 [C.M. Rice et al. "Hepatitis C virus-encoded enzymatic activities and conserved RNA elements in the 3'-nontranslated region are essential for virus replication in vivo. "J. Virol., 74(4) 2046-51 (2000)]. 또한, HCV NS3 세린 프로테아제는 프로테아제로서 및 모든 바이러스 효소의 처리를 돕는 그와 관련된 보조인자인 NS4A로서 바이러스 복제에 필수적인 것으로 생각된다. 이러한 처리는 인간 면역결핍 바이러스("HIV") 아스파틸 프로테아제에 의해 수행되는 것과 유사한 것으로 나타났다. 또한, 인간에게 효능있는 항바이러스제로서의 HIV 프로테아제 억제제의 용도는 바이러스의 생활 주기에서 프로테아제 단백질 처리 단계를 중단시켜 치료 활성제가 얻어지는 것으로 설명된다. 따라서, 프로테아제 효소는 약물 발견을 위한 흥미있는 목표가 된다.

[0022] 다수의 가능한 HCV 프로테아제 억제제가 개시되었다. PCT 공개 번호 WO 00/09558, WO 00/09543, WO 99/64442, WO 99/07733, WO 99/07734, WO 99/50230, WO 98/46630, WO 98/17679 및 WO 97/43310, 미국 특허 제5,990,276 호, 문헌[M. Llinas-Brunet et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 8, 1713-1718 (1998); W. Han et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 10, 711-713 (2000); R. Dunsdon et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 10, 1571-1579 (2000); M. Llinas-Brunet et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 10, 2267-2270 (2000); 및 S. LaPlante et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 10, 2271-2274 (2000)] 각각에서 가능한 HCV NS3 프로테아제 억제제를 개시하고 있다. 불행하게도, 항-HCV제로서 현재 사용가능한 세린 프로테아제 억제제는 개시되어 있지 않다.

[0023] 실제로, 인터페론- α , 인터페론- α /리바비린(ribavirin) 조합 및 좀더 최근에는 페길화 인터페론- α 외에는 항-HCV 치료제가 없다. 그러나, 인터페론- α 치료 및 인터페론- α /리바비린에 대한 지속되는 반응 속도는 비교적 낮고 (50 % 미만), 치료에 따른 부작용도 비교적 현저하고 심각하다 [M.A. Walker, "Hepatitis C Virus: an Overview of Current Approaches and Progress, "DDT, 4, 518-529 (1999); D. Moradpour et al., "Current and Evolving Therapies for Hepatitis C," Eur. J. Gastroenterol. Hepatol., 11, 1199-1202 (1999); H.L.A. Janssen et al., "Suicide Associated with Alfa-Interferon Therapy for Chronic Viral Hepatitis," J. Hepatol., 21, 241-243 (1994); and P.F. Renault et al., "Side effects of alpha interferon", Seminars in Liver Disease 9, 273-277, (1989)]. 또한, 인터페론 치료는 일부의 경우에서만 (~ 25 %) 오랜 기간에 걸쳐 완화된 뿐이다 [O. Weiland, "Interferon Therapy in Chronic Hepatitis C Virus Infection", FEMS Microbiol. Rev., 14, 279-288 (1994)]. 인터페론- α 치료에 관한 상기 문제점들은 개선된 항-HCV 치료제로서 페길화 유도된 인터페론- α 화합물의 개발 및 임상적 연구에 이르게 하였다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

[0024] 항-HCV 치료제에 관한 현재 상황에 있어서, 좀더 효과적이고 내성이 우수한 치료제가 요구된다.

[0025] 또한, 복잡한 펩티드유사 화합물의 합성은 대부분의 유기 합성 방법의 비입체선택적 성질에 의해 오랫동안 방해되었다. 펩티드유사 화합물 거울상이성질체의 치료 활성이 광범위하게 변하는 것으로 잘 알려져 있다. 따라서, 이러한 입체특이적 합성 방법을 제공하는데 큰 이득이 된다.

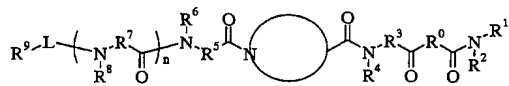
[0026] 본 발명의 치료를 위한 펩티드유사 프로테아제 억제제의 합성에 유용한 키랄 특이성 비시클로프로필리네이트 중간체를 합성하려는 이전의 시도들은 비-거울상선택적이거나 부분입체선택적이거나, 합성 경로가 오래 지속되거나, 또는 다량의 생물물 제조에는 부적합하기 때문에 문제가 되었다. 따라서, 부분입체선택적 방법 및 거울상 이성질체가 풍부한 형태로 다량의 비시클로프로필리네이트를 제조하는 방법이 또한 요구된다.

발명의 구성 및 작용

[0027] <발명의 개요>

[0028] 본 발명은 하기 화학식 1의 펩티드유사 화합물 또는 제약상 허용되는 그의 염 또는 프리드릭, 또는 이러한 화합물의 용매화물, 그의 염 또는 그의 프리드릭에 관한 것이다.

화학식 1



[0029]

[0030]

[0031]

[0032]

[0033]

[0034]

[0035]

[0036]

[0037]

[0038]

[0039]

[0040]

[0041]

[0042]

[0043]

[0044]

[0045]

[0046]

상기 식에서,

R^0 는 결합이거나 디플루오로메틸렌이고;

R^1 은 수소, 임의로 치환되는 지방족 기, 임의로 치환되는 시클릭 기 또는 임의로 치환되는 방향족 기이고;

R^2 및 R^9 은 각각 독립적으로 임의로 치환되는 지방족 기, 임의로 치환되는 시클릭 기 또는 임의로 치환되는 방향족 기이고;

R^3 , R^5 및 R^7 은 각각 독립적으로 (임의로 치환되는 지방족 기, 임의로 치환되는 시클릭 기 또는 임의로 치환되는 방향족 기) (임의로 치환되는 메틸렌 또는 임의로 치환되는 에틸렌), 임의로 치환되는 (1,1- 또는 1,2-)시클로알킬렌 또는 임의로 치환되는 (1,1- 또는 1,2-)헤테로시클릴렌이고;

R^4 , R^6 , R^8 및 R^{10} 은 각각 독립적으로 수소 또는 임의로 치환되는 지방족 기이고;

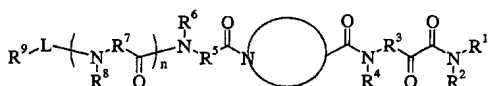
는 치환된 모노시클릭 아자헤테로시클릴, 임의로 치환되는 멀티시클릭 아자헤테로시클릴 또는 임의로 치환되는 멀티시클릭 아자헤테로시클레닐이며; 여기서 불포화는 $R^9-L-(N(R^8)-R^7-C(O)-)_n(R^6)-R^5-C(O)-N$ 잔기를 보유하며 $-C(O)-N(R^4)-R^3-C(O)C(O)NR^2R^1$ 잔기가 부착된 고리에서 떨어져 있는 바깥쪽 고리에 존재하고;

L은 $-C(O)-$, $-OC(O)-$, $-NR^{10}C(O)-$, $-S(O)_2-$ 또는 $-NR^1S(O)_2-$ 이고;

n은 0 또는 1이며;

단, 이 치환된 이면, L이 $-OC(O)-$ 이고, R^9 은 임의로 치환되는 지방족 기이거나; R^3 , R^5 및 R^7 중 적어도 하나가 (임의로 치환되는 지방족 기, 임의로 치환되는 시클릭 기 및 임의로 치환되는 방향족 기) (임의로 치환되는 에탄디일)이거나; R^4 는 임의로 치환되는 지방족 기이다.

또한, 본 발명은 하기 화학식의 화합물 또는 제약상 허용되는 그의 염 또는 프로드럭, 또는 이러한 화합물의 용매화물, 그의 염 또는 그의 프로드럭을 제공한다.



상기 식에서,

R^1 은 수소, 임의로 치환되는 지방족 기, 임의로 치환되는 시클릭 기 또는 임의로 치환되는 방향족 기이고;

R^2 및 R^9 은 각각 독립적으로 임의로 치환되는 지방족 기, 임의로 치환되는 시클릭 기 또는 임의로 치환되는 방향족 기이고;

R^3 , R^5 및 R^7 은 각각 독립적으로 (임의로 치환되는 지방족 기, 임의로 치환되는 시클릭 기 또는 임의로 치환되는 방향족 기) (임의로 치환되는 메탄디일 또는 임의로 치환되는 에탄디일)이고;

R^4 , R^6 , R^8 및 R^{10} 은 각각 독립적으로 수소 또는 임의로 치환되는 지방족 기이고;

[0047]

는 치환된 모노시클릭 아자헥테로시클릴, 임의로 치환되는 멀티시클릭 아자헥테로시클릴 또는 임의로 치환되는 멀티시클릭 아자헥테로시클레닐이며; 여기서, 불포화는 $R^9-L-(N(R^8)-R^7-C(O)-)_nN(R^6)-R^5-C(O)-N$ 잔기를 보유하며 $-C(O)-N(R^4)-R^3-C(O)C(O)NR^2R^1$ 잔기가 부착된 고리에서 떨어져 있는 바깥쪽 고리에 존재하고;

[0048]

L은 $-C(O)-$, $-OC(O)-$, $-NR^{10}C(O)-$, $-S(O)_2-$ 또는 $-NR^{10}S(O)_2-$ 이고;

[0049]

n은 0 or 1이며;

[0050]

단, 이 치환된 이면, L이 $-OC(O)-$ 이고, R^9 은 임의로 치환되는 지방족 기이거나; R^3 , R^5 및 R^7 중 적어도 하나가 (임의로 치환되는 지방족 기, 임의로 치환되는 시클릭 기 및 임의로 치환되는 방향족 기) (임의로 치환되는 에탄디일)이거나; R^4 는 임의로 치환되는 지방족 기이다.

[0051]

본 발명은 화학식 1의 화합물을 포함하는 제약 조성물, 및 화학식 1의 화합물을 HCV 프로테아제 억제, 또는 환자에서 HCV 감염 또는 그와 관련된 생리적 증상의 치료 또는 예방에 사용하는 방법에 관한 것이다.

[0052]

또한, 본 발명은 화학식 1의 화합물의 제조에 유용한 중간체인 키랄 비시클로프로필리네이트 화합물을 제조하기 위한 입체선택적 방법에 관한 것이다. 합성 방법은

[0053]

(a) 하기 화학식 24의 화합물을 분할 및 고리화 조건 하에서 분할하고 고리화하여 화학식 25의 화합물을 형성하는 단계,

[0054]

(b) 화학식 25의 화합물에서 락탐 잔기의 질소를 아미드 보호기로 보호하여 화학식 26의 화합물을 형성하는 단계,

[0055]

(c) 화학식 26의 화합물을 환원 조건 하에서 환원하여 화학식 27의 화합물을 형성하는 단계, 및

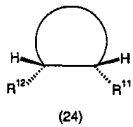
[0056]

(d) 화학식 27의 화합물을 탈보호 조건 하에서 탈보호하여 화학식 28의 화합물을 형성하는 단계

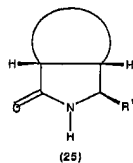
[0057]

를 포함한다.

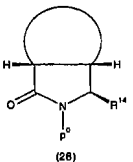
[0058]



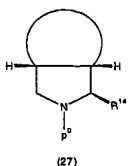
[0059]

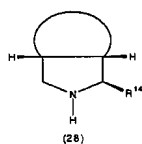


[0060]



[0061]





[0062]

[0063]

상기 식에서,

[0064]

는 임의로 치환되는 시클로알킬 또는 임의로 치환되는 융합 아릴시클로알킬이고;

[0065]

R^{11} 는 $-CO_2R^{13}$ 이고;

[0066]

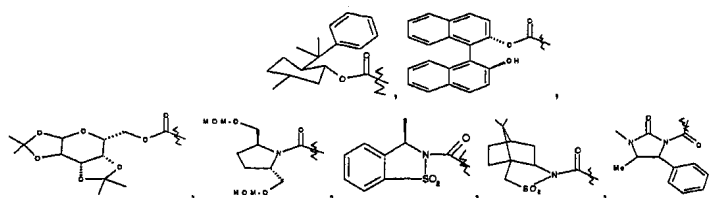
R^{12} 는 이민 글리신이미드 어택트이고;

[0067]

R^{13} 은 산 보호기 또는 임의로 치환되는 지방족 기이고;

[0068]

R^{14} 은 $-CONR^{15}R^{15}$, $-CN$,



[0069]

또는 $-CO_2R^{16}$ 이고;

[0070]

R^{15} 은 임의로 치환되는 지방족 기이고;

[0071]

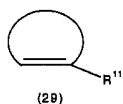
R^{16} 은 산 보호기, 임의로 치환되는 아릴 또는 임의로 치환되는 지방족 기이고;

[0072]

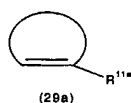
p^o는 아마이드 보호기이다.

[0073]

또한, 본 발명은 하기 화학식 29의 화합물 (화학식 29의 화합물은 하기 화학식 29a의 화합물을 에스테르화하여 제조할 수 있음)에 이민 글리신이미드 화합물로 미카엘 부가(Michael addition) 반응을 수행하여 상기 화학식 24의 화합물을 제조하는 단계를 추가로 포함하는 상기 합성 방법에 관한 것이다.



[0074]



[0075]

[0076]

상기 식에서,

[0077]

은 임의로 치환되는 시클로알케닐 또는 임의로 치환되는 융합 아릴시클로알케닐이고;

[0078]

R^{11} 은 $-CO_2R^{13}$ 이고;

[0079]

R^{11a} 는 $-CHO$, $-COR^{15}$, $-C\equiv N$ 또는 $-CONR^{15}R^{15}$ 이고;

[0080]

R^{15} 는 본원에서 정의된 바와 같다.

[0081]

명백하게, 당업자는 케톤에서 에스테르로의 전환반응이 예를 들어, 바이에르-빌리거 (Bayer-Villiger) 반응에 의해 달성될 수 있다는 것을 알 것이다. 니트릴 및 아마이드에서 에스테르로의 전환반응은 예를 들어, 수성 가수 분해에 이은 추가의 에스테르화반응으로 달성될 수 있다. 알데히드에서 에스테르로의 전환반응은 예를 들어,

알데히드의 산화에 이은 에스테르화반응으로 달성될 수 있다.

- [0082] 본 발명의 다른 측면은 치환기가 본원에 정의된 바와 같은 바람직하거나 구체적인 실시양태의 조합으로부터 선택되는 화학식 1의 화합물이다.

[0083] 본 발명의 다른 측면은 치환기가 본원에 정의된 바와 같은 바람직하거나 구체적인 실시양태의 조합으로부터 선택되는 화학식 24 내지 29의 화합물이다.

[0084] 본 발명의 다른 측면은 1종 이상의 HCV 세린 프로테아제 억제제 외에, 1종 이상의 인터페론 또는 항-HCV 활성을 나타내는 인터페론의 생성을 유도하는 화합물, 및(또는) HCV 항바이러스 활성을 나타내는 면역자극의 시토킨과 같은 면역조절 화합물을 비롯한 항 HCV 활성을 갖는 1종 이상의 화합물, 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물이다.

[0085] 본 발명의 다른 측면은 1종 이상의 HCV 세린 프로테아제 억제제; 1종 이상의 인터페론 또는 항-HCV 활성을 나타내는 인터페론의 생성을 유도하는 화합물; 및(또는) HCV 항바이러스 활성을 나타내는 면역자극의 시토킨과 같은 면역조절 화합물을 비롯한 항-HCV 활성을 갖는 1종 이상의 화합물 조합의 치료 유효량을 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 치료를 필요로 하는 환자에서 HCV 감염증을 치료 또는 예방하는 방법이다.

[0086] 또한, 본 발명은 치료를 필요로 하는 환자에서 HCV 감염증을 치료 또는 예방하기 위한 의약을 제조하는데 있어서, 1종 이상의 HCV 세린 프로테아제 억제제와 1종 이상의 인터페론 또는 항-HCV 활성을 나타내는 인터페론의 생성을 유도하는 화합물 및(또는) HCV 항바이러스 활성을 나타내는 면역자극의 시토킨과 같은 면역조절 화합물을 비롯한 항-HCV 활성을 갖는 1종 이상의 화합물 조합의 용도에 관한 것이다.

[0087] 또한, 본 발명은 환자에서 HCV 감염증을 치료 또는 예방하는 키트 또는 약제 팩에 관한 것으로, 여기서 키트 또는 약제 팩은 분리된 다수의 용기를 포함하며, 상기 용기 중 1개 이상은 1종 이상의 HCV 세린 프로테아제 억제제를 (단독으로 또는 제약상 허용되는 담체 또는 희석제와 함께) 함유하고, 다른 용기 1개 이상은 1종 이상의 인터페론 또는 항-HCV 활성을 나타내는 인터페론의 생성을 유도하는 화합물을 (단독으로 또는 제약상 허용되는 담체 또는 희석제와 함께) 함유하고, 임의로 다른 용기 1개 이상은 HCV 항바이러스 활성을 나타내는 면역자극의 시토킨과 같은 면역조절 화합물을 비롯한 항-HCV 활성을 갖는 1종 이상의 화합물을 (단독으로 또는 제약상 허용되는 담체 또는 희석제와 함께) 함유한다.

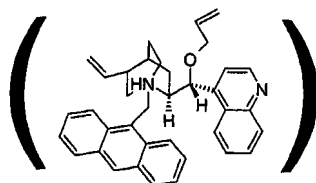
[0088] 상기 임의의 용도에서 HCV 세린 프로테아제 억제제(들), 인터페론(들) 또는 항-HCV 화합물(들)의 양은 HCV 세린 프로테아제 억제제(들), 인터페론(들) 또는 항-HCV 활성을 나타내는 인터페론의 생성을 유도하는 화합물의 최종 조합 및(또는) 항-HCV 화합물이 환자에서 HCV 감염증을 치료 또는 예방하는데 효과적인 화합물 제약상 유효량을 포함하는 한, 제약상 허용되는 양, 준임상적(subclinical) 항-HCV 유효량 또는 이들의 조합일 수 있다.

[0089] <발명의 상세한 설명>

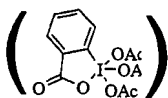
[0090] 각 특허 문헌 및 본원에서 인용된 기타 참고문헌의 내용은 본원에서 그 전문이 참고로 포함된다.

[0091] 상기한 바와 같이, 그리고 본 발명의 명세서 전체에서, 하기 약어들은 다른 언급이 없는 한 다음과 같은 의미를 갖는 것으로 이해되어야 한다.

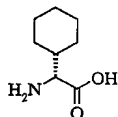
[0092]	<u>명칭</u>	<u>시약 또는 단편</u>
[0093]	ACN	아세토니트릴
[0094]	AIBN	2,2'-아자비스이소부티로니트릴
[0095]	BOC 또는 Boc	tert-부틸 카르바메이트
[0096]	BOP	벤조트리아졸-1-일-옥시트리스(디메틸아미노)포스포늄 헥사플루오로포스페이트
[0097]	n-Bu ₃ SnH	트리-n-부틸주석 히드ريد
[0098]	t-Bu	tert-부틸
[0099]	Cbz	벤질 카르바메이트
[0100]	키랄 PTC	키랄산 전이 촉매



[0101]		
[0102]	DAST	(디에틸아미노)술퍼 트리플루오라이드(Et_2NSF_3)
[0103]	DCC	디시클로카르보디이미드
[0104]	DCM	디클로로메탄 (CH_2Cl_2)
[0105]	DIBAL-H	다이소부틸알루미늄 히드라이드
[0106]	DIC	1,3-디이소프로필카르보디이미드
[0107]	DIPEA	디이소프로필에틸아민
[0108]	DMAP	4-(N,N-디메틸아미노)피리딘
[0109]	DMP 시약	테스-마틴(Dess-Martin) 페리오디난 시약



[0110]		
[0111]	DMF	디메틸포름아미드
[0112]	DMSO	디메틸설폭시드
[0113]	EA	원소분석
[0114]	EDCI	1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카르보디이미드 HCl
[0115]	eq	당량
[0116]	Et	에틸
[0117]	Et_2O	디에틸 에테르
[0118]	EtOH	에탄올
[0119]	EtOAc	에틸 아세테이트
[0120]	Et_3Si	트리에틸실란
[0121]	FMOC	9-플루오레닐메톡시카르보닐



[0122]	H-Chg-OH	
[0123]	HOAt	1-히드록시-7-아자벤조트리아졸
[0124]	HOBt	1-히드록시벤조트리아졸
[0125]	HOSu	N-히드록시숙신아미드
[0126]	HPLC	고성능 액체 크로마토그래피
[0127]	LAH	리튬 알루미늄 무수물

[0128]	Me	메틸
[0129]	MeI	요오드화메틸
[0130]	MeOH	메탄올
[0131]	MeOC(O)Cl	메틸 클로로포르메이트
[0132]	MOMCl	메톡시메틸클로라이드
[0133]	MOM	메톡시메틸
[0134]	MS	질량 분석법
[0135]	NaBH ₄	나트륨 보로하이드리드
[0136]	Na ₂ C ₄ H ₄ O ₆	나트륨 타르트레이트
[0137]	NMP	N-메틸 피롤리디논
[0138]	NMR	핵 자기 공명
[0139]	P-	중합체 결합
[0140]	PyBOP	벤조트리아졸-1-일-옥시트리스-피롤리디노-포스포늄 헥사플루오로포스페이트
[0141]	TBD	1,5,7-트리아자비시클로[4.4.0]-텟-5-엔
[0142]	RP-HPLC	역상-고압 액체 크로마토그래피
[0143]	TBSCI	tert-부틸디메틸실릴 클로라이드
[0144]	TCA	트리클로로아세트산
[0145]	TFA	트리플루오로아세트산
[0146]	Tf ₂ O	트리플레이트 무수물
[0147]	THF	테트라히드로푸란
[0148]	THP	테트라히드로피란
[0149]	TLC	박막 크로마토그래피
[0150]	상기한 바와 같이, 그리고 본 발명의 명세서 전체에서, 하기 용어들은 다른 언급이 없는 한 다음과 같은 의미를 갖는 것으로 이해되어야 한다.	
[0151]	"산 바이오이소스티어(Acid bioisostere)"는 카르복시기에 광범위하게 유사한 생물학적 특성을 제공하는 화학적 및 물리적 유사성을 갖는 기를 의미한다. (문헌[Lipinski, Annual Reports in Medicinal Chemistry, "Bioisosterism In Drug Design" 21, 283 (1986); Yun, Hwahak Sekye, "Application Of Bioisosterism To New Drug Design" 33, 576-579, (1993); Zhao, Huaxue Tongbao, "Bioisosteric Replacement And Development Of Lead Compounds In Drug Design" 34-38, (1995); Graham, Theochem, "Theoretical Studies Applied To Drug Design: ab initio Electronic Distributions In Bioisosteres" 343, 105-109, (1995)] 참조). 산 바이오이소스티어의 예에는 -C(O)-NHOH, -C(O)-CH ₂ OH, -C(O)-CH ₂ SH, -C(O)-NH-CN, 술포, 포스포노, 알킬술포닐카르바모일, 테트라졸릴, 아릴술포닐카르바모일, N-메톡시카르바모일, 헤테로아릴술포닐카르바모일, 3-히드록시-3-시클로부텐-1,2-디온, 3,5-디옥소-1,2,4-옥사디아졸리디닐 또는 히드록시헤테로아릴, 예를 들어 3-히드록시이속사졸릴, 3-히드록시-1-메틸피라졸릴 등이 포함된다.	
[0152]	"산성 관능기"는 산성 수소를 보유하는 잔기를 의미한다. 산 관능기의 예에는 카르복실(-C(O)OH), -C(O)-NHOH, -C(O)-CH ₂ OH, -C(O)-CH ₂ SH, -C(O)-NH-CN, 술포, 포스포노, 알킬술포닐카르바모일, 테트라졸릴, 아릴술포닐카르바모일, N-메톡시카르바모일, 헤테로아릴술포닐카르바모일, 3-히드록시-3-시클로부텐-1,2-디온, 3,5-디옥소-1,2,4-옥사디아졸리디닐 또는 히드록시헤테로아릴, 예컨대 3-히드록시이속사졸릴, 3-히드록시-1-메틸피라졸릴, 이미다졸릴, 머캅토 등, 및 적합한 히드록시, 예컨대 방향족 히드록시, 예를 들어 히드록시페닐이 포함된다.	

- [0153] "산 보호기"는 합성 과정에서 원치않는 반응에 대해 카르복실기의 산성 수소를 보호하고, 예를 들어 화합물의 다른 관능성 부위가 관여하는 반응이 수행되는 동안 산 관능기를 차단 또는 보호하고 선택적으로 제거가능한 것으로 당업계에 알려진 쉽게 제거가능한 기를 의미한다. 이러한 산 보호기는 기재 내용이 본원에서 참고로 포함되는 미국 특허 제3,840,556호 및 제3,719,667호에 개시된 바와 같이, 카르복실기의 보호에 광범위하게 사용되는 것으로 당업자에게 널리 알려져있다. 적합한 산 보호기에 대해서는 문헌[T.W. Green and P.G.M. Wuts in "Protective Groups in Organic Chemistry" John Wiley and Sons, 1991]을 참조한다. 산 보호기는 본원에서 정의된 바와 같은 수소화반응에 불안정한 산 보호기를 또한 포함한다. 산 보호기의 예에는 에스테르, 예를 들어 치환 및 비치환 C_{1-8} 저급 알킬, 예컨대 메틸, 에틸, t-부틸, 메톡시메틸, 메틸티오메틸, 2,2,2-트리클로로에틸 등, 테트라히드로피라닐, 벤질과 같은 치환 및 비치환 페닐알킬, 및 알콕시벤질 또는 니트로벤질기 등과 같은 이들의 치환된 유도체, 신나밀, 디알킬아미노알킬, 예를 들어 디메틸아미노에틸 등, 트리메틸실릴, 치환 및 비치환 아미드 및 히드라지드, 예를 들어 N,N-디메틸아민, 7-니트로인돌, 히드라진, N-페닐히드라진 등의 아미드 및 히드라지드, 피발로일옥시메틸 또는 프로피오닐옥시메틸 등과 같은 아릴옥시알킬기, 벤조일옥시에틸 등과 같은 아릴옥시알킬, 메톡시카르보닐메틸, 시클로헥실옥시카르보닐메틸 등과 같은 알콕시카르보닐알킬, t-부틸옥시카르보닐옥시메틸 등과 같은 알콕시카르보닐옥시알킬, t-부틸옥시카르보닐아미노메틸 등과 같은 알콕시카르보닐아미노알킬, 메틸아미노카르보닐아미노메틸 등과 같은 알킬아미노카르보닐아미노알킬, 아세틸아미노메틸 등과 같은 아실아미노알킬, 4-메틸피페라지닐-카르보닐옥시메틸 등과 같은 헤테로시클릴카르보닐옥시알킬, 디메틸아미노카르보닐-메틸 등과 같은 디알킬아미노카르보닐알킬, (5-t-부틸-2-옥소-1,3-디옥솔렌-4-일)메틸 등과 같은 (5-(저급 알킬)-2-옥소-1,3-디옥솔렌-4-일)알킬, 및 (5-페닐-2-옥소-1,3-디옥솔렌-4-일)메틸 등과 같은 (5-페닐-2-옥소-1,3-디옥솔렌-4-일)알킬이 포함된다.
- [0154] "산에 불안정한 아민 보호기"는 다른 시약에 대해 비교적 안정하게 남아있는 반면 산으로 처리하여 쉽게 제거되는 본원에서 정의한 바와 같은 아민 보호기를 의미한다. 산에 불안정한 아민 보호기는 BOC가 바람직하다.
- [0155] "지방족"은 본원에서 정의된 바와 같은 알킬, 알케닐 또는 알키닐을 의미한다.
- [0156] "지방족 치환기(들)"은 본원에서 정의된 바와 같은 지방족 기에 부착된 치환기를 의미하며, 아릴, 헤테로아릴, 히드록시, 알콕시, 시클릴옥시, 아릴옥시, 헤테로아릴옥시, 아실 또는 그의 티옥소 동족체, 시클릴카르보닐 또는 그의 티옥소 동족체, 아로일 또는 그의 티옥소 동족체, 헤테로아로일 또는 그의 티옥소 동족체, 아실옥시, 시클릴카르보닐옥시, 아로일옥시, 헤테로아로일옥시, 할로, 니트로, 시아노, 카르복시(산), $-C(O)-NHOH$, $-C(O)-CH_2OH$, $-C(O)-CH_2SH$, $-C(O)-NH-CN$, 술포, 포스포노, 알킬술포닐카르바모일, 테트라졸릴, 아릴술포닐카르바모일, N-메톡시카르바모일, 헤테로아릴술포닐카르바모일, 3-히드록시-3-시클로부텐-1,2-디온, 3,5-디옥소-1,2,4-옥사디아졸리디닐 또는 히드록시헤테로아릴, 예를 들어 3-히드록시이속사졸릴, 3-히드록시-1-메틸피라졸릴, 알콕시카르보닐, 시클릴옥시카르보닐, 아릴옥시카르보닐, 헤테로아릴옥시카르보닐, 알킬술포닐, 시클릴술포닐, 아릴술포닐, 헤테로아릴술포닐, 알킬술포닐, 시클릴술포닐, 아릴술포닐, 헤테로아릴술포닐, 알킬티오, 시클릴티오, 아릴티오, 헤테로아릴티오, 시클릴, 아릴디아조, 헤테로아릴디아조, 티올, 메틸렌($H_2C=$), 옥소($O=$), 티옥소($S=$), Y^1Y^2N- , $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$, $Y^1Y^2NSO_2-$ 또는 $Y^3SO_2NY^1$ (여기서, R^2 는 본원에서 정의된 바와 같고, Y^1 및 Y^2 는 독립적으로 수소, 알킬, 아릴 또는 헤테로아릴이고, Y^3 는 알킬, 시클로알킬 아릴 또는 헤테로아릴이거나, 치환기가 Y^1Y^2N- 인 경우, Y^1 과 Y^2 중 하나는 본원에서 정의된 바와 같은 아실, 시클릴카르보닐, 아로일, 헤테로아로일, 알콕시카르보닐, 시클릴옥시카르보닐, 아릴옥시카르보닐 또는 헤테로아릴옥시카르보닐일 수 있고, Y^1 과 Y^2 중 다른 하나는 상기 정의된 바와 같거나, 치환기가 $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ 또는 $Y^1Y^2NSO_2-$ 인 경우, Y^1 및 Y^2 는 N 원자와 함께 연결되어 4원 내지 7원 아자헤테로시클릴 또는 아자헤테로시클레닐을 형성할 수 있음)을 포함한다. 산성/아미드 지방족 치환기는 카르복시(산), $-C(O)-NHOH$, $-C(O)-CH_2OH$, $-C(O)-CH_2SH$, $-C(O)-NH-CN$, 술포, 포스포노, 알킬술포닐카르바모일, 테트라졸릴, 아릴술포닐카르바모일, N-메톡시카르바모일, 헤테로아릴술포닐카르바모일, 3-히드록시-3-시클로부텐-1,2-디온, 3,5-디옥소-1,2,4-옥사디아졸리디닐 또는 히드록시헤테로아릴, 예를 들어 3-히드록시이속사졸릴, 3-히드록시-1-메틸피라졸릴 및 Y^1Y^2NCO- 이다. 비-산성 극성 지방족 치환기는 히드록시, 옥소($O=$), 티옥소($S=$), 아실 또는 그의 티옥소 동족체, 시클릴카르보닐 또는 그의 티옥소 동족체, 아로일 또는 그의 티옥소 동족체, 헤테로아로일 또는 그의 티옥소 동족체, 알콕시카르보닐, 시클릴옥시카르보닐, 아릴옥시카르보닐, 헤테로아릴옥시카르보닐, 아실옥시, 시클릴카르

보닐옥시, 아로일옥시, 헤테로아로일옥시, 알킬술포닐, 시클릴술포닐, 아릴술포닐, 헤테로아릴술포닐, 알킬술포닐, 시클릴술포닐, 아릴술포닐, 헤테로아릴술포닐, 티올, Y^1Y^2N- , $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ 또는 $Y^1Y^2NSO_2-$ 이다. 지방족 치환기를 보유하는 지방족 기의 예에는 메톡시메톡시, 메톡시에톡시, 에톡시에톡시, (메톡시-, 벤질옥시-, 페녹시- 또는 에톡시-)카르보닐(메틸 또는 에틸), 벤질옥시카르보닐, 피리딜메틸옥시-카르보닐메틸, 메톡시에틸, 에톡시메틸, n-부톡시메틸, 시클로펜틸메틸옥시에틸, 페녹시프로필, 페녹시알릴, 트리플루오로메틸, 시클로프로필-메틸, 시클로펜틸메틸, 카르복시(메틸 또는 에틸), 2-페네티닐, 벤질옥시, 1- 또는 2-나프틸메톡시, 4-피리딜-메틸옥시, 벤질옥시에틸, 3-벤질옥시알릴, 4-피리딜메틸-옥시에틸, 4-피리딜메틸-옥시알릴, 벤질, 2-페네티닐, 나프틸메틸, 스티릴, 4-페닐-1,3-펜타디에틸, 페닐-프로피닐, 3-페닐부트-2-이닐, 피리드-3-일아세틸에닐 및 퀴놀린-3-일아세틸레닐, 4-피리딜-에티닐, 4-피리딜비닐, 티에닐에테닐, 피리딜에테닐, 이미다졸릴-에테닐, 피라지닐에테닐, 피리딜헵테닐, 피리딜헥세닐 및 피리딜헵테닐, 티에닐-메틸, 피리딜메틸, 이미다졸릴메틸, 피라지닐메틸, 테트라히드로피라닐메틸, 테트라히드로피라닐메틸옥시메틸 등이 포함된다.

[0157] "아실"은 H-CO- 또는 (지방족 또는 시클릴)-CO-기 (여기서, 지방족 기는 본원에서 정의된 바와 같음)를 의미한다. 바람직한 아실에는 저급 알킬이 포함된다. 아실기의 예에는 포르밀, 아세틸, 프로파노일, 2-메틸프로파노일, 부타노일, 팔미토일, 아크릴로일, 프로피노일, 시클로헥실카르보닐 등이 포함된다.

[0158] "알케노일"은 알케닐-CO-기 (여기서, 알케닐은 본원에서 정의된 바와 같음)를 의미한다.

[0159] "알케닐"은 탄소-탄소 이중 결합을 함유하는 지방족 탄화수소 기를 의미하며,쇄에 약 2 내지 약 15개의 탄소 원자를 갖는 직쇄 또는 분지쇄일 수 있다.쇄에 2 내지 약 12개의 탄소 원자를 갖는 알케닐 기가 바람직하고,쇄에 약 2 내지 약 4개의 탄소 원자를 갖는 알케닐 기가 더욱 바람직하다. 분지쇄는 메틸, 에틸 또는 프로필과 같은 1개 이상의 저급 알킬기가 선형 알케닐쇄에 부착되어 있는 것을 의미한다. "저급 알케닐"은 직쇄 또는 분지쇄일 수 있는쇄의 탄소 원자수가 약 2 내지 약 4인 것을 의미한다. 알케닐 기의 예에는 에테닐, 프로페닐, n-부테닐, i-부테닐, 3-메틸부트-2-에닐, n-펜테닐, 헵테닐, 옥테닐, 시클로헥실부테닐, 데세닐 등이 포함된다. "치환 알케닐"은 동일하거나 상이할 수 있으며 본원에서 정의된 바와 같은 1개 이상 (바람직하게는 1 내지 3개)의 "지방족 치환기"로 치환된 상기 정의된 바와 같은 알케닐 기를 의미한다. 알케닐 지방족 치환기의 예에는 할로 또는 시클로알킬 기가 포함된다.

[0160] "알케닐옥시"는 알케닐-O-기 (여기서, 알케닐 기는 본원에서 정의된 바와 같음)를 의미한다. 알케닐옥시 기의 예에는 알릴옥시, 3-부테닐옥시 등이 포함된다.

[0161] "알콕시"는 알킬-O-기 (여기서, 알킬 기는 본원에서 정의된 바와 같음)를 의미한다. 알콕시 기의 예에는 메톡시, 에톡시, n-프로폭시, i-프로폭시, n-부톡시, 헵톡시 등이 포함된다.

[0162] "알콕시카르보닐"은 알킬-O-CO-기 (여기서, 알킬 기는 본원에서 정의된 바와 같음)를 의미한다. 알콕시카르보닐 기의 예에는 메톡시카르보닐, 에톡시카르보닐, t-부틸옥시카르보닐 등이 포함된다.

[0163] "알킬"은쇄에 약 1 내지 약 20개의 탄소 원자를 갖는 직쇄 또는 분지쇄일 수 있는 지방족 탄화수소 기를 의미한다.쇄에 1 내지 약 12개의 탄소 원자를 갖는 알킬 기가 바람직하고, 본원에 정의된 바와 같은 저급 알킬이 더욱 바람직하다. 분지쇄는 메틸, 에틸 또는 프로필과 같은 1개 이상의 알킬 기가 알킬 직쇄에 부착된 것을 의미한다. "저급 알킬"은 직쇄 또는 분지쇄일 수 있는쇄의 탄소 원자수가 약 1 내지 약 4인 알킬을 의미한다. "치환 알킬"은 동일하거나 상이할 수 있고 본원에서 정의된 바와 같은 1개 이상 (바람직하게는 1 내지 3개)의 "지방족 치환기"로 치환된 상기 정의된 바와 같은 알킬 기를 의미한다.

[0164] "알킬술포닐"은 알킬-SO-기 (여기서, 알킬 기는 상기 정의된 바와 같음)를 의미한다. 알킬 기는 저급 알킬이 바람직하다.

[0165] "알킬술포닐"은 알킬-SO₂-기 (여기서, 알킬 기는 상기 정의된 바와 같음)를 의미한다. 알킬 기는 저급 알킬이 바람직하다.

[0166] "알킬술포닐카르바모일"은 알킬-SO₂-NH-C(=O)-기 (여기서, 알킬 기는 본원에서 정의된 바와 같음)를 의미한다. 알킬 기가 저급 알킬인 알킬술포닐카르바모일 기가 바람직하다.

[0167] "알킬티오"는 알킬-S-기 (여기서, 알킬 기는 본원에서 정의된 바와 같음)를 의미한다. 알킬티오 기의 예에는 메틸티오, 에틸티오, i-프로필티오 및 헵틸티오가 포함된다.

- [0168] "알킬닐"은 탄소-탄소 삼중 결합을 함유하는 지방족 탄화수소 기를 의미하며,쇄에 약 2 내지 약 15개의 탄소 원자를 갖는 직쇄 또는 분지쇄일 수 있다. 알킬닐 기는쇄에 2 내지 약 12개의 탄소 원자를 갖는 것이 바람직하고,쇄에 약 2 내지 약 4개의 탄소 원자를 갖는 것이 더욱 바람직하다. 분지쇄는 메틸, 에틸 또는 프로필과 같은 1개 이상의 저급 알킬 기가 알킬닐 직쇄에 부착된 것을 의미한다. "저급 알킬닐"은 직쇄 또는 분지쇄일 수 있는쇄의 탄소 원자수가 약 2 내지 약 4인 것을 의미한다. 알킬닐 기는 1개 이상의 할로로 치환될 수 있다. 알킬닐 기의 예에는 에틸닐, 프로필닐, n-부틸닐, 2-부틸닐, 3-메틸부틸닐, n-펜틸닐, 헥틸닐, 옥틸닐, 데실닐 등이 포함된다. "치환 알킬닐"은 동일하거나 상이할 수 있고 본원에서 정의된 바와 같은 1개 이상 (바람직하게는 1 내지 3개)의 "지방족 치환기"로 치환된 상기 정의된 바와 같은 알킬닐을 의미한다.
- [0169] "아민 보호기"는 합성 반응 동안 원치않는 반응에 대해 아미노 또는 아미드기의 질소 잔기를 보호하고 선택적으로 제거가능한 것으로 당업계에서 알려진 쉽게 제거가능한 기를 의미한다. 아민/아미드 보호기의 사용은 합성 반응 동안 원치않는 반응에 대해 기를 보호하는 것으로 당업계에서 잘 알려져 있으며, 이러한 많은 보호기들이 예를 들어, 본원에 참고로 포함되는 문헌[T.W. Greene and P.G.M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 2nd edition, John Wiley & Sons, New York (1991)]에 공지되어 있다. 또한, 아민/아미드 보호기는 "산에 불안정한 아민/아미드 보호기" 및 "수소화반응에 불안정한 아민/아미드 보호기"를 포함한다. 아민/아미드 보호기의 예에는 포르밀, 아세틸, 클로로아세틸, 트리클로로아세틸, o-니트로페닐아세틸, o-니트로페녹시-아세틸, 트리플루오로아세틸, 아세토아세틸, 4-클로로부틸, 이소부틸, o-니트로신나모일, 피콜리노일, 아실이소티오시 아네이트, 아미노카프로일, 벤조일 등을 포함하는 아실, 및 메톡시-카르보닐, 9-플루오레닐메톡시카르보닐, 2,2,2-트리플루오로에톡시카르보닐, 2-트리메틸실릴에톡시-카르보닐, 비닐옥시카르보닐, 알릴옥시카르보닐, t-부틸옥시카르보닐(BOC), 1,1-디메틸-프로피닐옥시카르보닐, 벤질옥시카르보닐(CBZ), p-니트로벤질옥시카르보닐, 2,4-디클로로-벤질옥시카르보닐 등을 포함하는 아실옥시가 포함된다.
- [0170] "아미드 보호기"는 합성 반응 동안 원치않는 반응에 대해 아미드기의 질소 잔기를 보호하고 아민으로의 전환 후에 선택적으로 제거가능한 것으로 당업계에서 알려진 쉽게 제거가능한 기를 의미한다. 아미드 보호기의 사용은 합성 반응 동안 원치않는 반응에 대해 기를 보호하는 것으로 당업계에서 잘 알려져 있으며, 이러한 많은 보호기들이 예를 들어, 본원에 참고로 포함되는 문헌[T.W. Greene and P.G.M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 2nd edition, John Wiley & Sons, New York (1991)]에 공지되어 있다. 또한, 아미드 보호기는 "산에 불안정한 아미드 보호기" 및 "수소화반응에 불안정한 아미드 보호기"를 포함한다. 아미드 보호기의 예에는 o-니트로신나모일, 피콜리노일, 아미노카프로일, 벤조일 등, 및 메톡시-카르보닐, 9-플루오레닐메톡시카르보닐, 2,2,2-트리플루오로에톡시카르보닐, 2-트리메틸실릴에톡시-카르보닐, 비닐옥시카르보닐, 알릴옥시카르보닐, t-부틸옥시카르보닐(BOC), 1,1-디메틸-프로피닐옥시카르보닐, 벤질옥시카르보닐(CBZ), p-니트로벤질옥시카르보닐, 2,4-디클로로-벤질옥시카르보닐 등을 포함하는 아실옥시가 포함된다.
- [0171] "아미노산"은 본원에서 정의된 바와 같은 천연 및 비천연 아미노산으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산을 의미한다. 또한, 아미노산은 α -탄소에서 L 또는 D 입체화학을 갖는 아미노산을 포함하는 것을 의미한다. 아미노산은 α -아미노기를 갖는 것이 바람직하다. 아미노산은 측쇄의 치환기에 따라 뉴트럴, 포지티브 또는 네가티브일 수 있다. "뉴트럴 아미노산"은 하전되지 않은 측쇄 치환기를 함유하는 아미노산을 의미한다. 뉴트럴 아미노산의 예에는 알라닌, 발린, 루신, 이소루신, 프롤린, 페닐알라닌, 트립토판, 메티오닌, 글리신, 세린, 트레오닌 및 시스테인이 포함된다. "포지티브 아미노산"은 측쇄 치환기가 생리적 pH에서 양으로 하전된 아미노산을 의미한다. 포지티브 아미노산의 예에는 리신, 아르기닌 및 히스티딘이 포함된다. "네가티브 아미노산"은 측쇄 치환기가 생리적 pH에서 실제 음의 전하를 보유하는 아미노산을 의미한다. 네가티브 아미노산의 예에는 아스파르트산 및 글루탐산이 포함된다. 아미노산은 α -아미노산이 바람직하다. 천연 아미노산의 예에는 이소루신, 프롤린, 페닐알라닌, 트립토판, 메티오닌, 글리신, 세린, 트레오닌, 시스테인, 티로신, 아스파라긴, 글루타민, 리신, 아르기닌, 히스티딘, 아스파르트산 및 글루탐산이 포함된다. "비천연 아미노산"은 핵산 코돈이 전혀 없는 아미노산을 의미한다. 비천연 아미노산의 예에는 상기한 바와 같은 천연 α -아미노산의 D-이성질체; Aib (아미노부티르산), β Aib (3-아미노-이소부티르산), Nva (노르발린), β -Ala, Aad (2-아미노아디프산), β Aad (3-아미노아디프산), Abu (2-아미노부티르산), Gaba (γ -아미노부티르산), Acp (6-아미노카프로산), Dbu (2,4-디아미노부티르산), α -아미노피멜산, TMSA (트리메틸실릴-Ala), aIle (알로-이소루신), NIle (노르루신), tert-Leu, Cit (시트룰린), Orn, Dpm (2,2'-디아미노피멜산), Dpr (2,3-디아미노프로피온산), α - 또는 β -Nal, Cha (시클로헥실-Ala), 히드록시프롤린, Sar (사르코신) 등; 시클릭 아미노산; N^a-알킬화 아미노산, 예컨대 MeGly (N^a-메틸글리신), EtGly (N^a-에틸글리신) 및 EtAsn (N^a-에틸아스파라긴); 및 α -탄소가 2개의 측쇄 치환기를 보유하는 아미노산이 포함된다. 본원에서 사용되는 천연 및 비천연 아미노산 및 이들 잔기의 이름은 문

현["Nomenclature of α -Amino Acids (Recommendations, 1974)" Biochemistry, 14 (2), (1975)]에 기재된 바와 같이 유기화학의 명명에 관한 IUPAC 위원회 및 생화학 명명에 관한 IUPAC-IUB 위원회에 의해 제안된 명명 조약을 따른다. 본 명세서 및 첨부된 청구범위에서 사용되는 아미노산 및 이들 잔기의 이름 및 약어가 언급된 것과 다른 정도까지, 상이한 이름 및 약어는 명백해질 것이다.

- [0172] "아미노산 보호기"는 아미노산의 산 또는 아민 잔기, 또는 아미노산 측쇄상의 다른 반응성 잔기를 보호하는 기, 예를 들어 히드록시 또는 티올을 의미한다. 아미노산 측쇄의 "상응하는 보호된 유도체"에 관한 예는 문헌[T.W. Green and P.G.M. Wuts in "Protective Groups in Organic Chemistry" John Wiley and Sons, 1991]을 참조한다. 아미노산의 산 기에대한 보호기는 본원, 예를 들어 "산성 관능기" 및 "수소화반응에 불안정한 산 보호기" 부분에 기재되어 있다. 아미노산의 아민기에 대한 보호기는 본원, 예를 들어 "아민 보호기", "산에 불안정한 아민 보호기" 및 "수소화반응에 불안정한 아민 보호기" 부분에 기재되어 있다.
- [0173] "아미노산 잔기"는 본 발명의 화합물에 혼입된 각각의 아미노산 단위를 의미한다.
- [0174] "아미노산 측쇄"는 α -아미노산에서 아미노기와 카르복시기 사이의 탄소에서 발견되는 치환기를 의미한다. -아미노산 측쇄의 예에는 발린의 이소프로필, 알라닌의 메틸 및 아스파르트산의 카르복시메틸이 포함된다.
- [0175] "아미노산 등가물"은 본 발명에 따른 펩티드에서 임의의 상당한 기능 손실없이 다른 아미노산으로 대체될 수 있는 아미노산을 의미한다. 이러한 변화에서, 아미노산 류의 대체는 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 크기, 전하, 친수성, 히드로패씨시티(hydrophaticity) 및 소수성에 관한 측쇄 치환기의 상대적인 유사성을 기준으로 이루어진다.
- [0176] "방향족 기"는 본원에서 정의된 바와 같은 아릴 또는 헤테로아릴을 의미한다. 방향족 기의 예에는 페닐, 할로 치환된 페닐, 아자헤테로아릴 등이 포함된다.
- [0177] "아로일"은 아릴-CO-기 (여기서, 아릴기는 본원에서 정의된 바와 같음)를 의미한다. 아로일 기의 예에는 벤조일, 1- 및 2-나프토일 등이 포함된다.
- [0178] "아릴"은 탄소 원자수 약 6 내지 약 14, 바람직하게는 약 6 내지 약 10의 방향족 모노시클릭 또는 멀티시클릭 고리계를 의미한다. 아릴에는 아릴 잔기를 통해 결합되는 경우 본원에서 정의된 바와 같은 융합 아릴시클로알케닐, 융합 아릴시클로알킬, 융합 아릴헤테로시클레닐 및 융합 아릴헤테로시클릴이 포함된다. 아릴은 동일하거나 상이할 수 있고 본원에서 정의된 바와 같은 1개 이상의 "고리 치환기"로 임의 치환된다. 아릴 기의 예에는 페닐 또는 나프틸, 또는 페닐 치환된 또는 나프틸 치환된 아릴이 포함된다. "치환 아릴"은 동일하거나 상이할 수 있고 본원에서 정의된 바와 같은 1개 이상 (바람직하게는 1 내지 3개)의 "고리 치환기"로 치환되는 상기 정의된 바와 같은 아릴 기를 의미한다.
- [0179] "아릴디아조"는 아릴-디아조-기 (여기서, 아릴 및 디아조 기는 본원에서 정의된 바와 같음)를 의미한다.
- [0180] "아릴렌"은 임의 치환되는 1,2-, 1,3-, 1,4-, 2가 아릴 기 (여기서, 아릴 기는 본원에서 정의된 바와 같음)를 의미한다. 아릴렌 기의 예에는 임의로 치환되는 페닐렌, 나프틸렌 및 인다닐렌이 포함된다. 구체적으로, 아릴렌은 임의 치환되는 페닐렌이다. "치환 아릴렌"은 동일하거나 상이할 수 있고 본원에서 정의된 바와 같은 1개 이상 (바람직하게는 1 내지 3개)의 "고리 치환기"로 치환되는 상기 정의된 바와 같은 아릴렌 기를 의미한다.
- [0181] "아릴옥시"는 아릴-O-기 (여기서, 아릴 기는 본원에서 정의된 바와 같음)를 의미한다. 아릴옥시 기의 예에는 페녹시 및 2-나프틸옥시가 포함된다.
- [0182] "아릴옥시카르보닐"은 아릴-O-CO-기 (여기서, 아릴 기는 본원에서 정의된 바와 같음)를 의미한다. 아릴옥시카르보닐 기의 예에는 페녹시카르보닐 및 나프톡시카르보닐이 포함된다.
- [0183] "아릴술포닐"은 아릴-SO₂-기 (여기서, 아릴 기는 본원에서 정의된 바와 같음)를 의미한다.
- [0184] "아릴술포닐카르바모일"은 아릴-SO₂-NH-C(=O)-기 (여기서, 아릴 기는 본원에서 정의된 바와 같음)를 의미한다. 아릴술포닐카르바모일 기의 예에는 페닐술포닐카르바모일이 포함된다.
- [0185] "아릴술포닐"은 아릴-SO-기 (여기서, 아릴 기는 본원에서 정의된 바와 같음)를 의미한다.
- [0186] "아릴티오"는 아릴-S-기 (여기서, 아릴 기는 본원에서 정의된 바와 같음)를 의미한다. 아릴티오 기의 예에는 페닐티오 및 나프틸티오가 포함된다.

- [0187] "염기성 질소 원자"는 양성자화될 수 있는 비-결합된 전자쌍을 갖는 sp^2 또는 sp^3 혼성화 질소 원자를 의미한다. 염기성 질소 원자의 예에는 임의로 치환되는 이미노, 임의로 치환되는 아미노 및 임의로 치환되는 아미디노 기가 포함된다.
- [0188] "카르복시"는 $HO(O)C-$ (카르복실산) 기를 의미한다.
- [0189] "커플링제"는 카르복시 잔기와 히드록실 잔기와의 반응으로 친핵체 공격을 가능하게 하는 화합물을 의미한다. 커플링제의 예에는 DIC, EDCI, DCC 등이 포함된다.
- [0190] "시클로알케닐"은 탄소 원자수 약 3 내지 약 10, 바람직하게는 약 5 내지 약 10의 비-방향족 모노- 또는 멀티시클릭 고리계를 의미하며, 이는 1개 이상의 탄소-탄소 이중 결합을 함유한다. 시클로알케닐의 예에는 시클로알케닐 잔기를 통해 결합하는 경우 본원에서 정의된 바와 같은 융합 아릴시클로알케닐 및 융합 헤테로아릴시클로알케닐이 포함된다. 고리계에서 고리 크기는 약 5 내지 약 6개의 고리 원자를 포함하는 것이 바람직하고, 이러한 바람직한 고리 크기는 "저급"으로도 불린다. "치환 시클로알케닐"은 동일하거나 상이할 수 있고 본원에서 정의된 바와 같은 1개 이상 (바람직하게는 1 내지 3개)의 "고리 치환기"로 치환된 상기 정의된 바와 같은 시클로알케닐 기를 의미한다. 모노시클릭 시클로알케닐의 예에는 시클로펜테닐, 시클로헥세닐, 시클로헵테닐 등이 포함된다. 멀티시클릭 시클로알케닐의 예에는 노르보르닐레닐이 포함된다.
- [0191] "시클로알킬"은 탄소 원자수 약 3 내지 약 10, 바람직하게는 약 5 내지 약 10의 비-방향족 모노- 또는 멀티시클릭 고리계를 의미한다. 고리계에서 고리 크기는 약 5 내지 약 6개의 고리 원자를 포함하는 것이 바람직하고, 이러한 바람직한 고리 크기는 "저급"으로도 불린다. 시클로알킬의 예에는 시클로알킬 잔기를 통해 결합되는 경우 본원에서 정의된 바와 같은 융합 아릴시클로알킬 및 융합 헤테로아릴시클로알킬이 포함된다. "치환 시클로알킬"은 동일하거나 상이할 수 있고 본원에서 정의된 바와 같은 1개 이상 (바람직하게는 1 내지 3개)의 "고리 치환기"로 치환되는 상기 정의된 바와 같은 시클로알킬 기를 의미한다. 모노시클릭 시클로알킬의 예에는 시클로펜틸, 시클로헥실, 시클로헵틸 등이 포함된다. 멀티시클릭 시클로알킬의 예에는 1-데칼린, 노르보르닐, 아다만트-(1- 또는 2-)일 등이 포함된다.
- [0192] "시클로알킬렌"은 탄소 원자수 약 4 내지 약 8의 본원에서 정의된 바와 같은 2가의 시클로알킬 기를 의미한다. 시클로알킬렌의 고리 크기는 약 5 내지 약 6개의 고리 원자를 포함하는 것이 바람직하고, 이러한 바람직한 고리 크기는 "저급"으로도 불린다. 시클로알킬렌 기에서의 결합점은 1,1-, 1,2-, 1,3- 또는 1,4- 결합 패턴을 포함하며, 결합점의 입체화학적 관계는 시스 또는 트랜스에 적용가능하다. 시클로알킬렌 기의 예에는 (1,1-, 1,2- 또는 1,3-)시클로헥실렌 및 (1,1- 또는 1,2-)시클로펜텐렌이 포함된다. "치환 시클로알킬렌"은 동일하거나 상이할 수 있고 본원에서 정의된 바와 같은 1개 이상 (바람직하게는 1 내지 3개)의 "고리 치환기"로 치환되는 상기 정의된 바와 같은 시클로알킬렌 기를 의미한다.
- [0193] "시클릭" 또는 "시클릴"은 본원에서 정의된 바와 같은 시클로알킬, 시클로알케닐, 헤테로시클릴 또는 헤테로시클레닐을 의미한다. 용어 시클릭에서 사용되는 용어 "저급"은 시클로알킬, 시클로알케닐, 헤테로시클릴 또는 헤테로시클레닐에 대해 본원에서 언급된 바와 동일하다.
- [0194] "시클릴옥시"는 시클릴-O-기 (여기서, 시클릴 기는 본원에서 정의된 바와 같음)를 의미한다. 시클로알콕시 기의 예에는 시클로펜틸옥시, 시클로헥실옥시, 퀴누클리딜옥시, 펜타메틸렌술피데옥시, 테트라히드로피라닐옥시, 테트라히드로티오펜옥시, 피롤리딘옥시, 테트라히드로푸라닐옥시 또는 7-옥사비시클로[2.2.1]헵타닐옥시, 히드록시테트라히드로피라닐옥시, 히드록시-7-옥사비시클로[2.2.1]헵타닐옥시 등이 포함된다.
- [0195] "시클릴술피닐"은 시클릴-S(O)-기 (여기서, 시클릴 기는 본원에서 정의된 바와 같음)를 의미한다.
- [0196] "시클릴술포닐"은 시클릴-S(O)₂-기 (여기서, 시클릴 기는 본원에서 정의된 바와 같음)를 의미한다.
- [0197] "시클릴티오"는 시클릴-S-기 (여기서, 시클릴 기는 본원에서 정의된 바와 같음)를 의미한다.
- [0198] "디아조"는 2가의 -N=N- 기를 의미한다.
- [0199] "치환가능한 잔기"는 본원에서 L로 정의되며, 공격을 촉진하는 화합물, 예를 들어 커플링제의 존재 또는 부재하에 일- 또는 이치환된 아민 잔기에 의한 친핵성 공격으로 치환되는 기를 의미한다. 치환가능한 잔기의 예에는 히드록시, 지방족 옥시, 할로, N-옥시숙신이미드, 아실옥시 등이 포함된다.
- [0200] "유효량"은 목적하는 치료 효과를 생성하는데 효과적인 본 발명에 따른 화합물/조성물의 양을 의미한다.

- [0201] "융합 아릴시클로알케닐"은 본원에서 정의된 바와 같은 융합된 아릴과 시클로알케닐을 의미한다. 융합 아릴시클로알케닐은 아릴이 약 5 내지 약 6개의 고리 원자로 이루어진 페닐 및 시클로알케닐인 것이 바람직하다. 융합 아릴시클로알케닐은 변수로서 상기와 같은 이들의 고리계의 임의의 원자를 통해 결합될 수 있다. "치환된 융합 아릴시클로알케닐"은 동일하거나 상이할 수 있고 본원에서 정의된 바와 같은 1개 이상 (바람직하게는 1 내지 3개)의 "고리 치환기"로 치환되는 상기 정의된 바와 같은 융합 아릴시클로알케닐 기를 의미한다. 융합 아릴시클로알케닐의 예에는 1,2-디히드로나프틸렌, 인텐 등이 포함된다.
- [0202] "융합 아릴시클로알킬"은 본원에서 정의된 바와 같은 융합된 아릴과 시클로알킬을 의미한다. 융합 아릴시클로알킬은 아릴이 약 5 내지 약 6개의 고리 원자로 이루어진 페닐 및 시클로알킬인 것이 바람직하다. 융합 아릴시클로알킬은 변수로서 상기와 같은 이들의 고리계의 임의의 원자를 통해 결합될 수 있다. "치환된 융합 아릴시클로알킬"은 동일하거나 상이할 수 있고 본원에서 정의된 바와 같은 1개 이상 (바람직하게는 1 내지 3개)의 "고리 치환기"로 치환되는 상기 정의된 바와 같은 융합 아릴시클로알킬 기를 의미한다. 융합 아릴시클로알킬의 예에는 1,2,3,4-테트라히드로-나프틸렌 등이 포함된다.
- [0203] "융합 아릴헤테로시클레닐"은 본원에서 정의된 바와 같은 융합된 아릴과 헤테로시클레닐을 의미한다. 융합 아릴헤테로시클레닐은 아릴이 약 5 내지 약 6개의 고리 원자로 이루어진 페닐 및 헤테로시클레닐인 것이 바람직하다. 융합 아릴헤테로시클레닐은 변수로서 상기와 같은 이들의 고리계의 임의의 원자를 통해 결합될 수 있다. 융합 아릴헤테로시클레닐의 헤테로시클레닐 부분 앞의 접두사로서 아자, 옥사 또는 티아의 의미는 고리 원자로서 적어도 질소, 산소 또는 황 원자가 각각 존재하는 것의 의미한다. "치환된 융합 아릴헤테로시클레닐"은 동일하거나 상이할 수 있고 본원에서 정의된 바와 같은 1개 이상 (바람직하게는 1 내지 3개)의 "고리 치환기"로 치환되는 상기 정의된 바와 같은 융합 아릴헤테로시클레닐 기를 의미한다. 융합 아릴헤테로시클레닐의 질소 원자는 염기성 질소 원자일 수 있다. 또한, 융합 아릴헤테로시클레닐의 헤테로시클레닐 부분의 질소 또는 황 원자는 상응하는 N-옥시드, S-옥시드 또는 S,S-디옥시드로 임의로 산화될 수 있다. 융합 아릴헤테로시클레닐의 예에는 3H-인돌리닐, 1H-2-옥소퀴놀리닐, 2H-1-옥소이소퀴놀릴, 1,2-디-히드로퀴놀리닐, 3,4-디히드로퀴놀리닐, 1,2-디히드로이소퀴놀리닐, 3,4-디히드로이소퀴놀리닐 등이 포함된다.
- [0204] "융합 아릴헤테로시클릴"은 본원에서 정의된 바와 같은 융합된 아릴과 헤테로시클릴을 의미한다. 융합 아릴헤테로시클릴은 아릴이 약 5 내지 약 6개의 고리 원자로 이루어진 페닐 및 헤테로시클릴인 것이 바람직하다. 융합 아릴헤테로시클릴은 변수로서 상기와 같은 이들의 고리계의 임의의 원자를 통해 결합될 수 있다. 융합 아릴헤테로시클릴의 헤테로시클릴 부분 앞의 접두사로서 아자, 옥사 또는 티아의 의미는 고리 원자로서 적어도 질소, 산소 또는 황 원자가 각각 존재하는 것을 의미한다. "치환된 융합 아릴헤테로시클릴"은 동일하거나 상이할 수 있고 본원에서 정의된 바와 같은 1개 이상 (바람직하게는 1 내지 3개)의 "고리 치환기"로 치환되는 상기 정의된 바와 같은 융합 아릴헤테로시클릴 기를 의미한다. 융합 아릴헤테로시클릴의 질소 원자는 염기성 질소 원자일 수 있다. 또한, 융합 아릴헤테로시클릴의 헤테로시클릴 부분의 질소 또는 황 원자는 상응하는 N-옥시드, S-옥시드 또는 S,S-디옥시드로 임의로 산화될 수 있다. 융합 아릴헤테로시클릴 고리계의 예에는 인돌리닐, 1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린, 1,2,3,4-테트라히드로퀴놀린, 1H-2,3-디히드로이소인돌-2-일, 2,3-디히드로벤즈[f]이소인돌-2-일, 1,2,3,4-테트라히드로벤즈[g]-이소퀴놀린-2-일 등이 포함된다.
- [0205] "융합 헤테로아릴시클로알케닐"은 본원에서 정의된 바와 같은 융합된 헤테로아릴과 시클로알케닐을 의미한다. 융합 헤테로아릴시클로알케닐은 헤테로아릴이 약 5 내지 약 6개의 고리 원자로 이루어진 페닐 및 시클로알케닐인 것이 바람직하다. 융합 헤테로아릴-시클로알케닐은 변수로서 상기와 같은 이들의 고리계의 임의의 원자를 통해 결합될 수 있다. 융합 헤테로아릴시클로알케닐의 헤테로아릴 부분 앞의 접두사로서 아자, 옥사 또는 티아의 의미는 고리 원자로서 적어도 질소, 산소 또는 황 원자가 각각 존재하는 것을 의미한다. "치환된 융합 헤테로아릴시클로알케닐"은 동일하거나 상이할 수 있고 본원에서 정의된 바와 같은 1개 이상 (바람직하게는 1 내지 3개)의 "고리 치환기"로 치환되는 상기 정의된 바와 같은 융합 헤테로아릴시클로알케닐 기를 의미한다. 융합 헤테로아릴시클로알케닐의 헤테로아릴 부분의 질소 원자는 염기성 질소 원자일 수 있다. 또한, 융합 헤테로아릴시클로알케닐의 헤테로아릴 부분의 질소 원자는 상응하는 N-옥시드로 임의로 산화될 수 있다. 융합 헤테로아릴시클로알케닐의 예에는 5,6-디히드로퀴놀릴, 5,6-디히드로이소퀴놀릴, 5,6-디히드로퀴놀살리닐, 5,6-디히드로퀴나졸리닐, 4,5-디히드로-1H-벤즈이미다졸릴, 4,5-디-히드로벤즈옥사졸릴 등이 포함된다.
- [0206] "융합 헤테로아릴시클로알킬"은 본원에서 정의된 바와 같은 융합된 헤테로아릴과 시클로알킬을 의미한다. 융합 헤테로아릴시클로알킬은 헤테로아릴이 약 5 내지 약 6개의 고리 원자로 이루어지고, 시클로알킬이 약 5 내지 약 6개의 고리 원자로 이루어진 것이 바람직하다. 융합 헤테로아릴시클로알킬은 변수로서 상기와 같은 이들의 고리계의 임의의 원자를 통해 결합될 수 있다. 융합 헤테로아릴시클로알킬의 헤테로아릴 부분 앞의 접두사로서

아자, 옥사 또는 티아의 의미는 고리 원자로서 적어도 질소, 산소 또는 황 원자가 각각 존재하는 것의 의미한다. "치환된 융합 헤테로아릴시클로알킬"은 동일하거나 상이할 수 있고 본원에서 정의된 바와 같은 1개 이상 (바람직하게는 1 내지 3개)의 "고리 치환기"로 치환되는 상기 정의된 바와 같은 융합 헤테로아릴시클로알킬 기를 의미한다. 융합 헤테로아릴시클로알킬의 질소 원자는 염기성 질소 원자일 수 있다. 또한, 융합 헤테로아릴시클로알킬의 헤테로아릴 부분의 질소 원자는 상응하는 N-옥시드로 임의 산화될 수 있다. 융합 헤테로아릴시클로알킬의 예에는 5,6,7,8-테트라히드로퀴놀리닐, 5,6,7,8-테트라-히드로이소퀴놀릴, 5,6,7,8-테트라히드로퀴놀살리닐, 5,6,7,8-테트라히드로퀴나졸릴, 4,5,6,7-테트라히드로-1H-벤즈이미다졸릴, 4,5,6,7-테트라히드로벤조사졸릴, 1H-4-옥사-1,5-디아자나프탈렌-2-오닐, 1,3-디히드로이미다졸-[4,5]-피리딘-2-오닐 등이 포함된다.

[0207]

"융합 헤테로아릴헤테로시클레닐"은 본원에서 정의된 바와 같은 융합된 헤테로아릴과 헤테로시클레닐을 의미한다. 융합 헤테로아릴헤테로시클레닐은 헤테로아릴이 약 5 내지 약 6개의 고리 원자로 이루어지고, 헤테로시클레닐이 약 5 내지 약 6개의 고리 원자로 이루어진 것이 바람직하다. 융합 헤테로아릴헤테로시클레닐은 변수로서 상기와 같은 이들의 고리계의 임의의 원자를 통해 결합될 수 있다. 융합 헤테로아릴헤테로시클레닐의 헤테로아릴 또는 헤테로시클레닐 부분 앞의 접두사로서 아자, 옥사 또는 티아의 의미는 고리 원자로서 적어도 질소, 산소 또는 황 원자가 각각 존재하는 것의 의미한다. "치환된 융합 헤테로아릴헤테로시클레닐"은 동일하거나 상이할 수 있고 본원에서 정의된 바와 같은 1개 이상 (바람직하게는 1 내지 3개)의 "고리 치환기"로 치환되는 상기 정의된 바와 같은 융합 헤테로아릴헤테로시클레닐 기를 의미한다. 융합 헤테로아릴헤테로시클레닐의 질소 원자는 염기성 질소 원자일 수 있다. 또한, 융합 헤테로아릴헤테로시클레닐의 헤테로아릴 부분의 질소 또는 황 원자는 상응하는 N-옥시드로 임의 산화될 수 있다. 또한, 융합 헤테로아릴헤테로시클레닐의 헤테로아릴 또는 헤테로시클레닐 부분의 질소 또는 황 원자는 상응하는 N-옥시드, S-옥시드 또는 S,S-디옥시드로 임의 산화될 수 있다. 융합 헤테로아릴헤테로시클레닐의 예에는 7,8-디히드로[1,7]나프티리디닐, 1,2-디히드로[2,7]-나프티리디닐, 6,7-디히드로-3H-이미다조[4,5-c]피리딜, 1,2-디히드로-1,5-나프티리디닐, 1,2-디히드로-1,6-나프티리디닐, 1,2-디히드로-1,7-나프티리디닐, 1,2-디히드로-1,8-나프티리디닐, 1,2-디히드로-2,6-나프티리디닐 등이 포함된다.

[0208]

"융합 헤테로아릴헤테로시클릴"은 본원에서 정의된 바와 같은 융합된 헤테로아릴과 헤테로시클릴을 의미한다. 융합 헤테로아릴헤테로시클릴은 헤테로아릴이 약 5 내지 약 6개의 고리 원자로 이루어지고, 헤테로시클릴이 약 5 내지 약 6개의 고리 원자로 이루어진 것이 바람직하다. 융합 헤테로아릴헤테로시클릴은 변수로서 상기와 같은 이들의 고리계의 임의의 원자를 통해 결합될 수 있다. 융합 헤테로아릴헤테로시클릴의 헤테로아릴 또는 헤테로시클릴 부분 앞의 접두사로서 아자, 옥사 또는 티아의 의미는 고리 원자로서 적어도 질소, 산소 또는 황 원자가 각각 존재하는 것의 의미한다. "치환된 융합 헤테로아릴헤테로시클릴"은 동일하거나 상이할 수 있고 본원에서 정의된 바와 같은 1개 이상 (바람직하게는 1 내지 3개)의 "고리 치환기"로 치환되는 상기 정의된 바와 같은 융합 헤테로아릴헤테로시클릴 기를 의미한다. 융합 헤테로아릴헤테로시클릴의 질소 원자는 염기성 질소 원자일 수 있다. 또한, 융합 헤테로아릴헤테로시클릴의 헤테로아릴 부분의 질소 또는 황 원자는 상응하는 N-옥시드로 임의 산화될 수 있다. 또한, 융합 헤테로아릴헤테로시클릴의 헤테로아릴 또는 헤테로시클릴 부분의 질소 또는 황 원자는 상응하는 N-옥시드, S-옥시드 또는 S,S-디옥시드로 임의 산화될 수 있다. 융합 헤테로아릴헤테로시클릴의 예에는 2,3-디히드로-1H 피롤[3,4-b]퀴놀린-2-일, 1,2,3,4-테트라히드로벤조[b][1,7]나프티리딘-2-일, 1,2,3,4-테트라히드로벤조[b][1,6]나프티리딘-2-일, 1,2,3,4-테트라-히드로-9H-피리도[3,4-b]인돌-2일, 1,2,3,4-테트라히드로-9H-피리도[4,3-b]인돌-2-일, 2,3-디히드로-1H-피롤로[3,4-b]인돌-2-일, 1H-2,3,4,5-테트라히드로아제피노[3,4-b]인돌-2-일, 1H-2,3,4,5-테트라히드로아제피노[4,3-b]인돌-3-일, 1H-2,3,4,5-테트라히드로아제피노[4,5-b]인돌-2-일, 5,6,7,8-테트라히드로[1, 7]나프티리딜, 1,2,3,4-테트라히드로[2,7]나프티리딜, 2,3-디히드로[1,4]디옥시노 [2,3-b]피리딜, 2,3-디히드로-[1,4]디옥시노[2,3-b]피리딜, 3,4-디히드로-2H-1-옥사[4,6]디아자나프탈레닐, 4,5,6,7-테트라히드로-3H-이미다조[4,5-c]피리딜, 6,7-디히드로[5,8]디아자나프탈레닐, 1,2,3,4-테트라히드로[1,5]나프티리디닐, 1,2,3,4-테트라히드로[1,6]나프티리디닐, 1,2,3,4-테트라히드로[1,7]나프티리디닐, 1,2,3,4-테트라히드로[1,8]나프티리디닐, 1,2,3,4-테트라-히드로[2,6]나프티리디닐 등이 포함된다.

[0209]

"할로"는 플루오로, 클로로, 브로모 또는 요오도를 의미한다. 플루오로, 클로로 또는 브로모가 바람직하고, 플루오로 또는 클로로가 더욱 바람직하다.

[0210]

"헤테로아로일"은 헤테로아릴-CO-기 (여기서, 헤테로아릴 기는 본원에서 정의된 바와 같음)를 의미한다. 헤테로아로일 기의 예에는 티오펜노일, 니코티노일, 피롤-2-일카르보닐, 1- 및 2-나프토일, 피리디노일 등이 포함된다.

- [0211] "헤테로아릴"은 탄소 원자수 약 5 내지 약 14, 바람직하게는 약 5 내지 약 10의 방향족 모노시클릭 또는 멀티시클릭 고리계를 의미하며, 고리계에서 1개 이상의 탄소 원자는 탄소 이외의 헤테로원자, 예를 들어 질소, 산소 또는 황이다. 고리계가 1 내지 3개의 헤테로원자를 포함하는 것이 바람직하다. 고리계의 고리 크기는 약 5 내지 약 6개의 고리 원자를 포함하는 것이 바람직하다. 헤테로아릴의 예에는 헤테로아릴 잔기를 통해 결합된 경우 본원에서 정의된 바와 같은 융합 헤테로아릴시클로알케닐, 융합 헤테로아릴시클로알킬, 융합 헤테로아릴헤테로시클레닐 및 융합 헤테로아릴헤테로시클릴이 포함된다. "치환 헤테로아릴"은 동일하거나 상이할 수 있고 본원에서 정의된 바와 같은 1개 이상 (바람직하게는 1 내지 3개)의 "고리 치환기"로 치환되는 상기 정의된 바와 같은 헤테로아릴 기를 의미한다. 헤테로아릴 앞의 접두사로서 아자, 옥사 또는 티아의 의미는 고리 원자로서 적어도 질소, 산소 또는 황 원자가 각각 존재하는 것의 의미한다. 헤테로아릴의 질소 원자는 염기성 질소 원자일 수 있고, 상응하는 N-옥시드로 임의로 산화될 수도 있다. 헤테로아릴 및 치환 헤테로아릴 기의 예에는 피라지닐, 티에닐, 이소티아졸릴, 옥사졸릴, 피라졸릴, 푸라자닐, 피롤릴, 1,2,4-티아디아졸릴, 피리다지닐, 퀴놀살리닐, 프탈라지닐, 이미다조[1,2-a]피리딘, 이미다조[2,1-b]티아졸릴, 벤조푸라자닐, 아자인돌릴, 벤즈이미다졸릴, 벤조티에닐, 티에노피리디, 티에노피리미디, 피롤로피리디, 이미다조피리디, 벤조아자인돌릴, 1,2,4-트리아지닐, 벤즈티아졸릴, 푸라닐, 이미다졸릴, 인돌릴, 인돌리지닐, 이속사졸릴, 이소퀴놀리닐, 이소티아졸릴, 옥사디아졸릴, 피라지닐, 피리다지닐, 피라졸릴, 피리디, 피리미디닐, 피롤릴, 퀴나졸리닐, 퀴놀리닐, 1,3,4-티아디아졸릴, 티아졸릴, 티에닐, 트리아졸릴 등이 포함된다. 헤테로아릴 기가 피라지닐인 것이 바람직하다.
- [0212] "헤테로아릴디아조"는 헤테로아릴-아조-기 (여기서, 헤테로아릴 및 아조 기는 본원에서 정의된 바와 같음)를 의미한다.
- [0213] "헤테로아릴리디"는 헤테로아릴 (여기서, 헤테로아릴은 본원에서 정의된 바와 같음)에서 유도되는 2가의 기를 의미한다. 헤테로아릴리디 기의 예로는 임의로 치환되는 피리딘디일이 있다.
- [0214] "헤테로아릴술폰닐카르바모일"은 헤테로아릴-SO₂-NH-C(=O)-기 (여기서, 헤테로아릴 기는 본원에서 정의된 바와 같음)를 의미한다.
- [0215] "헤테로시클레닐"은 탄소 원자수 약 3 내지 약 10, 바람직하게는 약 5 내지 약 10의 비-방향족 모노시클릭 또는 멀티시클릭 고리계를 의미하며, 고리계에서 1개 이상의 탄소 원자는 탄소 이외의 헤테로원자, 예를 들어 질소, 산소 또는 황이며, 1개 이상의 탄소-탄소 이중 결합 또는 탄소-질소 이중 결합을 함유한다. 고리가 1 내지 3개의 헤테로원자를 포함하는 것이 바람직하다. 고리계의 고리 크기는 약 5 내지 약 6개의 고리 원자를 포함하는 것이 바람직하며, 이러한 바람직한 고리 크기는 "저급"으로도 불린다. 헤테로시클레닐의 예에는 헤테로시클레닐 잔기를 통해 결합된 경우 본원에서 정의된 바와 같은 융합 아릴헤테로시클레닐 및 융합 헤테로아릴헤테로시클레닐이 포함된다. 헤테로시클레닐 앞의 접두사로서 아자, 옥사 또는 티아의 의미는 고리 원자로서 적어도 질소, 산소 또는 황 원자가 각각 존재하는 것을 의미한다. "치환 헤테로시클레닐"은 동일하거나 상이할 수 있고 본원에서 정의된 바와 같은 1개 이상 (바람직하게는 1 내지 3개)의 "고리 치환기"로 치환되는 상기 정의된 바와 같은 헤테로시클레닐 기를 의미한다. 헤테로시클레닐의 질소 원자는 염기성 질소 원자일 수 있다. 헤테로시클레닐의 질소 또는 황 원자는 상응하는 N-옥시드, S-옥시드 또는 S,S-디옥시드로 임의로 산화될 수도 있다. 모노시클릭 아자헤테로시클레닐 기의 예에는 1,2,3,4-테트라히드로히드로피리딘, 1,2-디히드로피리디, 1,4-디히드로피리디, 1,2,3,6-테트라-히드로피리딘, 1,4,5,6-테트라히드로피리미딘, 2-피롤리닐, 3-피롤리닐, 2-이미다졸리닐, 2-피라졸리닐 등이 포함된다. 옥사헤테로시클레닐 기의 예에는 3,4-디히드로-2H-피란, 디히드로푸라닐 및 플루오로디히드로푸라닐이 포함된다. 멀티시클릭 옥사헤테로시클레닐 기의 예에는 7-옥사비시클로[2.2.1]헵테닐이 포함된다. 모노시클릭 티아헤테로시클레닐 고리의 예에는 디히드로티오펜 및 디히드로티오피라닐이 포함된다.
- [0216] "헤테로시클릴"은 탄소 원자수 약 3 내지 약 10, 바람직하게는 약 5 내지 약 10의 비-방향족 포화 모노시클릭 또는 멀티시클릭 고리계를 의미하며, 고리계에서 1개 이상의 탄소 원자는 탄소 이외의 헤테로원자, 예를 들어 질소, 산소 또는 황이다. 고리계가 1 내지 3개의 헤테로원자를 포함하는 것이 바람직하다. 고리계의 고리 크기는 약 5 내지 약 6개의 고리 원자를 포함하는 것이 바람직하며, 이러한 바람직한 고리 크기는 "저급"으로도 불린다. 헤테로시클릴의 예에는 헤테로시클릴 잔기를 통해 결합된 경우 본원에서 정의된 바와 같은 융합 아릴헤테로시클릴 및 융합 헤테로아릴헤테로시클릴이 포함된다. 헤테로시클릴 앞의 접두사로서 아자, 옥사 또는 티아의 의미는 고리 원자로서 적어도 질소, 산소 또는 황 원자가 각각 존재하는 것을 의미한다. "치환 헤테로시클릴"은 동일하거나 상이할 수 있고 본원에서 정의된 바와 같은 1개 이상 (바람직하게는 1 내지 3개)의 "고리 치환기"로 치환되는 상기 정의된 바와 같은 헤테로시클릴 기를 의미한다. 헤테로시클릴의 질소 원자는 염기성

질소 원자일 수 있다. 헤테로시클릴의 질소 또는 황 원자는 상응하는 N-옥시드, S-옥시드 또는 S,S-디옥시드로 임의로 산화될 수도 있다. 모노시클릭 헤테로시클릴 고리의 예에는 피페리딘, 피롤리딘, 피페라지닐, 모르폴리닐, 티오모르폴리닐, 티아졸리딘, 1,3-디옥솔라닐, 1,4-디옥사닐, 테트라히드로푸라닐, 테트라히드로티오페

닐, 테트라히드로티오피라닐 등이 포함된다.  은 치환된 모노시클릭 아자헤테로시클릴로서 1개 이상의 치환기에 의해 직접 치환되거나 링커를 통해 치환되거나, 본원에서 정의된 바와 같은 방향족 기, 예를 들들어 아릴, 헤테로아릴, 아릴옥시, 헤테로아릴옥시, 아로일 또는 그의 티옥소 동족체, 헤테로아로일 또는 그의 티옥소 동족체, 아로일옥시, 헤테로아로일옥시, 아릴옥시카르보닐, 헤테로아릴옥시카르보닐, 아릴술폰닐, 헤테로아릴술폰닐, 아릴술폰피닐, 헤테로아릴술폰피닐, 아릴티오, 헤테로아릴티오, 아릴디아조, 헤테로아릴디아조, Y^1Y^2N- , $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ 또는 $Y^1Y^2NSO_2-$ (여기서, Y^1 과 Y^2 중 적어도 하나는 아릴 또는 헤테로아릴 잔기를 포함하거나 이로 치환됨)에 의해 치환된다. 바람직한 링커에는 $-C(O)-$, $-OC(O)-$, 저급 알킬, 저급 알콕시, 저급 알케닐, $-O-$, $-S-$, $-C(O)C(O)-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-NR^{80}-$ (여기서, R^{80} 은 수소, 알킬, 시클로알킬, 아릴, 아르알킬, 헤테로시클릴 또는 헤테로아릴임)가 포함된다. 링커는 $-C(O)-$ 및 $-OC(O)-$ 가 특히 바람직하다. "치환된 멀티시클릭 아자헤테로시클릴"은 동일하거나 상이할 수 있고 본원에서 정의된 바와 같은 1개 이상 (바람직하게는 1 내지 3개)의 "고리 치환기"로 치환되는 상기 정의된 바와 같은 멀티시클릭 아자헤테로시클릴 기를 의미한다. "치환된 멀티시클릭 아자헤테로시클레닐"은 동일하거나 상이할 수 있고 본원에서 정의된 바와 같은 1개 이상 (바람직하게는 1 내지 3개)의 "고리 치환기"로 치환되는 상기 정의된 바와 같은 멀티시클릭 아자헤테로시클레닐 기를 의미한다.

[0217] "헤테로시클릴렌"은 약 4 내지 약 8개의 탄소 원자를 갖는 본원에서 정의된 바와 같은 2가의 헤테로시클릴 기를 의미한다. 헤테로시클릴렌의 고리 크기는 약 5 내지 약 6개의 고리 원자를 포함하는 것이 바람직하며; 이러한 바람직한 고리 크기는 "저급"으로도 불린다. 시클로알킬렌 기에서 결합점은 1,1-, 1,2-, 1,3- 또는 1,4- 결합 패턴을 포함하고, 결합점의 입체화학적 관계는 시스 또는 트랜스에 적용가능하다. 헤테로시클릴렌 기의 예에는 (1,1-, 1,2- 또는 1,3-)피페리디닐렌 및 (1,1- 또는 1,2-)테트라히드로푸라닐렌이 포함된다. "치환 헤테로시클릴렌"은 동일하거나 상이할 수 있고 본원에서 정의된 바와 같은 1개 이상 (바람직하게는 1 내지 3개)의 "고리 치환기"로 치환되는 상기 정의된 바와 같은 헤테로시클릴렌 기를 의미한다.

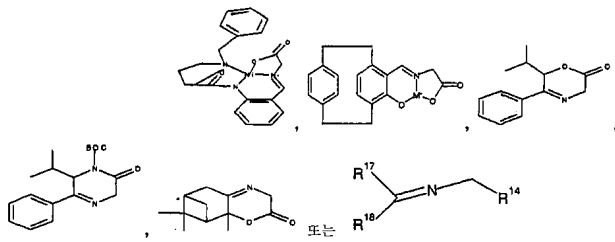
[0218] "수화물"은 용매 분자(들)이 H_2O 인 용매화물을 의미한다.

[0219] "수소화반응에 불안정한 아민 보호기"는 다른 시약에 비교적 안정한 채로 있는 반면 수소화반응에 의해 쉽게 제거되는 본원에서 정의된 바와 같은 아민 보호기를 의미한다. 수소화반응에 불안정한 아민 보호기는 Cbz가 바람직하다.

[0220] "수소화반응에 불안정한 산 보호기"는 다른 시약에 비교적 안정한 채로 있는 반면 수소화반응에 의해 쉽게 제거되는 본원에서 정의된 바와 같은 산 보호기를 의미한다. 수소화반응에 불안정한 산 보호기는 벤질이 바람직하다.

[0221] "흡수성"은 기질의 물리적 또는 화학적 특성에 영향을 주기에 충분한 물의 요구되는 양 또는 상태를 포함하는 수착을 의미한다 [Eds. J. Swarbrick and J.C. Boylan, Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, 10, 33].

[0222] "이민 글리신이미드 유도체"는 천연 및 비천연 모두의 α -아미노산의 합성에 유용한 글리신의 이민 슈프 염기를 의미한다. 이민 에스테르 관능기는 결합 형성 과정동안 입체유도를 도울 수 있는 1개 이상의 비대칭 중심을 함유할 수 있다. 또한, 이들 이민 글리신이미드 유도체는 중합체성 지지체에 혼입되어 결합 합성을 촉진할 수 있다. 이민 글리신이미드 유도체는 산 촉매 존재하에서 글리신 에스테르를 적합한 케톤과 축합시켜 제조할 수 있다. 반응은 물의 제거에 의해 촉진된다. 이민 글리신이미드 유도체는 예를 들어, 본원에서 참고로 포함되는 문헌[Guillena, G., et al., J. Org. Chem. 2000, 65, 7310-7322]에 기재된 바와 같이 미하엘 부가 합성법에서 사용되는 것으로 당업계에 널리 공지되어 있다. 본 발명에 따른 이민 글리신이미드 유도체의 구체적인 예에는



[0223]

[0224]

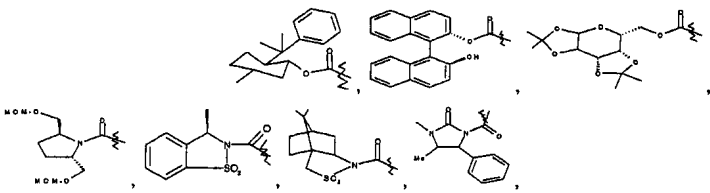
{상기 식 중,

[0225]

M*는 전이 금속, 바람직하게는 Cu, 더욱 바람직하게는 Cu^{II}이고;

[0226]

R¹⁴는 -CO₂R¹⁶, -CN,



[0227]

[0228]

또는 -CONR¹⁵R¹⁵이고;

[0229]

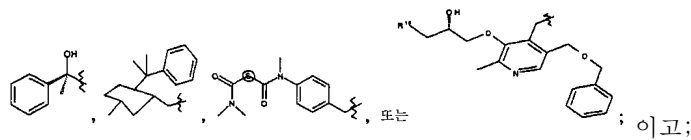
R¹⁵는 임의로 치환되는 지방족 기이고;

[0230]

R¹⁶은 산 보호기, 임의로 치환되는 아릴 또는 임의로 치환되는 지방족 기이고;

[0231]

R¹⁷은 임의로 치환되는 아릴, 임의로 치환되는 지방족 기,



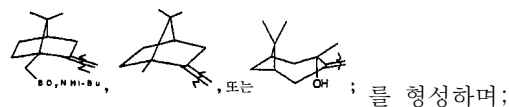
[0232]

[0233]

R¹⁸은 수소, 알킬 또는 알킬티오 또는 임의로 치환되는 아릴이고;

[0234]

R¹⁷과 R¹⁸은 R¹⁷과 R¹⁸이 부착된 탄소 원자와 함께



[0235]

[0236]

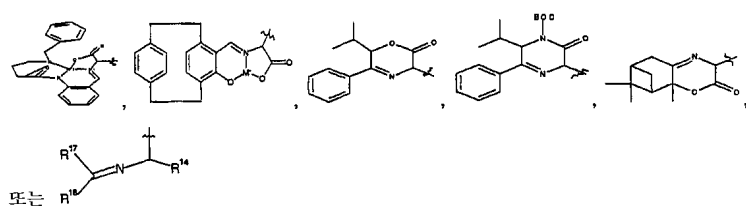
⑤는 고체상임}

[0237]

의 군으로부터 선택된 것이 포함된다.

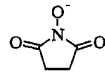
[0238]

"이민 글리신이미드 유도체 어덕트"는 슈프 염기 부분의 질소 및 카르보닐 잔기에 대한 α-수소가 제거되고, 이 자리에 결합 형성을 위한 부착물을 형성하는데 사용되는 생성 화합물을 의미한다. 본 발명에 따른 이민 글리신 이미드 유도체 어덕트의 구체적인 예에는



[0239]

- [0240] {상기 식에서,
- [0241] R^{14} , R^{17} 및 R^{18} 은 본원에서 이민 글리신이미드 유도체의 정의에서 기재된 바와 같이 정의됨}
- [0242] 의 군으로부터 선택되는 것이 포함된다.



- [0243] "N-옥시숙신이미드"는 구조의 잔기를 의미한다.



- [0244] "N-옥시드"는 구조의 잔기를 의미한다.

- [0245] "환자"는 인간 및 기타 포유동물 모두를 포함한다.

- [0246] "펩티드 유사"는 아마이드 결합을 통해 함께 연결된 아미노산 잔기를 포함하는 중합체를 의미한다.

- [0247] "제약상 허용되는 에스테르"는 생체내에서 가수분해되고 인체내에서 쉽게 분해되어 모화합물 또는 그의 염이 되는 것을 포함하는 에스테르를 의미한다. 적합한 에스테르 군에는 예를 들어, 제약상 허용되는 지방족 카르복실산, 특히 알칸산, 알켄산, 시클로알칸산 및 알칸디오산으로부터 유도되는 것이 포함되며, 여기서, 알킬 또는 알케닐 잔기 각각은 탄소 원자수가 6 이하인 것이 이롭다. 에스테르의 예에는 포르메이트, 아세테이트, 프로피오네이트, 부티레이트, 아크릴레이트, 에틸숙시네이트 등이 포함된다.

- [0248] 본원에서 사용되는 "제약상 허용되는 프로드럭"은 정상적인 의학적 판단의 범위 내에서, 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응 등을 나타내지 않고 인간 및 저급 동물의 조직과 접촉시켜 사용하기에 적합하며, 합리적인 이점/위험 비율로 균형이 잡혀 의도하는 용도에 효과적인 본 발명 화합물의 프로드럭 뿐 아니라 가능한 경우 본 발명의 화합물의 쯔비터이온 형태를 의미한다. 용어 "프로드럭"은 생체내에서 빠르게 변형되어, 예를 들어 혈액에서의 가수분해에 의해 상기 화학식의 모화합물을 생성하는 화합물을 의미한다. 대사성 분해에 의해 빠르게 변형될 수 있는 관능기는 생체내에서 본 발명의 화합물의 카르복실기와 반응성인 기의 부류를 형성한다. 이들의 비제한적인 예로는 알카노일 (예를 들어, 아세틸, 프로파노일, 부타노일 등), 비치환 및 치환 아로일 (예를 들어, 벤조일 및 치환 벤조일), 알콕시카르보닐 (예를 들어, 에톡시카르보닐), 트리알킬실릴 (예를 들어, 트리메틸- 및 트리에틸실릴), 디카르복실산 (예를 들어, 숙시닐)으로 형성된 모노에스테르 등이 있다. 본 발명의 화합물의 대사 분해성 기가 생체내에서 분해되기 쉽기 때문에, 이러한 기를 보유하는 화합물은 프로드럭으로 작용한다. 대사 분해성 기를 보유하는 화합물은 대사 분해성 기의 존재에 따라 모화합물에 의해 부여된 증강된 용해성 및(또는) 흡수 속도의 결과로써 향상된 생체이용률을 나타낼 수 있는 이점을 갖는다. 완전한 논의는 본원에서 참고로 포함되는 문헌[Design of Prodrugs, H. Bundgaard, ed., Elsevier (1985); Methods in Enzymology; K. Widder et al, Ed., Academic Press, 42, 309-396 (1985); A Textbook of Drug Design and Development, Krogsgaard-Larsen and H. Bandaged, ed., Chapter 5; "Design and Applications of Prodrugs" 113-191 (1991); Advanced Drug Delivery Reviews, H. Bundgard, 8, 1-38, (1992); J. Pharm. Sci., 77, 285 (1988) ; Chem. Pharm. Bull., N. Nakeya et al, 32, 692 (1984); Pro-drugs as Novel Delivery Systems, T. Higuchi and V. Stella, 14 A.C.S. Symposium Series, and Bioreversible Carriers in Drug Design, E. B. Roche, ed., American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987]에서 제공된다.

- [0249] "제약상 허용되는 염"은 본 발명의 화합물의 비교적 무독성의 무기 및 유기 산 부가염 및 염기 부가염을 의미한다. 이들 염은 화합물의 최종 단리 및 정제 동안 동일계에서 제조될 수 있다. 특히, 산 부가염은 별도로 유리 염기 형태의 정제된 화합물을 적합한 유기 또는 무기산과 반응시키고, 이렇게 형성된 염을 단리함으로써 제조할 수 있다. 산 부가염의 예에는 히드로브로마이드, 히드로클로라이드, 술페이트, 비술페이트, 포스페이트, 니트레이트, 아세테이트, 옥살레이트, 말레이트, 올레이트, 팔미테이트, 스테아레이트, 라우레이트, 보레이트, 벤조에이트, 락테이트, 포스페이트, 토실레이트, 시트레이트, 말레이트, 푸마레이트, 숙시네이트, 타르트레이트, 나프틸레이트, 메실레이트, 글루코헵토네이트, 락티오비오네이트, 술파메이트, 말로네이트, 살리실레이트, 프로피오네이트, 메틸렌-비스-β-히드록시나프토에이트, 젠티세이트, 이세티오네이트, 디-p-톨루오일타르트레이트, 메탄술포네이트, 에탄술포네이트, 벤젠술포네이트, p-톨루엔술포네이트, 시클로헥실술파메이트 및 퀴네이트 라우릴술포네이트 염 등이 포함된다. 예를 들어, 본원에서 참고로 포함되는 문헌[S.M. Berge, et al., "Pharmaceutical Salts," J. Pharm. Sci., 66, 1-19 (1977)]을 참조한다. 또한, 염기 부가염은 별도로 산 형태의 정제된 화합물을 적합한 유기 또는 무기 염기와 반응시키고, 이렇게 형성된 염을 단리함으로써 제조할 수 있다. 염기 부가염은 제약상 허용되는 금속 및 아민염을 포함한다. 적합한 금속염에는 나트륨, 칼륨,

칼슘, 바륨, 아연, 마그네슘 및 알루미늄염이 포함된다. 나트륨 및 칼륨염이 바람직하다. 적합한 무기 염기 부가염은 나트륨 수소화물, 나트륨 수산화물, 칼륨 수산화물, 칼슘 수산화물, 알루미늄 수산화물, 리튬 수산화물, 마그네슘 수산화물, 아연 수산화물 등을 포함하는 금속 염기로부터 제조된다. 적합한 아민 염기 부가염은 적합한 염을 형성하기에 충분한 염기도를 갖고, 바람직하게는 낮은 독성 및 의학적 용도에 대한 허용성으로 인해 의학 화학에서 자주 사용되는 아민으로부터 제조된다. 예로는 암모니아, 에틸렌디아민, N-메틸-글루카민, 리신, 아르기닌, 오르니틴, 콜린, N,N'-디벤질에틸렌디아민, 클로로프로카인, 디에탄올아민, 프로카인, N-벤질 페네틸아민, 디에틸아민, 피페라진, 트리스(히드록시메틸)-아미노메탄, 테트라메틸암모늄 수산화물, 트리메틸아민, 디벤질아민, 에펜아민, 테히드로아비에틸아민, N-에틸피페리딘, 벤질아민, 테트라메틸암모늄, 테트라에틸암모늄, 메틸아민, 디메틸아민, 트리메틸아민, 에틸아민, 염기성 아미노산, 예를 들어, 리신 및 아르기닌, 및 디시클로헥실아민 등이 있다.

[0250] "고리 치환기"는 방향족 또는 비-방향족 고리계에 부착된 치환기를 의미하며, 아릴, 헤테로아릴, 히드록시, 알콕시, 시클릴옥시, 아릴옥시, 헤테로아릴옥시, 아실 또는 그의 티옥소 동족체, 시클릴카르보닐 또는 그의 티옥소 동족체, 아로일 또는 그의 티옥소 동족체, 헤테로아로일 또는 그의 티옥소 동족체, 아실옥시, 시클릴카르보닐옥시, 아로일옥시, 헤테로아로일옥시, 할로, 니트로, 시아노, 카르복시(산), $-C(O)-NHOH$, $-C(O)-CH_2OH$, $-C(O)-CH_2SH$, $-C(O)-NH-CN$, 술포, 포스포노, 알킬술포닐카르바모일, 테트라졸릴, 아릴술포닐카르바모일, N-메톡시카르바모일, 헤테로아릴술포닐카르바모일, 3-히드록시-3-시클로부텐-1,2-디온, 3,5-디옥소-1,2,4-옥사디아졸리디닐 또는 히드록시헤테로아릴, 예를 들어 3-히드록시이속사졸릴, 3-히드록시-1-메틸피라조일, 알콕시카르보닐, 시클릴옥시카르보닐, 아릴옥시카르보닐, 헤테로아릴옥시카르보닐, 알킬술포닐, 시클릴술포닐, 아릴술포닐, 헤테로아릴술포닐, 알킬술포닐, 시클릴술포닐, 아릴술포닐, 헤테로아릴술포닐, 알킬티오, 시클릴티오, 아릴티오, 헤테로아릴티오, 시클릴, 아릴디아조, 헤테로아릴디아조, 티올, Y^1Y^2N- , $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ 또는 $Y^1Y^2NSO_2-$ (여기서, Y^1 , Y^2 및 Y^3 는 독립적으로 수소, 알킬, 아릴 또는 헤테로아릴이거나, 치환기가 Y^1Y^2N- 인 경우, Y^1 과 Y^2 중 하나는 본원에서 정의된 바와 같은 아실, 시클릴카르보닐, 아로일, 헤테로아로일, 알콕시카르보닐, 시클릴옥시카르보닐, 아릴옥시카르보닐 또는 헤테로아릴옥시카르보닐일 수 있고, Y^1 과 Y^2 중 다른 하나는 상기 정의한 바와 같거나, 또는 치환기가 $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ 또는 $Y^1Y^2NSO_2-$ 인 경우, Y^1 및 Y^2 는 질소 원자를 통해 연결되어 4원 내지 7원 아자헤테로시클릴 또는 아자헤테로시클레닐을 형성할 수도 있음)가 포함된다. 고리계가 포화되거나 부분 포화된 경우, "고리 치환기"에는 메틸렌 ($H_2C=$), 옥소 ($O=$) 및 티옥소 ($S=$)가 추가로 포함된다. 산성/아미드 고리 치환기는 카르복시(산), $-C(O)-NHOH$, $-C(O)-CH_2OH$, $-C(O)-CH_2SH$, $-C(O)-NH-CN$, 술포, 포스포노, 알킬술포닐카르바모일, 테트라졸릴, 아릴술포닐카르바모일, N-메톡시카르바모일, 헤테로아릴술포닐카르바모일, 3-히드록시-3-시클로부텐-1,2-디온, 3,5-디옥소-1,2,4-옥사디아졸리디닐 또는 히드록시헤테로아릴, 예를 들어 3-히드록시이속사졸릴, 3-히드록시-1-메틸피라조일 및 Y^1Y^2NCO- 이다. 비-산성 극성 고리 치환기는 히드록시, 옥소($O=$), 티옥소($S=$), 아실 또는 그의 티옥소 동족체, 시클릴카르보닐 또는 그의 동족체, 아로일 또는 그의 티옥소 동족체, 헤테로아로일 또는 그의 티옥소 동족체, 알콕시카르보닐, 시클릴옥시카르보닐, 아릴옥시카르보닐, 헤테로아릴옥시카르보닐, 아실옥시, 시클릴카르보닐옥시, 아로일옥시, 헤테로아로일옥시, 알킬술포닐, 시클릴술포닐, 아릴술포닐, 헤테로아릴술포닐, 알킬술포닐, 시클릴술포닐, 아릴술포닐, 헤테로아릴술포닐, 티올, Y^1Y^2N- , $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ 또는 $Y^1Y^2NSO_2-$ 이다.

[0251] "용매화물"은 본 발명의 화합물과 1개 이상의 용매 분자와의 물리적 회합을 의미한다. 이러한 물리적 회합에는 수소 결합이 포함된다. 특정 예에서, 예를 들면, 1개 이상의 용매 분자가 결정질 고체의 결정 격자에 혼입되는 경우, 용매화물은 단리될 수 있다. "용매화"는 용액상 및 단리가 가능한 용매화물 모두를 포함한다. 용매화물의 예에는 수화물, 에탄올레이트, 메탄올레이트 등이 포함된다.

[0252] 실시양태

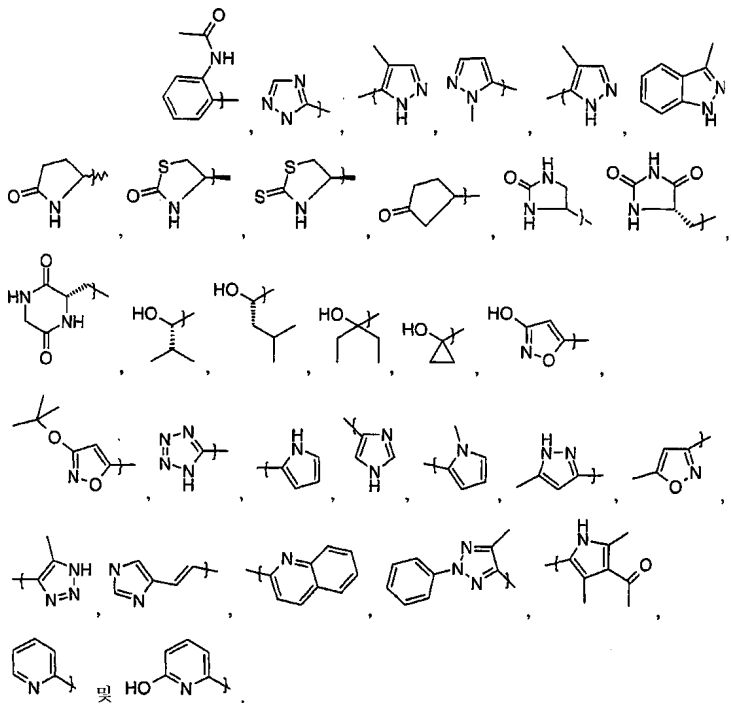
[0253] 하기 내용은 본원에 기재된 발명을 참고로 하는 구체적이고 바람직한 실시양태이다.

[0254] 본 발명에 따른 특정 실시양태에서 R^o 는 결합이다.

- [0255] 본 발명에 따른 다른 특정 실시양태에서 R^0 는 디플루오로메틸렌이다.
- [0256] 본 발명에 따른 특정 실시양태에서 R^1 은 수소 또는 임의로 치환되는 저급 지방족 기이다.
- [0257] 본 발명에 따른 다른 특정 실시양태에서 R^1 은 수소 또는 저급 알킬이다.
- [0258] 본 발명에 따른 바람직한 실시양태에서 R^1 은 수소이다.
- [0259] 본 발명에 따른 특정 실시양태에서 R^2 는 임의로 치환되는 저급 지방족 기 또는 임의로 치환되는 모노시클릭 기이다.
- [0260] 본 발명에 따른 다른 특정 실시양태에서 R^2 는 임의로 치환되는 저급 알킬, 임의로 치환되는 저급 알케닐 또는 임의로 치환되는 모노시클릭 시클로알킬이다.
- [0261] 본 발명에 따른 또다른 특정 실시양태에서 R^2 는 카르복시메틸, 1-카르복시-2-페닐에틸, 시클로프로필, 시클로부틸, 1-시클로헥실에틸, 1-페닐에틸, 부트-2-일, 1-피리드-4-일에틸, 프로펜-3-일 또는 3-메틸부트-2-일이며; 시클로프로필이 더욱 바람직하다.
- [0262] 본 발명에 따른 특정 실시양태에서 R^3 는 임의로 치환되는 (저급 지방족 기)메틸렌이다.
- [0263] 본 발명에 따른 또다른 특정 실시양태에서 R^3 는 임의로 할로 치환되는 저급 (알킬 또는 알케닐)메틸렌이다.
- [0264] 본 발명에 따른 바람직한 실시양태에서 R^3 는 프로필메틸렌, 2,2-디플루오로에틸메틸렌, 2,2,2-트리플루오로메틸렌 또는 프로펜-3-일메틸렌이고; R^3 가 프로필메틸렌 또는 2,2-디플루오로에틸메틸렌인 것이 더욱 바람직하며; R^3 가 프로필메틸렌인 것이 더욱 더 바람직하다.
- [0265] 본 발명에 따른 특정 실시양태에서 R^4 는 수소 또는 임의로 치환되는 저급 지방족 기이다.
- [0266] 본 발명에 따른 또다른 특정 실시양태에서 R^4 는 수소 또는 저급 알킬이다.
- [0267] 본 발명에 따른 바람직한 실시양태에서 R^4 는 수소이다.
- [0268] 본 발명에 따른 특정 실시양태에서 R^5 는 임의로 치환되는 (저급 지방족 기)메틸렌이다.
- [0269] 본 발명에 따른 또다른 특정 실시양태에서 R^5 는 임의로 (페닐, 카르복시, 카르복스아미도 또는 알콕시카르보닐)로 치환되는 저급 (알킬 또는 알케닐)메틸렌이다.
- [0270] 본 발명에 따른 바람직한 실시양태에서 R^5 는 메틸메틸렌, 이소프로필메틸렌, t-부틸메틸렌, 부트-2-일메틸렌, 부틸메틸렌, 벤질메틸렌, 3-메틸부틸메틸렌, 2-메틸프로필메틸렌, 카르복시메틸메틸렌, 카르복스아미도메틸메틸렌, 벤질옥시카르보닐메틸메틸렌, 벤질옥시카르보닐프로필메틸렌 또는 페닐프로펜-3-일메틸렌이며; R^5 가 이소프로필메틸렌 또는 t-부틸-메틸렌인 것이 더욱 바람직하다.
- [0271] 본 발명에 따른 특정 실시양태에서 R^6 는 수소 또는 임의로 치환되는 저급 지방족 기이다.
- [0272] 본 발명에 따른 또다른 특정 실시양태에서 R^6 는 수소 또는 저급 알킬이다.
- [0273] 본 발명에 따른 바람직한 실시양태에서 R^6 는 수소이다.
- [0274] 본 발명에 따른 특정 실시양태에서 R^7 은 임의로 치환되는 (저급 지방족 기)메틸렌, 임의로 치환되는 (저급 시클릭 기)메틸렌 또는 임의로 치환되는 모노시클릭 (아릴 또는 헤테로아릴)메틸렌이다.
- [0275] 본 발명에 따른 또다른 특정 실시양태에서 R^7 은 임의로 치환되는 저급 알킬메틸렌, 임의로 치환되는 저급 시클로알킬메틸렌 또는 임의로 치환되는 페닐메틸렌이다.

- [0276] 본 발명에 따른 바람직한 실시양태에서 R^7 은 메틸메틸렌, 이소프로필메틸렌, n-프로필메틸렌, 페닐메틸렌, 시클로헥실메틸렌, 시클로펜틸메틸렌, t-부틸메틸렌, s-부틸메틸렌, 시클로헥실메틸메틸렌 또는 페닐메틸메틸렌이고; 이소프로필메틸렌, 시클로헥실메틸렌, 시클로펜틸메틸렌, t-부틸메틸렌 또는 s-부틸메틸렌이 더욱 바람직하다.
- [0277] 또한, 본 발명에 따른 바람직한 실시양태에서 R^3 , R^5 및 R^7 각각은 일치환된 메틸렌이다.
- [0278] 또한, 본 발명에 따른 바람직한 실시양태에서 R^3 는 일치환된 메틸렌이고, $-C(O)-R^o-C(O)-NR^1R^2$ 잔기에 부착된 탄소상에서 (S) 배열을 갖는다.
- [0279] 본 발명에 따른 특정 실시양태에서 R^8 은 수소 또는 임의로 치환되는 저급 지방족 기이다.
- [0280] 본 발명에 따른 또다른 특정 실시양태에서 R^8 은 수소 또는 저급 알킬이다.
- [0281] 본 발명에 따른 바람직한 실시양태에서 R^8 은 수소이다.
- [0282] 본 발명에 따른 특정 실시양태에서 R^9 은 임의로 치환되는 저급 지방족 기 또는 임의로 치환되는 모노시클릭 방향족 기이다.
- [0283] 본 발명에 따른 또다른 특정 실시양태에서 R^9 은 임의로 치환되는 저급 알킬 또는 임의로 치환되는 모노시클릭 헤테로아릴이다.
- [0284] 본 발명에 따른 또다른 특정 실시양태에서 R^9 은 임의로 (카르복시, (저급 알킬)SO₂NH-, (저급 알킬)HNCO-, 히드록시, 페닐, 헤테로아릴 또는 (저급 알킬)OC(O)NH-)로 치환된 저급 알킬 또는 임의로 치환되는 모노시클릭 헤테로아릴이다.
- [0285] 본 발명에 따른 또다른 바람직한 실시양태에서 R^9 은 (모노- 또는 디-)MeOC(O)NH-로 치환된 저급 알킬이며; 1,2-디(MeOC(O)NH)에틸 또는 1-(MeOC(O)NH)에틸이 더욱 바람직하다.
- [0286] 본 발명에 따른 바람직한 실시양태에서 R^9 은 (카르복시, (저급 알킬)HNCO- 또는 테트라졸릴)로 치환된 저급 알킬이고; 3-카르복시프로필, 2-테트라졸-5-일프로필, 3-(N-메틸카르복스아미도)프로필 또는 3-카르복시-2,2-디메틸프로필이 더욱 바람직하며; 3-카르복시프로필, 2-테트라졸-5-일프로필 또는 3-(N-메틸카르복스아미도)프로필이 더욱 더 바람직하다.
- [0287] 본 발명에 따른 또다른 바람직한 실시양태에서 R^9 은 임의로 치환되는 저급 알킬이고; 1-히드록시-2-페닐에틸, 메틸, 이소프로필 또는 t-부틸이 더욱 바람직하며; 메틸, 이소프로필 또는 t-부틸이 더욱 더 바람직하다.

[0288] 본 발명에 따른 또다른 바람직한 실시양태에서 R^9 은



[0289]

[0290] 로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0291] 본 발명에 따른 또다른 바람직한 실시양태에서 R^9 은 피라지닐이다.

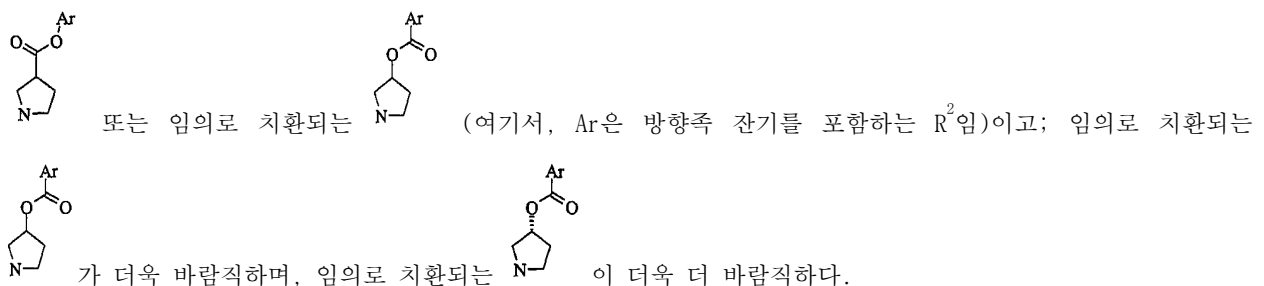
[0292] 본 발명에 따른 특정 실시양태에서 R^{10} 은 수소 또는 임의로 치환되는 저급 지방족 기이다.

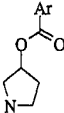
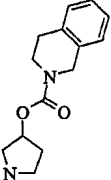
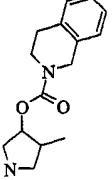
[0293] 본 발명에 따른 또다른 특정 실시양태에서 R^{10} 은 수소 또는 저급 알킬이다.

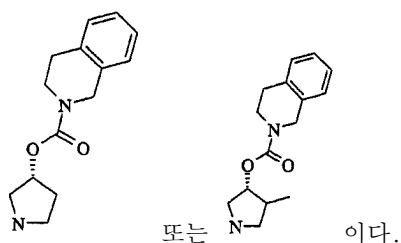
[0294] 본 발명에 따른 바람직한 실시양태에서 R^{10} 은 수소이다.

[0295] 본 발명에 따른 바람직한 실시양태에서 는 치환된 모노시클릭 아자헤테로시클릴로서 치환된 피롤리딘일이다.

[0296] 본 발명에 따른 바람직한 실시양태에서 는 치환된 모노시클릭 아자헤테로시클릴로서 임의로 치환되는



[0297] 더욱 바람직한 임의로 치환되는 는  또는 이고; 더욱 더 바람직한 것은



[0298]

본 발명에 따른 또다른 바람직한 실시양태에서 는 임의로 치환되는 멀티시클릭 아자헤테로시클릴로서 임의로 치환되는 이고; 임의로 치환되는 가 더욱 바람직하다. 에 대한 구체적인 치환기는 히드록시, 플루오로 또는 옥소이다.

[0299]

본 발명에 따른 또다른 바람직한 실시양태에서 는 임의로 치환되는 멀티시클릭 아자헤테로시클레닐로서 임의로 치환되는 이고; 이 더욱 바람직하며; 이 더욱 더 바람직하다.

[0300]

본 발명에 따른 또다른 바람직한 실시양태에서 는 임의로 치환되는 멀티시클릭 아자헤테로시클레닐로서 임의로 치환되는 이다.

[0301]

본 발명에 따른 바람직한 실시양태에서, 에 부착된 $-C(O)-N(R^4)-R^3-C(O)R^0C(O)NR^2R^1$ 잔기는 질소 원자에 대한 α 탄소에 부착된다.

[0302]

본 발명에 따른 바람직한 실시양태에서 L은 $-C(O)-$ 또는 $-OC(O)-$ 이다.

[0303]

본 발명에 따른 바람직한 실시양태에서 n은 0이다.

[0304]

본 발명에 따른 또다른 바람직한 실시양태에서 n은 1이다.

[0305]

본 발명에 따른 바람직한 실시양태에서 R^{11} 은 $-CO_2R^{13}$ 이다.

[0306]

본 발명에 따른 바람직한 실시양태에서 R^{12} 는 이다.

[0307]

본 발명에 따른 특정 실시양태에서 R^{13} 은 임의로 치환되는 지방족 기이다.

[0308]

본 발명에 따른 또다른 특정 실시양태에서 R^{13} 은 알킬기이다.

[0309]

본 발명에 따른 바람직한 실시양태에서 R^{13} 은 저급 알킬이다.

[0310]

본 발명에 따른 또다른 바람직한 실시양태에서 R^{13} 은 메틸이다.

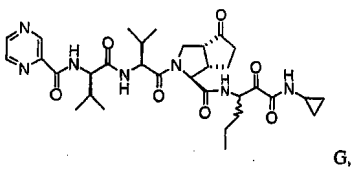
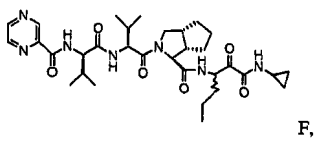
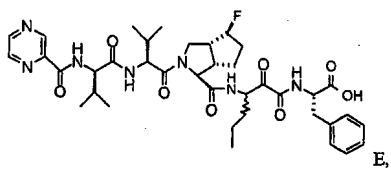
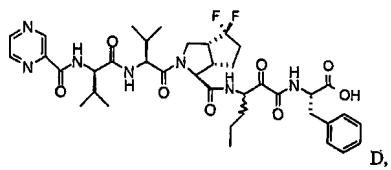
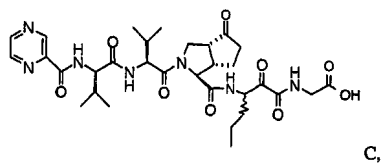
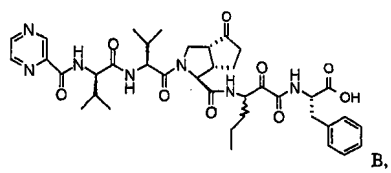
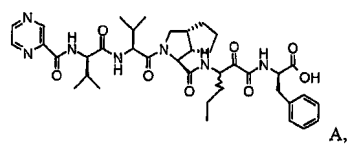
[0311]

본 발명에 따른 바람직한 실시양태에서 R^{14} 은 $-CO_2R^{16}$ 이다.

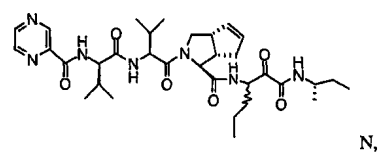
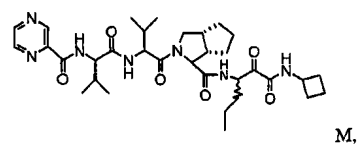
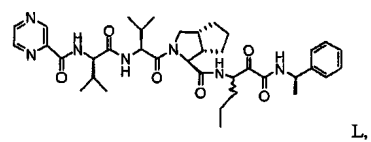
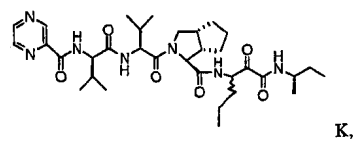
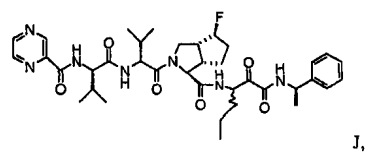
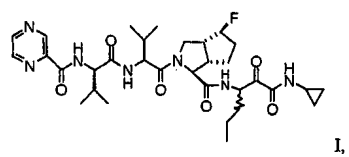
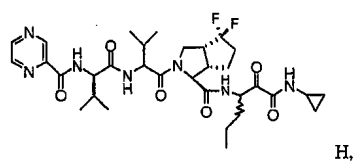
[0312]

본 발명에 따른 특정 실시양태에서 R^{15} 은 알킬이다.

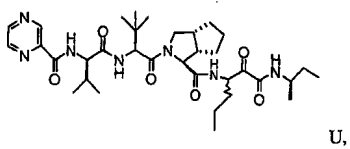
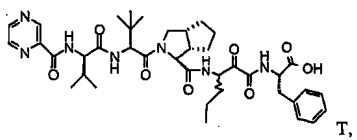
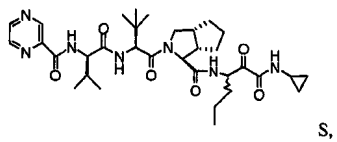
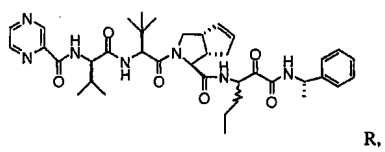
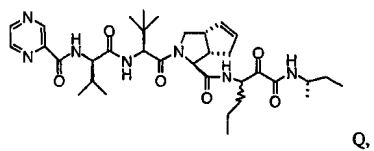
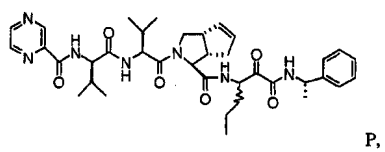
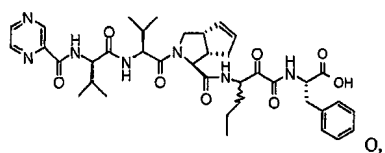
- [0313] 본 발명에 따른 바람직한 실시양태에서 R^{15} 은 저급 알킬이다.
- [0314] 본 발명에 따른 바람직한 실시양태에서 R^{15} 은 메틸이다.
- [0315] 본 발명에 따른 특정 실시양태에서 R^{16} 은 임의로 치환되는 지방족 기이다.
- [0316] 본 발명에 따른 또다른 특정 실시양태에서 R^{16} 은 알킬이다.
- [0317] 본 발명에 따른 바람직한 실시양태에서 R^{16} 은 저급 알킬이다.
- [0318] 본 발명에 따른 바람직한 실시양태에서 R^{16} 은 t-Bu이다.
- [0319] 본 발명에 따른 특정 실시양태에서 R^{17} 은 임의로 치환되는 아릴이다.
- [0320] 본 발명에 따른 바람직한 실시양태에서 R^{17} 은 페닐이다.
- [0321] 본 발명에 따른 특정 실시양태에서 R^{18} 은 임의로 치환되는 아릴이다.
- [0322] 본 발명에 따른 바람직한 실시양태에서 R^{18} 은 페닐이다.
- [0323] 본 발명에 따른 특정 실시양태에서 p° 는 BOC, CBz, 및 $-CO_2$ 알킬로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0324] 본 발명에 따른 바람직한 실시양태에서 p° 는 BOC이다.
- [0325] 본 발명은 본원에 언급된 구체적이고 바람직한 기의 적합한 조합을 모두 포함하는 것으로 이해된다.
- [0326] 본 발명에 따른 특정 화합물은 하기 화합물 A 내지 FH 또는 제약상 허용되는 이들의 염 또는 프로드럭 또는 이러한 화합물의 용매화물, 그의 염 또는 그의 프로드럭으로 이루어진 군으로부터 선택된다.



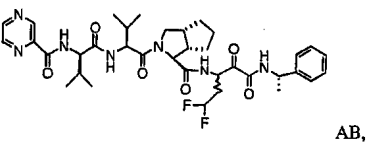
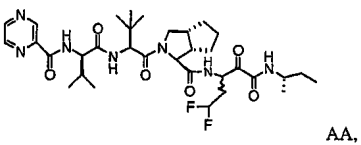
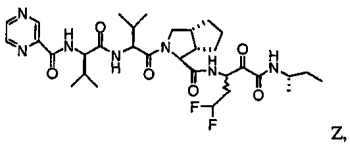
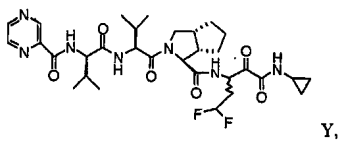
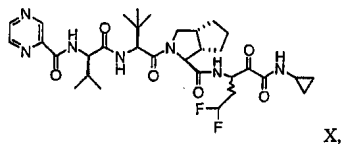
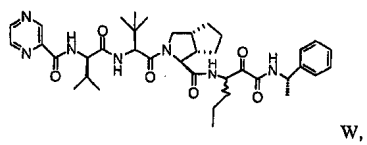
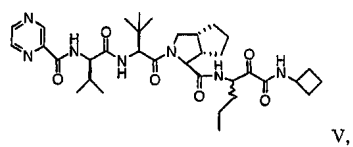
[0327]



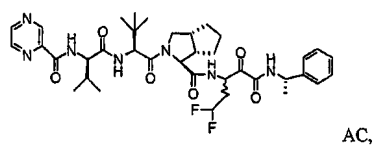
[0328]



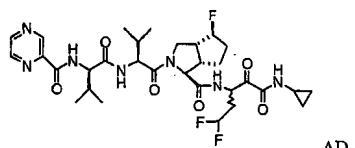
[0329]



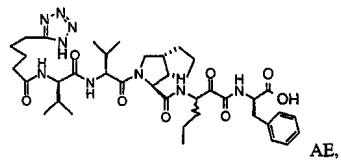
[0330]



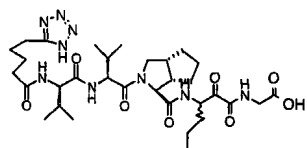
AC,



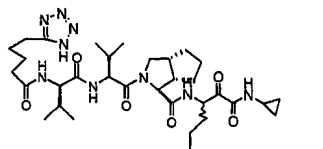
AD,



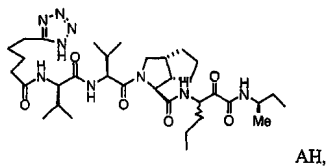
AE,



AF,

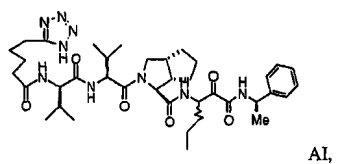


AG,

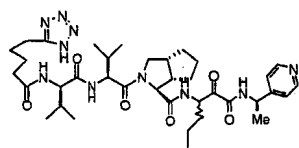


AH,

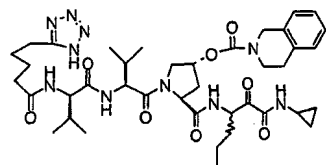
[0331]



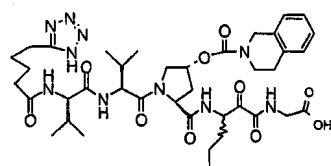
AI,



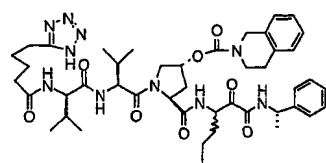
AJ,



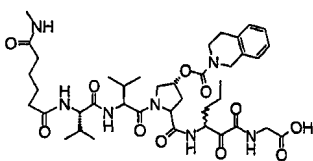
AK,



AL,

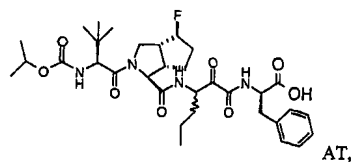
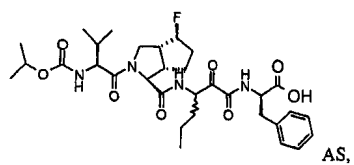
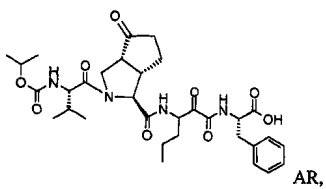
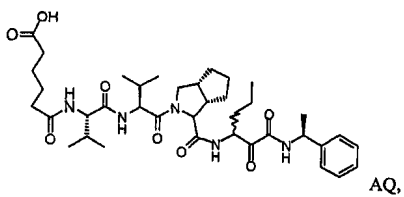
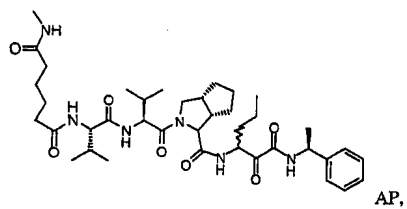
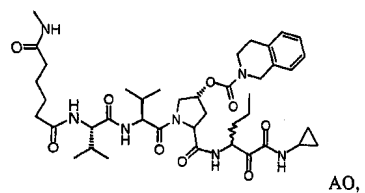


AM,

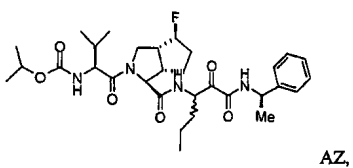
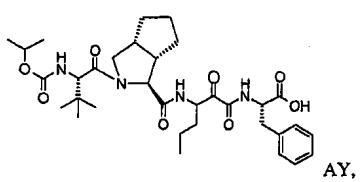
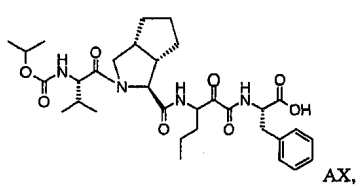
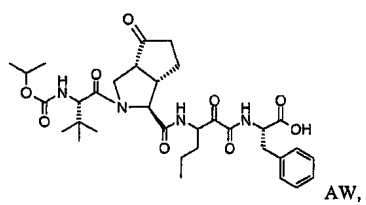
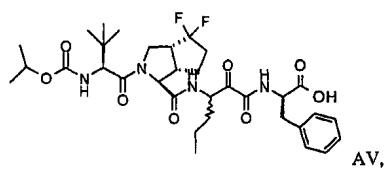
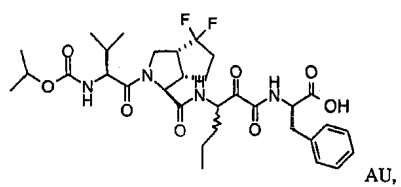


AN,

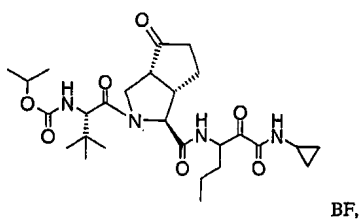
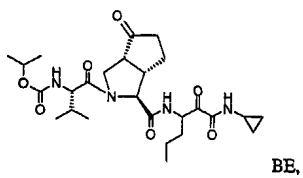
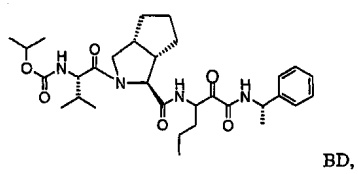
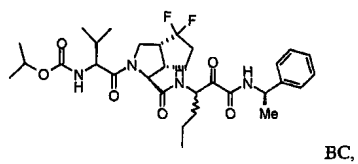
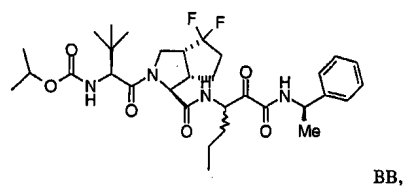
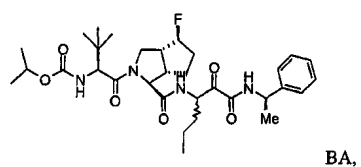
[0332]



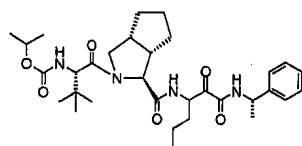
[0333]



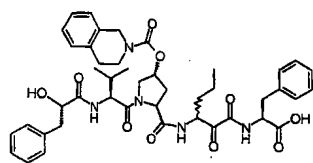
[0334]



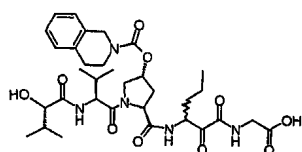
[0335]



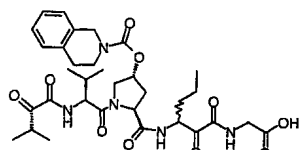
BG,



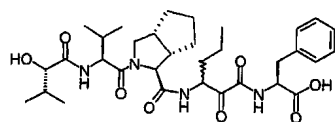
BH,



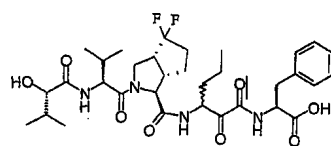
BI,



BJ,

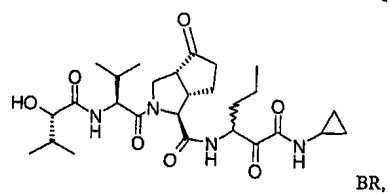
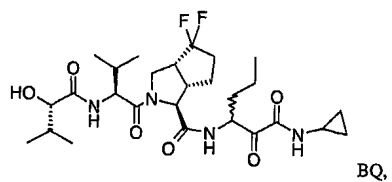
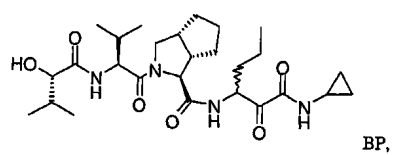
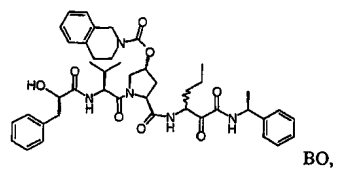
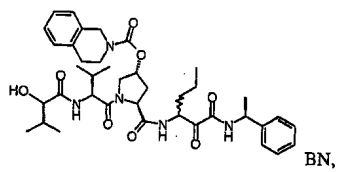
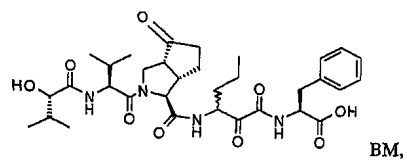


BK,

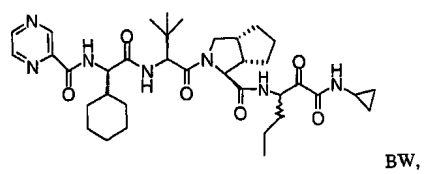
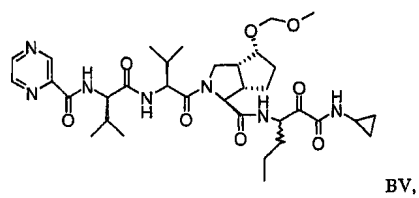
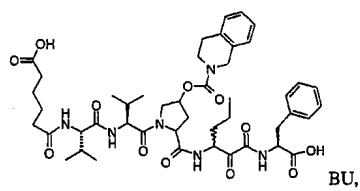
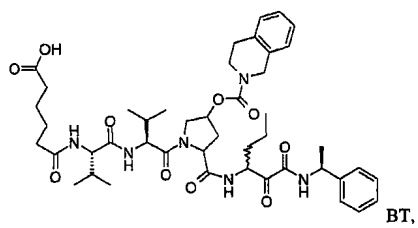
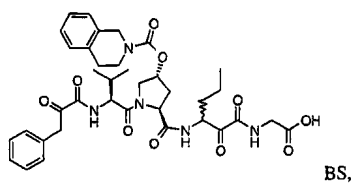


BL,

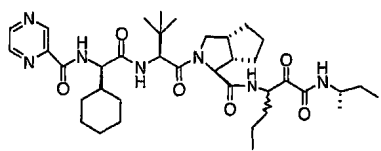
[0336]



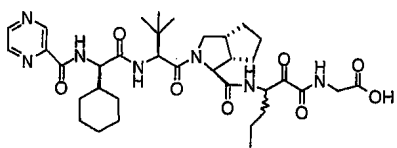
[0337]



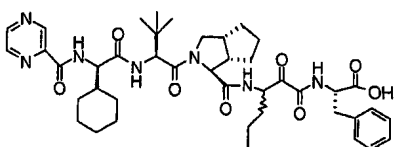
[0338]



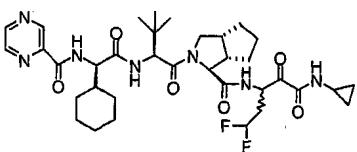
BX,



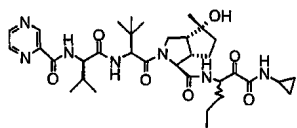
BY,



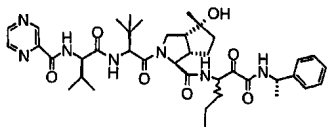
BZ,



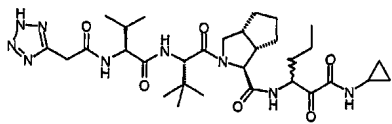
CA,



CB,

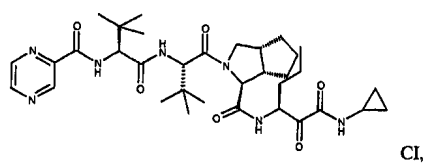
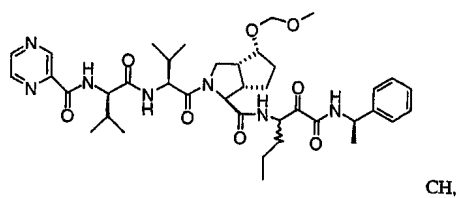
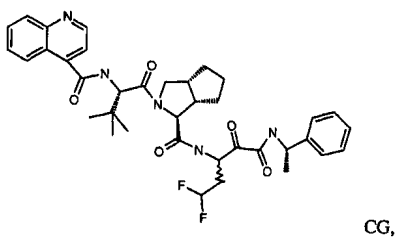
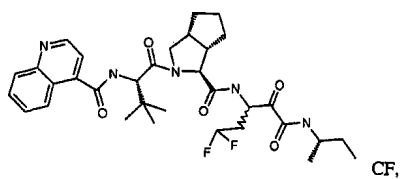
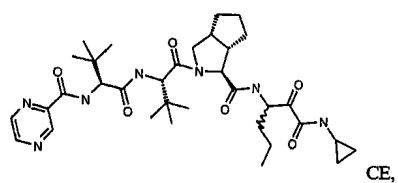


CC,

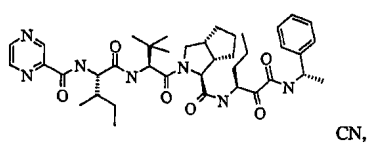
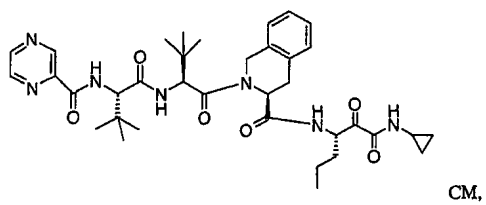
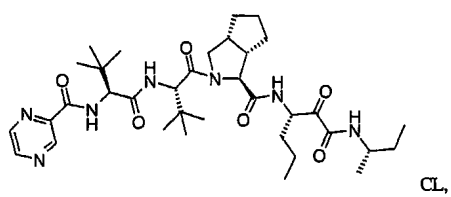
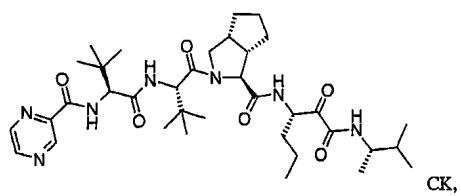
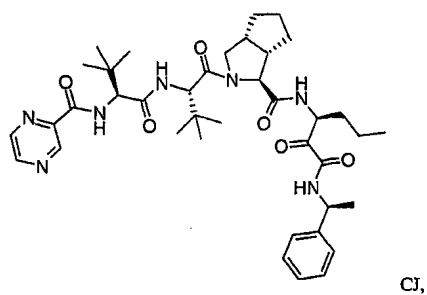


CD,

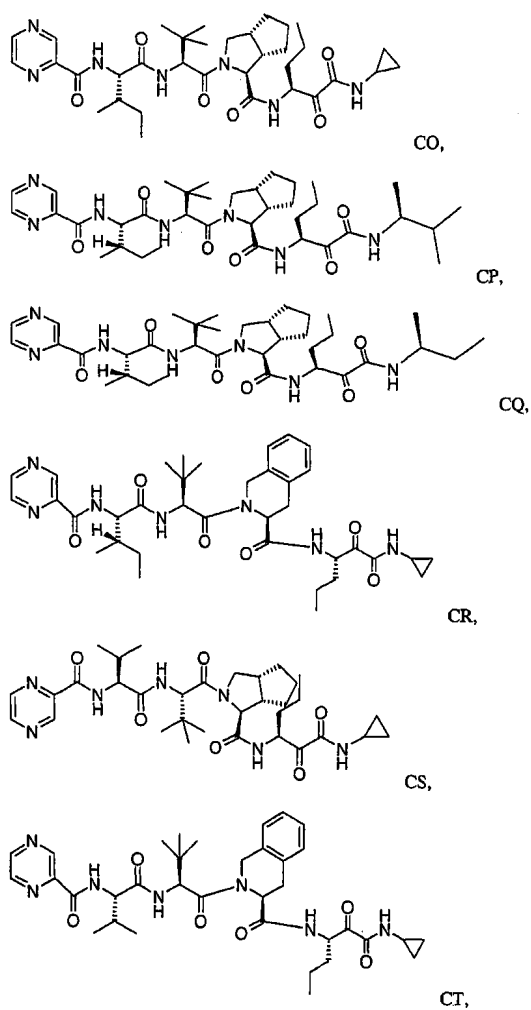
[0339]



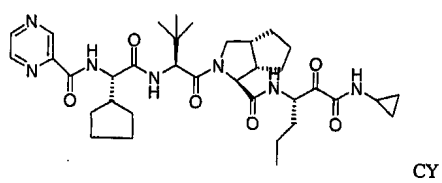
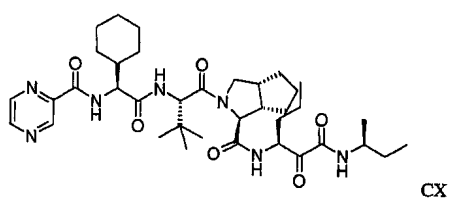
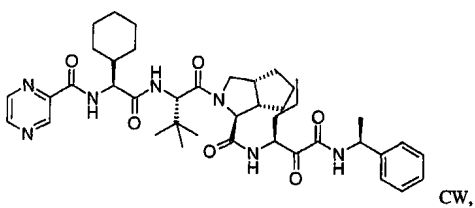
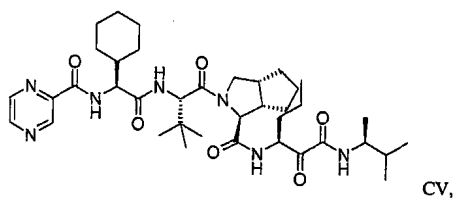
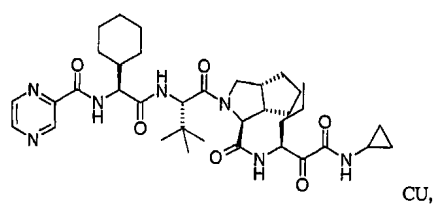
[0340]



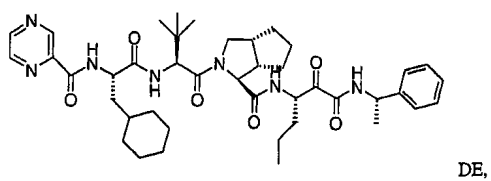
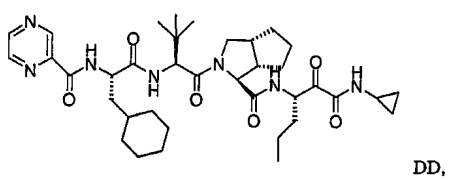
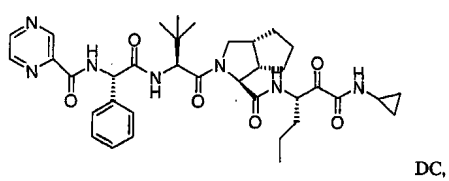
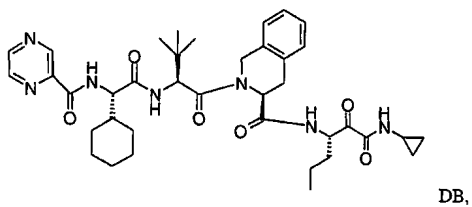
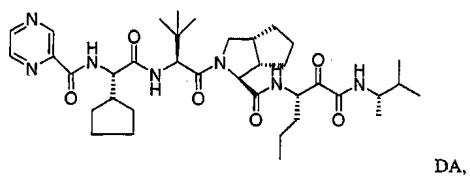
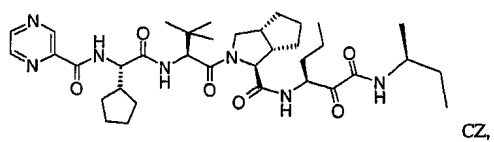
[0341]



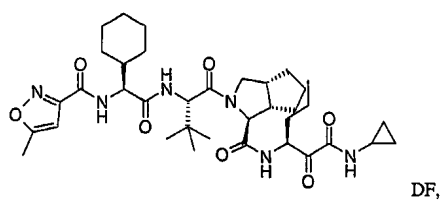
[0342]



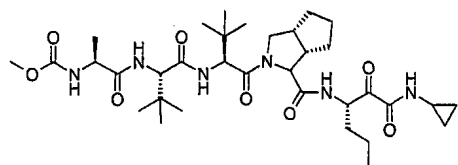
[0343]



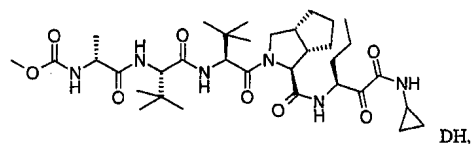
[0344]



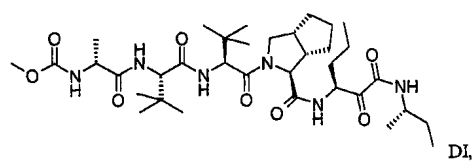
DF,



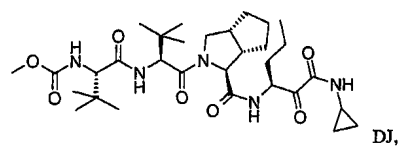
DG,



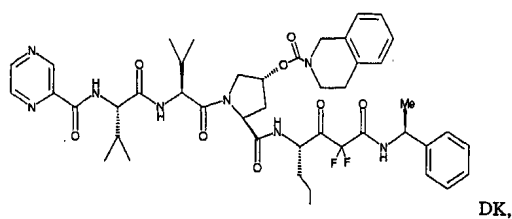
DH,



DI,

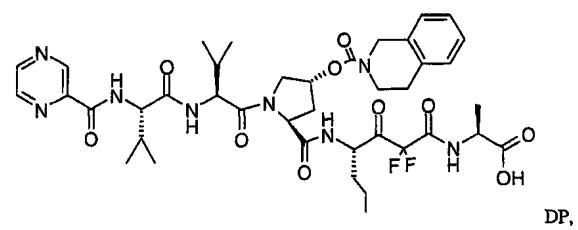
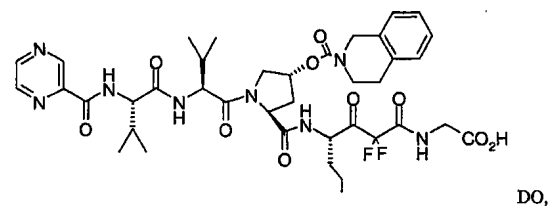
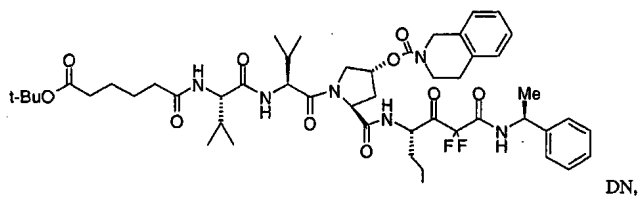
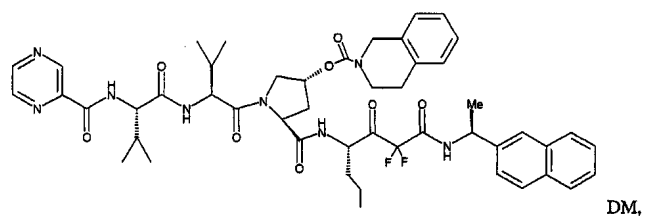
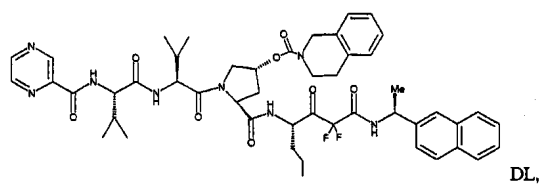


DJ,

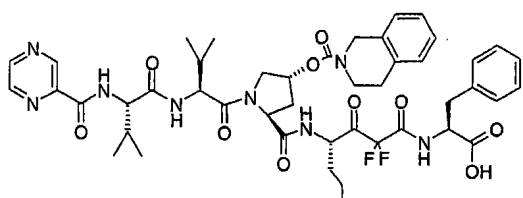


DK,

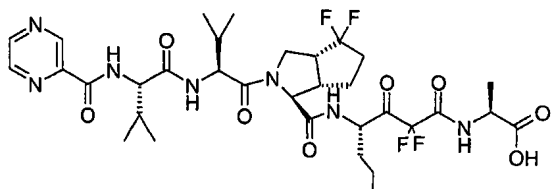
[0345]



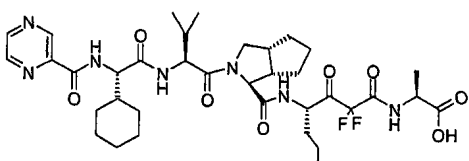
[0346]



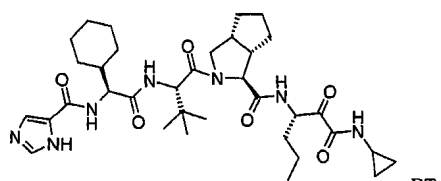
DQ,



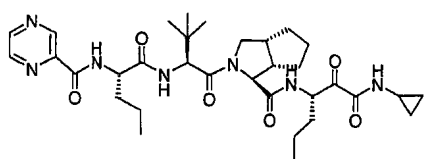
DR,



DS,

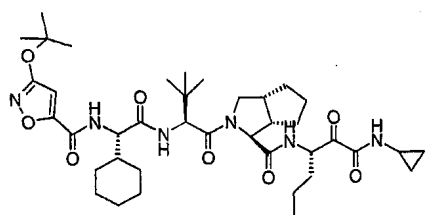


DT,

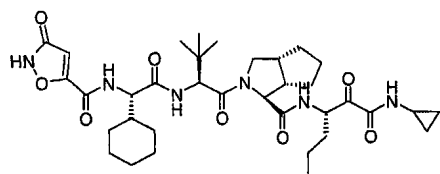


DU,

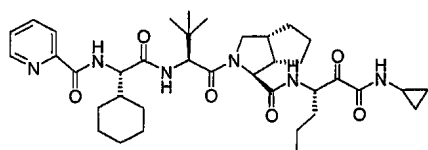
[0347]



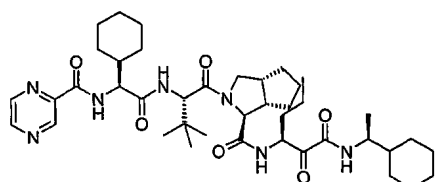
DV,



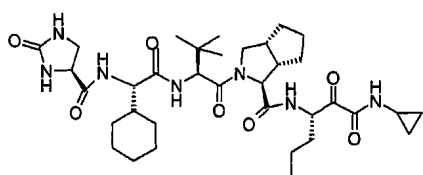
DW,



DX,

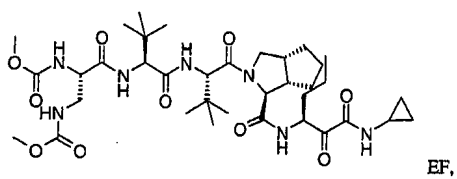
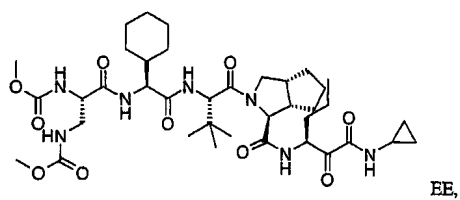
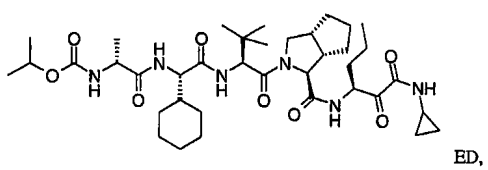
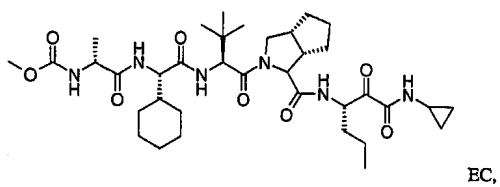
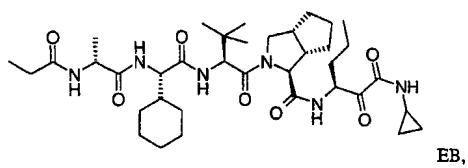
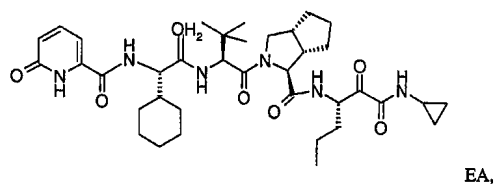


DY,

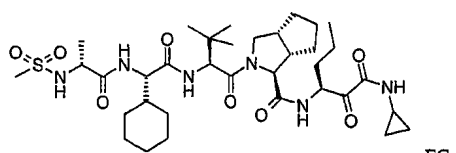


DZ,

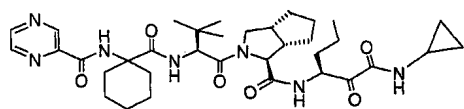
[0348]



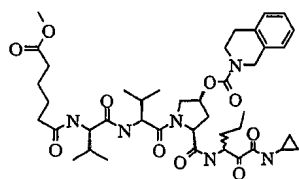
[0349]



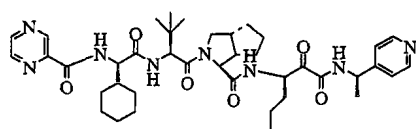
EG,



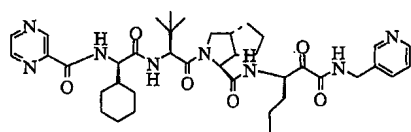
EH,



EI,

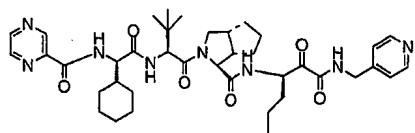


EJ,

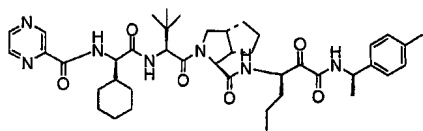


EK,

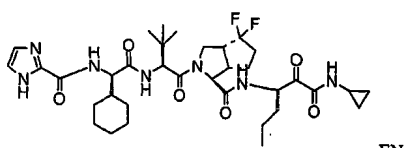
[0350]



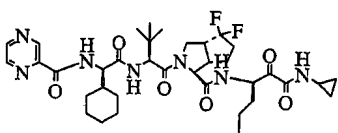
EL,



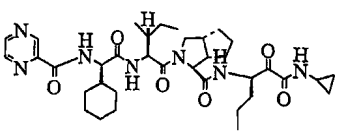
EM,



EN,

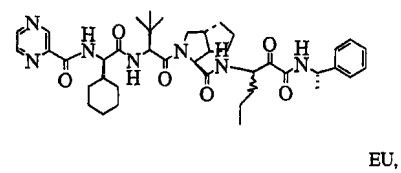
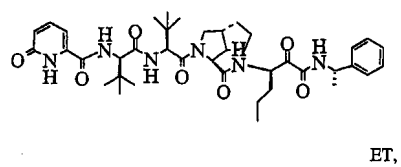
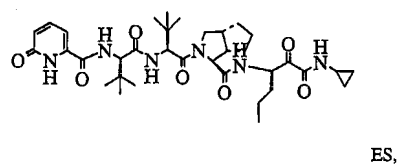
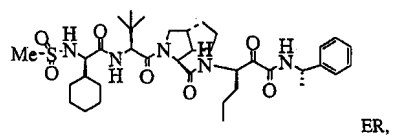
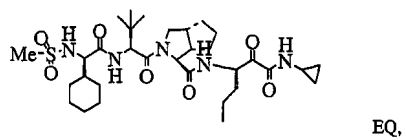


EO,

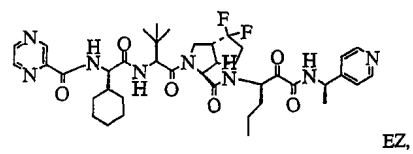
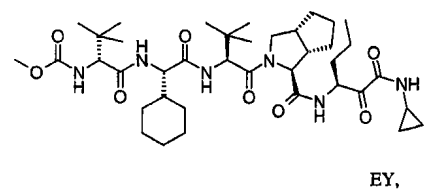
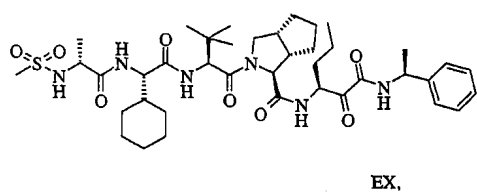
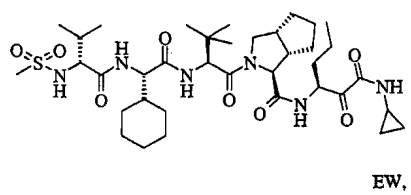
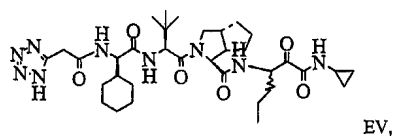


EP,

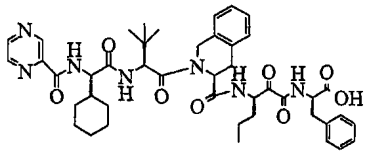
[0351]



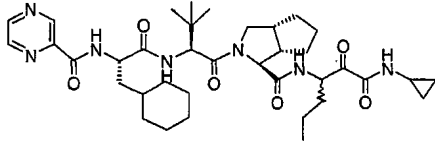
[0352]



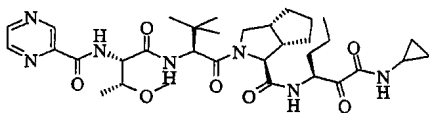
[0353]



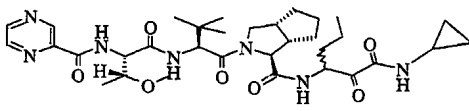
FA,



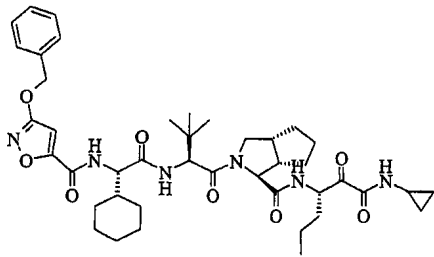
FB,



FC,

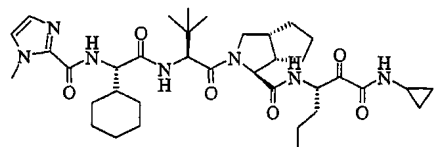


FD,

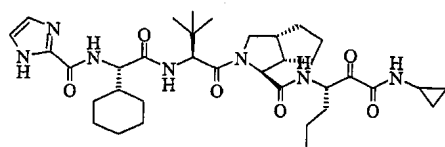


FE,

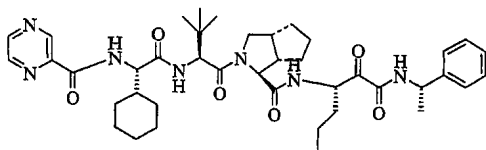
[0354]



FF,



FG, 및



FH,

[0355]

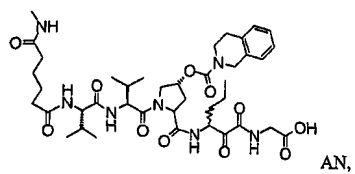
[0356]

바람직한 화합물은 S, U, BW, BX, BY, BZ, CE, CU, CW, CY, DZ, EA, EC, EJ, FH, EW, EO, EZ, FG 및 EN 또는 제약상 허용되는 이들의 염 또는 프로드럭, 또는 이러한 화합물의 용매화물, 그의 염 또는 그의 프로드럭으로

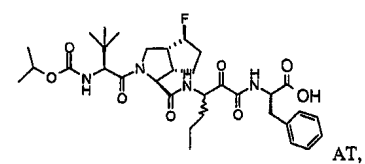
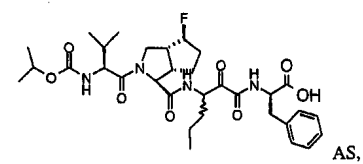
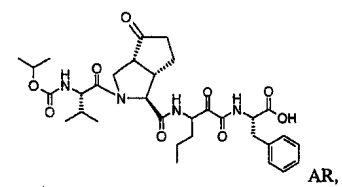
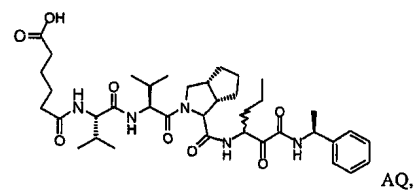
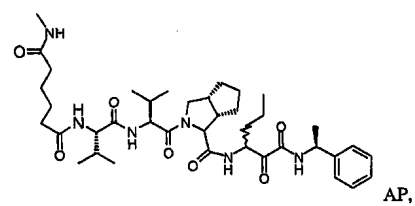
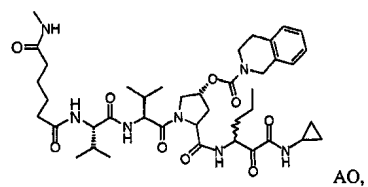
이루어진 군으로부터 선택된다.

[0357]

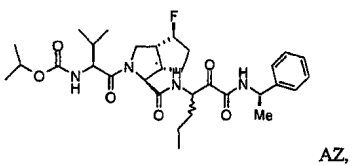
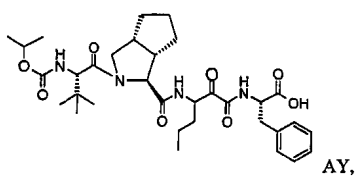
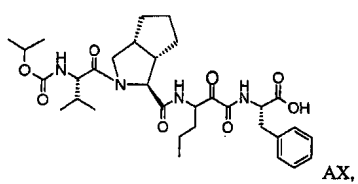
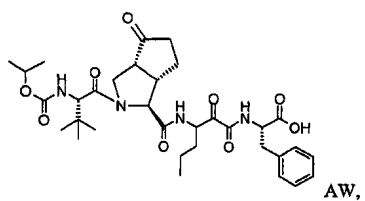
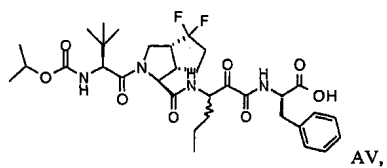
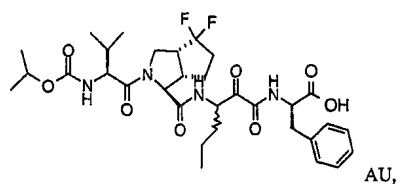
본 발명의 또다른 바람직한 실시양태는 하기 화학식의 화합물 또는 제약상 허용되는 이들의 염 또는 프로드럭, 또는 이러한 화합물의 용매화물, 그의 염 또는 그의 프로드럭의 군으로부터 선택된다.



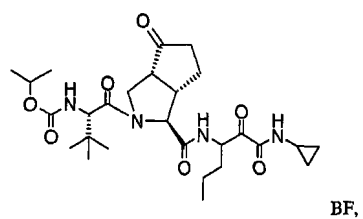
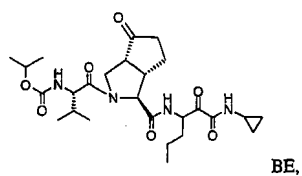
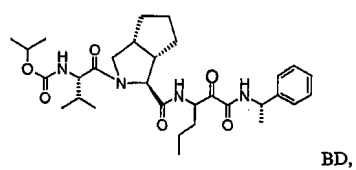
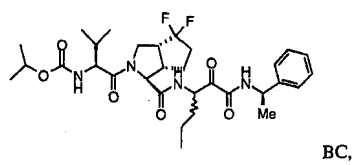
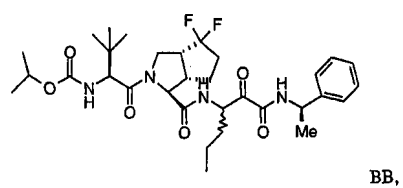
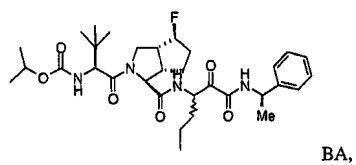
[0358]



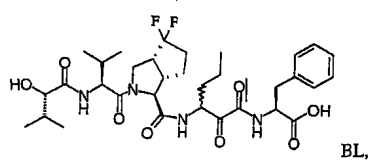
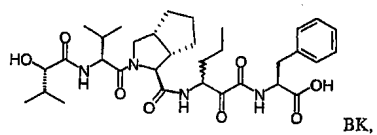
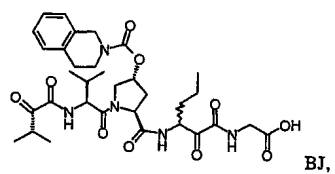
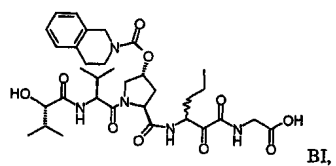
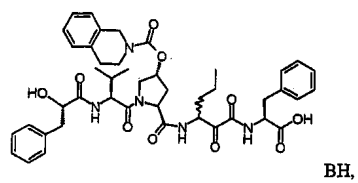
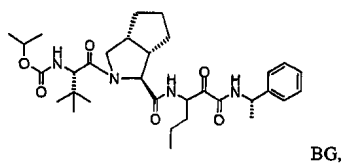
[0359]



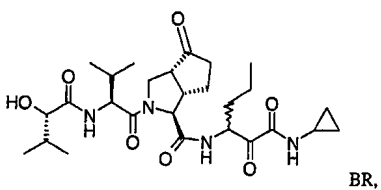
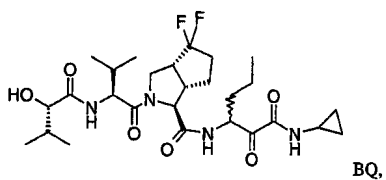
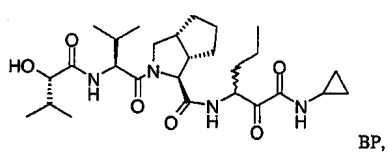
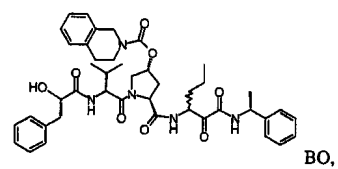
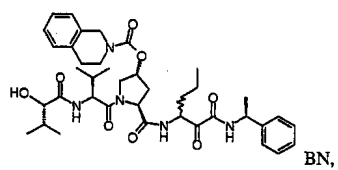
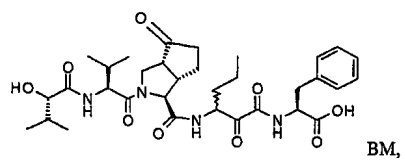
[0360]



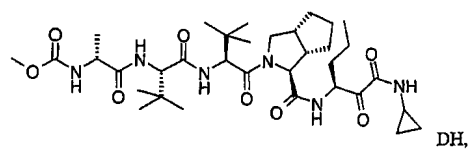
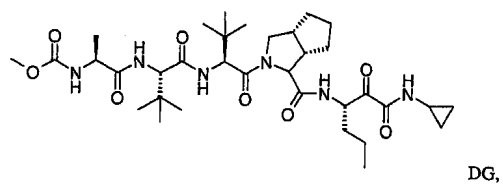
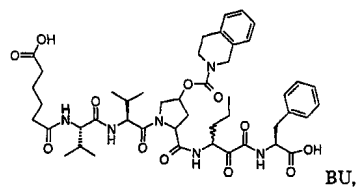
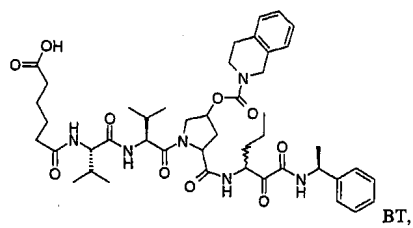
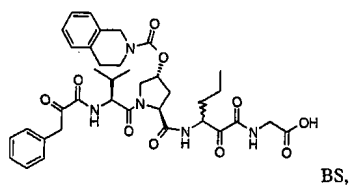
[0361]



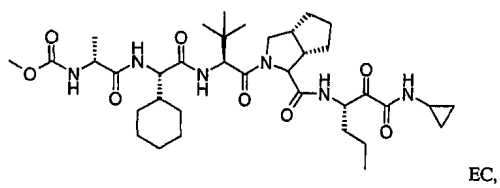
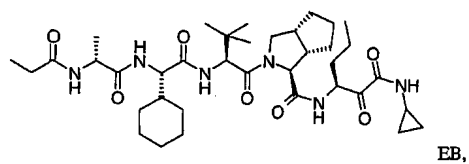
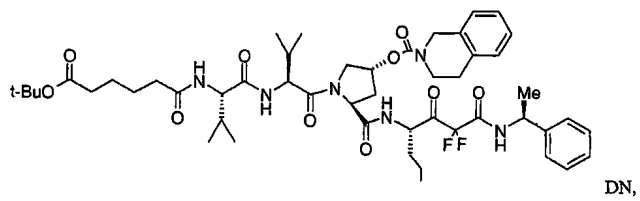
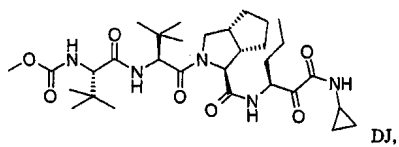
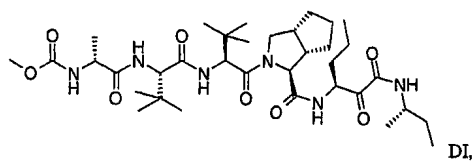
[0362]



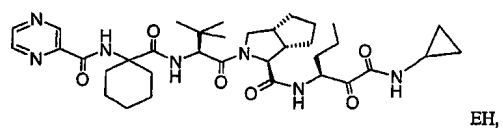
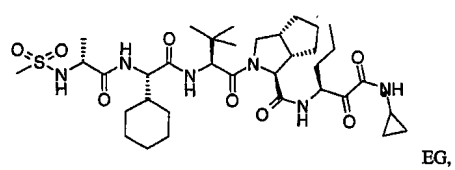
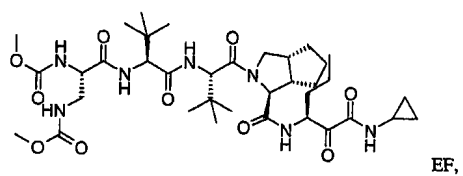
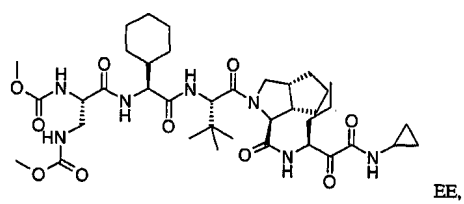
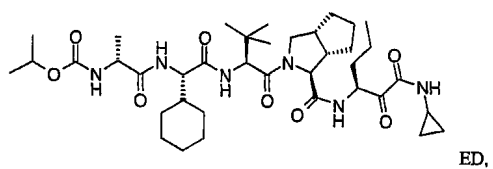
[0363]



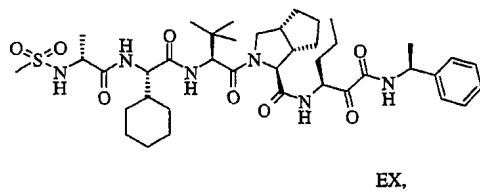
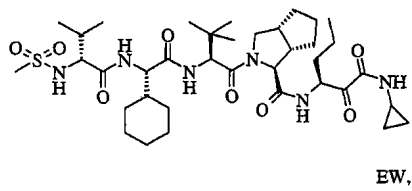
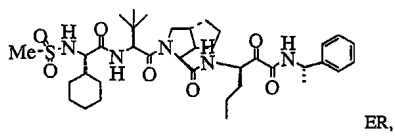
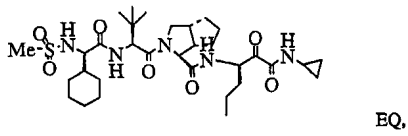
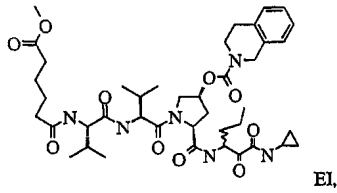
[0364]



[0365]

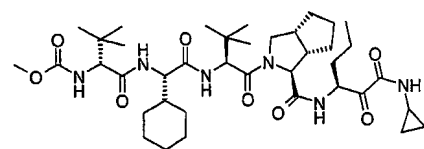


[0366]



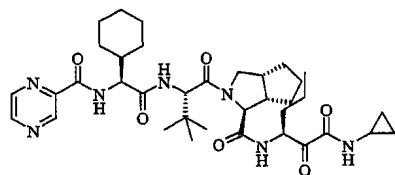
[0367]

및



[0368]

[0369] 본 발명의 또다른 바람직한 실시양태는 하기 화학식의 화합물 또는 제약상 허용되는 이의 염 또는 이의 프로드럭, 이러한 화합물의 용매화물, 그의 염 또는 그의 프로드럭이다.



[0370]

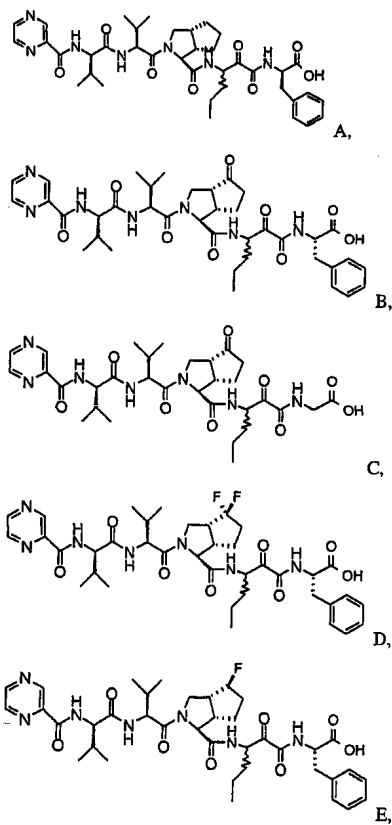
[0371] 본 발명의 또다른 바람직한 실시양태는

[0372] R^0 이 결합이고;

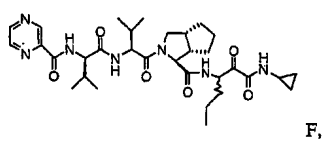
[0373] R^1 이 수소이고;

[0374] R^2 가 1 내지 3개의 지방족 치환기로 임의 치환되는 저급 알킬, 또는 1 내지 3개의 시클릭 기 치환기로 임의 치환되는 저급 시클로알킬이고;

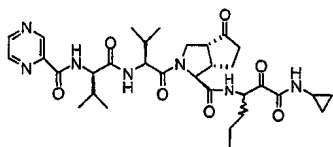
- [0375] R^3 및 R^5 가 각각 독립적으로 1 내지 3개의 지방족 치환기로 임의 치환되는 메틸렌이고;
- [0376] R^4 , R^6 , R^8 및 R^{10} 이 수소이고;
- [0377] R^7 이 시클로알킬, 저급 알킬 또는 아릴로 치환된 메틸렌이거나; 시클로알킬, 저급 알킬 또는 아릴로 임의 치환되는 (1,1- 또는 1,2-)시클로알킬렌이고;
- [0378] R^9 이 1 내지 3개의 지방족 치환기로 임의 치환되는 저급 알킬, 1 내지 3개의 시클릭 기 치환기로 임의 치환되는 헤테로아릴, 또는 1 내지 3개의 시클릭 기 치환기로 임의 치환되는 헤테로시클릭이고;
- [0379]  이 1 내지 3개의 시클릭 기 치환기로 임의 치환되는 모노시클릭 아자헤테로시클릴, 멀티시클릭 아자헤테로시클릴 또는 멀티시클릭 아자헤테로시클레닐이며;
- [0380] L이 -C(O)- 또는 -OC(O)-인 화학식 1의 화합물이다.
- [0381] 본 발명의 또다른 바람직한 실시양태는 하기 화학식의 화합물 또는 제약상 허용되는 이들의 염 또는 프로드럭, 또는 이러한 화합물의 용매화물, 그의 염 또는 그의 프로드럭으로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물이다.



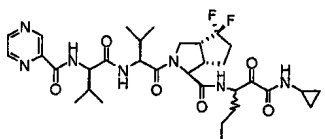
[0382]



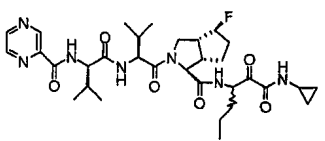
F,



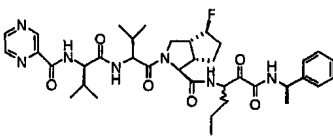
G,



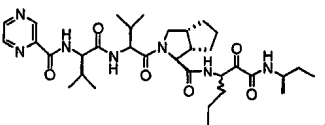
H,



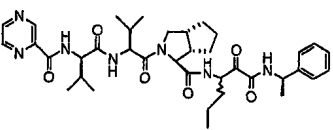
I,



J,

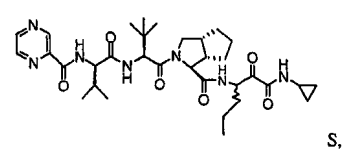
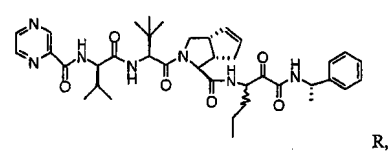
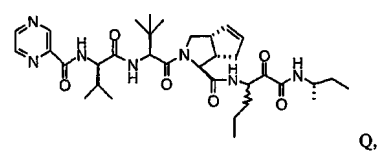
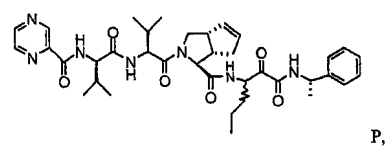
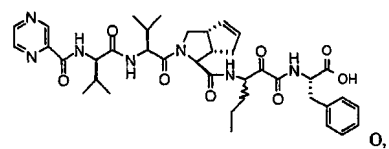
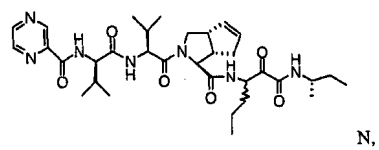
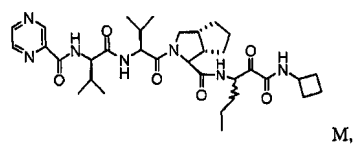


K,

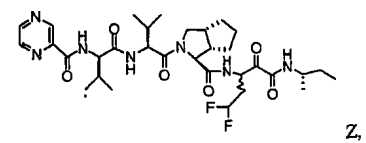
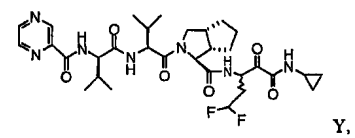
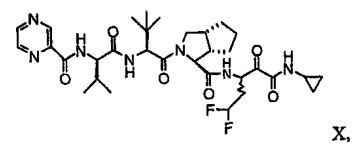
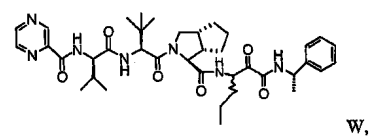
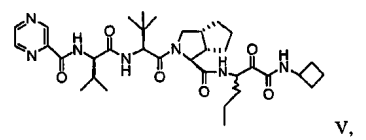
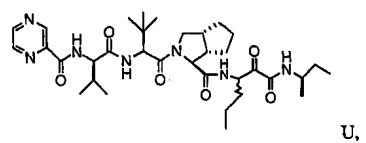
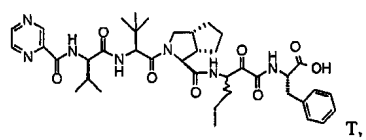


L,

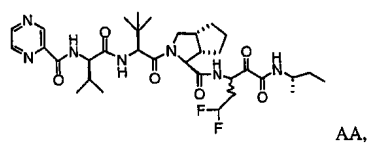
[0383]



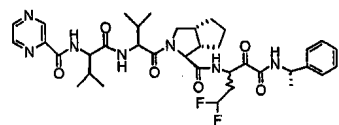
[0384]



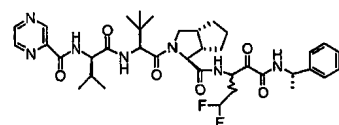
[0385]



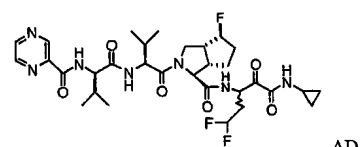
AA,



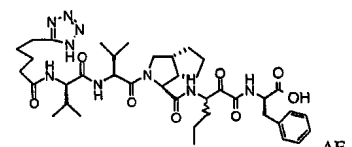
AB,



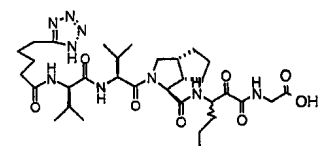
AC,



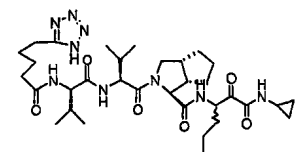
AD,



AE,

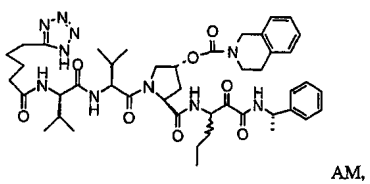
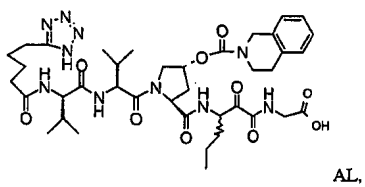
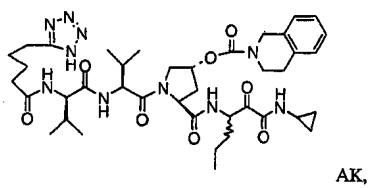
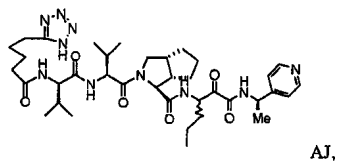
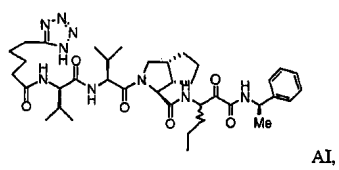
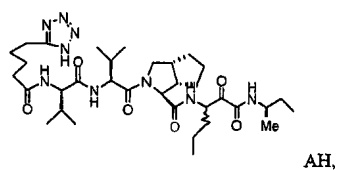


AF,

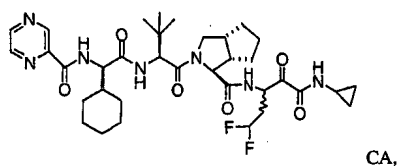
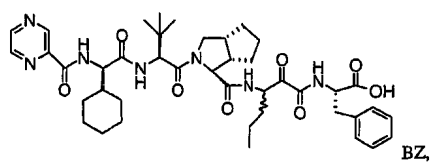
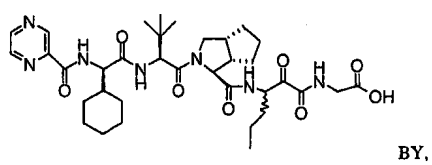
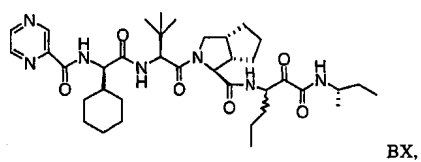
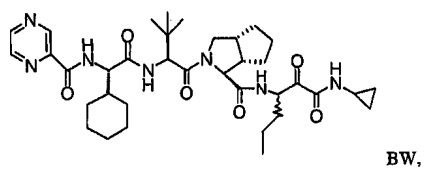
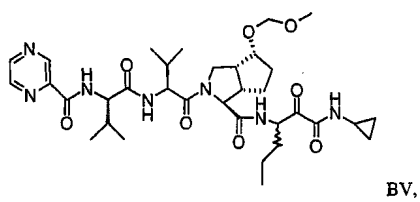


AG,

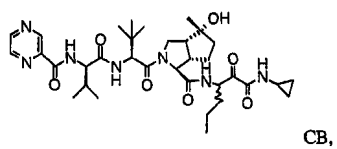
[0386]



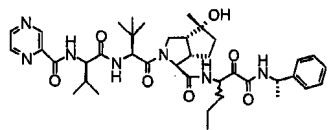
[0387]



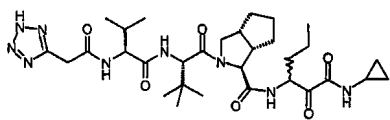
[0388]



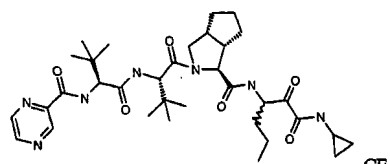
CB,



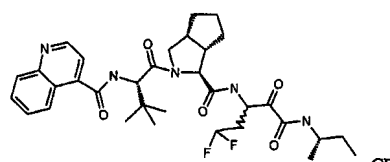
CC,



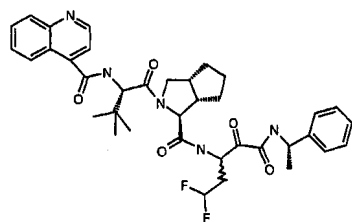
CD,



CE,

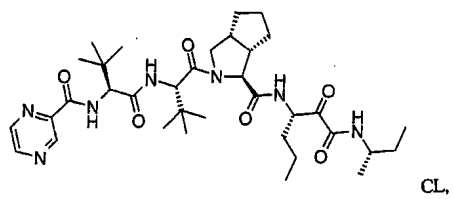
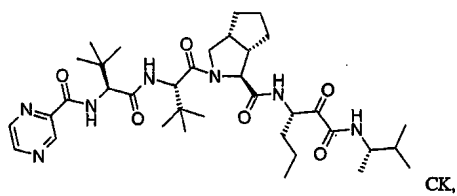
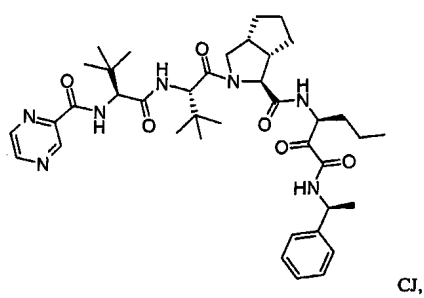
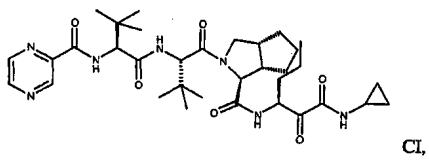
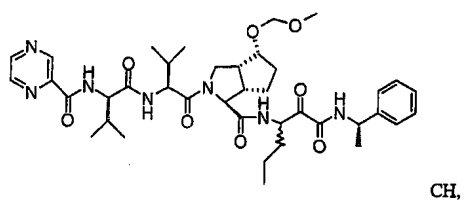


CF,

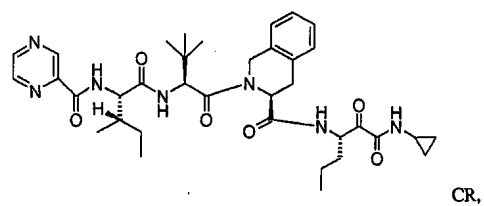
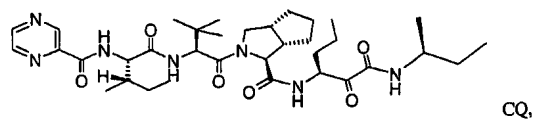
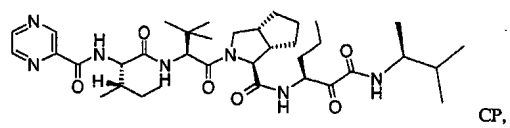
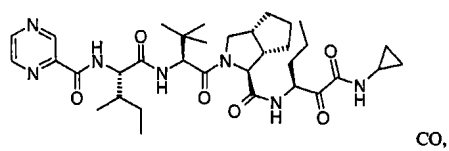
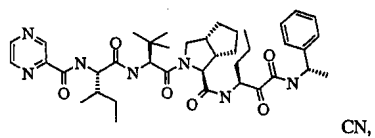
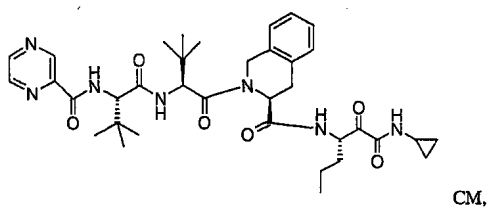


CG,

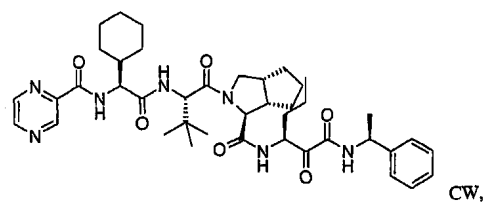
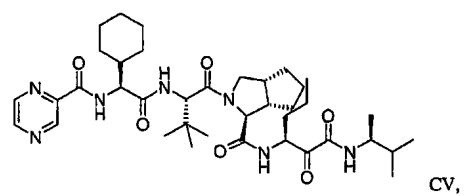
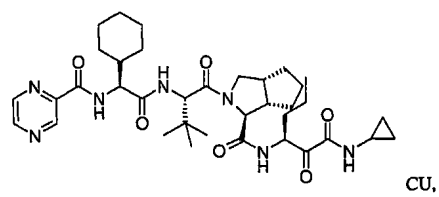
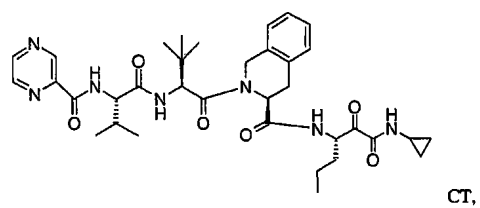
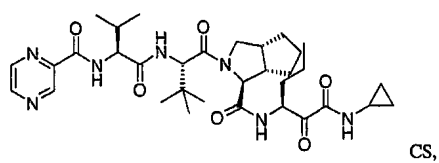
[0389]



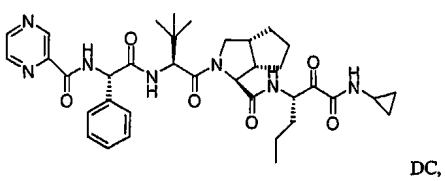
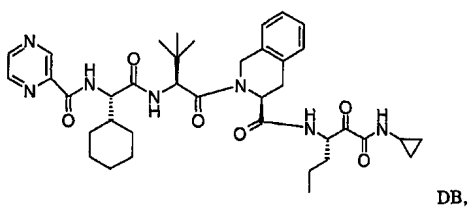
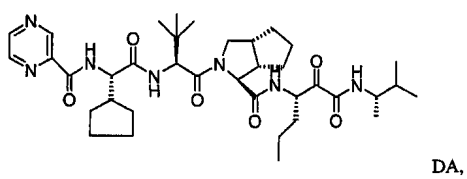
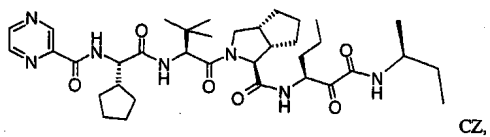
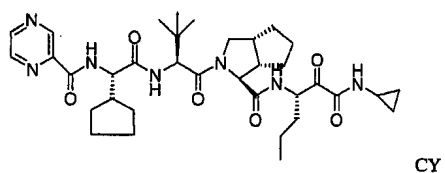
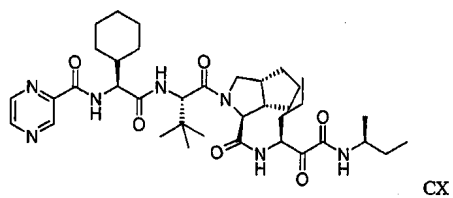
[0390]



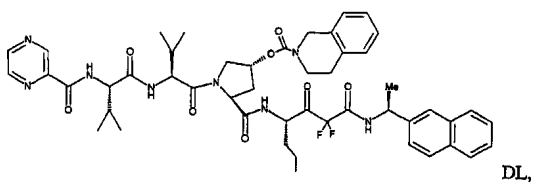
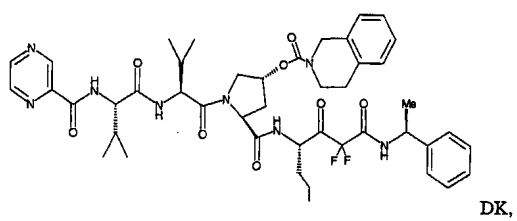
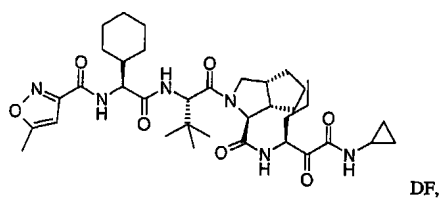
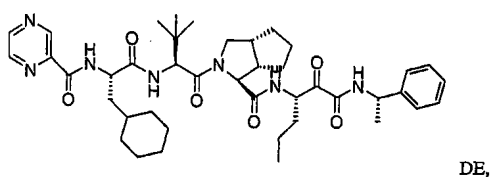
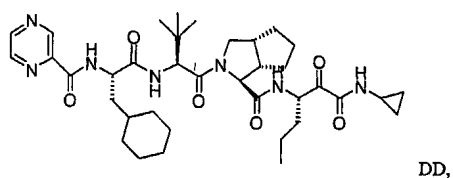
[0391]



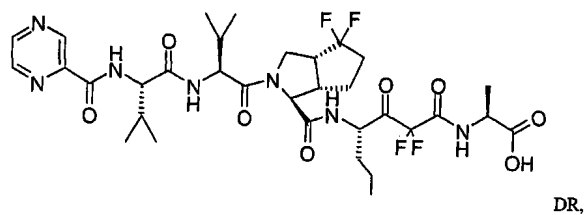
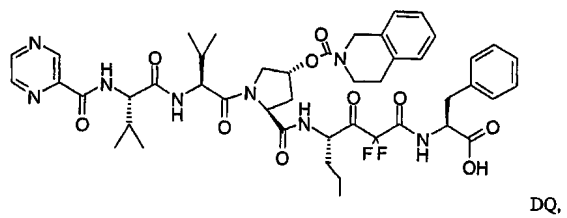
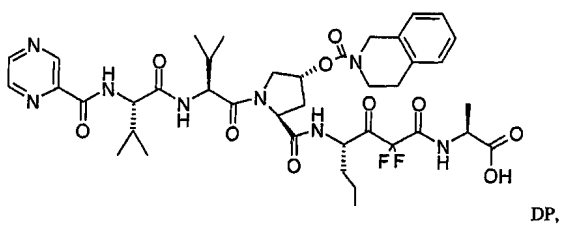
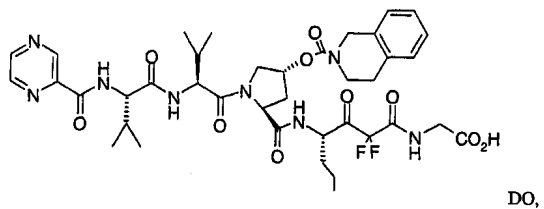
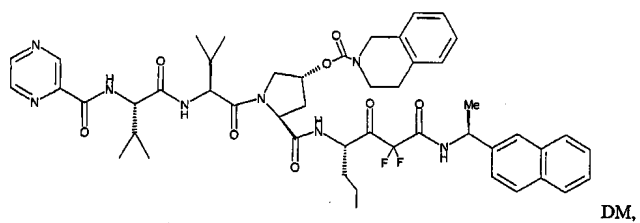
[0392]



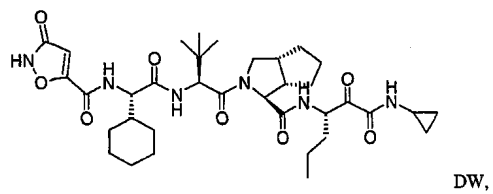
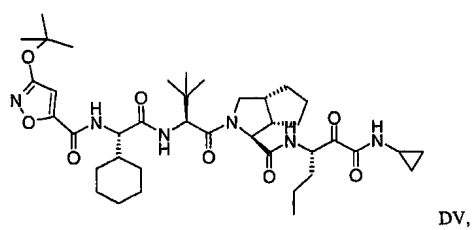
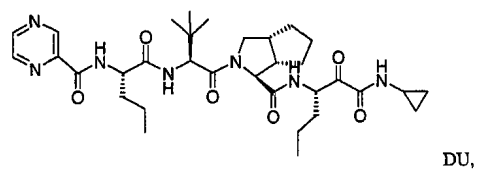
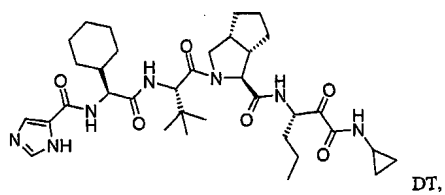
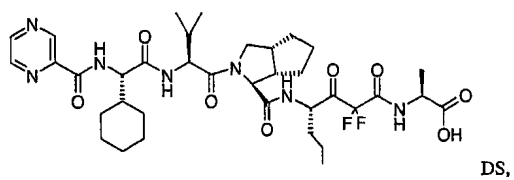
[0393]



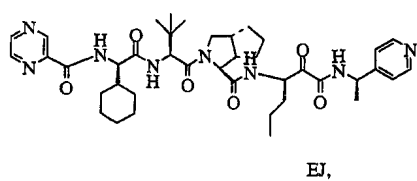
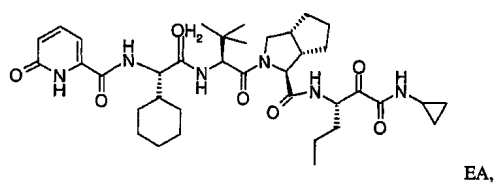
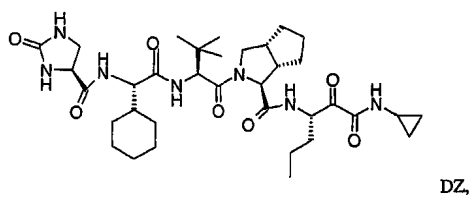
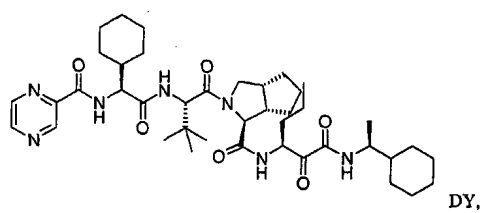
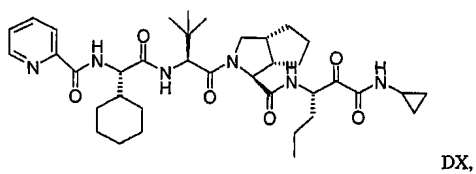
[0394]



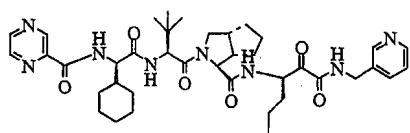
[0395]



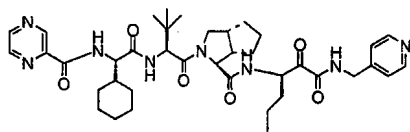
[0396]



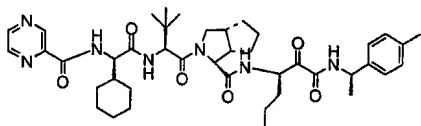
[0397]



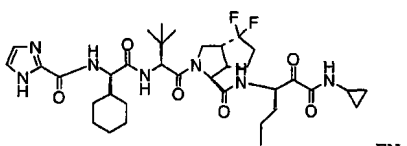
EK,



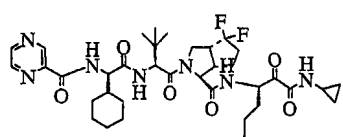
EL,



EM,

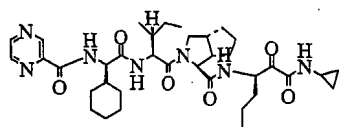


EN,

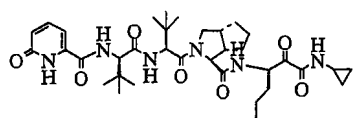


EO,

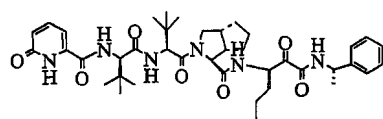
[0398]



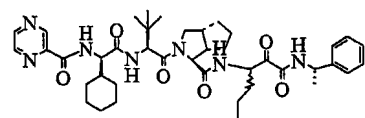
EP,



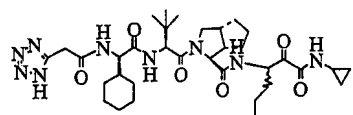
ES,



ET,

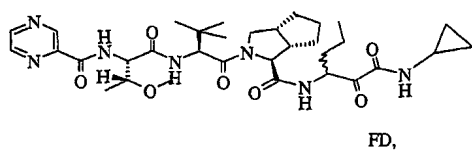
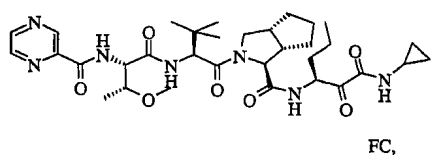
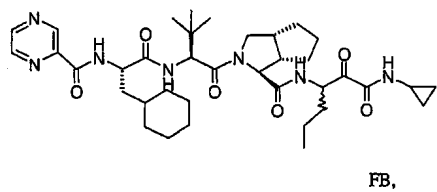
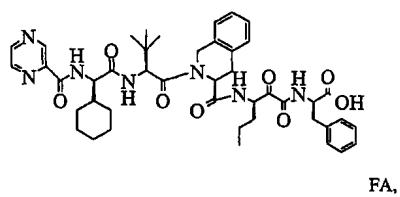
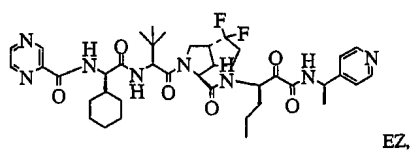


EU,

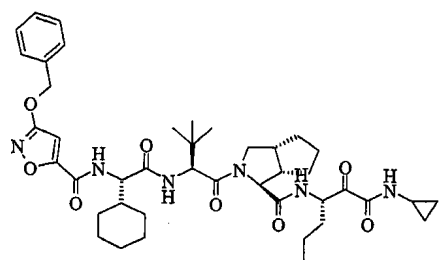


EV,

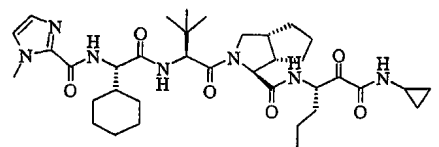
[0399]



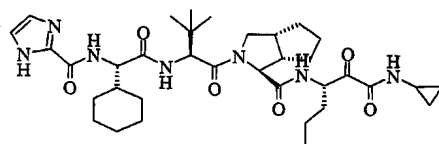
[0400]



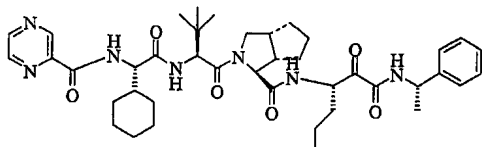
FE,



FF,



FG, 및



FH,

[0401]

[0402]

본 발명의 또다른 바람직한 실시양태는 R^9 의 임의로 치환되는 지방족 기, 임의로 치환되는 시클릭 기 또는 임의로 치환되는 방향족 기가 1개 이상의 헤테로아릴 치환기로 치환되는 화학식 1의 화합물이다.

[0403]

본 발명의 또다른 바람직한 실시양태는 R^9 의 임의로 치환되는 방향족 기가 임의로 치환되는 헤테로아릴인 화학식 1의 화합물이다.

[0404]

본 발명의 또다른 바람직한 실시양태는 R^9 의 임의로 치환되는 지방족 기가 임의로 치환되는 알킬헤테로아릴인 화학식 1의 화합물이다.

[0405]

본 발명의 또다른 바람직한 실시양태는 R^9 의 임의로 치환되는 헤테로아릴 기가 고리 치환기로 임의로 치환되는 피라지닐, 테트라졸릴, 퀴놀리닐, 이미다졸릴, 이속사졸릴 및 피라도닐인 화학식 1의 화합물이다.

[0406]

본 발명의 화합물은 임의로는 염으로 공급된다. 제약상 허용되는 이러한 염이 특히 흥미로운데, 이는 이들이 의학적 목적으로 상기 화합물을 투여하는데 유용하기 때문이다. 제약상 허용되지 않는 염은 단리 및 정제, 및 예를 들어 본 발명의 화합물의 입체이성질체 형태를 분리하는데 사용하는 목적으로 제조 과정에 유용하다. 후자는 광학적으로 활성인 아민으로부터 제조된 아민 염에서 특히 부합된다.

[0407]

본 발명의 화합물이 카르복시기 또는 충분히 산성인 바이오이소스티어를 함유하는 경우, 염기 부가염이 형성될 수 있으며, 실제로, 본래 유리 산 형태의 사용량으로 염 형태를 사용하기에 단순히 좀더 편리한 형태가 된다.

[0408]

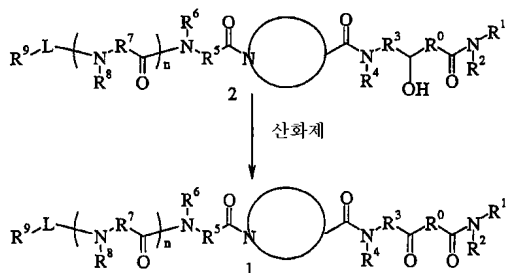
또한, 본 발명의 화합물이 염기성 기 또는 충분히 염기성인 바이오이소스티어를 함유하는 경우, 산 부가염이 형성될 수 있으며, 실제로, 본래 유리 염기 형태의 사용량으로 염 형태를 사용하기에 단순히 좀더 편리한 형태가 된다.

[0409]

본 발명에 따른 방법의 바람직한 실시양태는 화학식 1의 화합물 제약상 유효량을 환자에게 투여하는 것을 포함하는, HCV 감염 또는 그와 관련된 생리적 증상을 앓는 환자를 치료하는 것이다.

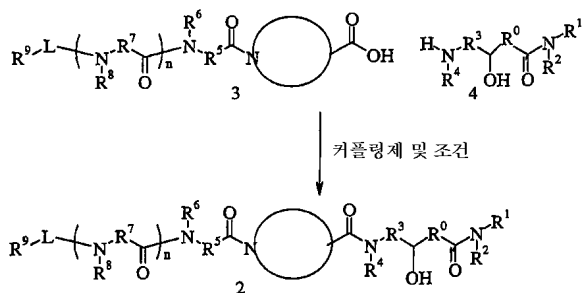
- [0410] 본 발명에 따른 치료 방법의 또다른 바람직한 실시양태는 화학식 1의 화합물 제약상 유효량을 기타 항-HCV 치료제 제약상 유효량과 조합하여 환자에게 투여하는 것을 포함하는, HCV 감염 또는 그와 관련된 생리적 증상을 앓는 환자를 치료하는 것이다.
- [0411] 본 발명의 다른 목적은 1종 이상의 HCV 세린 프로테아제 억제제 외에, 항-HCV 활성을 나타내는 1종 이상의 인터페론 및(또는) HCV 항바이러스 활성을 나타내는 면역자극 시토킨과 같은 면역조절 화합물을 비롯한 항 HCV 활성을 갖는 1종 이상의 화합물, 및 제약상 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 제약 조성물을 제공하는 것이다.
- [0412] 본 발명의 또다른 목적은 본 발명에 따라 사용될 수 있는 다수의 활성 성분을 포함하기 때문에 유익한 조합 치료에 사용하기에 효과적인 제약 조성물을 제공하는 것이다.
- [0413] 또한, 본 발명은 환자에서 HCV 감염증을 치료 또는 예방하는데 유용한 2종 이상의 활성 성분을 배합하는 키트 또는 단일 패키지를 제공한다. 키트는 (단독으로 또는 제약상 허용되는 희석제 또는 담체와 함께) 화학식 1의 화합물 및 다른 항-HCV 치료제인 추가의 활성 성분을 (단독으로 또는 희석제 또는 담체와 함께) 제공할 수 있다.
- [0414] 화학식 1의 화합물은 이전에 사용되었거나 문헌에 기재된 공지의 방법, 또는 본 발명에 따른 방법을 사용하거나 적용함으로써 제조될 수 있다.
- [0415] 본 발명의 다른 목적은 1종 이상의 HCV 세린 프로테아제 억제제; 항-HCV 활성을 나타내는 1종 이상의 인터페론; 및(또는) HCV 항바이러스 활성을 나타내는 면역자극 시토킨과 같은 면역조절 화합물을 비롯한 항-HCV 활성을 갖는 1종 이상의 화합물을 조합하여 제약상 유효량으로 환자에게 투여하는 것을 포함하는, HCV 감염증을 치료 또는 예방하는 방법을 제공하는 것이다.
- [0416] 본 발명의 다른 목적은 HCV 감염증을 치료 또는 예방하기 위한 의약 제조에 있어서, 1종 이상의 HCV 세린 프로테아제 억제제와 항-HCV 활성을 나타내는 1종 이상의 인터페론 및(또는) HCV 항바이러스 활성을 나타내는 면역자극 시토킨과 같은 면역조절 화합물을 비롯한 항-HCV 활성을 갖는 1종 이상의 화합물 조합의 용도이다.
- [0417] 본 발명의 또다른 목적은 환자에서 HCV 감염증을 치료 또는 예방하는 키트 또는 약제 팩에 관한 것으로, 여기서 키트 또는 약제 팩은 분리된 다수의 용기를 포함하며, 상기 용기 중 1개 이상은 1종 이상의 HCV 세린 프로테아제 억제제를 함유하고, 다른 용기 1개 이상은 1종 이상의 인터페론 또는 항-HCV 활성을 나타내는 인터페론의 생성을 유도하는 화합물을 (단독으로 또는 제약상 허용되는 담체 또는 희석제와 함께) 함유하고, 임의로 다른 용기 1개 이상은 HCV 항바이러스 활성을 나타내는 면역자극의 시토킨과 같은 면역조절 화합물을 비롯한 항-HCV 활성을 갖는 1종 이상의 화합물을 (단독으로 또는 제약상 허용되는 담체 또는 희석제와 함께) 함유한다.
- [0418] 본 발명의 또다른 목적은 세포, C형 간염 바이러스 세린 프로테아제 억제제 및 임의로는 인터페론, 또는 항-C형 간염 바이러스 활성을 갖는 인터페론의 생성을 유도하는 화합물을 접촉시키는 것을 포함하는, 세포에서 C형 간염 바이러스의 복제를 억제하는 방법을 제공하는 것이다.
- [0419] 상기 임의의 용도에서 HCV 세린 프로테아제 억제제(들), 인터페론(들) 또는 항-HCV 화합물(들)의 양은 HCV 세린 프로테아제 억제제(들), 인터페론(들) 및(또는) 항-HCV 화합물(들)의 최종 조합이 환자에서 HCV 감염증을 치료 또는 예방하는데 효과적인 화합물 제약상 유효량을 포함하는 한, 제약상 허용되는 양, 차선의 항-HCV 유효량 또는 이들의 조합일 수 있다.
- [0420] 본 발명의 또다른 목적은 화학식 1의 화합물의 제조에 유용한 키랄 비시클로프로필리네이트 화합물을 제조하는 방법을 제공하는 것이다.
- [0421] 본 발명의 화합물의 제조
- [0422] 본 발명의 출발 물질 및 중간체는 공지된 방법, 예를 들어, 참고 실시예 또는 이들의 명백한 화학적 등가물에서 기재된 바와 같은 방법의 적용 또는 적용에 의해 제조될 수 있다.
- [0423] 본 발명의 화합물은 지금까지 사용되었거나 예를 들어, 문헌[R.C. Larock in Comprehensive Organic Transformations, VCH publishers (1989)]에 기재된 방법을 의미하는 공지된 방법의 적용 또는 적용에 의해 제조될 수 있다.
- [0424] 화학식 1의 화합물 (여기서, 변수 및  잔기는 본원에 기재된 바와 같음)은 화학식 2의 화합물 (여기서,

변수 및  잔기는 본원에 기재된 바와 같음)을 적합한 조건 하에서 적합한 산화제에 의해 처리함으로써 제조할 수 있다. 구체적인 산화제는 DMP 시약이다. 구체적인 조건은 약 실온에서 디클로로메탄과 같은 적합한 유기 용매 중에서 산화를 수행하는 것을 포함한다.



[0425]

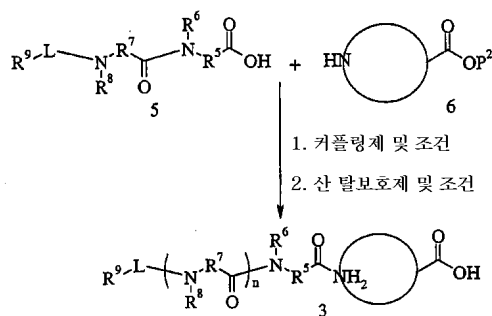
화학식 2의 화합물 (여기서, 변수 및  잔기는 본원에 기재된 바와 같음)은 화학식 3의 화합물 (여기서, 변수 및  잔기는 본원에 기재된 바와 같음)과 화학식 4의 화합물 (여기서, 변수는 본원에 기재된 바와 같음)을 적합한 조건 하에서 적합한 커플링제에 의해 커플링시켜 제조할 수 있다. 구체적인 커플링제 및 조건은 약 0 °C에서 DMF와 같은 적합한 유기 용매 중에서 DIC 및 HOAt를 사용하거나 약 실온에서 디클로로메탄과 같은 적합한 유기 용매 중에서 PyBop 및 DIPEA를 사용하는 것을 포함한다.



[0427]

화학식 3의 화합물 (여기서, 변수 및  잔기는 본원에 기재된 바와 같음)은 화학식 5의 화합물 (여기서, 변수는 본원에 기재된 바와 같음)을

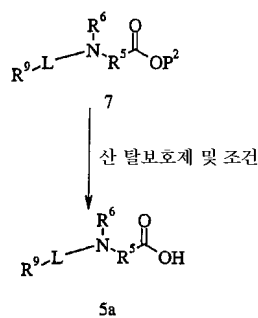
수는 본원에 기재된 바와 같음)을 화학식 6의 화합물 (여기서, P²는 산 보호기이고,  잔기는 본원에 기재된 바와 같음)과 적합한 조건 하에서 적합한 커플링제를 사용하고, 그다음 적합한 탈보호 조건 하에서 적합한 탈보호제를 사용함으로써 커플링시켜 제조할 수 있다. 구체적인 커플링제 및 조건은 약 0 °C 내지 약 실온에서 DMF 또는 디클로로메탄과 같은 적합한 유기 용매 중에서 DIC 또는 DCC 및 HOAt를 사용하는 것을 포함한다. 탈보호는 보호제의 특성에 따라, 즉, 산, 염기 또는 수소화 조건하에서 제거가능한지(불안정한지)에 따라 적합한 탈보호제를 사용하여 수행하고, 수반되는 반응이 바람직하지 않은 경우 탈보호되는 화합물에서 다른 반응성 잔기, 즉, 탈보호제가 다른 반응성 잔기에 영향을 주지 않으면서 탈보호를 수행하도록 선택된다. 구체적인 산 보호제는 C₁ 내지 C₈ 저급 알킬이고; 더욱 구체적으로는 메틸이다. 구체적인 탈보호제는 알칼리 수산화물과 같은 무기 염기이고; 더욱 구체적으로는 NaOH이다. 구체적인 탈보호 조건은 약 실온에서 메탄올 또는 에탄올과 같은 알코올성 용매 중에서 탈보호를 수행하는 것을 포함한다.



[0429]

[0430]

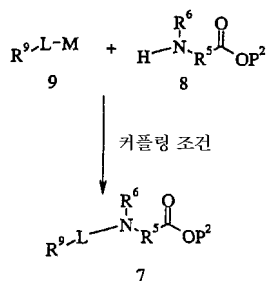
화학식 5의 화합물 (여기서, n은 0이고, 다른 변수들은 본원에서 정의된 바와 같음), 즉, 화합물 5a는 화학식 7의 화합물 (여기서, P²는 산 보호기이고, 다른 변수들은 본원에서 정의된 바와 같음)을 적합한 조건 하에서 적합한 탈보호제에 의해 탈보호시켜 제조할 수 있다. 탈보호는 보호제의 특성에 따라, 즉, 산, 염기 또는 수소화 조건하에서 제거가능한지(불안정한지)에 따라 적합한 탈보호제를 사용하여 수행하고, 수반되는 반응이 바람직하지 않은 경우 탈보호되는 화합물에서 다른 반응성 잔기, 즉, 탈보호제가 다른 반응성 잔기에 영향을 주지 않으면서 탈보호를 수행하도록 선택된다. 구체적인 산 보호제는 C₁ 내지 C₈ 저급 알킬이고; 더욱 구체적으로는 메틸이다. 구체적인 탈보호제는 알칼리 수산화물과 같은 무기 염기이고; 더욱 구체적으로는 NaOH이다. 구체적인 탈보호 조건은 약 실온에서 메탄올 또는 에탄올과 같은 알코올성 용매 중에서 탈보호를 수행하는 것을 포함한다.



[0431]

[0432]

화학식 7의 화합물 (여기서, 변수는 본원에서 정의된 바와 같음)은 화학식 8의 화합물 (여기서, 변수는 본원에서 정의된 바와 같음)을 적합한 조건 하에서 화학식 9의 화합물 (여기서, M은 치환가능한 잔기이고, 다른 변수들은 본원에서 정의된 바와 같음)에 의해 아실화하여 제조할 수 있다. 구체적인 커플링 조건은 약 0 °C 내지 약 실온에서 DMF 또는 디클로로메탄과 같은 적합한 유기 용매 중에서 DIC 또는 DCC 및 HOAt를 사용하거나 약 실온에서 DMF 또는 디클로로메탄과 같은 적합한 유기 용매 중에서 PyBop 및 DIPEA를 사용하는 것을 포함하나; 후자의 조건이 바람직하다. 구체적인 L은 카르보닐이다. 구체적인 M은 히드록시 또는 N-옥시숙신이미드이다.

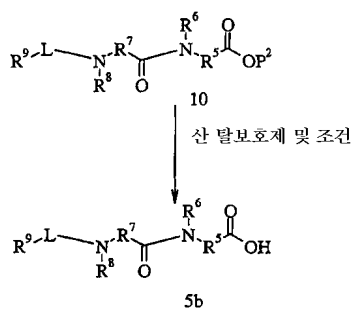


[0433]

[0434]

화학식 5의 화합물 (여기서, n은 1이고, 다른 변수들은 본원에서 정의된 바와 같음), 즉 화합물 5b는 화학식 10의 화합물 (여기서, P²는 산 보호기이고, 다른 변수들은 본원에서 정의된 바와 같음)을 적합한 조건 하에서 적합한 탈보호제에 의해 탈보호시켜 제조할 수 있다. 탈보호는 보호제의 특성에 따라, 즉, 산, 염기 또는 수소화 조건하에서 제거가능한지(불안정한지)에 따라 적합한 탈보호제를 사용하여 수행하고, 수반되는 반응이 바람직하지 않은 경우 탈보호되는 화합물에서 다른 반응성 잔기, 즉, 탈보호제가 다른 반응성 잔기에 영향을 주지 않으면서 탈보호를 수행하도록 선택된다. 구체적인 산 보호제는 C₁ 내지 C₈ 저급 알킬이고; 더욱 구체적으로는 메틸

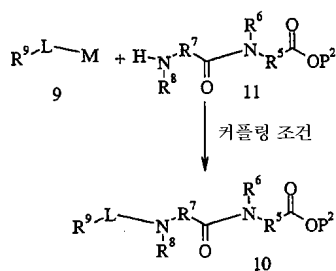
이다. 구체적인 탈보호제는 알칼리 수산화물과 같은 무기 염기이고; 더욱 구체적으로는 NaOH이다. 구체적인 탈보호 조건은 약 실온에서 메탄올 또는 에탄올과 같은 알코올성 용매 중에서 탈보호를 수행하는 것을 포함한다.



[0435]

[0436]

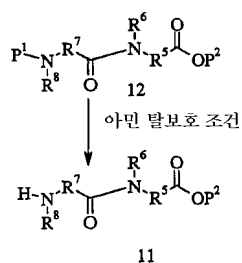
화학식 10의 화합물 (여기서, 변수는 본원에서 정의된 바와 같음)은 화학식 11의 화합물 (여기서, 변수는 본원에서 정의된 바와 같음)을 적합한 조건 하에서 화학식 9의 화합물 (여기서, 변수들은 본원에서 정의된 바와 같음)에 의해 아실화하여 제조할 수 있다. 구체적인 커플링 조건은 약 0 °C 내지 약 실온에서 DMF 또는 디클로로메탄과 같은 적합한 유기 용매 중에서 DIC 또는 DCC 및 HOAt를 사용하거나 약 실온에서 DMF 또는 디클로로메탄과 같은 적합한 유기 용매 중에서 PyBop 및 DIPEA를 사용하는 것을 포함하나; 후자의 조건이 바람직하다. 구체적인 L은 카르보닐이다. 구체적인 M은 히드록시 또는 N-옥시숙신이미드이다.



[0437]

[0438]

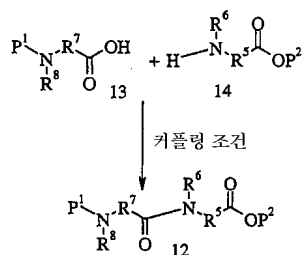
화학식 11의 화합물 (여기서, 변수는 본원에서 정의된 바와 같음)은 화학식 12의 화합물 (여기서, P¹은 아민 보호기이고, 다른 변수들은 본원에서 정의된 바와 같음)을 적합한 조건 하에서 적합한 탈보호제를 사용하여 탈보호시켜 제조할 수 있다. 탈보호는 보호제의 특성에 따라, 즉, 산, 염기 또는 수소화 조건하에서 제거가능한지 (불안정한지)에 따라 적합한 탈보호제를 사용하여 수행하고, 수반되는 반응이 바람직하지 않은 경우 탈보호되는 화합물에서 다른 반응성 잔기, 즉, 탈보호제가 다른 반응성 잔기에 영향을 주지 않으면서 탈보호를 수행하도록 선택된다. 구체적인 아민 보호기는 Cbz 또는 BOC이고; 더욱 구체적으로는 Cbz이다. 구체적인 탈보호제는 HCl 또는 H₂/Pd(OH)₂와 같은 산이고; 더욱 구체적으로는 H₂/Pd(OH)₂이다. 구체적인 탈보호 조건은 약 실온에서 메탄올 또는 에탄올과 같은 알코올성 용매 또는 에틸 아세테이트와 같은 알킬 알카노에이트 중에서 탈보호를 수행하는 것을 포함한다.



[0439]

[0440]

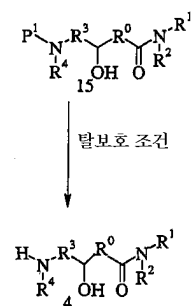
화학식 12의 화합물 (여기서, 변수는 본원에서 정의된 바와 같음)은 화학식 13의 화합물 (여기서, 변수는 본원에서 정의된 바와 같음)을 화학식 14의 화합물 (여기서, 변수는 본원에서 정의된 바와 같음)과 적합한 조건 하에서 커플링시켜 제조할 수 있다. 구체적인 커플링 조건은 약 실온에서 THF와 같은 적합한 유기 용매 중 HOAt/DIC 및 DIPEA를 사용하는 것을 포함한다.



[0441]

[0442]

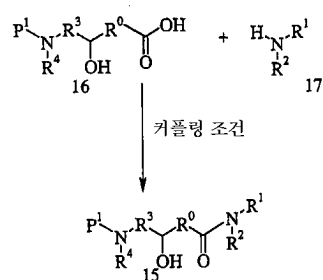
화학식 4의 화합물 (여기서, 변수는 본원에서 정의된 바와 같음)은 화학식 15 (여기서, 변수는 본원에서 정의된 바와 같음)의 화합물을 적합한 조건 하에서 적합한 탈보호제를 사용하여 탈보호시켜 제조할 수 있다. 탈보호는 보호제의 특성에 따라, 즉, 산, 염기 또는 수소화 조건하에서 제거가능한지(불안정한지)에 따라 적합한 탈보호제를 사용하여 수행하고, 수반되는 반응이 바람직하지 않은 경우 탈보호되는 화합물에서 다른 반응성 잔기, 즉, 탈보호제가 다른 반응성 잔기에 영향을 주지 않으면서 탈보호를 수행하도록 선택된다. 구체적인 아민 보호기는 Cbz 또는 BOC이고; 더욱 구체적으로는 Cbz이다. 구체적인 탈보호제는 HCl 또는 H₂/Pd(OH)₂와 같은 산이고; 더욱 구체적으로는 H₂/Pd(OH)₂이다. 구체적인 탈보호 조건은 약 실온에서 메탄올 또는 에탄올과 같은 알코올성 용매 또는 에틸 아세테이트와 같은 알킬 알카노에이트 중에서 탈보호를 수행하는 것을 포함한다.



[0443]

[0444]

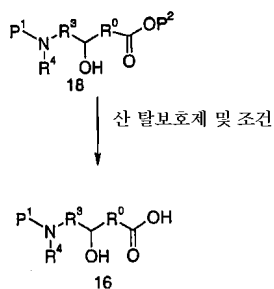
화학식 15의 화합물 (여기서, 변수는 본원에서 정의된 바와 같음)은 화학식 17의 화합물 (여기서, 변수는 본원에서 정의된 바와 같음)을 화학식 17의 화합물 (여기서, 변수는 본원에서 정의된 바와 같음)과 적합한 조건 하에서 커플링시켜 제조할 수 있다. 구체적인 아민 보호기는 Cbz 또는 BOC이고; 더욱 구체적으로는 Cbz이다. 구체적인 커플링 조건은 약 0 °C 내지 약 실온에서 디클로로메탄과 같은 적합한 유기 용매 중에서 HOBt, PyBop 및 DIPEA를 사용하는 것을 포함한다.



[0445]

[0446]

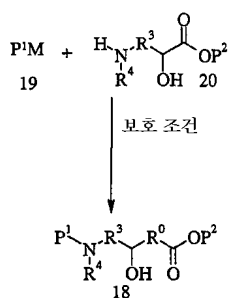
화학식 16의 화합물 (여기서, 변수는 본원에서 정의된 바와 같음)은 화학식 18의 화합물 (여기서, 변수는 본원에서 정의된 바와 같음)을 적합한 조건 하에서 적합한 탈보호제를 사용하여 탈보호시켜 제조할 수 있다. 탈보호는 보호제의 특성에 따라, 즉, 산, 염기 또는 수소화 조건하에서 제거가능한지(불안정한지)에 따라 적합한 탈보호제를 사용하여 수행하고, 수반되는 반응이 바람직하지 않은 경우 탈보호되는 화합물에서 다른 반응성 잔기, 즉, 탈보호제가 다른 반응성 잔기에 영향을 주지 않으면서 탈보호를 수행하도록 선택된다. 구체적인 아민 보호기는 Cbz이다. 구체적인 산 보호기는 C₁ 내지 C₈ 저급 알킬이고; 더욱 구체적으로는 메틸이다. 구체적인 탈보호제는 알칼리 수산화물과 같은 무기 염기이고; 더욱 구체적으로는 NaOH이다. 구체적인 탈보호 조건은 약 실온에서 메탄올 또는 에탄올과 같은 알코올성 용매 중에서 탈보호시키는 것을 포함한다.



[0447]

[0448]

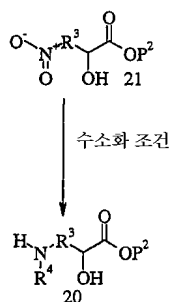
화학식 18의 화합물 (여기서, R^0 는 결합이고, 다른 변수들은 본원에서 정의된 바와 같음)은 화학식 20의 화합물 (여기서, 변수는 본원에서 정의된 바와 같음)을 적합한 조건 하에서 화학식 19의 화합물 (여기서, 변수는 본원에서 정의된 바와 같음)에 의해 보호시킴으로써 제조할 수 있다. 구체적인 아민 보호제는 Cbz 또는 BOC이다. 구체적인 커플링 조건은 약 0 °C 내지 약 실온에서 디클로로메탄과 같은 적합한 유기 용매를 사용한다.



[0449]

[0450]

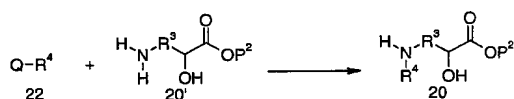
화학식 20의 화합물 (여기서, R^4 는 수소이고, 다른 변수들은 본원에서 정의된 바와 같음)은 적합한 조건 하에서 적합한 수소화제를 사용하여 화학식 21의 화합물 (여기서, 변수는 본원에서 정의된 바와 같음)을 수소화시킴으로써 제조할 수 있다. 구체적인 수소화제는 $\text{H}_2/\text{Pd}(\text{OH})_2$ 이다. 구체적인 수소화 조건은 약 실온에서 메탄올 또는 에탄올과 같은 알코올성 용매 또는 에틸 아세테이트와 같은 알킬 알카노에이트 중에서 수소화를 수행하는 것을 포함한다.



[0451]

[0452]

화학식 20의 화합물 (여기서, R^4 는 임의로 치환되는 지방족 기이고, 다른 변수들은 본원에서 정의된 바와 같음)은 화합물 20' (여기서, 변수는 본원에서 정의된 바와 같음)을 적합한 조건 하에서 화합물 22 (알킬화제; 여기서, R^4 는 임의로 치환되는 지방족 기이고, Q는 할라이드, 토실레이트 또는 술포네이트와 같은 치환가능한 기임)로 알킬화시킴으로써 제조할 수 있다.

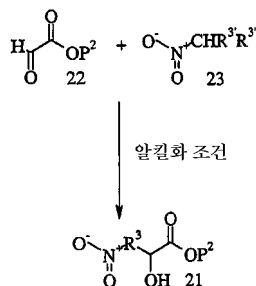


[0453]

[0454]

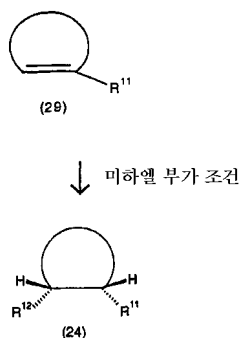
적합한 알킬화제에는 지방족 (할라이드, 토실레이트 또는 술포네이트) 기가 포함된다. 적합한 알킬화 조건은 약 실온 내지 약 환류 온도에서 메탄올 또는 에탄올과 같은 알코올성 용매 또는 에테르 또는 테트라히드로푸란과 같은 에테르성 용매와 같은 적합한 유기 용매 중에서 알킬화를 수행하는 것을 포함한다.

[0455] 화학식 21의 화합물 (여기서, 변수는 본원에서 정의된 바와 같음)은 화학식 22의 화합물 (여기서, 변수는 본원에서 정의된 바와 같음)을 적합한 조건 하에서 화학식 23의 화합물 (여기서, $R^{3'}$ 는 독립적으로 본원에서 정의된 바와 같은 임의로 치환되는 지방족 기, 임의로 치환되는 시클릭 기 또는 임의로 치환되는 방향족 기임)로 알킬화하여 제조할 수 있다. 구체적인 알킬화 조건은 약 실온에서 메탄올 또는 에탄올과 같은 알코올성 용매 중에서 칼륨 *t*-부톡시드와 같은 강염기를 사용하여 알킬화를 수행하는 것을 포함한다.



[0456]

[0457] 화학식 24의 화합물 (여기서, 변수는 본원에서 정의된 바와 같음)은 화학식 29의 미하엘 수용체 (여기서, 변수는 본원에서 정의된 바와 같음)에 이민 글리신이미드 유도체에 의한 미하엘 부가반응을 수행하여 제조할 수 있다.



[0458]

[0459] 미하엘 부가반응은 적합한 비양자성 극성 용매, 알칼리 메틸 수산화물 염기 및 적합한 온도를 포함한다. 미하엘 부가반응에 있어서, 문헌[Corey, E.J.; Noe, M.C.; Xu, F. Tetrahedron Letter 1998, 39, 5347]을 참조한다. 키랄상 전이 촉매의 합성에 있어서, 문헌[Corey, E.J.; Noe, M.C.; Xu, F. J. Am. Chem. Soc. 1997, 119, 12414]을 참조한다. 적합한 용매에는 반응 조건에 따라서 DCM, ACN 또는 THF가 포함된다. 적합한 염기에는 CsOH, NaOH, KOH 및 LiOH가 포함된다. 적합한 온도 범위는 약 -78 °C 내지 약 0 °C이고, 더욱 구체적으로는 약 -60 °C이다. 본 발명에서 유용한 이민 글리신이미드를 본원에 기재하였다. 바람직한 이민 글리신이미드는 *N*-(디페닐메틸렌)글리신 *tert*-부틸 에스테르이다. 또한, 미하엘 부가 조건은 (키랄 및 비키랄) 상 전달 촉매 (PTC)의 존재 또는 부재하에 영향을 받을 수 있다. 바람직한 PTC는 0-[9] 알릴-*N*-9-안트라세닐메틸신코니딘 브로마이드이다.

[0460] 화학식 25의 화합물 (여기서, 변수는 본원에서 정의된 바와 같음)은 화학식 24의 화합물의 이민 분할 및 고리화에 의해 제조될 수 있다.

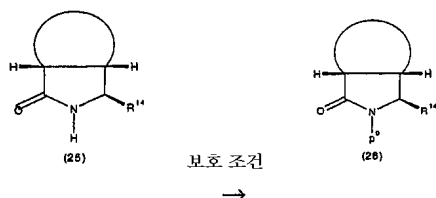


[0461]

[0462] 분할 및 고리화 과정에 있어서는, 문헌[Javidan, A.; Schfer, K.; Pyne, S. Synlett 1996, 100; Tatsukawa, A.; Dan, M.; Ohbatake, M.; Kawatake, K.; Fukata, T.; Wada, E.; Kanemase, S.; Kakei, S. J. Org. Chem. 1993, 58, 4221]을 참조한다. 분할 및 고리화 조건은 극성 용매, 산 시약 및 약 실온 내지 약 150 °C의 온도를

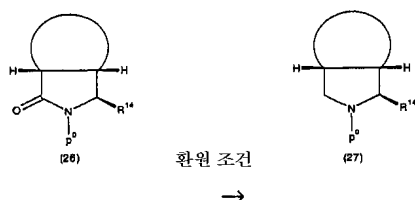
포함한다. 바람직한 조건에는 EtOH, AcONa 및 $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, 및 대략 사용되는 용매의 비점을 사용하는 것이 포함된다.

- [0463] 화학식 26의 화합물 (여기서, 변수는 본원에 기재된 바와 같음)은 화학식 25의 화합물의 아미드 (여기서, 변수는 본원에 기재된 바와 같음)를 BOC와 같은 적합한 아미드 보호기에 의해 보호시켜 제조할 수 있다. 기타 적합한 보호기에는 CBz, $-\text{CO}_2$ 알킬이 포함된다. 또한, 다른 아민 보호기에 대해서는 문헌[Greene, T.W.; P.G.M. in Protective Groups in Organic Synthesis, Wiley, New York, 1991]을 참조한다. 보호 조건은 비양자성 극성 용매, 촉매와 같은 유기 염기 및 약 0 °C 내지 100 °C의 온도를 포함한다. 바람직한 조건은 ACN, 디메틸 아미노 피리딘, 및 약 실온의 온도를 사용하는 것을 포함한다.



[0464]

- [0465] 화학식 27의 화합물 (여기서, 변수는 본원에서 정의된 바와 같음)은 화학식 26의 보호된 화합물 (여기서, 변수는 본원에서 정의된 바와 같음)을 환원시켜 제조할 수 있다.



[0466]

- [0467] 실제로, 2가지의 환원 단계가 일어난다. 제1 환원은 DIBALH 또는 수퍼히드라이드[LiEtEt_3H]를 사용한 아미드에서 헤미아미달로의 환원이다. 제2 환원은 Et_3SiH 및 $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ 를 사용한 헤미아미달에서 아민으로의 환원이다. 환원 조건에 대해서는 문헌[Collado, I; Ezquerro, J.; Mateo, A.I.; Rubio, A., J. Org. Chem. 1998, 63 1995-2001 및 Ezquerro, J.; Pedregal, C.; Yrretagoyena, B.; Rubio, A.; Carreno, M.C.; Escribano, A.; Garcia Ruano, J.L. J. Org. Chem. 1995, 60, 2925]을 참조한다. 피로글루타메이트에서 피롤리딘으로의 전환을 위한 다른 통상의 조건에서는 $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$ 를 사용한다.

- [0468] 화학식 28의 화합물 (여기서, 변수는 본원에서 정의된 바와 같음)은 화학식 27의 화합물 (여기서, 변수는 본원에서 정의된 바와 같음)을 탈보호시켜 제조할 수 있다.



[0469]

- [0470] tert-부틸 에스테르 존재하에서 N-BOC 보호기를 선택적으로 제거하기 위한 조건에 있어서는 문헌[Gibson, F.G.; Benneier, S.C.; Rapoport, H., J. Org. Chem. 1994, 59, 3216-3218]을 참조한다. 당업자는 탈보호 조건이 보호기의 선택에 따라 달라진다는 것을 알 것이다. 예를 들어, CBz가 사용된 경우 수소화 또는 염기성 조건이 사용될 수 있다. 바람직하게는, BOC가 사용된 경우 에틸 아세테이트 중 1 N HCl이 사용될 수 있다. 문헌[Greene, T.W.; P.G.M. in Protective Groups in Organic Synthesis, Wiley, New York, 1991] 참조.

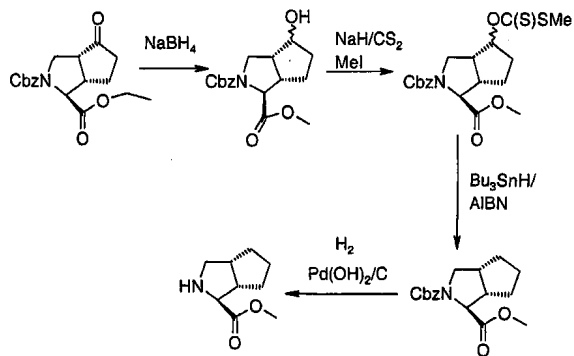
- [0471] 화학식 3의 화합물이 화학식 5의 화합물을 상기 기재된 조건 하에서 화학식 28의 화합물과 커플링시켜 제조할 수 있다는 것이 당업자에게는 명백할 것이다.

- [0472] 임의로 치환되는 에탄디일 잔기로서 R^3 , R^5 또는 R^7 을 제조하는 방법은 당업자에게 공지된 방법, 예를 들어 문헌["The organic Chemistry of β -Lactams" edited by G. Georg, VCH Publishers, Inc. (1993), e.g., pages

240-241 and 303-305]에 기재된 방법을 포함한다.

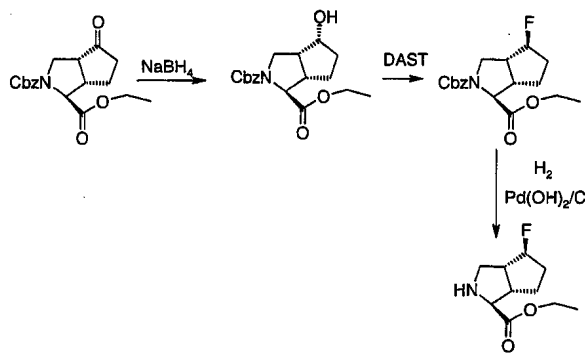
[0473] 하기 반응식 1 내지 11은 임의로 치환되는 멀티시클릭 아자헥테로시클릴을 제조하기 위해 분류된 방법을 예시한다. 또한, 하기 반응식의 방법은 양립가능한 치환기를 포함하는 임의로 치환되는 다른 멀티시클릭 아자헥테로시클릴에도 적용할 수 있다.

반응식 1



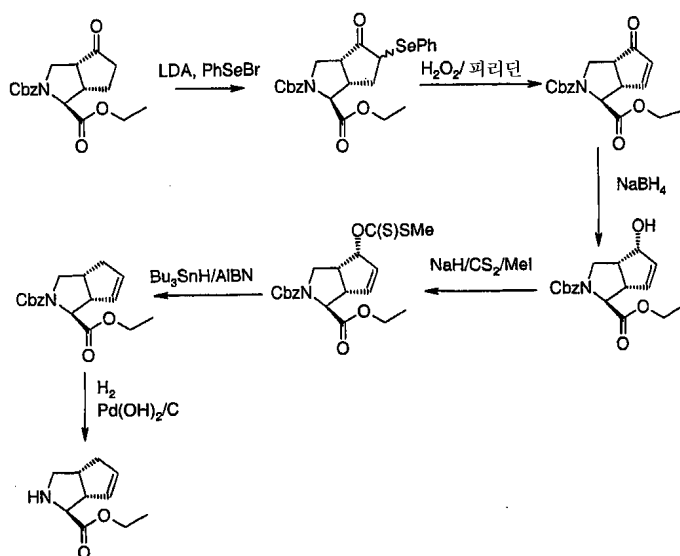
[0474]

반응식 2



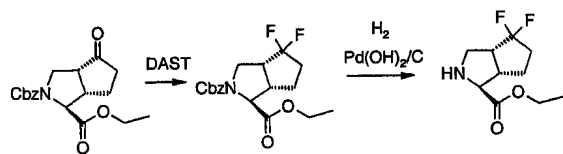
[0475]

반응식 3



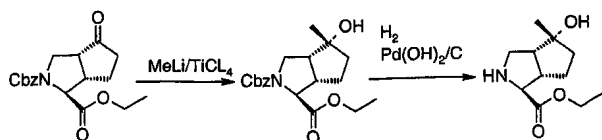
[0476]

반응식 4



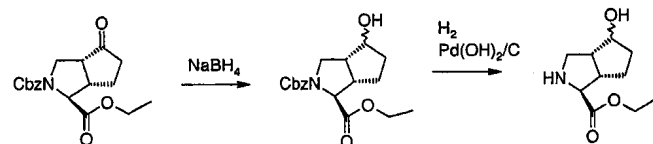
[0477]

반응식 5



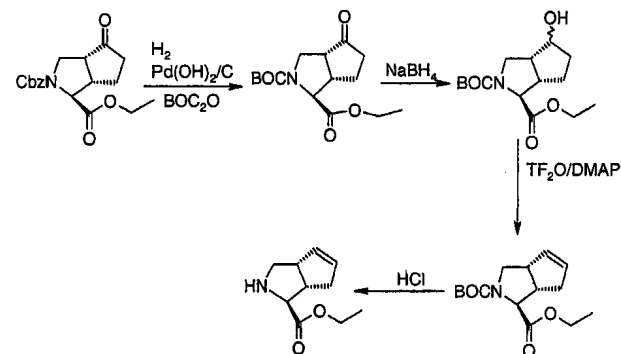
[0478]

반응식 6



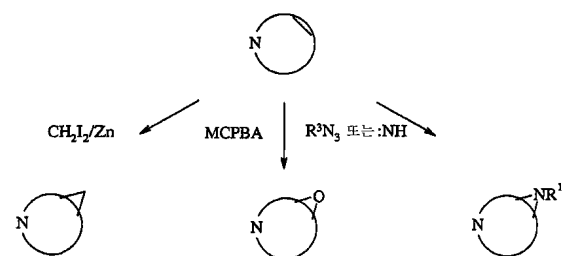
[0479]

반응식 7



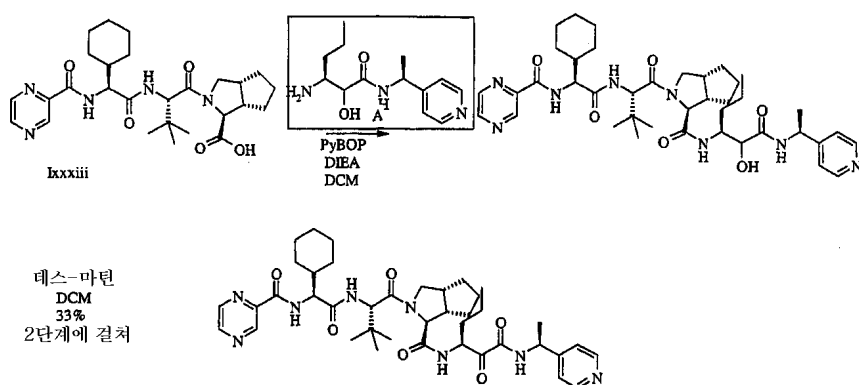
[0480]

반응식 8



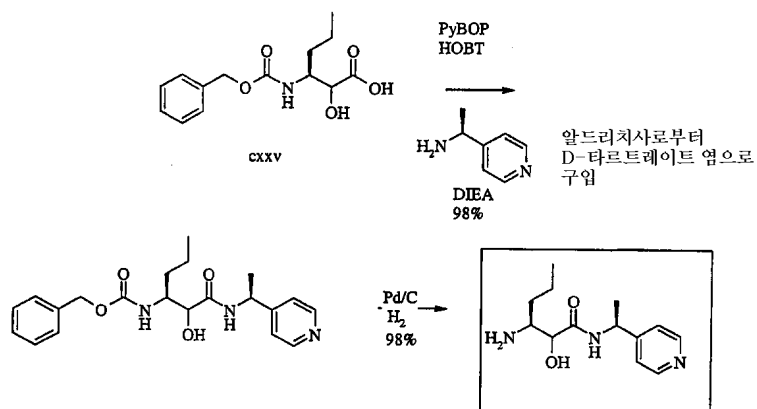
[0481]

반응식 9



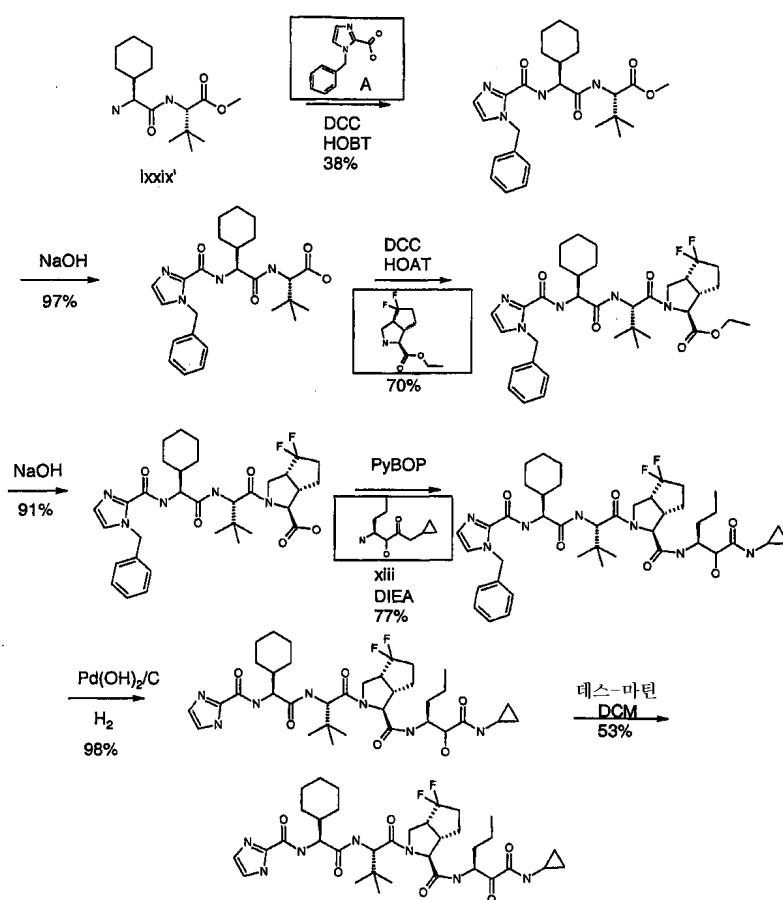
[0482]

반응식 10



[0483]

반응식 11



[0484]

[0485]

약 실온 내지 환류 온도, 바람직하게는 승온에서 디클로로메탄과 같은 불활성 용매 중에서 아세트산 또는 m-클로로퍼옥시벤조산 중 과산, 예를 들어 과아세트산과 반응시킴으로써 1개 이상의 질소 고리 원자, 바람직하게는 이민(=N-)을 포함하는 화학식 1의 화합물은 기에서 1개 이상의 질소 고리 원자가 N-옥시드로 산화된 상응하는 화합물로 전환될 수 있다.

[0486]

하기 기재된 반응에서, 반응성 관능기, 예를 들면 히드록시, 아미노, 이미노, 티오 또는 카르복시기는 최종 생성물에 요구되는 경우, 이들의 원치않는 반응에의 참여를 피하기 위해 보호할 필요가 있다. 종래의 보호기를 표준 관습에 따라 사용할 수 있다 (예를 들어, T.W. Green and P.G.M. Wuts in "Protective Groups in Organic Chemistry" John Wiley and Sons (1991); J.F.W. McOmie in "Protective Groups in Organic Chemistry" Plenum Press, 1973 참조).

[0487]

본원에서 기재된 바와 같이 제조되는 화합물은 종래 방법에 의해 반응 혼합물로부터 회수할 수 있다. 예를 들어, 화합물은 반응 혼합물로부터 용매를 증류 제거함으로써, 또는 필요하다면 반응 혼합물로부터 용매를 증류 제거한 후, 잔류물을 물에 붓고 수-혼화성 유기 용매로 추출하고, 추출물로부터 용매를 증류 제거함으로써 회수할 수 있다. 또한, 생성물은 원한다면, 다양한 공지 기법, 예컨대 재결정, 재침전 또는 다양한 크로마토그래피 기법, 특히 칼럼 크로마토그래피 또는 예비 박층 크로마토그래피에 의해 더 정제할 수 있다.

[0488]

본 발명의 또다른 특징에 따르면, 본 발명의 화합물은 본 발명의 다른 화합물들의 상호전환에 의해 제조할 수 있다.

[0489]

상호전환 방법의 예로서, 술폭시드 연결기를 포함하는 화학식 1의 화합물을 -S- 연결기를 포함하는 상응하는 화합물의 산화에 의해 제조할 수 있다. 예를 들어, 산화는 바람직하게는 불활성 용매, 예컨대 디클로로메탄 중에서, 바람직하게는 대략 실온에서 퍼옥시산, 예를 들어 3-클로로퍼벤조산과 반응시킴으로써, 또는 이와는 달리 약 0 °C 내지 실온에서 약 pH 5로 완충된 수성 메탄올과 같은 매질 중에서 칼륨 수소 퍼복소모노술포에이트에 의해 편리하게 행할 수 있다. 산-불안정기 함유 화합물의 경우 후자의 방법이 바람직하다.

- [0490] 상호전환 방법의 또다른 예로서, 술폰 연결기를 포함하는 화학식 1의 화합물을 -S- 또는 술폭시드 연결기를 포함하는 상응하는 화합물의 산화에 의해 제조할 수 있다. 예를 들어, 산화는 바람직하게는 불활성 용매, 예컨대 디클로로메탄 중에서, 바람직하게는 대략 실온에서 퍼록시산, 예를 들어 3-클로로퍼벤조산과 반응시킴으로써 편리하게 행할 수 있다.
- [0491] 본원에서 아릴 및 헤테로아릴에 대한 방향성의 의미는 임의의 고도로 공명성인 불포화 고리 구조를 포함하는 것으로 이해될 것이다. 이와는 달리, 이중결합의 배치란 도식된 화합물에 대한 하나의 유효 구조를 나타내지만, 화합물의 다른 공명 상태 뿐만 아니라 프로톤화 및 하전된 종류 (그중 하나만 도식됨)를 포함하는 것으로 이해될 것이다.
- [0492] 본 발명의 화합물들은 비대칭 중심을 포함할 수 있는 것으로 평가될 것이다. 이들 비대칭 중심은 독립적으로 R 또는 S 배열일 수 있다. 본 발명의 특정 화합물은 또한 기하 이성질체를 나타낼 수 있음이 당업자에게 명백할 것이다. 본 발명은 본 발명에 따른 화합물의 라세믹 이성질체를 포함한 개별 기하 이성질체 및 입체 이성질체, 및 이들의 혼합물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 이와 같은 이성질체는 공지된 방법의 응용 또는 개조, 예를 들어 크로마토그래피 기법 및 재결정 기법에 의해 이들의 혼합물로부터 분리될 수 있거나, 또는 이들은 이들 중간체의 적절한 이성질체로부터 개별적으로 제조될 수 있다.
- [0493] 본원의 목적을 위해 토토머 형태가 제시된 기, 예컨대 티옥소/메르캅토 또는 옥소/히드록실의 열거에 포함된다.
- [0494] 산 부가염은 염기성 관능기, 예컨대 아미노, 알킬아미노 또는 디알킬아미노기가 존재하는 본 발명의 화합물과 함께 형성된다. 제약학적 허용가능한, 즉 비독성 산 부가염이 바람직하다. 선택된 염은 경구 또는 비경구 투여에 적합한 종래의 제약학적 비히클과 최적으로 상용되도록 선택된다. 본 발명의 화합물의 산 부가염은 유리 염기를 공지된 방법의 응용 또는 개조에 의해 적절한 산과 반응시킴으로써 제조할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 화합물의 산 부가염은 물 또는 알콜 수용액, 또는 적절한 산을 포함하는 기타 적절한 용매에 유리 염기를 용해시키고 이 용액을 증발시킴으로써 염을 단리하거나, 또는 염이 직접적으로 분리되거나 용액의 농축에 의해 수득될 수 있는 경우 유리 염기 및 산을 유기 용매 중에서 반응시킴으로써 제조할 수 있다. 상기 염의 제조에 사용하기에 적합한 일부 산으로는 염산, 수소화브롬산, 인산, 황산, 각종 유기 카복실산 및 술폰산, 예컨대 아세트산, 시트르산, 프로피온산, 숙신산, 벤조산, 타르타르산, 푸마르산, 만델산, 아스코르브산, 말산, 메탄술폰산, 톨루엔술폰산, 지방산, 아디페이트, 알기네이트, 아스코르베이트, 아스파르테이트, 벤젠술폰네이트, 벤조에이트, 시클로헥탄프로피오네이트, 디글루코네이트, 도데실술포네이트, 비술포네이트, 부티레이트, 락테이트, 라우레이트, 라우릴 술포네이트, 말레이트, 히드로요오다이드, 2-히드록시-에탄술포네이트, 글리세로포스페이트, 피크레이트, 피발레이트, 파모에이트, 팩티네이트, 퍼술포네이트, 3-페닐프로피오네이트, 티오시아네이트, 2-나프탈렌술포네이트, 운데카노에이트, 니코티네이트, 헤미술포네이트, 헵토네이트, 헥사노에이트, 캄포레이트, 캄페르포네이트 등이 있다.
- [0495] 본 발명의 화합물의 산 부가염은 공지된 방법의 응용 또는 개조에 의해 염으로부터 재생될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 모화합물은 알칼리, 예를 들어 중탄산나트륨 수용액 또는 암모니아 수용액으로 처리함으로써 이들의 산 부가염으로부터 재생될 수 있다.
- [0496] 본 발명의 화합물은 공지된 방법의 응용 또는 개조에 의해 이들의 염기 부가염으로부터 재생될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 모화합물은 산, 예를 들어 염산으로 처리함으로써 이들의 염기 부가염으로부터 재생될 수 있다.
- [0497] 본 발명의 화합물이 카복시기 또는 충분히 산성인 바이오이소스티어를 포함하는 경우 염기 부가염이 형성될 수 있다. 염기 부가염의 제조에 사용할 수 있는 염기는 유리산과 조합될 경우 제약상 허용되는 염, 즉 그 양이온이 염의 제약학적 투약시 환자에게 비독성이어서, 유리 염기 고유의 유리한 억제 효과가 양이온으로 인한 부작용에 의해 손상되지 않도록 하는 염을 생성하는 것들을 포함하는 것이 바람직하다. 본 발명의 범주 내의 알칼리 및 알칼리 토금속 염으로부터 유도된 것들을 비롯한 제약상 허용되는 염에는 수소화나트륨, 수산화나트륨, 수산화칼륨, 수산화알루미늄, 수산화리튬, 수산화마그네슘, 수산화아연, 암모니아, 에틸렌디아민, N-메틸-글루카민, 라이신, 아르기닌, 오르니틴, 콜린, N,N'-디벤질에틸렌디아민, 클로로프로케인, 디에탄올아민, 프로케인, N-벤질페네틸아민, 디에틸아민, 피페라진, 트리스(히드록시메틸)아미노메탄, 테트라메틸암모늄 히드록시드 등으로부터 유도된 것들이 있다.
- [0498] 본 발명의 화합물은 종래 방법에 따라 제조하거나, 또는 본 발명의 공정 동안 용매화물 (예, 수화물)로서 형성될 수 있다. 본 발명의 화합물의 수화물은 편리하게는 유기 용매, 예컨대 디옥산, 테트라히드로푸란 또는 메탄

을 사용하여 수성/유기 용매 혼합물로부터 재결정에 의해 제조할 수 있다.

[0499] 출발 물질 및 중간체는 공지된 방법의 응용 또는 개조, 예를 들면 참고예에 기재된 방법 또는 이들의 명백한 화학적 등가물에 의해 제조할 수 있다.

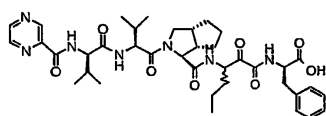
[0500] 본 발명의 화합물, 이들의 제조 방법 및 이들의 생물학적 활성은 예시의 목적으로 제시되었을 뿐 본 발명을 제한하고자 하는 것은 아닌 하기 실시예의 시험으로부터 더욱 명백해질 것이다.

[0501] 샘플은 TLC, NMR, RP-HPLC 또는 EA에 의해 분석하였다.

[0502] <실시예>

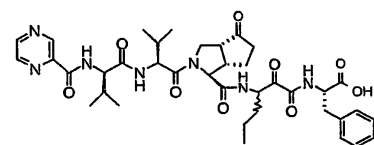
[0503] 실시예 1 - 화합물 A 내지 E

[0504] 화합물 xi (310 mg, 0.39 mmol)의 DCM 용액 (10 ml)에 TFA (4 ml)를 첨가하였다. 반응을 대략 실온에서 5시간 교반하였다. 이때, 용매를 진공 제거하였다. 생성된 잔류물을 역상 HPLC에 의해 정제하여 화합물 A 195 mg (68 %)을 수득하였다.

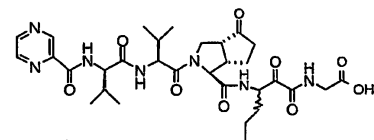


[0505]

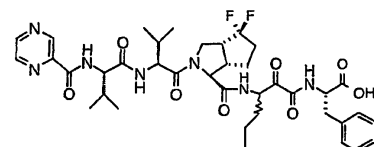
[0506] 상기 방법에 따라 적절한 출발 물질을 사용하여 하기 일련의 화합물 B 내지 E를 제조하였다.



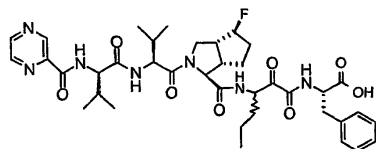
[0507]



[0508]



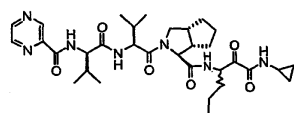
[0509]



[0510]

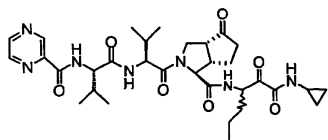
[0511] 실시예 2 - 화합물 F 내지 M

[0512] 화합물 xii (350 mg, 0.56 mmol)의 DCM 용액 (10 ml)에 DMP 시약 (307 mg, 0.73 mmol)을 첨가하였다. 반응을 대략 실온에서 2시간 교반한 다음, 10 % Na₂SO₃로 30분간 켄칭하였다. 이어서, 반응 혼합물을 EtOAc (75 ml)로 추출하고, 염수로 세척하였다. 유기층을 건조시키고 진공 농축하였다. 생성된 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피 (80 내지 90 % EtOAc/헥산)로 정제하여 화합물 F 248 mg (71 %)을 수득하였다.

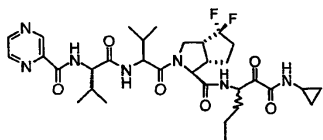


[0513]

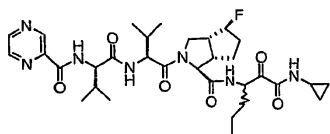
[0514] 상기 방법에 따라 적절한 출발 물질을 사용하여 하기 일련의 화합물 G 내지 M을 제조하였다.



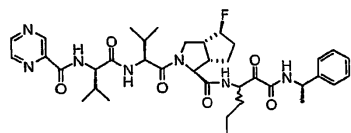
[0515]



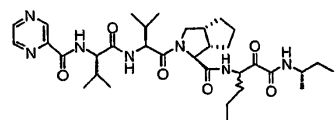
[0516]



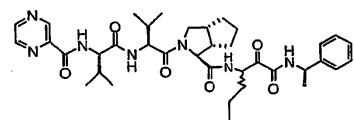
[0517]



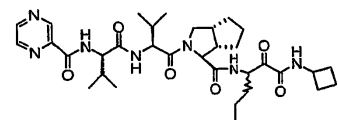
[0518]



[0519]



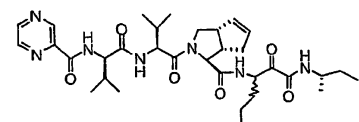
[0520]



[0521]

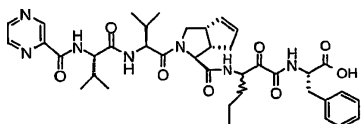
[0522] 실시예 3 - 화합물 N 내지 R

[0523] 화합물 xix (약 0.22 mmol)의 DCM 용액 (4 ml)에 DMP 시약 (146 mg, 0.34 mmol)을 첨가하였다. 반응을 대략 실온에서 2시간 교반한 다음, 10 % Na_2SO_3 로 켄칭하였다. 이어서, 반응 혼합물을 DCM으로 희석하였다. 유기층을 분리시키고 10 % Na_2SO_3 2회 및 염수로 세척하였다. 생성된 유기층을 건조시키고 진공 농축하여 생성된 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피 (5 % EtOH/EtOAc)로 정제하여 목적 화합물 N 78 mg (56 %)을 수득하였다.

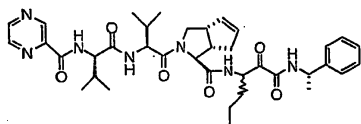


[0524]

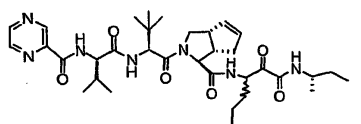
[0525] 상기 방법에 따라 적절한 출발 물질을 사용하여 하기 일련의 화합물 O 내지 R을 제조하였다.



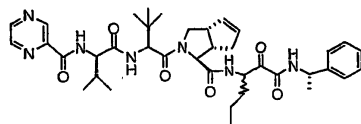
[0526]



[0527]



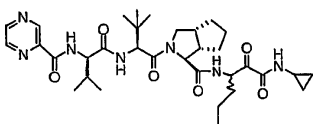
[0528]



[0529]

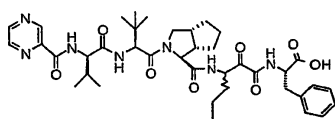
[0530] 실시예 4 - 화합물 S 내지 W

[0531] 화합물 xxv (320 mg, 0.5 mmol)의 DCM 용액 (10 ml)에 DMP 시약 (272 mg, 0.65 mmol)을 첨가하였다. 반응을 대략 실온에서 2시간 교반한 다음, 10 % Na₂SO₃로 20분간 켄칭하였다. 이어서, 생성된 혼합물을 EtOAc로 추출하였다. 유기층을 염수로 세척하고, 건조시키고 진공 농축하였다. 생성된 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피 (80 % EtOAc/헥산)로 정제하여 화합물 S 170 mg (53 %)을 수득하였다.

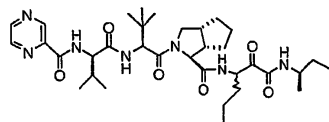


[0532]

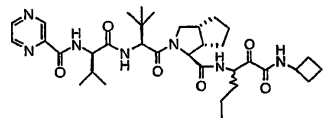
[0533] 상기 방법에 따라 적절한 출발 물질을 사용하여 하기 일련의 화합물 T 내지 W를 제조하였다.



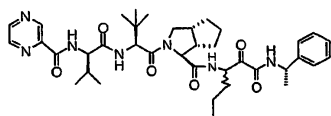
[0534]



[0535]



[0536]



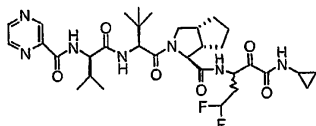
[0537]

[0538]

실시예 5 - 화합물 X 내지 AD

[0539]

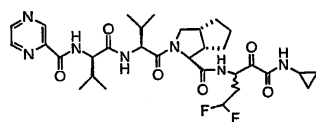
화합물 xxvi (400 mg, 0.6 mmol)의 DCM 용액 (20 ml)에 DMP 시약 (329 mg, 0.78 mmol)을 첨가하였다. 반응을 대략 실온에서 1.5시간 교반한 다음, 10 % Na₂SO₃로 20분간 켄칭하였다. 이어서, 반응 혼합물을 EtOAc로 추출하였다. 유기층을 염수로 세척하고, 건조시키고 진공 농축하였다. 생성된 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피 (70 내지 100 % EtOAc/헥산)로 정제하여 화합물 X 210 mg (53 %)을 수득하였다.



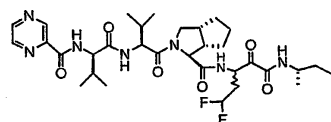
[0540]

[0541]

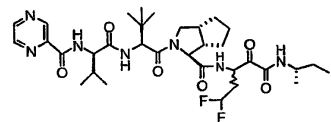
상기 방법에 따라 적절한 출발 물질을 사용하여 하기 일련의 화합물 Y 내지 AD를 제조하였다.



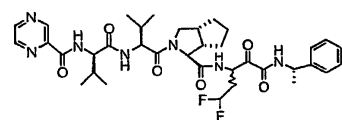
[0542]



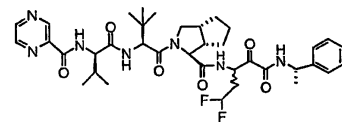
[0543]



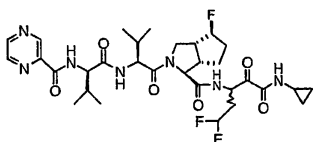
[0544]



[0545]



[0546]



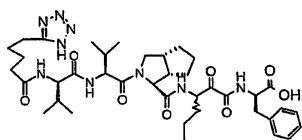
[0547]

[0548]

실시예 6 - 화합물 AE 내지 AI

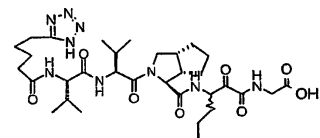
[0549]

화합물 xxxiii (150 mg, 0.076 mmol)을 TFA 5 ml에 용해시키고 2일간 교반하였다. 생성물을 RP-HPLC에 의해 정제하여 화합물 AE 40 mg (33 % 수율)을 수득하였다.

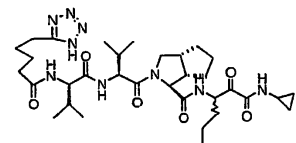


[0550]

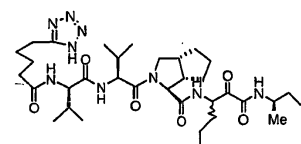
[0551] 상기 방법에 따라 적절한 출발 물질을 사용하여 하기 일련의 화합물 AF 내지 AI를 제조하였다.



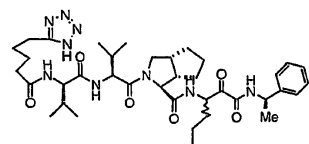
[0552]



[0553]



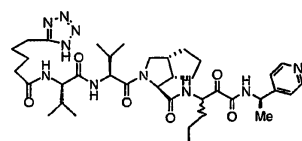
[0554]



[0555]

[0556] 실시예 7 - 화합물 AJ

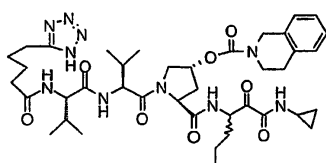
[0557] 화합물 xxxviii (180 mg, 0.21 mmol)을 순수 TFA (5 ml)에 용해시키고 대략 실온에서 3일간 방치하였다. 이때, 반응 혼합물을 진공 농축하여 생성한 잔류물을 역상 HPLC에 의해 정제하여 화합물 AJ 50 mg (32 %)을 수득하였다.



[0558]

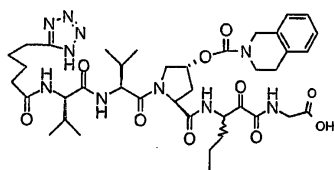
[0559] 실시예 8 - 화합물 AK 내지 AM

[0560] 화합물 xxxix (150 mg, 0.16 mmol)을 TFA 4.5 ml에 용해시키고 3일간 교반하였다. 생성물을 RP-HPLC에 의해 정제하여 화합물 AK 70 mg (수율 54 %)을 수득하였다.

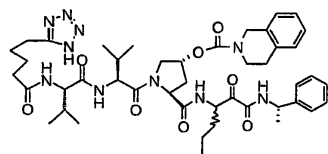


[0561]

[0562] 상기 방법에 따라 적절한 출발 물질을 사용하여 하기 일련의 화합물 AL 내지 AM을 제조하였다.



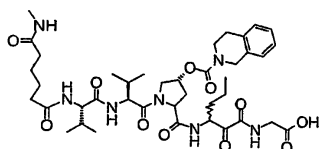
[0563]



[0564]

[0565] 실시예 9 - 화합물 AN

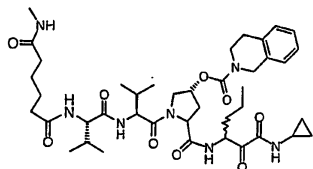
[0566] 화합물 lii (80 mg)을 TFA 3 ml 및 DCM 3 ml에 용해시켰다. 혼합물을 대략 실온에서 5시간 동안 교반하였다. 용매를 증발에 의해 제거하였다. 생성 잔류물을 HPLC에 의해 정제하여 화합물 AN 62 mg (83 %)을 수득하였다.



[0567]

[0568] 화합물 10 - 화합물 AO

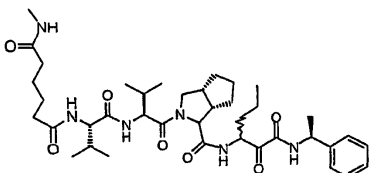
[0569] 화합물 liii (160 mg, 0.2 mmol)을 DCM 5 ml에 용해시키고 DMP 시약 (170 mg, 0.4 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 대략 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 용매를 증발에 의해 제거하고, 잔류물을 50 % 아세토니트릴/물에 용해시키고, RP-HPLC에 의해 정제하여 화합물 AO 51 mg (32 %)을 수득하였다.



[0570]

[0571] 실시예 11 - 화합물 AP

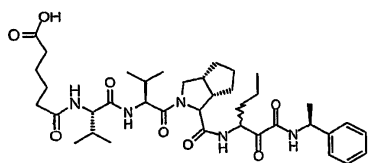
[0572] 화합물 lix (162 mg, 0.22 mmol)을 DCM 8 ml에 용해시키고, DMP 시약 (189 mg, 0.44 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 대략 실온에서 3시간 교반하였다. 용매를 증발에 의해 제거하고, 생성물을 RP-HPLC에 의해 정제하여 화합물 AP 41 mg (25 %)을 수득하였다.



[0573]

[0574] 실시예 12 - 화합물 AQ

[0575] 화합물 lx (70 mg, 0.09 mmol)을 TFA 5 ml 및 DCM 5 ml에 용해시켰다. 혼합물을 대략 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 용매를 진공 제거하고 잔류물을 50 % 아세토니트릴/물에 용해시키고 동결건조시켜 분말로서 화합물 AQ를 수득하였다.



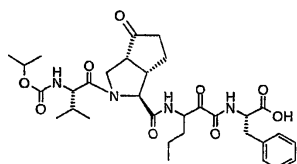
[0576]

[0577]

실시예 13 - 화합물 AR 내지 BG

[0578]

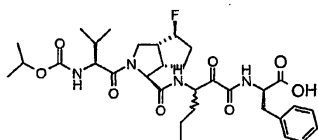
화합물 1xvi (223 mg, 0.326 mmol)을 TFA (5 ml) 및 DCM (5 ml)의 용액 중에서 4시간 동안 교반하였다. TLC (실리카겔: 2 % MeOH/EtOAc)는 느린 생성물로의 완전한 전환을 나타냈다. 용매를 감압 하에 제거하고 생성물을 동결건조시켜 화합물 AR 198 mg (97 %)을 수득하였다.



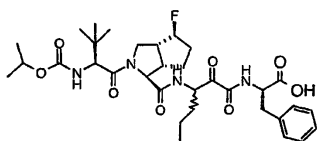
[0579]

[0580]

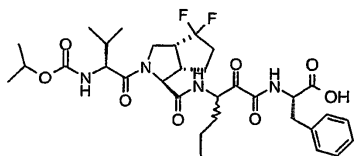
상기 방법에 따라 적절한 출발 물질을 사용하여 하기 일련의 화합물 AS 내지 BG를 제조하였다.



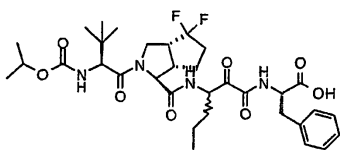
[0581]



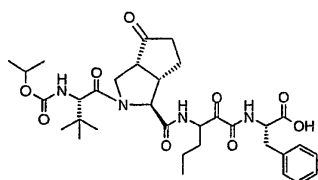
[0582]



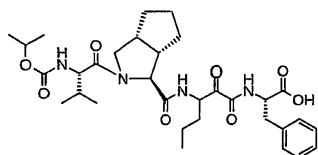
[0583]



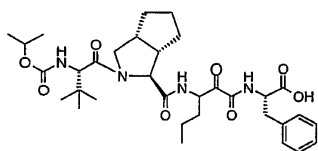
[0584]



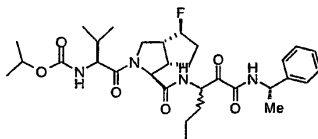
[0585]



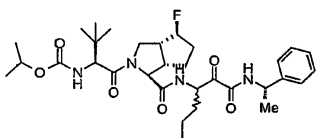
[0586]



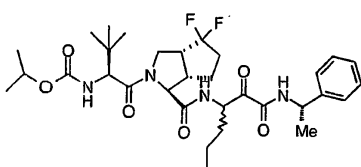
[0587]



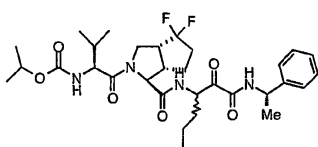
[0588]



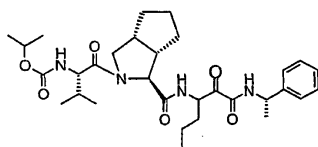
[0589]



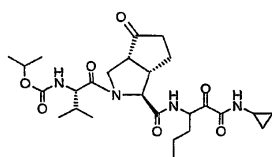
[0590]



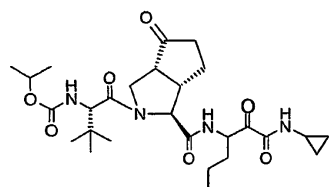
[0591]



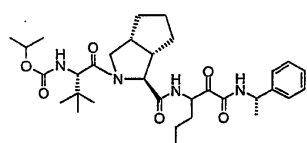
[0592]



[0593]



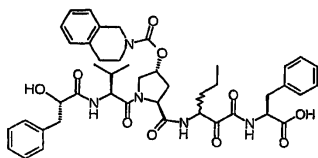
[0594]



[0595]

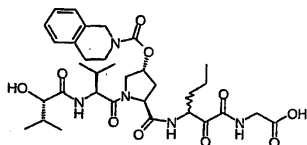
[0596] 실시예 14 - 화합물 BH 내지 BS

[0597] 화합물 lxxiii (150 mg, 0.15 mmol)을 DCM (3 ml)에 용해시켰다. 이 용액에 TFA (1.5 ml)을 첨가하였다. 생성된 용액을 밤새 교반하였다. 이때, 반응을 진공 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 역상 HPLC에 의해 정제하고 동결건조시켜 화합물 BH 60 mg (50 %)을 수득하였다.

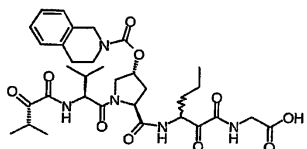


[0598]

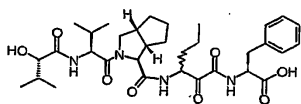
[0599] 상기 방법에 따라 적절한 출발 물질을 사용하여 하기 일련의 화합물 BI 내지 BS를 제조하였다.



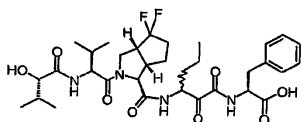
[0600]



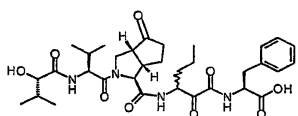
[0601]



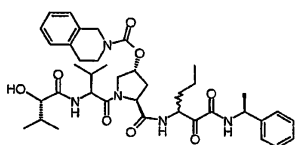
[0602]



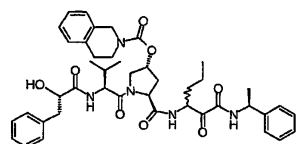
[0603]



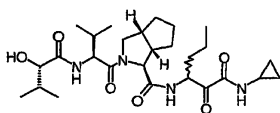
[0604]



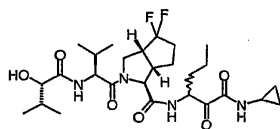
[0605]



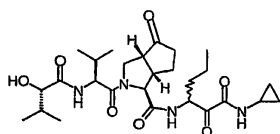
[0606]



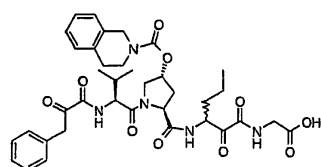
[0607]



[0608]



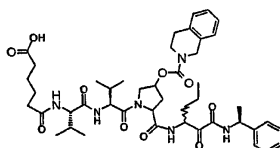
[0609]



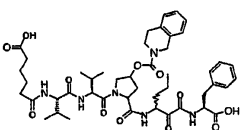
[0610]

[0611] 실시예 15 - 화합물 BT 내지 BU

[0612] 상기 실시예 12의 방법에 따라 적절한 출발 물질을 사용하여 하기 일련의 화합물 BT 내지 BU를 제조하였다.



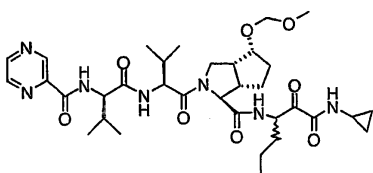
[0613]



[0614]

[0615] 실시예 16 - 화합물 BV

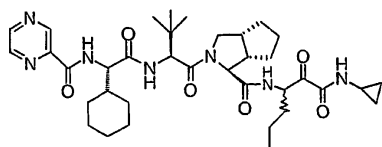
[0616] 화합물 lxxvii (143 mg, 0.21 mmol)의 디클로로메탄 용액 (4.2 ml)에 DMP 시약 (165 mg, 0.39 mmol)을 첨가하였다. 반응을 대략 실온에서 2시간 동안 교반하고, 10 % Na_2SO_3 (수용액)으로 20분간 켄칭하였다. 생성된 혼합물을 EtOAc로 추출하였다. 유기층을 염수로 세척하고, MgSO_4 상에서 건조시키고, 황색 오일로 농축하였다. 실리카겔 크로마토그래피 (5 % EtOH/EtOAc)에 의해 정제하여 화합물 BV 124 mg (79 %)을 수득하였다.



[0617]

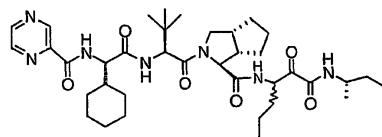
[0618] 실시예 17 - 화합물 BW 내지 CA

[0619] 화합물 lxxxix (420 mg, 0.62 mmol)의 디클로로메탄 용액 (20 ml)에 DMP 시약 (342 mg, 0.81 mmol)을 첨가하였다. 반응을 대략 실온에서 1시간 동안 교반하고, 10 % Na_2SO_3 로 20분간 켄칭하였다. 생성된 혼합물을 EtOAc로 추출하였다. 유기층을 염수로 세척하고, 건조시키고 진공 농축하였다. 생성된 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피 (80 % EtOAc/헥산)에 의해 정제하여 화합물 BW 208 mg (50 %)을 수득하였다.

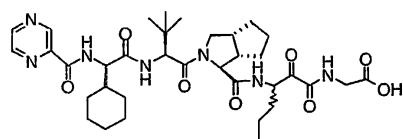


[0620]

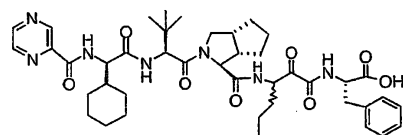
[0621] 상기 방법에 따라 적절한 출발 물질을 사용하여 하기 일련의 화합물 BX 내지 CA를 제조하였다.



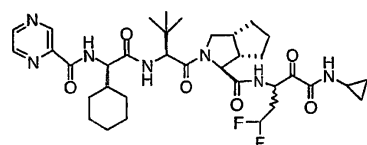
[0622]



[0623]



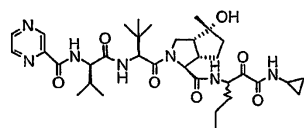
[0624]



[0625]

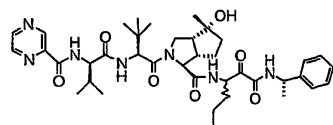
[0626] 실시예 18 - 화합물 CB 내지 CC

[0627] 화합물 lxxxvii (200 mg, 0.3 mmol)의 디클로로메탄 용액 (6.5 ml)에 DMP 시약 (227 mg, 0.54 mmol)을 첨가하였다. 반응을 대략 실온에서 2시간 동안 교반하고, 10 % Na_2SO_3 (수용액)으로 20분간 켄칭하였다. 생성된 혼합물을 EtOAc로 추출하였다. 유기층을 염수로 세척하고, MgSO_4 상에서 건조시켜 황색 오일로 농축하였다. 실리카겔 크로마토그래피 (5 % EtOH/EtOAc)에 의해 정제하여 화합물 CB 138 mg (70 %)을 수득하였다.



[0628]

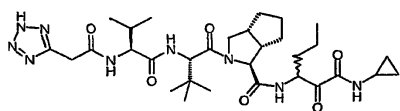
[0629] 상기 방법에 따라 적절한 출발 물질을 사용하여 하기 화합물 CC를 제조하였다.



[0630]

[0631] 실시예 19 - 화합물 CD

[0632] 화합물 lxxxviii (40 mg, 0.05 mmol)을 TFA (3 ml)에 용해시켰다. 용액을 2일밤에 걸쳐 교반하고 농축하였다. 잔류물을 역상 HPLC 상에서 정제하여 화합물 CD 25 mg (74 %)을 수득하였다.



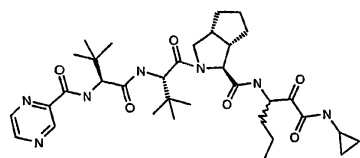
[0633]

[0634]

실시예 20 - 화합물 CE

[0635]

실시예 17의 방법에 따라 적절한 출발 물질을 사용하여 하기 화합물 CE를 제조하였다.



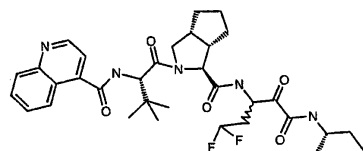
[0636]

[0637]

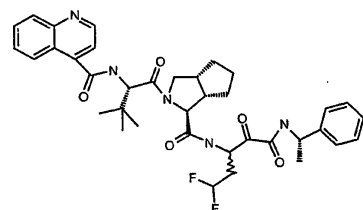
실시예 21 - 화합물 CF 내지 CG

[0638]

실시예 14의 방법에 따라 적절한 출발 물질을 사용하여 하기 일련의 화합물 CF 내지 CG를 제조하였다.



[0639]



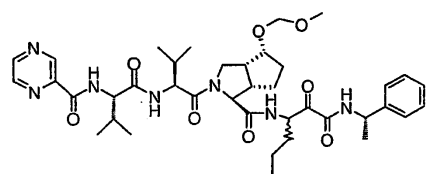
[0640]

[0641]

실시예 22 - 화합물 CH

[0642]

실시예 16의 방법에 따라 적절한 출발 물질을 사용하여 하기 화합물 CH를 제조하였다.



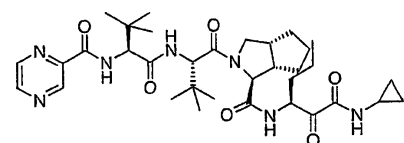
[0643]

[0644]

실시예 23 - 화합물 CI 내지 CM

[0645]

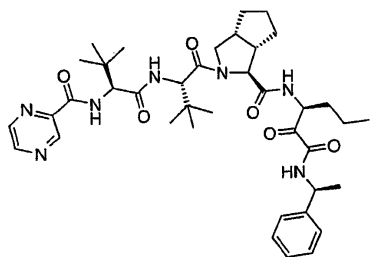
화합물 cxi (490 mg, 0.75 mmol)을 DCM (6 ml)에 용해시켰다. DMP 시약 (380 mg, 0.9 mmol)을 이 용액에 첨가하고, 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 10 % Na₂SO₃ 용액으로 킨칭한 다음, 유기상을 포화 NaHCO₃ 및 염수로 세척하였다. 유기상을 농축시킨 후, 생성된 잔류물을 70 % EtOAc/헥산에 의해 크로마토그래피 정제하여 화합물 CI (325 mg, 66.4 %)를 수득하였다.



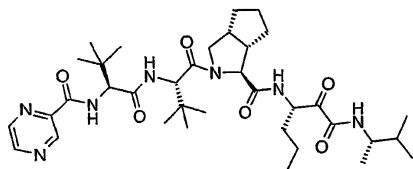
[0646]

[0647]

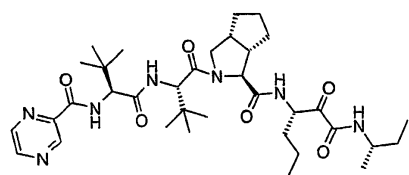
상기 화합물의 제조 방법 및 그에 대한 중간체의 제조와 관련된 방법에 따라 적절한 출발 물질을 사용하여 하기 일련의 화합물 CJ 내지 CM을 제조하였다.



[0648]

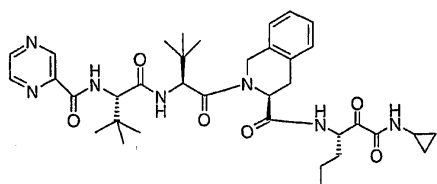


[0649]



[0650]

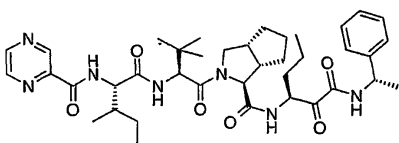
및



[0651]

[0652] 실시예 24 - 화합물 CN

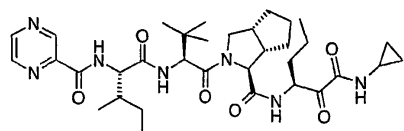
[0653] 화합물 cxviii (335 mg, 0.46 mmol)의 DCM/THF 용액 (3 ml/3 ml)에 DMP 시약 (300 mg, 0.69 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 대략 실온에서 2시간 동안 교반하고, 10 % Na₂SO₃(수용액)으로 20분간 켄칭하였다. 생성된 혼합물을 EtOAc로 추출하였다. 유기상을 염수로 세척하고, MgSO₄ 상에서 건조시키고 농축하여 황색 오일을 수득하였다. 실리카겔 크로마토그래피 (80 % EtOAc/헥산)에 의해 정제하여 화합물 CN (220 mg, 67 %)을 수득하였다.



[0654]

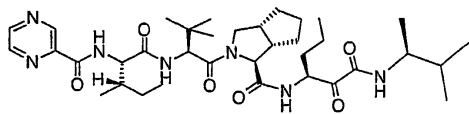
[0655] 실시예 25 - 화합물 CO 내지 CR

[0656] 화학식 cxix (164 mg, 0.25 mmol)의 DCM/THF 용액 (1.5 ml, 1.5 ml)에 DMP 시약 (159 mg, 0.38 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 교반한 다음, 10 % Na₂SO₃ (수용액)으로 20분간 켄칭하였다. 생성 혼합물을 EtOAc로 추출하였다. 유기상을 염수로 세척하고, MgSO₄ 상에서 건조시켜 황색 오일로 농축하였다. 실리카겔 크로마토그래피 (70 % EtOAc/헥산)에 의해 정제하여 화합물 CO (100 mg, 61 %)을 수득하였다.

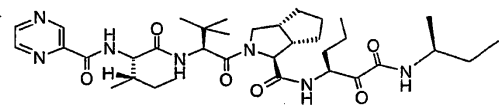


[0657]

[0658] 상기 화합물의 제조 방법 및 그에 대한 중간체 제조와 관련된 방법에 따라 적절한 출발 물질을 사용하여 하기 일련의 화합물 CP 내지 CR을 제조하였다.

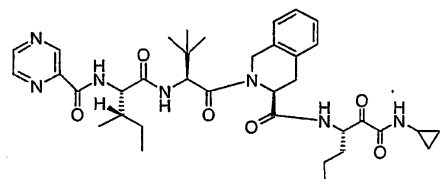


[0659]



[0660]

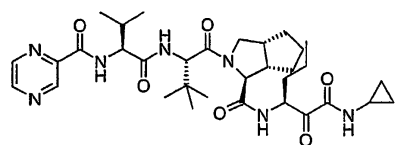
및



[0661]

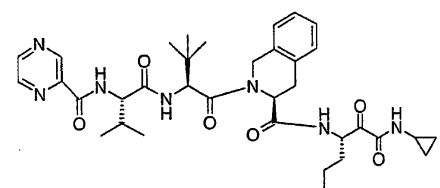
[0662] 실시예 26 - 화합물 CS 내지 CT

[0663] 화합물 cxx를 DCM (3 ml)에 용해시켰다. DMP 시약 (180 mg, 0.41 mmol)을 이 용액에 첨가한 다음, 1시간 교반하였다. 반응 혼합물을 10 % Na₂SO₃으로 킨칭한 다음, 유기상을 포화 NaHCO₃ 및 염수로 세척하였다. 유기상을 농축한 후, 잔류물을 100 % EtOAc에 의해 크로마토그래피 정제하여 화합물 CS (95 mg, 43.7 %)을 수득하였다.



[0664]

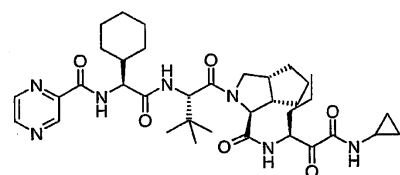
[0665] 상기 화합물의 제조 방법 및 그에 대한 중간체 제조와 관련된 방법에 따라 적절한 출발 물질을 사용하여 하기 화합물 CT를 제조하였다.



[0666]

[0667] 실시예 27 - 화합물 CU, EI, EK 내지 EM, EO 내지 EZ, 및 FA 내지 FG

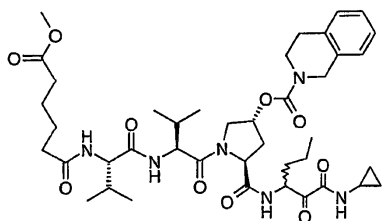
[0668] 화합물 cxxviii (356 mg, 0.52 mmol)을 DCM (5 ml)에 용해시켰다. DMP 시약 (270 mg, 0.63 mmol)을 이 용액에 첨가하고 1시간 교반하였다. 반응 혼합물을 10 % Na₂SO₃로 킨칭한 다음, 유기상을 분리시키고 포화 NaHCO₃ 및 염수로 세척하였다. 유기 용매를 농축시킨 후 잔류물을 100 % EtOAc에 의해 크로마토그래피 정제하여 화합물 CU (200 mg, 56.3 %)을 수득하였다. mp 225 내지 235 °C.



[0669]

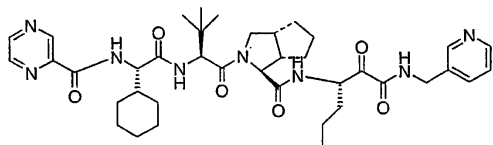
[0670] 상기 화합물의 제조 방법 및 그에 대한 중간체 제조와 관련된 방법에 따라 적절한 출발 물질을 사용하여 하기 일련의 화합물 EI, EK 내지 EM, EO 내지 EZ, 및 FA 내지 FH를 제조하였다.

[0671] <화학식 EI>



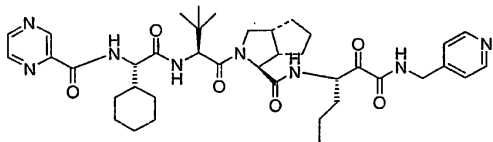
[0672]

[0673] <화학식 EK>



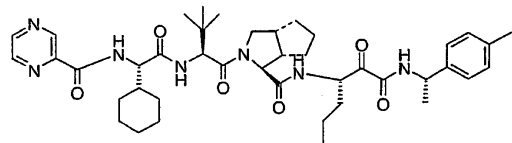
[0674]

[0675] <화학식 EL>



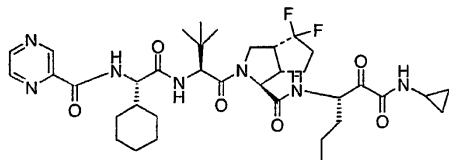
[0676]

[0677] <화학식 EM>



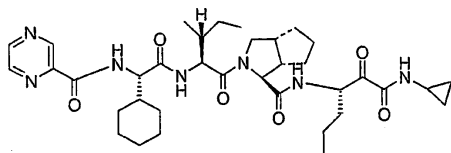
[0678]

[0679] <화학식 EO>



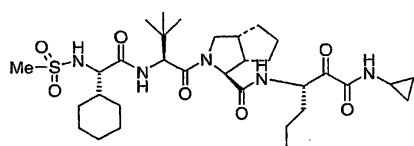
[0680]

[0681] <화학식 EP>



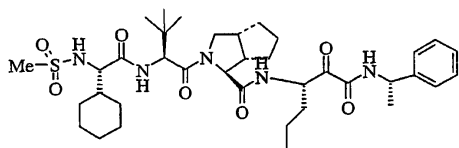
[0682]

[0683] <화학식 EQ>



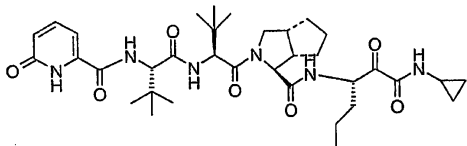
[0684]

[0685] <화학식 ER>



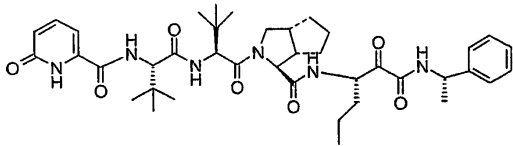
[0686]

[0687] <화학식 ES>



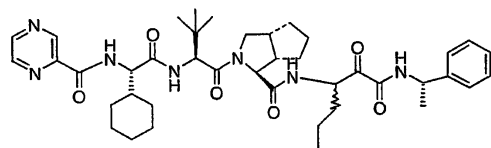
[0688]

[0689] <화학식 ET>



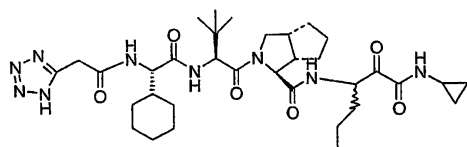
[0690]

[0691] <화학식 EU>



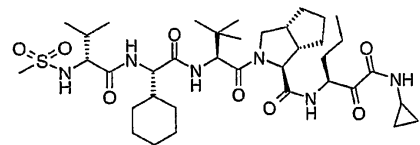
[0692]

[0693] <화학식 EV>



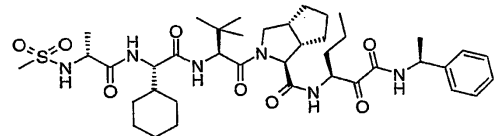
[0694]

[0695] <화학식 EW>



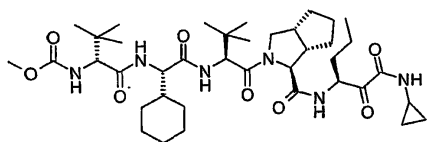
[0696]

[0697] <화학식 EX>



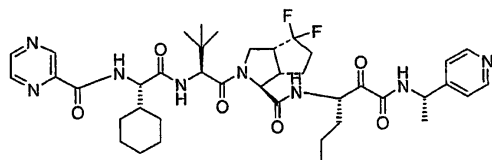
[0698]

[0699] <화학식 EY>



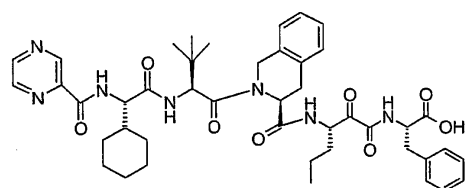
[0700]

[0701] <화학식 EZ>



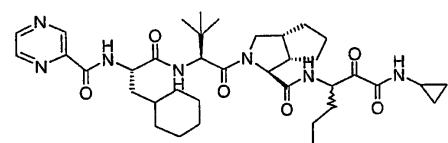
[0702]

[0703] <화학식 FA>



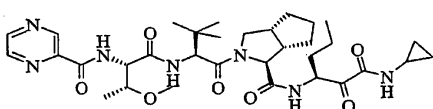
[0704]

[0705] <화학식 FB>



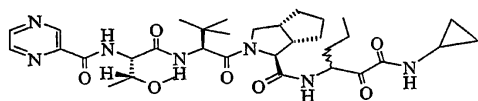
[0706]

[0707] <화학식 FC>



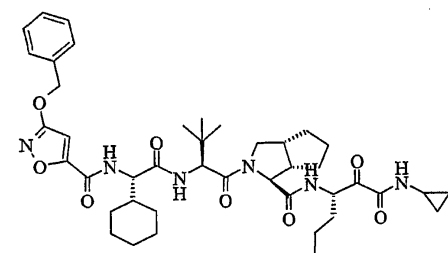
[0708]

[0709] <화학식 FD>



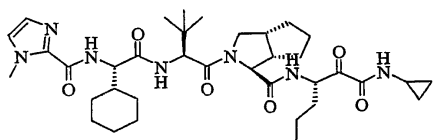
[0710]

[0711] <화학식 FE>



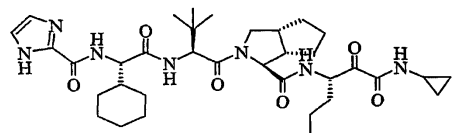
[0712]

[0713] <화학식 FF>



[0714]

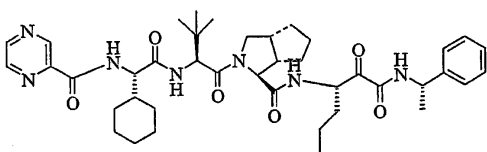
[0715] <화학식 FG>



[0716]

및

[0717] <화학식 FH>

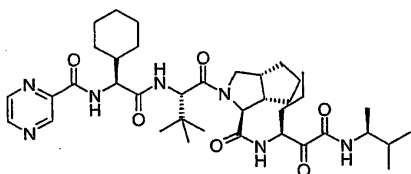


[0718]

[0719] 실시예 28 - 화합물 CV 내지 DC

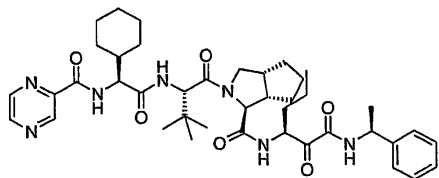
[0720] 화합물 cxxx (330 mg, 0.46 mmol)을 DCM (5 ml)에 용해시켰다. DMP 시약 (240 mg, 0.56 mmol)을 이 용액에 첨가하고, 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 10 % Na₂SO₃로 키텔시키고 유기상을 포화 NaHCO₃ 및 염수로 세척하였다.

[0721] 유기상을 농축시킨 후, 생성 잔류물을 100 % EtOAc에 의해 크로마토그래피 정제하여 화합물 cxxx (280 mg, 85.9 %)을 수득하였다.

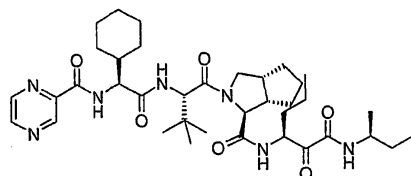


[0722]

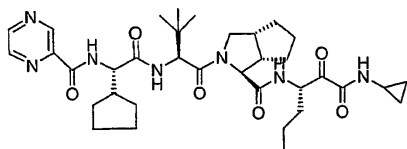
[0723] 상기 화합물의 제조 방법 및 그에 대한 중간체의 제조와 관련된 방법에 따라 적절한 출발 물질을 사용하여 하기 일련의 화합물 CW 내지 DC를 제조하였다.



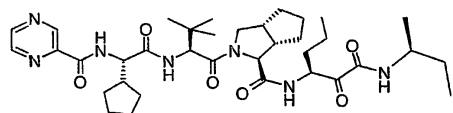
[0724]



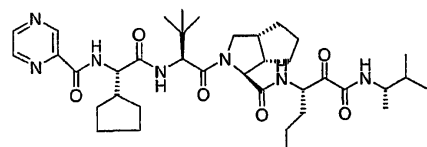
[0725]



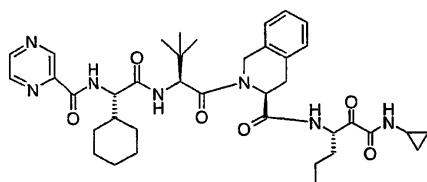
[0726]



[0727]

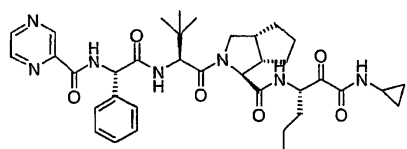


[0728]



[0729]

및



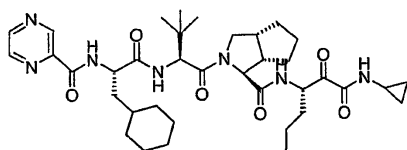
[0730]

[0731]

실시예 29 - 화합물 DD 내지 DE

[0732]

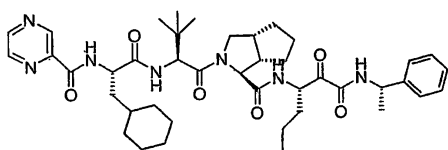
화합물 cxxxviii (400 mg, 0.57 mmol)의 DCM 용액 (6 ml)에 DMP 시약 (362 mg, 0.85 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 교반하고, 10 % Na_2SO_3 (수용액)으로 20분간 켄칭하였다. 생성 혼합물을 EtOAc로 추출하였다. 추출된 유기상을 염수로 세척하고, MgSO_4 상에서 건조시키고 농축하여 황색 오일을 수득하였다. 실리카겔 (70 % EtOAc/헥산)에 의해 정제하여 화합물 DD (201 mg, 51 %)를 수득하였다.



[0733]

[0734]

상기 화합물의 제조 방법 및 그에 대한 중간체의 제조와 관련된 방법에 따라 적절한 출발 물질을 사용하여 하기 화합물 DE를 제조하였다.



[0735]

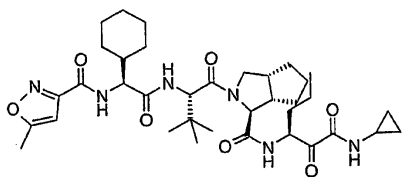
[0736]

실시예 30 - 화합물 DF

[0737]

화합물 cxxxxiii (165 mg, 0.24 mmol)을 DCM (5 ml)에 용해시켰다. DMP 시약 (125 mg, 0.29 mmol)을 이 용액에 첨가하고 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 10 % Na_2SO_3 로 켄칭하고, 유기상을 포화 NaHCO_3 및 염수로

세척하였다. 유기상을 농축한 후, 생성 잔류물을 70 % EtOAc/헥산에 의해 크로마토그래피 정제하여 화합물 DF (108 mg, 65.6 %)을 수득하였다.



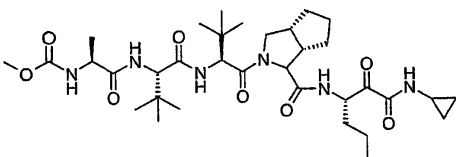
[0738]

[0739]

실시예 31 - 화합물 DG 내지 DJ

[0740]

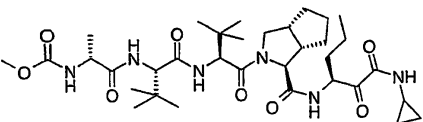
얼음조에서 냉각된 DCM (15 ml) 중의 화합물 cil (0.350 g, 0.516 mmol)의 용액에 DMP 시약 (0.281 g, 0.671 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반한 다음, 10 % Na₂SO₃ 용액으로 켄칭하고, 20분간 교반하였다. 생성 혼합물을 DCM (3 × 20 ml)으로 추출하고, 유기 추출액을 건조 (MgSO₄)시켰다. 여과하여 MgSO₄를 제거하고, 여액을 농축시켜 칼럼 크로마토그래피 (70 % 에틸 아세테이트/헥산)에 의해 정제하여 최종 화합물 DG (0.265 g, 76 %)을 백색 고체로서 수득하였다.



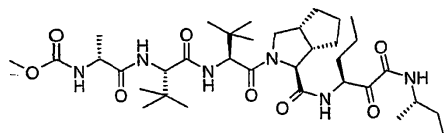
[0741]

[0742]

상기 화합물의 제조 방법 및 그에 대한 중간체의 제조와 관련된 방법에 따라 적절한 출발 물질을 사용하여 하기 일련의 화합물 DH 내지 DJ를 제조하였다.

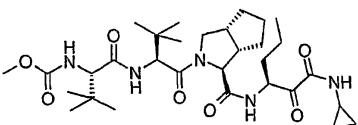


[0743]



[0744]

및



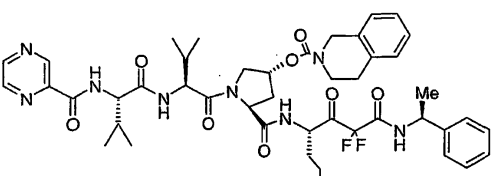
[0745]

[0746]

실시예 32 - 화합물 DK 내지 DN

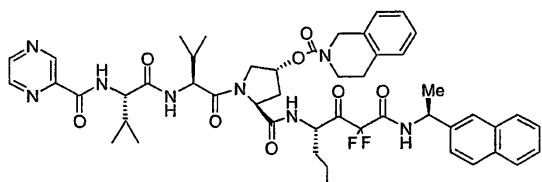
[0747]

화합물 clx (108 mg, 0.123 mmol)의 DCM 용액을 DMP 시약 (78 mg, 0.185 mmol)로 처리하였다. 실온에서 1시간 교반후, 반응 혼합물을 EtOAc (50 ml)로 희석한 다음, 10 % Na₂SO₃로 켄칭하였다. 30분간 교반후, 유기상을 분리하여 NaHCO₃ 및 염수로 세척하였다. 유기상을 건조시키고 진공 농축하여 수득한 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피 (80 % EtOAc/헥산)에 의해 정제하여 화합물 DK (84 mg, 78 %)를 수득하였다.

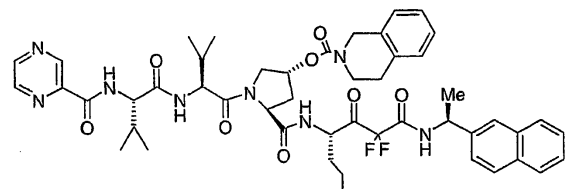


[0748]

[0749] 상기 화합물의 제조 방법 및 그에 대한 중간체의 제조와 관련된 방법에 따라 적절한 출발 물질을 사용하여 하기 일련의 화합물 DL 내지 DN을 제조하였다.

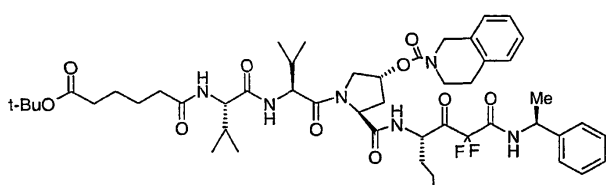


[0750]



[0751]

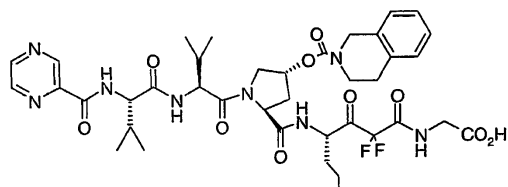
및



[0752]

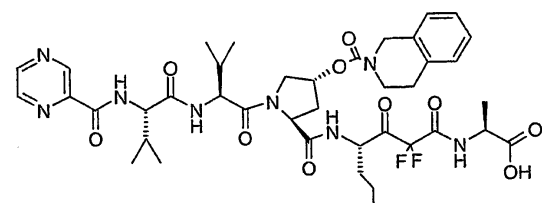
[0753] 실시예 33 - 화합물 DO 내지 DS

[0754] 화합물 clxii (174 mg, 0.189 mmol)의 EtOH 용액 (10 ml)을 Pd/C (30 % 수용액, 60 mg, 10 % 팔라듐 함량)을 사용하여 2.5시간 동안 수소화하였다. 이어서, 촉매를 여과 제거하였다. 생성 여액을 진공 농축시켜 잔류물을 수득하고, 반-예비 역상 크로마토그래피에 의해 정제하고 동결 건조시켜 화합물 DO를 70 % 수율로 수득하였다.

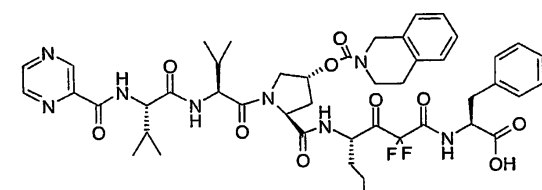


[0755]

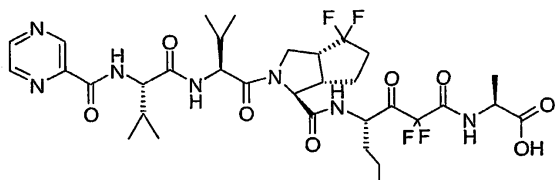
[0756] 상기 화합물의 제조 방법 및 그에 대한 중간체의 제조와 관련된 방법에 따라 적절한 출발 물질을 사용하여 하기 일련의 화합물 DP 내지 DS를 제조하였다.



[0757]

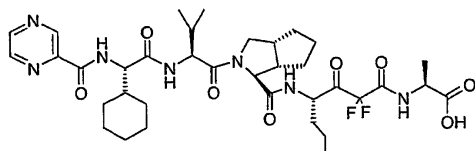


[0758]



[0759]

및



[0760]

[0761]

실시예 34 - 화합물 CW

[0762]

화합물 clxxiii (175 mg, 0.24 mmol)을 DCM (3 ml)에 용해시켰다. DMP 시약 (120 mg, 0.28 mmol)을 이 용액에 첨가하여 1시간 교반하였다. 반응을 10 % Na_2SO_3 로 켄칭하고 포화 NaHCO_3 및 염수로 세척하였다. 70 % EtOAc에 의해 정제하여 화합물 CW (134 mg, 75 %)를 수득하였다.

[0763]

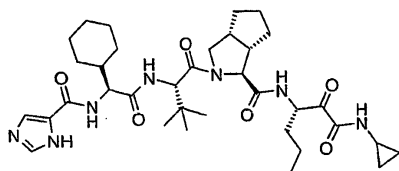
실시예 35 - 화합물 CY 및 DT 내지 DX

[0764]

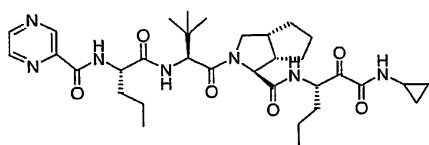
화합물 clxxiii (290 mg, 0.43 mmol)의 DCM 용액 (15 ml)에 DMP 시약 (239 mg, 0.56 mmol)을 첨가하였다. 반응을 실온에서 1시간 교반하고, 10 % Na_2SO_3 로 20분간 켄칭하였다. 이어서 생성 혼합물을 EtOAc로 추출하였다. 유기층을 염수로 세척하고, 건조시키고 진공 농축하였다. 생성 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피 (8 내지 100 % EtOAc/헥산)에 의해 정제하여 화합물 CY (151 mg, 52 %)을 수득하였다.

[0765]

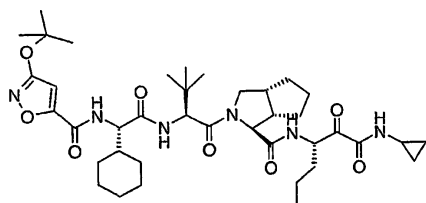
상기 화합물의 제조 방법 및 그에 대한 중간체의 제조와 관련된 방법에 따라 적절한 출발 물질을 사용하여 하기 일련의 화합물 DT 내지 DX를 제조하였다.



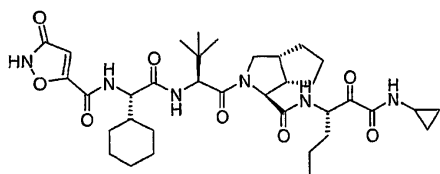
[0766]



[0767]

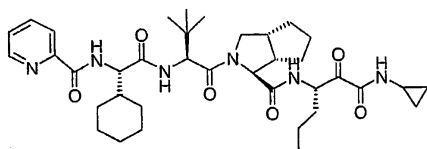


[0768]



[0769]

및



[0770]

[0771]

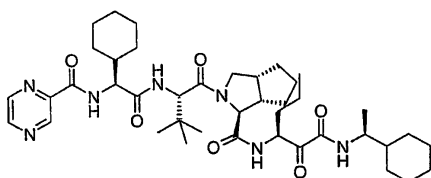
실시예 36 - 화합물 DY

[0772]

화합물 lxxxv (1.17 mmol)을 DCM (5 ml)에 용해시켰다. DMP 시약 (545 mg, 1.3 mmol)을 이 용액에 첨가하고 1 시간 교반하였다. 반응을 P-Na₂SO₃(1.5 mmol/g 수지)로 켄칭하고 1시간 동안 교반하였다. P-TBD 스캐빈저 수지* (2.5 mmol/g 수지)를 첨가하고 45분간 교반하였다. 생성 혼합물을 여과하고 50 % EtOAc에 의해 정제하여 화합물 DY (440 mg, 2단계에 걸쳐 50.2 %)를 수득하였다.

[0773]

*P-TBD 스캐빈저 수지에 대해서는 문헌 [J. Parlow et al., *Tetrahedron*, **55**, 6785-6796 (1999)]을 참조한다.



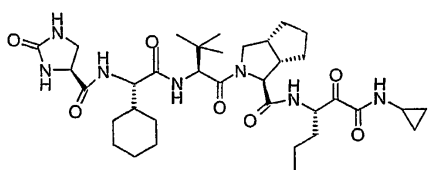
[0774]

[0775]

실시예 37 - 화합물 DZ

[0776]

출발 물질 화합물 clxxxxi (94 mg, 0.14 mmol)을 THF (10 ml) 및 DCM (20 ml)의 혼합물에 용해시켰다. 이어서, DMP 시약 (118 mg, 0.28 mmol)을 첨가하였다. 실온에서 2시간 교반한 후, 반응을 Dri Solv THF (120 ml)를 포함하는 분별깔대기에 부었다. 반응을 10 % Na₂SO₃ (50 ml), 이어서 염수 (75 ml)로 세척하였다. 이어서, 유기층을 분리하고, MgSO₄ 상에서 건조시키고 용매를 감압 제거하였다. 크로마토그래피 (실리카겔: 50 % Dri Solv THF/EtOAc, 이어서 4 % MeOH/THF로 용출) 후, 분획을 MS에 의해 분석하였다. 적절한 분획을 동결건조시켜 화합물 DZ (38.8 mg, 41 %)를 수득하였다.



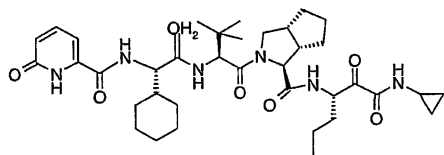
[0777]

[0778]

실시예 38 - 화합물 EA 내지 EB

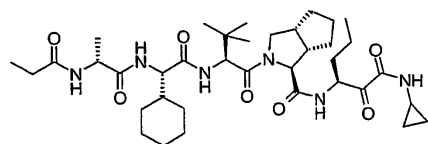
[0779]

출발 화합물 clxxxxv (185 mg, 0.26 mmol)을 THF (20 ml)에 용해시켰다. 이어서, DMP 시약 (219 mg, 0.52 mmol)을 첨가하였다. 실온에서 1시간 교반후, TLC는 케톤으로의 완전한 전환을 나타냈다 (5 % MeOH/THF). 반응을 Dri Solv THF (120 ml)를 포함하는 분별깔대기에 부었다. 반응을 10 % Na₂SO₃ (50 ml), 이어서 염수 (75 ml)로 세척하였다. 유기층을 분리하고, MgSO₄ 상에서 건조시키고 용매를 감압 제거하여 수득한 잔류물을 크로마토그래피 (실리카겔: 50 % Dri Solv THF/EtOAc, 이어서 4 % MeOH/THF로 용출)에 의해 정제한 후, 분획을 UV 및 MS에 의해 분석하였다. 적절한 분획을 동결건조시켜 화합물 EA (159 mg, 88 %)를 수득하였다



[0780]

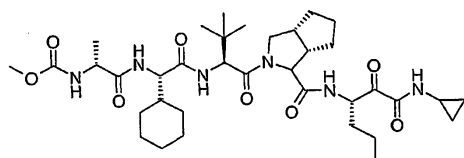
[0781] 상기 화합물의 제조 방법 및 그에 대한 중간체의 제조와 관련된 방법에 따라 적절한 출발 물질을 사용하여 하기 화합물 EB를 제조하였다.



[0782]

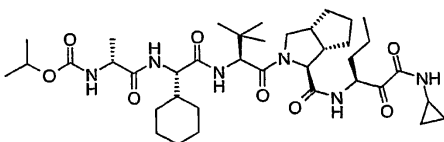
[0783] 실시예 39 - 화합물 EC 내지 ED

[0784] 얼음조에서 냉각시킨 DCM (15 ml) 중의 화합물 clxxxxviii (0.341 g, 0.503 mmol)의 용액에 DMP 시약 (0.277 g, 0.654 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 2시간 교반하고, 10 % Na₂SO₃ 용액으로 켄칭하고 20분간 교반하였다. 생성 혼합물을 DCM (3 × 20 ml)으로 추출하고, 유기 추출액을 건조 (MgSO₄)시켰다. 여과하여 MgSO₄를 제거한 후, 여액을 농축하고 칼럼 크로마토그래피 (70 % EtOAc/헥산)에 의해 정제하여 백색 고체로서 화합물 EC (0.183 g, 54 %)를 수득하였다.



[0785]

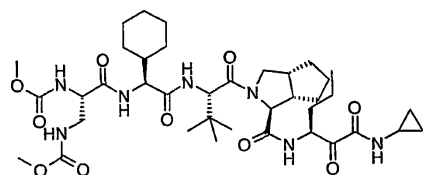
[0786] 상기 화합물의 제조 방법 및 그에 대한 중간체의 제조와 관련된 방법에 따라 적절한 출발 물질을 사용하여 하기 화합물 ED를 제조하였다.



[0787]

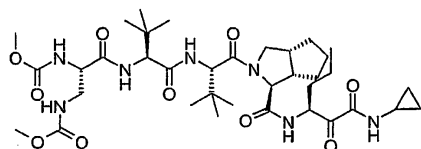
[0788] 실시예 40 - 화합물 EE 내지 EG

[0789] 화합물 ccii (290 mg, 0.37 mmol)을 DCM (5 ml)에 용해시켰다. DMP 시약 (175 mg, 0.41 mmol)을 이 용액에 첨가하고 1시간 동안 교반하였다. 반응을 P-Na₂SO₃ (1.5 mmol/g 수지)로 켄칭하고 1시간 동안 교반하였다. 켄칭한 DMP 시약을 P-TBD (2.5 mmol/g 수지)로 소거하고 1시간 동안 교반하였다. 생성 혼합물을 여과하고 DCM으로 세정한 후, 농축하여 잔류물을 수득하였다. 생성된 잔류물을 50 % EtOAc/헥산으로 정제하여 화합물 EE (440 mg, 28 %)를 수득하였다.

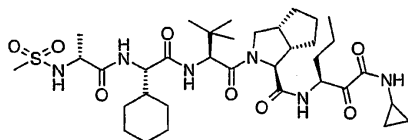


[0790]

[0791] 상기 화합물의 제조 방법 및 그에 대한 중간체의 제조와 관련된 방법에 따라 적절한 출발 물질을 사용하여 하기 일련의 화합물 EF 내지 EG를 제조하였다.



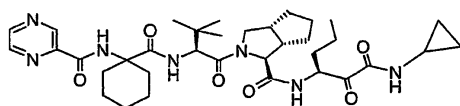
[0792] 및



[0793]

[0794] 실시예 41 - 화합물 EH

[0795] 화합물 cciii (140 mg, 0.2 mmol)의 DCM 용액 (3 ml)에 DMP 시약 (133 mg, 0.3 mmol)을 첨가하였다. 반응을 실온에서 2시간 교반하고, 10 % Na₂SO₃ (수용액)로 20분간 켄칭하였다. 생성된 혼합물을 EtOAc로 추출하였다. 유기층을 염수로 세척하고 MgSO₄ 상에서 건조시키고 황색 오일로 농축하여 실리카겔 (70 % EtOAc/헥산)에 의해 정제한 후, 동결건조시켜 화합물 EH (50 mg, 38 %)를 수득하였다.

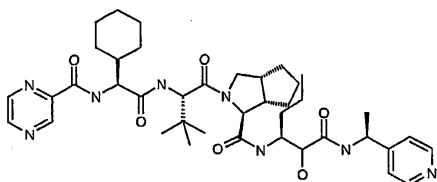


[0796]

[0797] 실시예 42 - 화합물 EJ

[0798] 화합물 ixixiii (520 mg, 1 mmol)을 DCM (5 ml)에 용해시켰다. PyBOP (624 mg, 1.2 mmol)을 상기 용액에 첨가하고 5분간 교반하였다. THF (5 ml) 중의 화합물 cdviii (300 mg, 1.2 mmol)을 이 용액에 적가한 다음, DIPEA (0.22 ml, 1.2 mmol)을 적가하였다. 반응을 실온에서 질소 하 밤새 교반하였다. 이때, 반응을 EtOAc로 희석하고, 포화 NaHCO₃ 및 염수로 세척하였다. 유기상을 MgSO₄로 건조시키고 여과하고 농축하여 조 커플링된 중간체 cdix를 수득하였다.

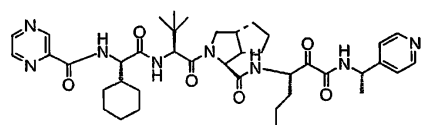
[0799] <화학식 cdix>



[0800]

[0801] 이 중간체 cdix (약 1 mmol)을 DCM (10 ml)에 용해시켰다. 데스-마틴 페리오디난 (Dess-Martin Periodinane) (466 mg, 1.1 mmol)을 이 용액에 첨가하였다. 실온에서 1시간 교반 후, 반응을 중합체 결합된 Na₂SO₃ (740 mg, 1.5 mmol DMP/g 수지)로 켄칭하고 45분간 교반하였다. 이어서, 반응 혼합물을 중합체 결합 TBD 수지 (440 mg, 2.5 mmol DMP/g 수지)로 소거하였다. 생성 혼합물을 45분간 교반한 다음, 여과하였다. 5 % EtOH/EtOAc로 정제하여 화합물 EJ (245 mg, 2단계에 걸쳐 32 %)를 수득하였다. 후처리 공정에 대해 문헌 [Tetrahedron 55 (1999) 6785-6796]을 참조할 수 있다.

[0802] <화학식 EJ>

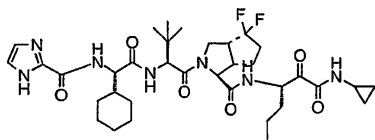


[0803]

[0804] 실시예 43 - 화합물 EN

[0805] 중간체 화합물 cdvii (415 mg, 0.59 mmol)을 DCM (10 ml) 및 THF (10 ml)에 용해시켰다. t-BuOH (300 μ l), 이어서 테스-마틴 페리오디난 (750 mg, 1.77 mmol)을 첨가하였다. 반응을 50분간 교반한 다음, P-Na₂SO₃ (1.5 mmol DMP/g 수지)로 켄칭하였다. 실온에서 20분간 교반 후, 반응 혼합물을 P-TBD (2.5 mmol DMP/g 수지)로 소거하였다. 1시간 동안 교반 후, 반응 혼합물을 여과하고 농축하였다. 생성물을 실리카겔 크로마토그래피 (50 % 내지 70 % EtOAc/헥산)에 의해 정제하여 화합물 EN (220 mg, 53 %)을 수득하였다.

[0806] <화학식 EN>



[0807]

[0808] 하기 화합물들에 대한 질량스펙트럼값 [M]을 하기 표 1에 나타낸 바와 같이 수득하였다.

1a

<u>LY#</u>	<u>실시예</u>	<u>결량 실측치</u>
A		733.3
B		747.2
C		657.2
D		769.4
E		733.4
F		625.4
G		639.3
H		661.4
I		643.4
J		707.3
K		641.3
L		689.3
M		639.3
N		639.4
O		731.4
P		687.4
Q		653.4
R		701.4
S		639.3
T		747.1
U		655.4
V		653.4
W		703.4
X		661.3
Y		647.3
Z		663.3
AA		667.4
AB		711.4
AC		725.4
AD		647.3
AE		779.4
AF		689.3

[0809]

표 1b

AG	671.4
AK	806.4
AH	687.5
AI	735.4
AJ	736.5
AM	870.4
AN	813.3
AP	724.4
AQ	653.4
AR	628.2
AW	642.2
AX	614.2
AY	628.3
BD	570.3
BE	520.2
BF	534.3
BG	584.3
BU	890.3
BV	685.4
BW	679.3
BX	695.3
BY	697.3
BZ	787.4
CA	701.3
CB	669.4
CC	733.5
CD	643.3
CE	653.5
CH	749.4
CI	653.3
CJ	717.5
CK	683.4
CL	669.3
CM	675.2
CN	717.2
CO	653.3
CP	683.3
CQ	669.3
CR	675.2
CT	661.8
CS	639.3
CU	679.2
CV	709.3
CW	743.3
CX	695.3
CY	665.2
CZ	681.3
DA	695.3
DB	701.2
DC	673.3
DD	693.3
DE	757.4

[0810]

표 1c

DF	682.3
DG	676.3
DH	676.2
DI	692.5
DJ	605.2
DK	874.4
DL	924.5
DM	924.2
DN	952.7
DO	830
DP	842.5
DT	667.4
DU	639.2
DV	740.3
DW	684.2
DX	678.5
DY	749.3
DZ	685.3
EA	649.3
EB	700.3
EC	702.3
ED	730.3
EE	775.3
EF	749.3
EG	722.3
EH	665.2
EI	796.4
EJ	744.3
EK	730.5
EL	730.5
EM	757.3
EN	703.5
EO	715.5
EP	679.2
EQ	651.3
ER	715.3
ES	668.5
ET	732.5
EU	743.3
EV	683.3
EW	750.4
EX	786.4
EY	744.5
EZ	780.4
FB	693.4
FC	655.3
FD	655.3
FE	774.4
FF	681.5
FG	667.5

[0811]

[0812] 하기 화합물들에 대한 고해상 질량 스펙트럼값 (HRMS)을 표 2에 나타낸 바와 같이 수득하였다.

표 2

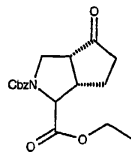
실시예	분자식 (M+1)	MS 이론치 (M+1)	MS 실측치 (M+1)
L	C37H52N7O6	690.3979	690.3986
M	C33H50N7O6	640.3822	640.3822
Z	C32H48F2N7O6	664.3634	664.3627
AB	C36H48F2N7O6	712.3634	712.3649
CE	C34H52N7O6	654.3979	654.3967
EN	C35H52N7O6F2	704.3947	704.3945
EK	C37H63N6O8S	751.4428	750.4350 (M)
EC	C36H59N6O8	703.4395	703.4382
CA	C35H50N7O6F2	702.3790	702.3801
EZ	C40H55N8O6F2	781.4213	781.4196
EU	C36H52N7O6F2	716.3947	716.3929
CY	C35H52N7O6	666.3979	666.3966
BX	C37H58N7O6	696.4448	696.4432
S	C33H50N7O6	640.3823	640.3831
BW	C36H54N7O6	680.4136	680.4126
CU	C36H54N7O6	680.4136	680.4128
EJ	C40H57N8O6	745.4401	745.4417
EM	C35H54N7O6	668.4136	668.4139
없음	C41H58N7O6	744.4448	744.4691

[0813]

[0814] 중간체 실시예 1 - 화합물 ii

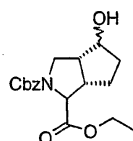
[0815] -10 °C에서 화합물 i (8.1 g, 24.4 mmol)의 에탄올 용액 (40 ml)에 NaBH₄ (924 mg, 24.4 mmol)을 첨가하였다. 반응을 실온에서 30분간 교반하고, AcOH (3 ml)로 킨칭하였다. 반응 혼합물을 EtOAc (250 ml)로 희석하고, NaHCO₃ 및 염수로 세척하였다. 유기층을 건조시키고 진공 농축하여 수득한 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피 (50 % EtOAc/헥산)에 의해 정제하여 화합물 ii 7.85 g (97 %)를 수득하였다.

[0816] <화학식 i>



[0817]

[0818] <화학식 ii>

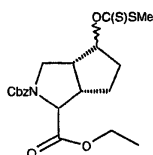


[0819]

[0820] 중간체 실시예 2 - 화합물 iii

[0821] 0 °C에서 화합물 ii (4.48 g, 13.4 mmol)의 THF 용액 (70 ml)에 NaH (699 mg, 60 %, 17.42 mmol)을 첨가하였다. 반응을 실온에서 40분간 교반하고, 순수한 MeI (1.25 ml, 20.1 mmol)을 첨가하였다. 반응을 대략 실온에서 밤새 교반하였다. 이때, 0 °C에서 반응을 포화 NH₄Cl 용액으로 조심스럽게 킨칭하였다. 반응 혼합물을 Et₂O 및 EtOAc로 추출하였다. 유기층을 물, 염수로 세척하고, Na₂SO₄로 건조시켰다. 이렇게 수득한 유기층을 진공 농축하여 잔테이트 화합물 iii을 수득하였다.

[0822] <화학식 iii>

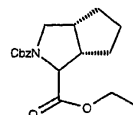


[0823]

[0824] 중간체 실시예 3 - 화합물 iv

[0825] 잔테이트 화합물 iii (약 13.4 mmol)을 톨루엔 (100 ml)에 용해시켰다. 이 용액에 AIBN (216 mg, 1.34 mmol)을 첨가하였다. 생성된 용액을 건조 질소로 탈기시킨 다음, n-Bu₃SnH (5.4 ml, 20.1 mmol)로 처리하였다. 반응 혼합물을 90 °C에서 3시간 가열하였다. 이때, 반응을 실온으로 냉각시키고 진공 농축하였다. 생성된 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피 (15 내지 20 % EtOAc/헥산)으로 정제하여 화합물 iv 2.8 g (화합물 ii로부터 전체 66 %)을 수득하였다.

[0826] <화학식 iv>

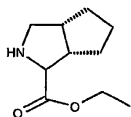


[0827]

[0828] 중간체 실시예 4 - 화합물 v

[0829] 화합물 iv (1 g, 3.15 mmol)의 에탄올 용액 (21 ml)에 Pd(OH)₂/C (655 mg, 20 %, 0.95 mmol)을 질소 기류 하에 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물을 표준 수소화 (1.5 atm)하였다. 5시간 후, 수소 공급원을 제거하고, 반응을 여과하였다. 여액을 진공 농축하여 유리 아민 화합물 v를 수득하였다.

[0830] <화학식 v>

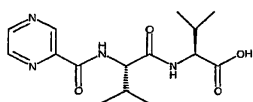


[0831]

[0832] 중간체 실시예 5 - 화합물 vi

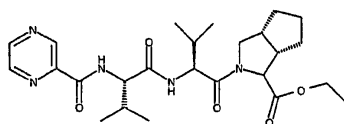
[0833] 대략 실온에서 화합물 vii (629 mg, 1.95 mmol)의 DCM 용액 (10 ml)에 HOAt (265 mg, 1.95 mmol), 이어서 DCM (1.95 ml, 1.95 mmol) 중의 1M DCC 용액을 첨가하였다. 30분간 교반후, 화합물 v (1.5 mmol)의 DCM 용액 (3 ml)을 상기 HOAt-활성화 산에 첨가하였다. 반응을 대략 실온에서 밤새 교반하였다. 이때, 반응을 셀라이트를 통해 여과시키고 여액을 EtOAc (75 ml)로 희석하고, 물 및 염수로 세척하였다. 유기층을 건조시키고 진공 농축하였다. 생성된 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피 (70 내지 80 % EtOAc/헥산)에 의해 정제하여 화합물 vi 620 mg (85 %)를 수득하였다.

[0834] <화학식 vii>



[0835]

[0836] <화학식 vi>

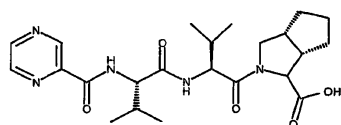


[0837]

[0838] 중간체 실시예 6 - 화합물 viii

[0839] 화합물 vi (615 mg, 1.26 mmol)의 에탄올 용액 (10 ml)에 2N NaOH 수용액 (1.26 ml, 2.52 mmol)을 첨가하였다. 반응을 대략 실온에서 밤새 교반한 다음, 다우엑스 산성 수지를 사용하여 pH 3으로 산성화하였다. 고체를 여과 제거하고 여액을 진공 농축하여 수득한 잔류물을 1:1 CH₃CN/H₂O에 재용해시켰다. 이 용액을 동결건조시켜 화합물 viii 495 mg (85 %)을 수득하였다.

[0840] <화학식 viii>

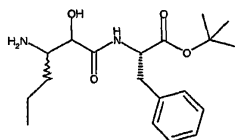


[0841]

[0842] 중간체 실시예 7 - 화합물 ix

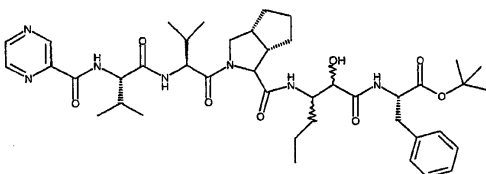
[0843] 화합물 viii (230 mg, 0.5 mmol)의 DCM 용액 (10 ml)에 PyBOP (417 mg, 0.8 mmol)을 첨가하였다. 반응을 대략 실온에서 30분간 교반하였다. 이어서, 이 용액에 화합물 x (263 mg, 0.75 mmol)의 THF 용액 (5.25 ml), 이어서 DIPEA (0.174 ml, 1 mmol)을 첨가하였다. 반응을 대략 실온에서 밤새 교반한 다음, 물 (30 ml)로 30분간 켄칭하였다. 반응 혼합물을 EtOAc (100 ml)로 추출하였다. 유기층을 염수로 세척하고 건조시키고 진공 농축하여 수득한 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피 (5 % EtOH/EtOAc)에 의해 정제하여 화합물 ix 대략 400 mg (100 %)를 수득하였다.

[0844] <화학식 x>



[0845]

[0846] <화학식 ix>

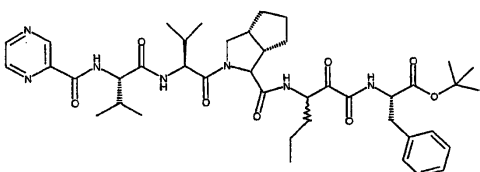


[0847]

[0848] 중간체 실시예 8 - 화합물 xi

[0849] 화합물 ix (396 mg, 0.5 mmol)의 DCM 용액 (10 ml)에 DMP 시약 (278 mg, 0.65 mmol)을 첨가하였다. 반응을 대략 실온에서 1시간 교반한 다음, 10 % Na₂SO₃로 30분간 켄칭하였다. 반응 혼합물을 EtOAc (75 ml)로 추출하고 염수로 세척하였다. 유기층을 건조시키고 진공 농축하였다. 생성된 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피 (70 % EtOAc/헥산)에 의해 정제하여 화합물 xi 320 mg (81 %)을 수득하였다.

[0850] <화학식 xi>

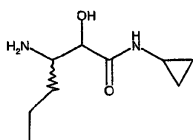


[0851]

[0852] 중간체 실시예 9 - 화합물 xii

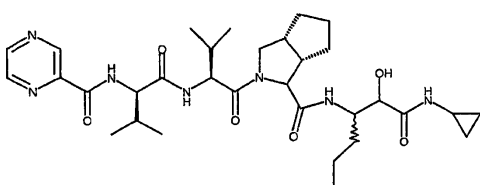
[0853] 화합물 viii (230 mg, 0.5 mmol)의 DCM 용액 (10 ml)에 PyBOP (417 mg, 0.8 mmol)을 첨가하였다. 반응을 대략 실온에서 30분간 교반하였다. 이어서, 이 용액에 화합물 xiii (140 mg, 0.75 mmol)의 THF 용액 (3.5 ml)을 첨가하고, 이어서 DIPEA (0.174 ml, 1 mmol)을 첨가하였다. 반응을 대략 실온에서 밤새 교반한 다음, 물 (30 ml)로 30분간 켄칭하였다. 반응 혼합물을 EtOAc (75 ml)로 추출하였다. 유기층을 염수로 세척하고 건조시키고 진공 농축하여 수득한 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피 (5 % EtOH/EtOAc)에 의해 정제하여 화합물 xii를 수득하였다.

[0854] <화학식 xiii>



[0855]

[0856] <화학식 xii>

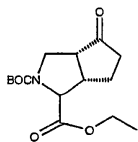


[0857]

[0858] 중간체 실시예 10 - 화합물 i'

[0859] 화합물 i (5 g, 15.1 mmol)의 메탄올 용액 (30 ml)에 (BOC)₂O (3.3 g, 15.1 mmol) 및 H₂/Pd(OH)₂/C (1.6 g, 10 % Pd 함량)을 첨가하였다. 반응을 대략 실온에서 2시간 교반한 다음, 셀라이트를 통해 2회 여과하였다. 셀라이트층을 DCM으로 세정하였다. 합해진 여액을 진공 농축하여 수득한 오일상 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피 (40 % EtOAc/헥산)에 의해 정제하여 화합물 i' 3.8 g (85 %)를 수득하였다.

[0860] <화학식 i'>

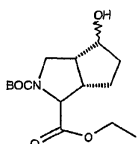


[0861]

[0862] 중간체 실시예 11 - 화합물 ii'

[0863] 0 °C에서 화합물 i' (3.7 g, 12.5 mmol)의 메탄올 용액 (111 ml)에 NaBH₄ (0.805 g, 21 mmol)을 첨가하였다. 0 °C에서 2.5시간 교반한 후, 반응 용매를 진공에서 서서히 증발시켜 수득한 잔류물을 EtOAc로 희석하였다. 이어서, 이 용액을 물로 2회 세척하였다. 수성층을 EtOAc로 추출하였다. 합해진 유기층을 MgSO₄로 건조시키고 여과하고 진공 농축하여 수득한 잔류물을 크로마토그래피로 정제하여 화합물 ii' 3.76 g (99 %)를 수득하였다.

[0864] <화학식 ii'>

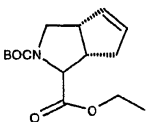


[0865]

[0866] 중간체 실시예 12 - 화합물 xiv

[0867] 0 °C에서 화합물 ii' (3.76 g, 12.3 mmol)의 DCM 용액 (180 ml)에 DMAP (5 g, 40.1 mmol), 이어서 Tf₂O (4 ml, 23.7 mmol)을 첨가하였다. 반응을 0 °C에서 1시간 동안 교반하고, 실온에서 1.5시간 더 교반하였다. 이어서, 반응 혼합물을 5 % NaHCO₃로 2회 세척하고, MgSO₄로 건조시켰다. 이렇게 수득한 유기층을 진공 농축하여 조 트립레이트를 수득하였다. 생성된 트립레이트 (2.7 g, 6 mmol)를 DCM (120 ml)에 용해시켰다. 이 용액에 DMAP (2.5 g, 20.5 mmol)을 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물을 밤새 환류 가열하였다. 이때, 반응을 실온으로 냉각시키고 5 % NaHCO₃로 2회 세척하였다. 반응 혼합물을 MgSO₄로 건조시키고 여과하고 진공 농축하여 수득한 갈색 오일상 잔류물을 정제 (1 % MeOH/DCM)하여 화합물 xiv 500 mg (30 %)을 수득하였다.

[0868] <화학식 xiv>

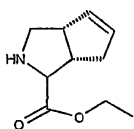


[0869]

[0870] 중간체 실시예 13 - 화합물 xv

[0871] 화합물 xiv (500 mg, 1.8 mmol)을 디옥산 (6.75 ml) 중의 4N HCl에 용해시켰다. 반응을 대략 실온에서 약 4시간 교반하였다. 이때, 용매를 진공 제거하였다. 생성 잔류물을 디에틸에테르로 2회 적정하여 거의 정량적 수율로 화합물 xv의 HCl 염을 수득하였다.

[0872] <화학식 xv>

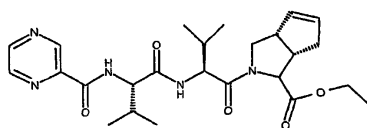


[0873]

[0874] 중간체 실시예 14 - 화합물 xvi

[0875] 화합물 vii (579 mg, 1.8 mmol)의 THF 용액 (7 ml)에 HOAt (245 mg, 1.8 mmol) 및 DCC (1.8 ml, DCM 중 1M)을 첨가하였다. 현탁액이 생성되었다. 대략 실온에서 15분간 교반한 후, 상기 현탁액에 화합물 xv (1.8 mmol)의 THF 용액 (6 ml) 및 DIPEA (0.63 ml, 3.6 mmol)을 첨가하였다. DIPEA (0.8 ml)을 더 첨가하였다. 반응 혼합물을 대략 실온에서 밤새 교반하였다. 이때 형성된 백색 고체를 여과 제거하였다. 백색 고체를 THF로 세정하였다. 합해진 여액 및 세척액을 진공 농축하여 수득한 조생성물을 실리카겔 크로마토그래피 (100 % EtOAc)에 의해 정제하여 화합물 xvi 665 mg (76 %)를 수득하였다.

[0876] <화학식 xvi>

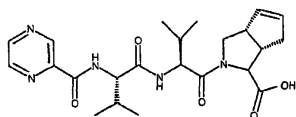


[0877]

[0878] 중간체 실시예 15 - 화합물 xvii

[0879] 0 °C에서 7 (665 mg, 1.37 mmol)의 에탄올 용액 (8 ml)에 1N 수성 NaOH (2.4 mmol)을 첨가하였다. 반응을 대략 실온에서 밤새 교반한 다음, 다우엑스 산성 수지를 사용하여 pH 3으로 산성화하였다. 고체를 여과하였다. 생성된 여액을 진공 농축하여 수득한 담황색 잔류물을 1:1 CH₃CN/H₂O에 다시 용해시키고 동결건조시켜 화합물 xvii 467 mg (74 %)를 수득하였다.

[0880] <화학식 xvii>

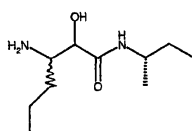


[0881]

[0882] 중간체 실시예 16 - 화합물 xix

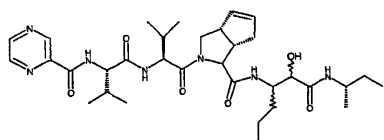
[0883] 대략 실온에서 화합물 xvii (100 mg, 0.22 mmol)의 DCM 용액 (4 ml)을 PyBop (207 mg, 0.4 mmol)로 20분간 처리하였다. 이때, 상기 용액을 화합물 xviii (65 mg, 0.32 mmol)의 THF 용액 (2.6 ml), 이어서 DIPEA (0.076 ml)으로 처리하였다. 대략 실온에서 7시간 교반한 후, 반응을 물로 켄칭하였다. 반응 혼합물을 DCM (60 ml)로 희석하였다. 유기층을 분리하고 염수로 2회 세척하고 MgSO₄로 건조시켰다. 여과후, 농축하고 실리카겔 크로마토그래피 (5 % EtOH/EtOAc)하여 화합물 xix 148 mg (대략 100 %)을 수득하였다.

[0884] <화학식 xviii>



[0885]

[0886] <화학식 xix>

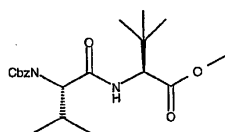


[0887]

[0888] 중간체 실시예 17 - 화합물 xx

[0889] N-Cbz-L-발린 (14.4 g, 57.2 mmol)의 THF 용액 (100 ml)에 HOBt (7.72 g, 57.2 mmol) 및 EDCI (10.98 g, 57.2 mmol)을 첨가하였다. 대략 실온에서 20분간 교반한 후, tert-L-루이신 메틸 에스테르-히드로클로라이드 (10.4 g, 57.2 mmol) 및 DIPEA (11.9 ml, 68.7 mmol)을 포함하는 THF 용액 (50 ml)을 상기 용액에 첨가하였다. 반응을 대략 실온에서 밤새 교반하였다. 표준 수성 후처리 후, 실리카겔 크로마토그래피 (30 % EtOAc/헥산)에 의해 화합물 xx 14 g (64 %)을 수득하였다.

[0890] <화학식 xx>

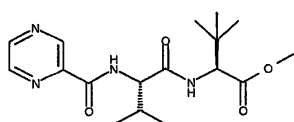


[0891]

[0892] 중간체 실시예 18 - 화합물 xxi

[0893] 화합물 xx (6.71 g, 17.7 mmol)의 메탄올 용액 (80 ml)에 Pd/C (1.88 g, 10 % Pd 함량)을 첨가하였다 (N₂ 기류 하). 반응조를 밤새 대략 실온에서 수소화 (1 atm H₂)시켰다. 이때, 반응 혼합물을 셀라이트층을 통해 여과하고 진공 농축하여 다음 단계를 위한 상응하는 조 유리 아민을 수득하였다. 이 아민 (대략 17.7 mmol)의 THF 용액을 2-피라진카르복실산 (2.85 g, 23 mmol), 호빗 (Hobbit) (3.12 g, 23 mmol) 및 EDCI (4.41 g, 23 mmol)을 포함하는 THF (46 ml) 및 DMF (5 ml) 용액에 첨가하였다. 이어서, 생성 혼합물에 DIPEA (3.08 g, 17.7 mmol)을 첨가하였다. 반응을 대략 실온에서 밤새 교반한 다음, 물로 켄칭하였다. 반응 혼합물을 EtOAc로 추출하였다. 유기층을 염수로 세척하고 진공 농축하여 수득한 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피 (40 내지 50 % EtOAc/헥산)에 의해 정제하여 화합물 xxi 3.9 g (63 %)을 수득하였다.

[0894] <화학식 xxi>

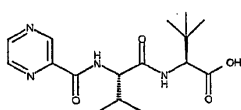


[0895]

[0896] 중간체 실시예 19 - 화합물 xxii

[0897] 화합물 xxi (4.67 g, 13.34 mmol)의 메탄올 용액 (40 ml)에 2N NaOH (10 ml, 20 mmol)을 첨가하였다. 반응을 대략 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 이때, 2N NaOH (3.3 ml, 6.67 mmol)을 더 첨가하였다. 대략 실온에서 밤새 교반한 후, 반응을 산성 수지를 사용하여 pH 3으로 산성화하였다. 이어서, 반응을 여과시키고, 여액을 진공 농축하여 수득한 잔류물을 1:1 CH₃CN/H₂O에 용해시켜 동결건조시켰다. 화합물 xxii 4.15 g (93 %)를 수득하였다.

[0898] <화학식 xxii>

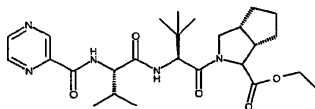


[0899]

[0900] 중간체 실시예 20 - 화합물 xxiii

[0901] 화합물 xxii (917 mg, 2.73 mmol)의 DCM 용액 (10 ml)을 HOAt (371 mg, 2.73 mmol) 및 DCC (2.73 ml, 1 M, 2.73 mmol)로 처리하였다. 30 분 동안 교반시킨 후, 반응 혼합물을 화합물 v (500 mg, 2.73 mmol)의 THF 용액 (10 ml)으로 처리하였다. 거의 실온에서 밤새 교반시킨 후, 백색 고체 (우레아)를 여과하였다. 여액을 진공으로 농축하여 얻은 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피 (60 내지 70% EtOAc/헥산)로 정제하여 1.06 g (77%)의 화합물 xxiii을 수득하였다.

[0902] <화학식 xxiii>

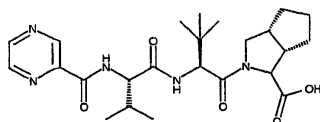


[0903]

[0904] 중간체 실시예 21 - 화합물 xxiv

[0905] 화합물 xxiii (1.06 g, 2.11 mmol)의 에탄올 용액 (20 ml)을 2 N NaOH (2.11 ml, 4.23 mmol)로 처리하였다. 거의 실온에서 밤새 교반시킨 후, 반응 혼합물을 산성 수지를 사용하여 pH 3으로 산성화하였다. 고체를 여과로 제거하였다. 생성된 여액을 진공으로 농축시켜 얻은 잔류물을 동결건조시켜 화합물 xxiv를 1 g (100%) 이하로 수득하였다.

[0906] <화학식 xxiv>

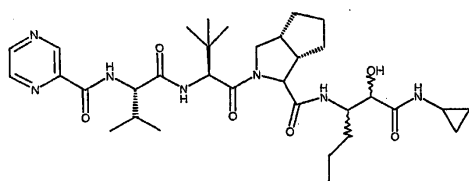


[0907]

[0908] 중간체 실시예 22 - 화합물 xxv

[0909] 화합물 xxiv (236.7 mg, 0.5 mmol)의 DCM 용액 (10 ml)을 PyBop (417 mg, 0.8 mmol)로 처리하였다. 거의 실온에서 20 분 동안 교반시킨 후, 반응 혼합물을 화합물 xiii (139.5 mg, 0.75 mmol)의 DMF 용액 (5.6 ml)으로 처리하고, DIPEA (0.174 ml, 1 mmol)로 처리하였다. 거의 실온에서 8 시간 동안 교반시킨 후, 반응물을 물로 킨칭시키고 EtOAc로 추출하였다. 생성된 유기 층을 염수로 세척하고 건조시키며 진공으로 농축하여 얻은 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피 (5% EtOH/EtOAc)로 정제하여 화합물 xxv를 320 mg (100%) 이하로 수득하였다.

[0910] <화학식 xxv>

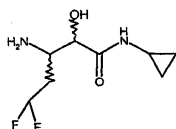


[0911]

[0912] 중간체 실시예 23 - 화합물 xxvi

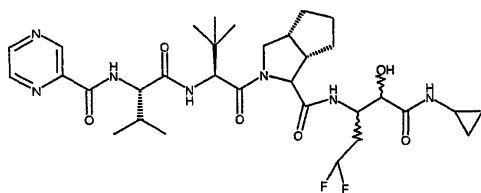
[0913] 화합물 xxiv (355 mg, 0.75 mmol)의 DCM 용액 (15 ml)을 PyBop (622 mg, 1.2 mmol)로 처리하였다. 거의 실온에서 20 분 동안 교반시킨 후, 반응 혼합물을 화합물 xxvii' (156 mg, 0.75 mmol)의 THF 용액 (10 ml)으로 처리하고, DIPEA (0.26 ml, 1.5 mmol)로 처리하였다. 거의 실온에서 밤새 교반시킨 후, 반응물을 물로 킨칭시키고 EtOAc로 추출하였다. 생성된 유기 층을 염수로 세척하고 건조시키며 진공으로 농축하여 얻은 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피 (2% EtOH/EtOAc)로 정제하여 화합물 xxvi을 400 mg (80%) 이하로 수득하였다.

[0914] <화학식 xxvii'>



[0915]

[0916] <화학식 xxvi>



[0917]

[0918] 중간체 실시예 24 - 메틸 5-시아노펜타노에이트

[0919] 시안화 칼륨 (4 g, 61.44 mmol)을 물 70 ml 및 메탄올 200 ml에 용해시켰다. 10 g (51.2 mmol)의 메틸 5-브로모펜타노에이트 용액을 첨가하고 혼합물을 밤새 환류시켰다. 반응 혼합물을 건조시켜 농축하였다. 잔류물에, 100 ml의 EtOAc를 첨가하여 생성물을 추출하였다. 유기물을 물로 3 회 세척하고 건조시키며 농축하여 5.37 g (74%)의 메틸 5-시아노펜타노에이트를 오일로 수득하였다.

[0920] 중간체 실시예 25 - 메틸 5-테트라졸-5-일펜타노에이트

[0921] 메틸 5-시아노펜타노에이트 (4.8 g, 34 mmol)를 톨루엔에 용해시키고, 염화 트리에틸암모늄 (14 g, 102 mmol) 및 아지드화 나트륨 (6.63, 102 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 밤새 환류로 가열하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 물을 첨가하여 유기물로부터 메틸 5-테트라졸-5-일펜타노에이트 (3 × 100 ml)로 추출하였다. 수성 상에, 농축 HCl을 첨가하여 pH를 2로 맞추었다. 수용액으로부터 EtOAc (3 × 50 ml)로 생성물을 추출하였다. 유기물을 혼합하고, 건조시키며 농축하여 4.25 g (68%)의 메틸 5-테트라졸-5-일펜타노에이트를 수득하였다.

[0922] 중간체 실시예 26 - 메틸 5-[N-(1,1-디메틸벤질)테트라졸-5-일]펜타노에이트

[0923] 메틸 5-테트라졸-5-일펜타노에이트 (4.23 g, 23 mmol) 및 트리클로로아세트산 (8.69 g, 53 mmol)을 50 ml의 CHCl₃에 용해시켰다. α-메틸스티렌 (2.72 g, 23 mmol)을 상기 용액에 적가하고, 반응 혼합물을 거의 실온에서 밤새 교반시켰다. 반응 혼합물을 EtOAc로 200 ml이 되게 희석시키고, 유기 층을 10% 수성 KOH 및 염수로 세척하였다. 유기 층을 건조시키고 농축하였다. 생성물을 플래시 칼럼 크로마토그래피로 정제하여 6.6 g (95%)의 메틸 5-[N-(1,1-디메틸벤질)테트라졸-5-일]펜타노에이트를 수득하였다.

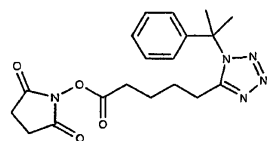
[0924] 중간체 실시예 27 - 5-[N-(1,1-디메틸벤질)테트라졸-5-일]펜탄산

[0925] 메틸 5-[N-(1,1-디메틸벤질)테트라졸-5-일]펜타노에이트 (6.6 g, 21.8 mmol)를 메탄올 (100 ml)에 용해시키고 23 ml의 1 N 수성 NaOH를 첨가하였다. 혼합물을 밤새 교반시키고 농축하여 메탄올을 제거하였다. 잔류물을 물 (100 ml)에 용해시키고 동일한 당량의 1 N 수성 HCl을 첨가하여 용액을 중화시켰다. 생성물을 EtOAc (3 × 50 ml)로 추출하였다. 유기물을 건조시키고 농축하여 4.75g (75%)의 5[N-(1,1-디메틸벤질)테트라졸-5-일]펜탄산을 수득하였다.

[0926] 중간체 실시예 28 - 화합물 xxviii

[0927] 5-[N-(1,1-디메틸벤질)테트라졸-5-일]펜탄산 (4.75 g, 16.5 mmol)을 DCM (100 ml)에 용해시키고, 4.8 g (24.8 mmol)의 EDCI 및 6 ml의 DIPEA를 첨가하였다. 혼합물에, N-히드록실숙신이미드 (3.8 g, 33 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 3 시간 동안 거의 실온에서 교반시켰다. 혼합물을 DCM으로 200 ml이 되게 희석하고 용액을 물로 3 회 세척하였다. 유기물을 건조시키고 농축하여 4.79 g (75%)의 화합물 xxviii을 수득하였다.

[0928] <화학식 xxviii>



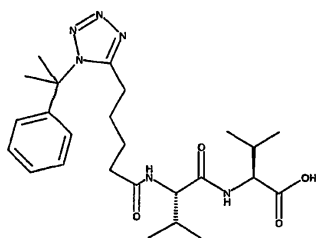
[0929]

[0930] 중간체 실시예 29 - 화합물 xxix

[0931] 디펩티드 H-Val-Val-OH (3.22 g, 14.9 mmol)를 50 ml의 N,N-디메틸포름아미드 (DMF)에 현탁시키고 4.75 g

(12.42 mmol)의 화합물 xxviii을 첨가한 후 3.4 ml (18.63 mmol)의 디이소프로필에틸아민 (DIPEA)을 첨가하였다. 혼합물을 40 °C 이하로 데우고 밤새 교반하였다. 용매를 고진공하에서 증발시켰다. 잔류물을 EtOAc에 용해시키고 1 N HCl 및 염수로 세척하여 5.52 g (91%)의 화합물 xxix를 수득하였다.

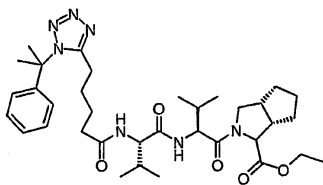
[0932] <화학식 xxix>



[0933] 중간체 실시예 30 - 화합물 xxx

[0935] 1.6 g (3.29 mmol)의 화합물 xxix를 20 ml의 DCM에 용해시키고, THF 중 1 M DCC 용액 3.3 ml을 첨가하였다. 혼합물에, 500 mg (2.73 mmol)의 화합물 v를 첨가하였다. 혼합물을 거의 실온에서 밤새 교반시켰다. 혼합물을 EtOAc로 100 ml이 되게 희석하고 1 N HCl, NaHCO₃ 및 염수로 세척하였다. 칼럼 크로마토그래피 (50% EtOAc/헥산)로 정제하여 1.02 g (58%)의 화합물 xxx을 수득하였다.

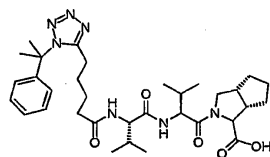
[0936] <화학식 xxx>



[0938] 중간체 실시예 31 - 화합물 xxxi

[0939] 화합물 xxx (1.02 g, 1.57 mmol)을 10 ml의 MeOH에 용해시키고 2 ml의 1 N 수성 NaOH를 첨가하였다. 혼합물을 밤새 교반시켰다. 메탄올을 증발시켜 제거하고 잔류물을 물로 희석하며 2 ml HCl로 중화시켰다. EtOAc로 추출한 후, 1.00g (100% 이하)의 화합물 xxxi을 수득하였다.

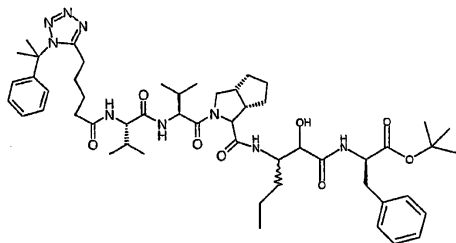
[0940] <화학식 xxxi>



[0942] 중간체 실시예 32 - 화합물 xxxii

[0943] 화합물 xxxi (300 mg, 0.48 mmol) 및 PyBop (300 mg, 0.58 mmol)를 10 ml의 DCM에 용해시켰다. 상기 용액에, 화합물 x (201 mg, 0.58 mmol)을 첨가한 후 DIPEA (104 μl)를 첨가하였다. 혼합물을 거의 실온에서 밤새 교반시켰다. 이어서 반응 혼합물을 EtOAc로 100 ml이 되게 희석하고 1 N HCl로 2 회, NaHCO₃로 2 회 및 염수로 3 회 세척하였다. 유기물을 건조시키고 농축하였다. 잔류물을 칼럼 크로마토그래피 (100% EtOAc)로 정제하여 450 mg (98%)의 화합물 xxxii를 수득하였다.

[0944] <화학식 xxxii>

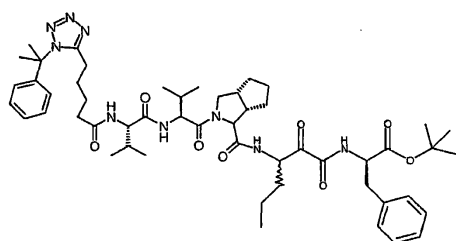


[0945]

[0946] 중간체 실시예 33 - 화합물 xxxiii

[0947] 화합물 xxxii 360 mg (0.38 mmol)을 8 ml의 DCM에 용해시키고 240 mg (0.57 mmol)의 DMP 시약을 첨가하였다. 혼합물을 거의 실온에서 3 시간 동안 교반시켰다. 혼합물을 EtOAc로 50 ml이 되게 희석하고 염수로 3 회 세척하였다. 생성물을 칼럼 크로마토그래피 (25% 에탄올/EtOAc)로 정제하여 300 mg (83%)의 화합물 xxxiii을 수득하였다.

[0948] <화학식 xxxiii>

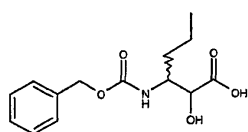


[0949]

[0950] 중간체 실시예 34 - 화합물 xxxiv

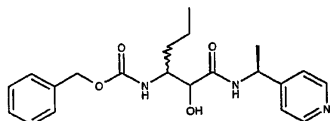
[0951] 화합물 xxxv (790 mg, 2.80 mmol)의 DCM 용액 (10 ml)에 PyBop (1.7 g, 3.36 mmol) 및 Hobbit (450 mg, 3.36 mmol)를 첨가하였다. 생성된 용액을 0 °C로 냉각시키고 (s)-α-(4-피리딜)에틸아민 (410 mg, 3.36 mmol)의 DCM 용액 (3 ml)으로 처리하였다. 이 용액에 DIPEA (0.5 ml, 3.36 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 거의 실온에서 밤새 교반시켰다. 이 때, 반응 혼합물을 EtOAc로 희석하였다. 전체를 포화된 NaHCO₃ 및 염수로 세척하였다. 이렇게 수득된 유기 층을 건조시키고 진공으로 농축하였다. 생성된 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피 (5% EtOH/EtOAc)로 정제하여 630 mg (58%)의 화합물 xxxiv를 수득하였다.

[0952] <화학식 xxxv>



[0953]

[0954] <화학식 xxxiv>



[0955]

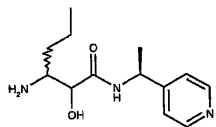
[0956] 주: (s)-α-(4-피리딜)에틸아민을 D-타르트레이트 염으로부터 염기 세척 (1 N NaOH) 및 후속적인 EtOAc 추출에 의해 수득하였다. 회수율은 89%였다.

[0957] 중간체 실시예 35 - 화합물 xxxvi

[0958] 화합물 xxxiv (630 mg, 1.64 mmol)의 메탄올 용액 (15 ml)에 N₂하에서 Pd/C (150 mg, 10% 팔라듐 함량)를 첨가하였다. 반응물을 H₂하에서 밤새 교반하였다. 반응 혼합물을 셀리트 (Celite)(등록상표) 521의 패드로 여과하

였다. 여액을 진공으로 농축하여 420 mg (100% 이하)의 화합물 xxxvi을 수득하였다.

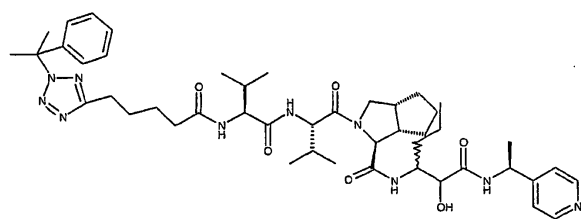
[0959] <화학식 xxxvi>



[0961] 중간체 실시예 36 - 화합물 xxxvii

[0962] 화합물 xxxi (270 mg, 0.43 mmol)의 DCM 용액 (3 ml)에 PyBop (270 mg, 0.52 mmol)를 첨가하였다. 이 용액에 화합물 xxxvi (160 mg, 0.64 mmol) 및 DIPEA (0.09 ml, 0.52 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 거의 실온에서 밤새 교반시켰다. 이 때, 반응물을 EtOAc로 희석하고 0.1 N HCl로 세척한 후, 포화된 NaHCO₃ 및 염수로 세척하였다. 생성된 유기 층을 건조시키고 농축하여 다음 단계를 위한 화합물 xxxvii (전체 질량 430 mg)을 수득하였다.

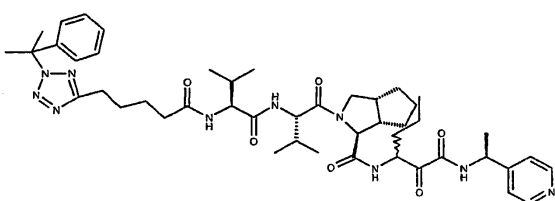
[0963] <화학식 xxxvii>



[0965] 중간체 실시예 37 - 화합물 xxxviii

[0966] 화합물 xxxvii (370 mg, 0.43 mmol)의 DCM 용액 (3 ml)에 DMP 시약 (280 mg, 0.65 mmol)을 첨가하였다. 반응물을 거의 실온에서 2 시간 동안 교반시킨 후 10% Na₂SO₃으로 켄칭하였다. 30 분 동안 교반시킨 후, 반응물을 EtOAc로 추출하였다. 유기 층을 포화된 NaHCO₃ 및 염수로 세척하였다. 생성된 유기 층을 건조시키고 진공으로 농축하여 얻은 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피 (5% EtOH/EtOAc)로 정제하여 180 mg (2 단계에서 49%)의 화합물 xxxviii을 수득하였다.

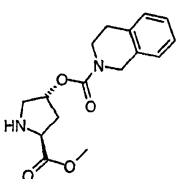
[0967] <화학식 xxxviii>



[0969] 중간체 실시예 38 - 화합물 xxxix

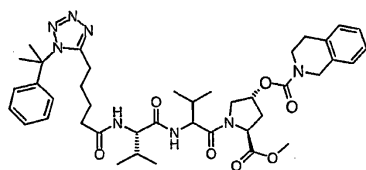
[0970] 화합물 xxix (2.5 g, 5 mmol)을 40 ml의 DCM에 용해시키고, THF 중 DCC 1 M 용액 5.1 ml을 상기 용액에 첨가하였다. 혼합물에, 1.08 g (3.53 mmol)의 화합물 xxxix를 첨가하였다. 혼합물을 거의 실온에서 밤새 교반시켰다.

[0971] <화학식 xxxix>



[0973] 혼합물을 EtOAc로 100 ml이 되게 희석하고, 연속적으로 1 N HCl, NaHCO₃ 및 염수로 세척한 후, 칼럼 크로마토그래피 (80% EtOAc/헥산)로 정제하여 2.59 g (95%)의 화합물 xxxx을 수득하였다,

[0974] <화학식 xxxx>

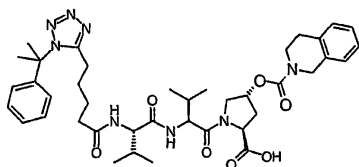


[0975]

[0976] 중간체 실시예 39 - 화합물 xxxxi

[0977] 화합물 xxxx (2.59g, 3.35 mmol)을 20 ml MeOH에 용해시키고 4 ml의 1 N 수성 NaOH를 첨가하였다. 혼합물을 밤새 교반시킨 후 회전 증발시켜 잔류물을 얻었다. 잔류물을 물에 용해시키고 2 ml HCl로 중화시켰다. 이어서 중화된 용액을 EtOAc로 추출하여 2.49 g (100% 이하)의 화합물 xxxxi을 수득하였다.

[0978] <화학식 xxxxi>

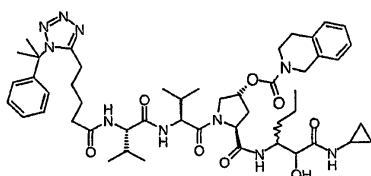


[0979]

[0980] 중간체 실시예 40 - 화합물 xxxxii

[0981] 화합물 xxxxi (847 mg, 1.16 mmol) 및 724 mg (1.39 mmol)의 PyBop를 DCM 10 ml에 용해시켰다. 상기 용액에, 화합물 xiii (260 mg, 1.39 mmol)을 첨가한 후 DIPEA (209 μl)를 첨가하였다. 혼합물을 거의 실온에서 밤새 교반시켰다. 이어서 반응 혼합물을 EtOAc로 100 ml이 되게 희석하고 1 N HCl로 2 회, NaHCO₃으로 2 회 및 염수로 3 회 세척하였다. 유기물을 건조시키고 농축하였다. 잔류물을 칼럼 크로마토그래피 (5% 에탄올/EtOAc)로 정제하여 930 mg (86%)의 화합물 xxxxii를 수득하였다.

[0982] <화학식 xxxxii>

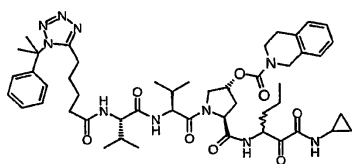


[0983]

[0984] 중간체 실시예 41 - 화합물 xxxxiii

[0985] 화합물 xxxxii (350 mg, 0.38 mmol)를 DCM 10 ml에 용해시키고 242 mg (0.57 mmol)의 DMP 시약을 첨가하였다. 혼합물을 거의 실온에서 3 시간 동안 교반시켰다. 혼합물을 EtOAc로 50 ml이 되게 희석하고 염수로 3 회 세척하였다. 생성물을 칼럼 크로마토그래피 (100% EtOAc)로 정제하여 180 mg (51%)의 화합물 xxxxiii을 수득하였다.

[0986] <화학식 xxxxiii>

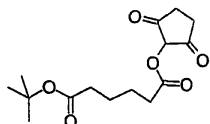


[0987]

[0988] 중간체 실시예 42 - 화합물 xxxxv

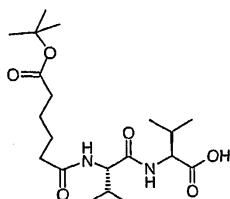
[0989] H-Val-Val-OH (5 g, 23 mmol)를 DMF 100 ml에 현탁시키고, 화합물 xxxxiv (8.3 g, 27.6 mmol)를 첨가한 후, 6.2 ml (35.5 mmol)의 DIPEA를 첨가하였다. 혼합물을 40 °C에서 2 일 동안 교반시켰다. 용매를 고진공하에서 제거하고 잔류물을 EtOAc 100 ml에 용해시키며 1 N HCl로 3 회 및 염수로 2 회 세척하였다. 9.14 g (99%)의 화합물 xxxv를 수득하였다.

[0990] <화학식 xxxxiv>



[0991]

[0992] <화학식 xxxv>

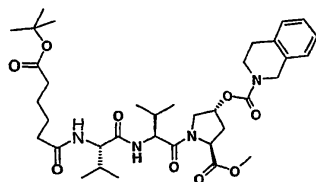


[0993]

[0994] 중간체 실시예 43 - 화합물 xxxvvi

[0995] 화합물 xxxv (2.8 g, 7 mmol) 및 954 mg (7 mmol)의 HOAt를 DCM 100 ml에 용해시켰다. 7 ml의 1 M DCC/DCM을 첨가하였다. 반응 혼합물에, 화합물 xxxix (2.15 g)를 첨가하고 반응 혼합물을 거의 실온에서 밤새 교반시켰다. 혼합물을 건조시켜 농축하고 잔류물을 EtOAc에 용해시키며 칼럼 크로마토그래피 (100% EtOAc)로 정제하여 4.57 g (95%)의 화합물 xxxvvi를 수득하였다.

[0996] <화학식 xxxvvi>

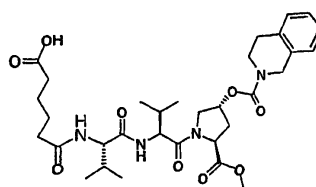


[0997]

[0998] 중간체 실시예 44 - 화합물 xxxvii

[0999] 화합물 xxxvvi (4.57 g, 6.65 mmol)를 TFA 10 ml 및 DCM 10 ml에 용해시켰다. 혼합물을 거의 실온에서 4 시간 동안 교반시켰다. 용매를 진공으로 제거하고 잔류물을 50 : 50 아세토니트릴/물에 용해시키고 동결 건조시켜 화합물 xxxvii를 분말로 수득하였다.

[1000] <화학식 xxxvii>

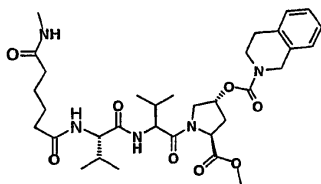


[1001]

[1002] 중간체 실시예 45 - 화합물 xxxviii

[1003] 화합물 xxxvii (1 g, 1.59 mmol) 및 990 mg (2.28 mmol)의 PyBop를 DCM 20 ml에 용해시키고 THF 중 1 M 메틸 아민 1.6 ml를 첨가하였다. 혼합물을 거의 실온에서 4 시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 EtOAc로 100 ml 이 되게 희석시키고 1 N HCl, NaHCO₃ 및 염수로 세척하였다. 잔류물을 플래시 칼럼 크로마토그래피 (10% EtOH/EtOAc)로 정제하여 1 g (98%)의 화합물 xxxviii를 수득하였다.

[1004] <화학식 xxxxviii>

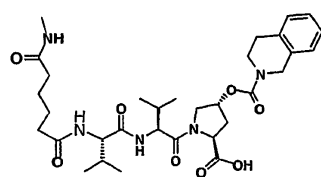


[1005]

[1006] 중간체 실시예 46 - 화합물 xxxix

[1007] 화합물 xxxxviii (1 g, 1.55 mmol)을 10 ml의 MeOH에 용해시키고 1 N NaOH 2 ml를 첨가하였다. 혼합물을 거의 실온에서 밤새 교반시켰다. 용매를 증발시켜 제거하였다. 잔류물을 물에 용해시키고, 중화시키며 EtOAc로 추출하여 960 mg (98%)의 화합물 xxxix를 수득하였다.

[1008] <화학식 xxxix>



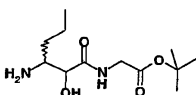
[1009]

[1010] 중간체 실시예 47 - 화합물 li

[1011] 중간체 실시예 47 - 화합물 li

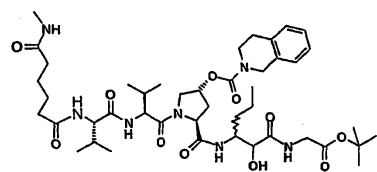
[1012] 화합물 xxxix (315 mg, 0.5 mmol) 및 312 mg (0.6 mmol)의 PyBop를 DCM 10 ml에 용해시켰다. 화합물 l (56 mg, 0.6 mmol) 및 108 μ l의 DIPEA를 첨가하였다. 혼합물을 거의 실온에서 밤새 교반시키고, EtOAc로 100 ml이 되게 희석하고 1 N HCl, NaHCO₃ 및 염수로 세척하였다. 칼럼 크로마토그래피 (15% EtOH/EtOAc)로 정제하여 400 mg (92%)의 화합물 li를 수득하였다.

[1013] <화학식 l>



[1014]

[1015] <화학식 li>

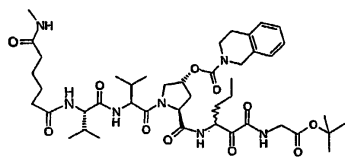


[1016]

[1017] 중간체 실시예 48 - 화합물 lii

[1018] 화합물 li (400 mg, 0.46 mmol)를 10 ml의 DCM에 용해시키고 292 mg (0.69 mmol)의 DMP 시약을 첨가하였다. 혼합물을 거의 실온에서 3 시간 동안 교반시켰다. 용매를 증발시켜 제거하고 생성물을 RP-HPLC로 정제하여 130 mg (32%)의 화합물 lii를 수득하였다.

[1019] <화학식 lii>

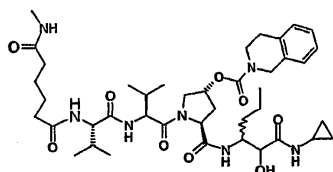


[1020]

[1021] 중간체 실시예 49 - 화합물 liii

[1022] 화합물 xxxix (210 mg, 0.33 mmol) 및 208 mg (0.4 mmol)의 PyBop를 DCM 10 ml에 용해시켰다. 화합물 xiii (154 mg, 0.83 mmol)을 용액에 첨가한 후 DIPEA (72 μ l, 0.4 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 거의 실온에서 밤새 교반시켰다. 반응 혼합물을 EtOAc로 100 ml이 되게 희석시키고, 1 N HCl, NaHCO₃ 및 염수로 세척한 후, 플래시 칼럼 크로마토그래피 (10% EtOH/EtOAc)로 정제하여 250 mg (95%)의 화합물 liii을 수득하였다.

[1023] <화학식 liii>

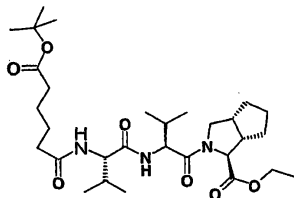


[1024]

[1025] 중간체 실시예 50 - 화합물 liv

[1026] 화합물 xxxv (755 mg, 1.88 mmol) 및 255 mg (1.88 mmol)의 HOAt를 DCM 20 ml에 용해시켰다. 1 M DCC/DCM 1.88 ml을 첨가하였다. 반응 혼합물에, 화합물 v (288 mg)를 첨가하고 반응 혼합물을 거의 실온에서 2 시간 동안 교반시켰다. 혼합물을 건조시켜 농축하고 잔류물을 EtOAc에 용해시키며 칼럼 크로마토그래피 (80% EtOAc/헥산)로 정제하여 800 mg (90%)의 화합물 liv를 수득하였다.

[1027] <화학식 liv>

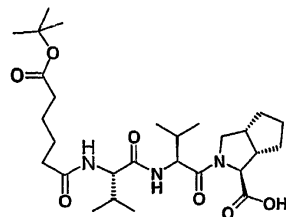


[1028]

[1029] 중간체 실시예 51 - 화합물 lv

[1030] 화합물 liv (800 mg, 1.41 mmol)를 MeOH 10 ml에 용해시키고 NaOH 2 ml을 첨가하였다. 혼합물을 거의 실온에서 밤새 교반시켰다. 용매를 진공으로 제거하고 잔류물을 물에 용해시키며 1 N HCl 2 ml로 중화시켰다. 생성물을 EtOAc로 추출하였다. 추출 용매를 증발시켜 760 mg (100% 이하)의 화합물 lv를 수득하였다.

[1031] <화학식 lv>



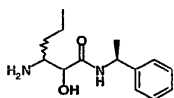
[1032]

[1033] 중간체 실시예 52 - 화합물 lvii

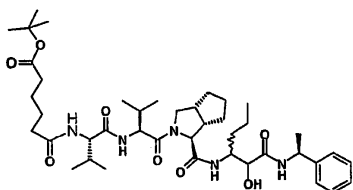
[1034] 화합물 lv (760 mg, 1.41 mmol) 및 880 mg (1.69 mmol)의 PyBop를 DCM 5 ml에 용해시켰다. 화합물 lvi (530

mg, 2.12 mmol)을 용액에 첨가한 후 0.31의 DIPEA를 첨가하였다. 혼합물을 거의 실온에서 밤새 교반시켰다. 반응 혼합물을 EtOAc로 100 ml이 되게 희석시키고, 1 N HCl, NaHCO₃ 및 염수로 세척한 후, 플래시 칼럼 크로마토그래피 (100% EtOAc)로 정제하여 870 mg (80%)의 화합물 lvii를 수득하였다.

<화학식 lvi>



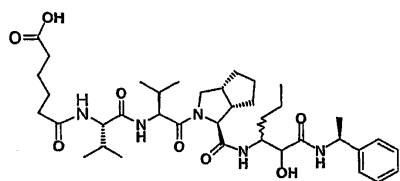
<화학식 lvii>



중간체 실시예 53 - 화합물 lviii

화합물 lvii (350 mg, 0.45 mmol)을 TFA 5 ml 및 DCM 5 ml에 용해시키고 혼합물을 거의 실온에서 3 시간 동안 교반시켰다. 용매를 증발시켜 제거하고 생성물을 RP-HPLC로 정제하여 220 mg (69%)의 화합물 lviii을 수득하였다.

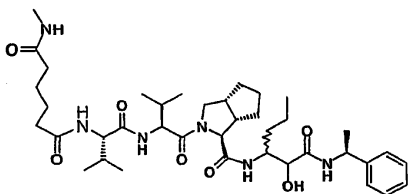
<화학식 lviii>



중간체 실시예 54 - 화합물 lix

화합물 lviii (200 mg, 0.28 mmol) 및 218 mg (0.42 mmol)의 PyBop를 DCM 5 ml에 용해시켰다. 메틸아민 (THF 중 2 M 0.28 ml)을 첨가하였다. 혼합물을 거의 실온에서 밤새 교반시켰다. 혼합물을 EtOAc로 100 ml이 되게 희석시키고, 1 N HCl, NaHCO₃ 및 염수로 세척한 후, 칼럼 크로마토그래피 (15% EtOH/EtOAc)로 정제하여 168 mg (79%)의 화합물 lix를 수득하였다.

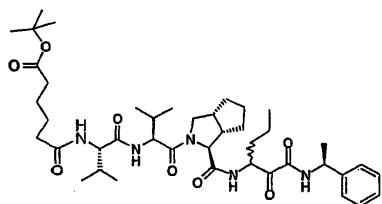
<화학식 lix>



중간체 실시예 55 - 화합물 lx

화합물 lviii (200 mg, 0.26 mmol)을 4 ml의 DCM에 용해시키고 165 mg (0.39 mmol)의 DMP 시약을 첨가하였다. 혼합물을 거의 실온에서 3 시간 동안 교반시켰다. 용매를 증발시켜 제거하였다. 잔류물을 50% 아세토니트릴/물에 용해시키고, 여과하며 RP-HPLC로 정제하여 140 mg (70%)의 화합물 lx을 수득하였다.

[1049] <화학식 1x>



[1050]

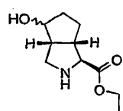
[1051] 중간체 실시예 56 - 화합물 ii

[1052] 화합물 i (4 g, 12.1 mmol)의 DCM (30 ml) 및 EtOH (30 ml) 용액을 N₂하에서 -10 °C 이하로 냉각시켰다. NaBH₄ (458 mg, 12.1 mmol)를 첨가하고 용액을 -10 °C에서 50 분 동안 교반시켰다. TLC (50% EtOAc/헥산)는 느린 이동 스팟에 대한 전체 전환을 나타냈다. 반응물을 조심스럽게 얼음으로 켄칭시킨 후 NH₄Cl (10 ml)의 냉각 포화 용액으로 켄칭시켰다. 혼합물을 DCM (300 ml)에 부었다. 유기 층을 NH₄Cl (60 ml)의 포화 용액으로 1 회 및 염수 (60 ml)로 2 회 세척하였다. 이어서 유기 층을 분리시키고, MgSO₄로 건조시키며 진공으로 농축하여 3.5 g 의 화합물 ii (87%)를 수득하였다.

[1053] 중간체 실시예 57 - 화합물 lxi

[1054] H₂ 풍선을 갖춘 250 ml 둥근바닥 플라스크에서, 화합물 ii (3.5 g, 10.5 mmol)의 에탄올 용액 (50 ml)을 5 시간 동안 거의 실온에서 표준 수소화 조건 [20% Pd(OH)₂/C (1.47 g, 2.1 mmol)]에 두었다. 촉매를 셀리트를 통해 여과 제거하고 DCM으로 세척하였다. 이어서 용매를 감압하에서 제거하여 2 g (96%)의 화합물 lxi를 수득하였다.

[1055] <화학식 1xi>

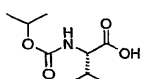


[1056]

[1057] 중간체 실시예 58 - 화합물 lxii

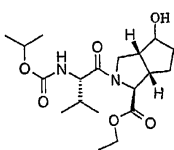
[1058] 불활성 분위기하에서, 무수 DMF (6 ml) 중 화합물 lxi (200 mg, 1 mmol), 화합물 lxiii (233 mg, 1.1 mmol), HOAt (1-히드록시-7-아자벤조트리아졸) (156 mg, 1.15 mmol)의 용액을 20 분 동안 교반시켰다. 이어서 온도를 0 °C 이하로 낮춘 후, DIC (0.18 ml, 1.15 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 거의 실온에서 밤새 교반시켰다. 용액을 EtOAc로 희석시킨 후 1 N HCl로 2 회, 포화된 수성 NaHCO₃ 및 염수로 2 회 세척하였다. 유기 층을 분리하여 MgSO₄로 건조시키고 용매를 감압하에서 제거하였다. 잔류물을 크로마토그래피 (실리카겔: 70% EtOAc/DCM)로 정제하여 화합물 lxii를 45% 수율로 수득하였다.

[1059] <화학식 1xiii>



[1060]

[1061] <화학식 1xii>

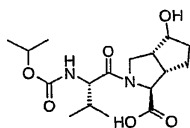


[1062]

[1063] 중간체 실시예 59 - 화합물 lxiv

[1064] 디옥산 (6 ml) 및 0.5 M NaOH (6 ml) 중 화합물 lxii (777 mg, 2 mmol)의 용액을 거의 실온에서 5 시간 동안 교반시켰다. TLC (100% EtOAc)에 의한 조사는 기점에서 스폿으로의 완전한 전환을 나타냈다. 반응물을 얼음조로 냉각시킨 후 1 N HCl (4 ml)을 첨가하였다. 이어서 고체 NaCl을 첨가하고 전체 혼합물을 EtOAc (2 × 150 ml)로 2 회 추출하였다. 이어서 유기 추출물을 혼합하고, MgSO₄로 건조시키며 감압하에서 용매를 제거하여 92% 수율로 화합물 lxiv를 수득하였다.

[1065] <화학식 lxiv>

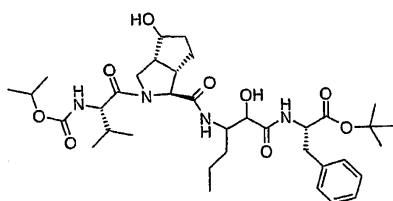


[1066]

[1067] 중간체 실시예 60 - 화합물 lxv

[1068] 불활성 분위기하에서, 무수 DMF (6ml) 중 화합물 x (203 mg, 0.58 mmol), 화합물 lxiv (276 mg, 0.775 mmol), HOAt (1-히드록시-7-아자벤조트리아졸) (126 mg, 0.93 mmol)의 혼합물을 20 분 동안 교반시켰다. 이어서 온도를 0 °C 이하로 낮춘 후, DIC (0.14 ml, 0.93 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 거의 실온에서 밤새 교반시켰다. 용액을 EtOAc로 희석한 후 1 N HCl로 2 회, 포화된 수성 NaHCO₃ 및 염수로 2 회 세척하였다. 유기 층을 분리하여 MgSO₄로 건조시키고 용매를 감압하에서 제거하였다. 잔류물을 크로마토그래피 (실리카겔: 50% EtOAc/DCM 내지 80 : 19 : 1 EtOAc/DCM/MeOH)로 정제하여 62% 수율로 화합물 lxv를 수득하였다.

[1069] <화학식 lxv>

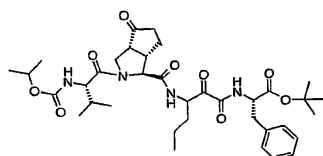


[1070]

[1071] 중간체 실시예 61 - 화합물 lxvi

[1072] 불활성 분위기하에서, 무수 DCM (15ml) 중 화합물 lxv (287 mg, 0.42 mmol)의 용액에 DMP 시약 (605 mg, 1.43 mmol)을 첨가하였다. 반응물을 거의 실온에서 2 시간 동안 교반시켰다. (주- DMP 시약의 양 및 반응 시간을 2 배로 하여 알콜 기 둘 다를 상응하는 케토 기로 완전히 산화시킨다). TLC (실리카겔: 2% MeOH/EtOAc)에 의한 조사는 보다 빠른 생성물로의 완전한 전환을 나타냈다. 반응물을 DCM (150 ml)으로 희석시킨 후 10% 수성 나트륨 아황산염 용액 (2 × 50 ml)으로 2 회, 포화된 수성 NaHCO₃으로 2 회 및 염수로 세척하였다. 유기 층을 분리하여 MgSO₄로 건조시키고 용매를 감압하에서 제거하였다. 잔류물을 크로마토그래피 (실리카겔: 50% EtOAc/DCM 내지 80 : 19 : 1 EtOAc/DCM/MeOH)로 정제하여 77% 수율로 화합물 lxvi를 수득하였다.

[1073] <화학식 lxvi>



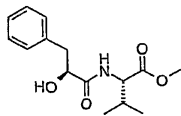
[1074]

[1075] 중간체 실시예 62 - 화합물 lxvii

[1076] L-3 페닐 락트산 (2 g, 12 mmol)의 DCM 용액 (60 ml)에 PyBOP (7.5 g, 14.4 mmol)를 첨가하였다. 상기 용액에 L-발린 메틸 에스테르 HCl (2.4 g, 14.4 mmol) 및 DIPEA (2.6 ml, 14.4 mmol)을 함유하는 DCM 용액 (20 ml)을 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물을 거의 실온에서 밤새 교반시켰다. 이 때, 반응물을 EtOAc (30 ml)로 희석시키고, NaHCO₃ (30 ml) 및 염수 (15 ml)로 세척하였다. 유기 층을 Na₂SO₄로 건조시키고, 여과하며 농축하였다.

실리카겔 상에서 50% EtOAc/Hex로 정제하여 2.97 g (89%)의 화합물 lxvii을 수득하였다,

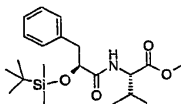
[1077] <화학식 lxvii>



[1079] 중간체 실시예 63 - 화합물 lxviii

[1080] 화합물 lxvii (2.97 g, 10.6 mmol)을 DCM (50 ml)에 용해시키고 얼음조로 냉각시켰다. TBSCl (2.1 g, 13.8 mmol)을 상기 용액에 첨가한 후 이미다졸 (0.94 g, 13.8 mmol)을 첨가하였다. 생성된 용액을 밤새 교반시켰다. 이어서 반응물을 EtOAc (50 ml)로 희석하고, NaHCO₃ 및 염수로 세척하였다. 유기 층을 Na₂SO₄로 건조시키고, 여과하며 농축하였다. 실리카겔 상에서 20% EtOAc/헥산으로 정제하여 3.79 g (90%)의 화합물 lxviii을 수득하였다,

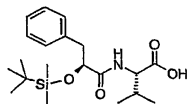
[1081] <화학식 lxviii>



[1083] 중간체 실시예 64 - 화합물 lxix

[1084] 화합물 lxviii (3.78 g, 9.6 mmol)의 메탄올 (50 ml) 용액에 1 N 수성 NaOH (14.4 ml, 14.4 mmol)를 첨가하였다. 생성된 용액을 밤새 교반시켰다. 용매를 진공으로 일부 제거하였다. 이어서 1 N HCl 수용액을 사용하여 반응 혼합물의 pH를 3으로 낮추었다. 용액을 EtOAc 및 염수로 희석하였다. 원하는 생성물을 EtOAc (3 × 50 ml)로 추출하였다. 유기 층을 혼합하고, Na₂SO₄로 건조시키고, 여과하며 농축하여 3.5 g (96%)의 화합물 lxix를 수득하였다.

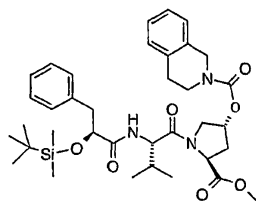
[1085] <화학식 lxix>



[1087] 중간체 실시예 65 - 화합물 lxx

[1088] 화합물 lxix (1.1 g, 2.9 mmol)를 함유하는 DCM (15 ml) 용액에 HOAt (0.44 g, 3.2 mmol)를 첨가한 후 DCM 중 1 M DCC 용액 (3.2 ml, 3.2 mmol)을 첨가하였다. 거의 실온에서 20 분 동안 교반시킨 후, 화합물 xxxix (970 mg, 3.2 mmol)의 DCM (15 ml) 용액을 첨가하였다. 상기 반응물을 N₂하에서 밤새 교반시켰다. 이어서 반응물을 EtOAc (30 ml)로 희석하고, 실리카겔 패드로 여과하며, 0.1 N HCl, NaHCO₃ 및 염수로 세척하였다. 유기 층을 Na₂SO₄로 건조시키고, 여과하며 진공으로 농축하였다. 실리카겔 상에서 50% EtOAc/Hex로 정제하여 1.5 g (77%)의 화합물 lxx을 수득하였다.

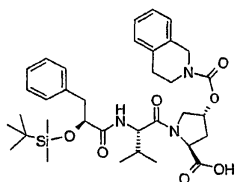
[1089] <화학식 lxx>



[1091] 중간체 실시예 66 - 화합물 lxxi

[1092] 화합물 xx (1.5 g, 2.4 mmol)의 메탄올 용액 (30 ml)에 1 N 수성 NaOH (3.6 ml, 3.6 mmol)를 첨가하였다. 생성된 용액을 밤새 교반시켰다. 이 때, 용매를 일부 제거하고, 1 N 수성 HCl을 사용하여 반응 혼합물의 pH를 3으로 맞추었다. 이어서 반응물을 EtOAc (50 ml) 및 염수 (20 ml)로 희석시켰다. 수성 층을 EtOAc (3 × 50 ml)로 추출하였다. 유기 층을 혼합하고, Na₂SO₄로 건조시키고, 여과하며 농축하여 1.3 g (92%)의 화합물 lxxi을 수득하였다.

[1093] <화학식 lxxi>

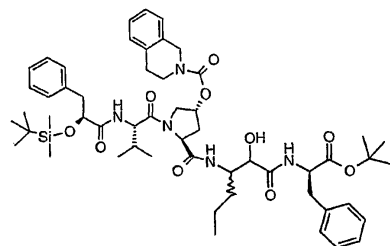


[1094]

[1095] 중간체 실시예 67 - 화합물 lxxii

[1096] 화합물 lxxi (180 mg, 0.28 mmol)를 함유하는 DCM (2 ml)의 용액에 PyBOP (175 mg, 0.34 mmol) 및 DIPEA (0.06 ml, 0.34 mmol)를 첨가한 후, 화합물 x (150 mg, 0.41 mmol)의 DCM 용액 (3 ml)을 첨가하였다. 생성된 용액을 N₂하에서 밤새 교반시켰다. 이어서 반응물을 EtOAc (30 ml)로 희석시키고, NaHCO₃ 및 염수로 세척하였다. 유기 층을 Na₂SO₄로 건조시키고, 여과하며 농축하였다. 실리카겔 상에서 100% EtOAc로 정제하여 270 mg (98%)의 화합물 lxxii를 수득하였다,

[1097] <화학식 lxxii>

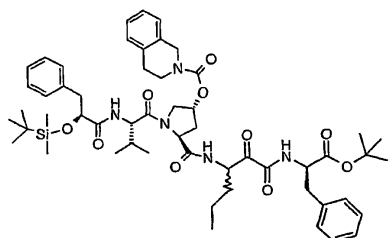


[1098]

[1099] 중간체 실시예 68 - 화합물 lxxiii

[1100] 화합물 lxxii (270 mg, 0.27 mmol)의 DCM (3 ml) 용액에 DMP 시약 (140 mg, 0.33 mmol)을 첨가하였다. 거의 실온에서 1 시간 30 분 동안 교반시킨 후, 반응물을 10% Na₂SO₃ (10 ml)로 켄칭하였다. 반응물을 EtOAc (30 ml)로 희석시키고 10 분 동안 교반시켰다. 유기 층을 NaHCO₃ 및 염수로 세척하였다. 유기 층을 Na₂SO₄로 건조시키고, 여과하며 농축하였다. 60% EtOAc/Hex로 정제하여 150 mg (56%)의 화합물 lxxiii을 수득하였다.

[1101] <화학식 lxxiii>



[1102]

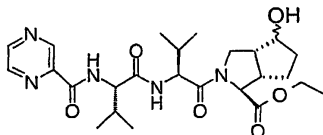
[1103] 중간체 실시예 69 - 화합물 lxi

[1104] 질소 스트림하에서 화합물 ii (3.5 g, 10.5 mmol)의 에탄올 용액 (50 ml)에 Pd(OH)₂/C (1.47 g, 20% Pd 함량, 2.1 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 1 atm 기압하에서 수소화시켰다. 완결된 후, 촉매를 셀리트 패드로 여과시키고 디클로로메탄으로 세척하였다. 여액을 진공으로 농축하여 2 g (96%)의 화합물 lxi를 수득하였다.

[1105] 중간체 실시예 70 - 화합물 lxxiv

[1106] 화합물 vii (9.1 g, 28.2 mmol)의 DMF 용액 (60 ml)에 HOAt (4 g, 29.4 mmol) 및 1,3-디이소프로필카르보디이미드 (3.7 g, 29.4 mmol)를 첨가하였다. 거의 실온에서 30 분 동안 교반시킨 후, 화합물 lxi (5.1 g, 25.6 mmol)의 DMF 용액 (10 ml)을 상기 용액에 첨가하였다. 반응물을 거의 실온에서 밤새 교반시켰다. 이 때, 백색 고체를 여과 제거하였다. 여액을 진공으로 농축하여 얻은 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피로 정제하여 9.5 g (67%)의 화합물 lxxiv를 수득하였다,

[1107] <화학식 lxxiv>

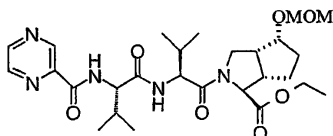


[1108]

[1109] 중간체 실시예 71 - 화합물 lxxv

[1110] 무수 THF (25 ml) 중 화합물 lxxiv (1.5 g, 3 mmol)의 용액에 Et_3N (0.78 ml, 4.5 mmol)을 거의 실온에서 첨가하였다. 혼합물을 0 °C로 냉각시키고 MOMCl (1.5 ml, 19.7 mmol)을 적가하였다. 반응물을 실온으로 데우고 밤새 교반시켰다. 이어서 용액을 에테르로 희석시키고 물로 세척하였다 (3 회). 수성 층을 추가의 에테르로 추출하고 모든 유기 층을 MgSO_4 로 건조시킨 후 농축하여 황색 오일을 수득하였다. 화합물 lxxv의 원하는 이성질체를 실리카겔 크로마토그래피 (EtOAc /헥산 5/2)로 분리하여 부분입체 이성질체가 완전히 분리된 40% 수율로 수득하였다.

[1111] <화학식 lxxv>

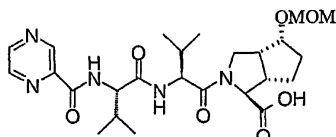


[1112]

[1113] 중간체 실시예 72 - 화합물 lxxvi

[1114] EtOH (5 ml) 중 화합물 lxxv (502 mg, 0.9 mmol)의 용액에 0 °C에서 2 N 수성 NaOH (0.9 ml, 1.8 mmol)를 적가하였다. 반응물을 실온으로 데우고 밤새 교반시켰다. 비누화가 완결되면, 용액을 Dowex 50W8X-200 산성 수지를 사용하여 pH 3으로 산성화하였다. 고체를 여과하여 제거하고 생성된 여액을 진공으로 농축시켜 얻은 오일 잔류물을 동결건조하여 370 mg (80 %)의 화합물 lxxvi를 수득하였다.

[1115] <화학식 lxxvi>

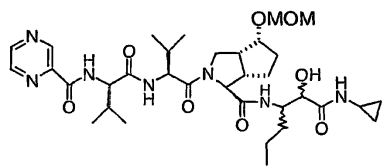


[1116]

[1117] 중간체 실시예 73 - 화합물 lxxvii

[1118] 화합물 lxxvi (110 mg, 0.21 mmol)의 디클로로메탄 용액 (4 ml)을 PyBOP (200 mg, 0.38 mmol)로 처리하였다. 거의 실온에서 30 분 동안 교반시킨 후, 반응 혼합물을 화합물 xiii (60 mg, 0.32 mmol)의 THF 용액 (3.2 ml)을 첨가한 후, Et_3N 을 첨가하였다. 거의 실온에서 밤새 교반시킨 후, 반응물을 물로 켄칭시키고 EtOAc로 추출하였다. 생성된 유기 층을 염수로 세척하고 MgSO_4 로 건조시킨 후, 농축하여 황색 오일을 수득하였다. 실리카겔 크로마토그래피 (5% EtOH/EtOAc)로 정제하여 143mg (100%)의 화합물 lxxvii를 수득하였다.

[1119] <화학식 lxxvii>

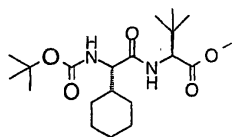


[1120]

[1121] 중간체 실시예 74 - 화합물 lxxviii

[1122] H-Chg-OH 2 (5 g, 19.4 mmol)의 THF 용액 (50 ml)에 HOBt (2.63 g, 19.4 mmol) 및 EDCI (3.72 g, 19.4 mmol)를 첨가하였다. 거의 실온에서 20 분 동안 교반시킨 후, tert-L-루이신 메틸 에스테르-염산염 (19.4 mmol) 및 DIPEA (6.75 ml, 38.8 mmol)를 함유하는 THF (19 ml) 및 DMF (10 ml) 용액을 상기 용액에 첨가하였다. 반응물을 거의 실온에서 밤새 교반시켰다. 표준 수성 후처리 및 실리카겔 크로마토그래피 (15 내지 20% EtOAc/헥산)로 2.27 g (30%)의 화합물 lxxviii을 수득하였다.

[1123] <화학식 lxxviii>

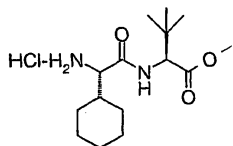


[1124]

[1125] 중간체 실시예 75 - 화합물 lxxix

[1126] 화합물 lxxviii (2.27 g, 5.91 mmol)의 THF 용액 (12 ml)에 디옥산 (7.38 ml, 29.5 mmol) 중 4 N HCl 용액을 첨가하였다. 반응물을 거의 실온에서 밤새 교반시켰다. 이 때, 용매를 감압하에서 제거하여 화합물 lxxix를 수득하고 이를 다음 반응에 직접 사용하였다.

[1127] <화학식 lxxix>

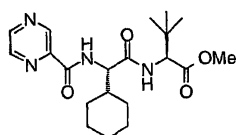


[1128]

[1129] 중간체 실시예 76 - 화합물 lxxx

[1130] 화합물 lxxix (5.9 mmol)의 THF 용액을 2-피라진카르복실산 (878 mg, 7.08 mmol), HOBt (957 mg, 7.08 mmol) 및 EDCI (1.36 g, 7.08 mmol)를 함유하는 THF (20 ml) 용액에 첨가하였다. 이어서 생성된 혼합물에 DIPEA (2.05 ml, 11.8 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 거의 실온에서 밤새 교반시킨 후 물로 켄칭하였다. 반응 혼합물을 EtOAc로 추출하였다. 유기 층을 염수로 세척하고 진공으로 농축하여 얻은 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피 (40 내지 50% EtOAc/헥산)로 정제하여 1 g (36%)의 화합물 lxxx을 수득하였다.

[1131] <화학식 lxxx>



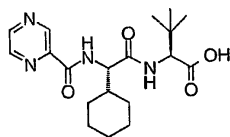
[1132]

[1133] 중간체 실시예 77 - 화합물 lxxxi

[1134] 화합물 lxxx (1 g, 2.56 mmol)의 메탄올 용액 (20 ml)에 2 N NaOH (3.2 ml, 6.4 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 거의 실온에서 밤새 교반시켰다. 이 때, 5 N HCl을 사용하여 반응물을 pH 3으로 산성화시켰다. 반응물을 EtOAc (75 ml)로 희석시키고, 물 및 염수로 세척하였다. 이어서 수득된 유기 층을 건조시키고 진공으로 농축하여 얻은 잔류물을 1 : 1 CH₃CN/H₂O에 용해시켜 동결건조하였다. 전체 1 g (100%) 이하의 화합물 lxxxi을 수득

하였다.

[1135] <화학식 lxxxix>

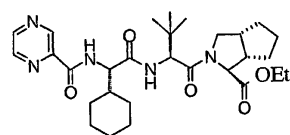


[1136]

[1137] 중간체 실시예 78 - 화합물 lxxxii

[1138] 화합물 lxxxix (2.56 mmol)의 디클로로메탄 용액 (10 ml)을 HOAt (348 mg, 2.56 mmol) 및 DCC (2.56 ml, 1 M, 2.56 mmol)로 처리하였다. 30 분 동안 교반시킨 후, 반응 혼합물을 화합물 v (2.56 mmol)의 THF 용액 (5 ml)으로 처리하였다. 거의 실온에서 밤새 교반시킨 후, 백색 고체 (우레아)를 여과로 제거하였다. 여액을 진공으로 농축하여 얻은 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피로 정제하여 1.4 g (100%)의 화합물 lxxxii를 수득하였다.

[1139] <화학식 lxxxii>

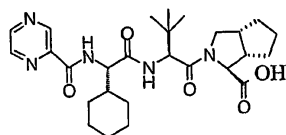


[1140]

[1141] 중간체 실시예 79 - 화합물 lxxxiii

[1142] 화합물 lxxxii (1.4 g, 2.58 mmol)의 에탄올 용액 (15 ml)을 2 N NaOH (2.58 ml, 5.17 mmol)로 처리하였다. 거의 실온에서 밤새 교반시킨 후, 반응 혼합물을 산성 수지를 사용하여 pH 3으로 산성화시켰다. 고체를 여과로 제거하였다. 생성된 여액을 진공으로 농축하여 얻은 잔류물을 동결건조하여 1.32 g (100% 이하)의 화합물 lxxxiii를 수득하였다.

[1143] <화학식 lxxxiii>

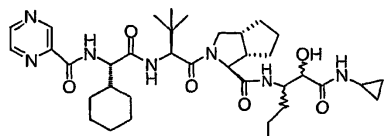


[1144]

[1145] 중간체 실시예 80 - 화합물 lxxxiv

[1146] 화합물 lxxxiii (360 mg, 0.7 mmol)의 디클로로메탄 용액 (15 ml)을 PyBOP (582 mg, 1.12 mmol)로 처리하였다. 거의 실온에서 20 분 동안 교반시킨 후, 반응 혼합물을 화합물 xiii (195.6 mg, 1.05 mmol)의 THF 용액 (10 ml)으로 처리한 후, DIPEA (0.25 ml, 1.40 mmol)로 처리하였다. 거의 실온에서 밤새 교반시킨 후, 반응물을 물로 퀀칭시키고 EtOAc로 추출하였다. 생성된 유기 층을 염수로 세척하고 건조시키며 진공으로 농축하여 얻은 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피 (3% EtOH/EtOAc)로 정제하여 화합물 lxxxiv 420 mg (88%)을 수득하였다.

[1147] <화학식 lxxxiv>



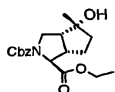
[1148]

[1149] 중간체 실시예 81 - 화합물 ii'''

[1150] 무수 디클로로메탄 및 에테르의 혼합물 (20 ml: 20 ml)을 N₂ (g)하에서 -78 °C로 냉각시켰다. 용액에 TiCl₄ (디클로로메탄 중 1 M, 10 ml, 10 mmol)을 첨가한 후, MeLi (에테르 중 1.4 M, 7.1 ml, 10 mmol)을 -78 °C에서 추가의 30 분 동안 교반시키면서 후속적으로 첨가하였다. 디클로로메탄 10 ml 중 화합물 i (2 g, 6 mmol)의 용

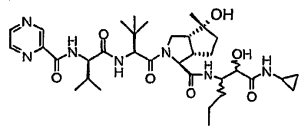
액을 동일한 온도에서 15 분에 걸쳐 혼합물에 적가하였다. 용액을 10 분 동안 천천히 -40°C 로 데운 후 0°C 에서 2 시간 동안 교반시켰다. 반응물을 물/에테르 혼합물 (1 : 1)에 부어 켄칭시킨 후, 층이 분리되게 하였다. 수성 층을 또한 에테르로 2 회 추출하였다. 모든 유기 층을 물 및 염수로 세척하고 MgSO_4 로 건조시킨 후 농축하여 황색 오일을 수득하였다. 원하는 화합물 ii'"을 실리카겔 크로마토그래피 (EtOAc /헥산 2/1)로 단리시켜 83% 수율로 수득하였다

[1151] <화학식 ii'">



척하고 MgSO_4 로 건조시킨 후, 농축하여 황색 오일을 수득하였다. 실리카겔 크로마토그래피 (5% EtOH/EtOAc)로 정제하여 200 mg (100%)의 화합물 lxxxvii를 수득하였다.

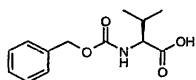
[1167] <화학식 lxxxvii>



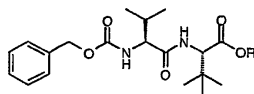
[1169] 중간체 실시예 86 - 화합물 lxxxix

[1170] 화합물 lxxxviii, N-Cbz-L-발린, (2.5 g, 9.9 mmol)을 THF (30ml)에 용해시켰다. EDCI (2.29 g, 11.9 mmol) 및 HOBT (1.62 g, 11.9 mmol)를 첨가하고 혼합물을 5 분 동안 교반시켰다. L-tert-루이신 메틸 에스테르 염산염 (2.17 g, 11.9 mmol)을 THF (23.9 ml)에 첨가한 후 DIPEA (2.1 ml)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 질소하에서 밤새 교반시켰다. 반응 혼합물을 에틸 아세테이트로 희석시키고, 1 N HCl, 포화 중탄산 나트륨 및 염수로 세척하였다. 유기상을 황산 나트륨으로 건조시키고, 여과하며 농축하였다. 농축 잔류물을 25% 에틸 아세테이트/헥산으로 정제하여 1.1 g (29%)의 화합물 lxxxix를 수득하였다,

[1171] <화학식 lxxxviii>



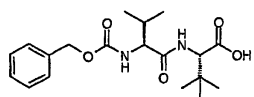
[1173] <화학식 lxxxix>



[1175] 중간체 실시예 87 - 화합물 lxxxx

[1176] 화합물 lxxxix를 표준 조건하에서 메틸 알콜 (0.3 M) 및 1 N NaOH (1.5 당량)를 사용하여 가수분해하여 1.03 g (95%)의 화합물 lxxxx를 수득하였다.

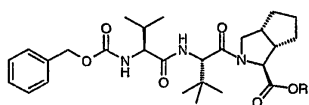
[1177] <화학식 lxxxx>



[1179] 중간체 실시예 88 - 화합물 lxxxxi

[1180] 화합물 lxxxx (385 mg, 1.06 mmol)을 디클로로메탄 (3 ml)에 용해시켰다. DCC (1.4 mmol)를 첨가한 후 HOAt (190 mg, 1.4 mmol)를 첨가하였다. 이어서 화합물 v (260 mg, 1.4 mmol)를 디클로로메탄 (3 ml)에 첨가하였다. 생성된 혼합물을 질소하에서 밤새 교반시켰다. 반응물을 에틸 아세테이트로 희석시키고, 실리카겔로 여과하며 농축하였다. 잔류물을 50% 에틸 아세테이트/헥산으로 정제하여 440 mg (80%)의 화합물 lxxxxi를 수득하였다.

[1181] <화학식 lxxxxi>

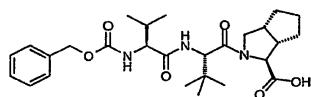


[1183] 중간체 실시예 89 - 화합물 lxxxxii

[1184] 화합물 lxxxxi를 표준 조건하에서 에틸 알콜 (0.3 M) 및 1 N NaOH (1.5 당량)를 사용하여 가수분해하여 390 mg

의 화합물 lxxxxii를 수득하였다.

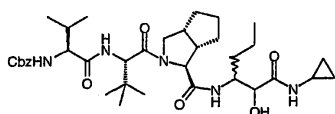
[1185] <화학식 lxxxxii>



[1187] 중간체 실시예 90 - 화합물 lxxxxiii

[1188] 화합물 lxxxxii (350 mg, 0.7 mmol)를 디클로로메탄 (3 ml)에 용해시켰다. PyBOP (480 mg, 0.91 mmol)를 첨가한 후 화합물 xiii (170 mg, 0.91 mmol)를 첨가하였다. DIPEA (0.16 ml, 0.91 mmol)를 첨가하고 반응 혼합물을 밤새 교반시켰다. 반응 혼합물을 농축하고 100% 에틸 아세테이트로 정제하여 420 mg (90%)의 화합물 lxxxxiii을 수득하였다.

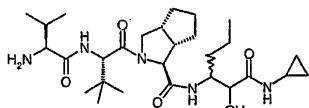
[1189] <화학식 lxxxxiii>



[1191] 중간체 실시예 91 - 화합물 lxxxxiv

[1192] 화합물 lxxxxiii을 수소하에서 메틸 알콜 중 10% Pd/C (1% mol)를 사용하여 가수분해하여 335 mg (100%)의 화합물 lxxxxiv를 수득하였다.

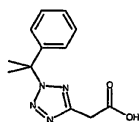
[1193] <화학식 lxxxxiv>



[1195] 중간체 실시예 92 - 화합물 lxxxxv

[1196] 에틸 1H-테트라졸-5-아세테이트 (5 g, 32 mmol)를 클로로포름 (80 ml)에 용해시켰다. 트리클로로아세트산 (12.03 g, 73.65 mmol)을 첨가한 후 알파 메틸 스티렌 (3.78 g, 32 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 밤새 교반시켰다. 다음 날, 상기 용액을 에틸 아세테이트로 희석시키고, 10% KOH 및 염수로 세척하였다. 유기상을 황산 마그네슘으로 건조시키고 여과하며 농축하여 상응하는 N-보호된 에틸 테트라졸-5-아세테이트 8 g (96%)을 수득하였다. 상기 물질을 에틸 알콜 (0.3 M) 및 1 N NaOH (3 당량)를 사용하여 표준 가수 분해 조건으로 처리하여 7 g (99%)의 화합물 lxxxxv를 수득하였다.

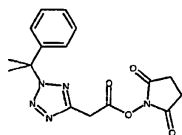
[1197] <화학식 lxxxxv>



[1199] 중간체 실시예 93 - 화합물 lxxxxvi

[1200] 화합물 lxxxxv (3.62 g, 14.7 mmol)를 디클로로메탄 (50 ml)에 용해시켰다. EDCI (4.32 g, 22.1 mmol) 및 DIPEA (5.1 ml, 29.4 mmol)를 첨가하고 5 분 동안 교반시켰다. N-히드록시 숙신이미드 (3.38 g, 29.4 mmol)를 첨가하고 3 시간 동안 교반시켰다. 반응물을 디클로로메탄으로 희석시키고 물로 3 회 세척하였다. 유기상을 황산 나트륨으로 건조시키고 농축하여 3.66 g (73%)의 화합물 lxxxxvi을 수득하였다.

[1201] <화학식 lxxxxvi>

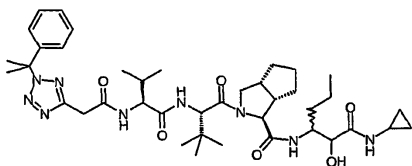


[1202]

[1203] 중간체 실시예 94 - 화합물 lxxxxvii

[1204] 화합물 lxxxxiv (335 mg, 0.62 mmol) 및 화합물 lxxxxvi (343 mg, 1 mmol)을 디클로로메탄 (6 ml)에 용해시켰다. DIPEA (0.17 ml, 1 mmol)를 첨가하고 반응 혼합물을 밤새 교반시켰다. 반응물을 에틸 아세테이트로 희석시키고, 포화 중탄산 나트륨, 염수로 세척하며 농축하였다. 잔류물을 5% 에틸 알콜/에틸 아세테이트로 정제하여 80 mg (16%)의 화합물 lxxxxvii를 수득하였다.

[1205] <화학식 lxxxxvii>

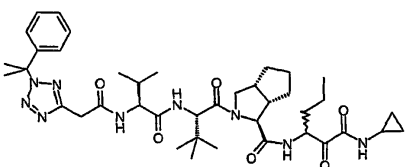


[1206]

[1207] 중간체 실시예 95 - 화합물 lxxxxviii

[1208] 화합물 lxxxxvii (80 mg, 0.11 mmol)을 디클로로메탄 (3 ml)에 용해시켰다. DMP 시약 (55 mg, 0.13 mmol)을 첨가하고 1 시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 에틸 아세테이트로 희석시키고 아황산 나트륨의 10% 용액으로 켄칭하였다. 유기상을 포화 중탄산 나트륨 및 염수로 세척하였다. 유기상을 농축시키고 생성된 잔류물을 100% 에틸 아세테이트로 정제하여 40 mg (48%)의 화합물 lxxxxviii를 수득하였다.

[1209] <화학식 lxxxxviii>

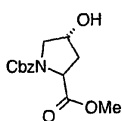


[1210]

[1211] 중간체 실시예 96 - 화합물 xxxix

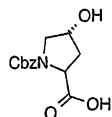
[1212] 화합물 ic (N-Cbz-4-히드록시 Pro 메틸 에스테르) (2.1 g, 7.9 mmol, 화합물 c (N-Cbz-4-히드록시 Pro)로부터 정량된 양으로 제조됨)를 DCM (25 ml)에 용해시켰다. CDI (1.54 g, 9.5 mmol) 및 DIPEA (1.7 ml, 9.5 mmol)를 상기 용액에 첨가하고 10 분 동안 교반시켰다. 1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린 (TIQ) (1.2 ml, 9.5 mmol)을 반응 혼합물에 적가하고 5 시간 동안 교반시켰다. 유기상을 물, 1 N HCl 및 염수로 세척하였다. 유기상을 농축시킨 후, 생성된 잔류물을 40% EtOAc/헥산을 사용하여 크로마토그래피로 정제하여 화합물 ci (N-Cbz-4-TIQ카르보닐옥시-Pro 메틸 에스테르) (2.5 g, 75%)를 수득하였다.

[1213] <화학식 ic>



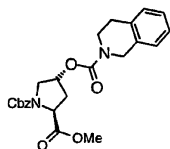
[1214]

[1215] <화학식 c>



[1216]

[1217] <화학식 ci>



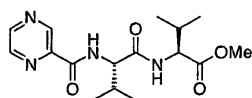
[1218]

[1219] 화합물 ci (2.5 g, 5.9 mmol)를 MeOH (75 ml)에 용해시켰다. 용액을 N₂로 플러싱하고 Pd/C (10%, 300 mg)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 H₂로 플러싱하고 밤새 교반시켰다. 반응 혼합물을 셀리트로 여과하고 농축하여 화합물 xxxix (4-(TIQ-카르보닐옥시)-Pro, 메틸 에스테르) (1.49 g, 83%)를 수득하였다.

[1220] 중간체 실시예 97 - 화합물 vii

[1221] 화합물 cii (N-피라진-2-일카르보닐-Val-Val 메틸 에스테르) (10.9 g, 32.4 mmol)을 THF (80 ml)에 용해시킨 후, 수성 NaOH (48.6 ml, 48.6 mmol)를 첨가하였다. 생성된 혼합물을 48 시간 동안 교반시킨 후, 추가의 NaOH (16.3 ml, 16.3 mmol)를 첨가하고 혼합물을 3 시간 동안 40 °C로 가열하였다. 이어서 반응 혼합물의 pH를 3으로 낮추고, 수성상을 EtOAc로 추출한 후, 농축하여 조 화합물 vii (N-피라진-2-일카르보닐-Val-Val 산) (10.6 g, 100%)을 수득하였다.

[1222] <화학식 cii>

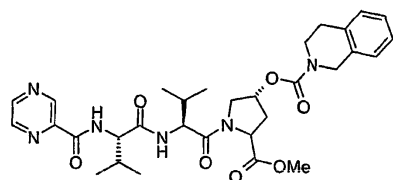


[1223]

[1224] 중간체 실시예 98 - 화합물 ciii

[1225] 화합물 cii (4.1 g, 12.7 mmol)를 DCM (20 ml)에 용해시켰다. HOAt (1.73 g, 12.7 mmol) 및 DCC (12.7 mmol)을 상기 용액에 첨가하고, 용액을 1 시간 동안 교반시켰다. 화합물 xxxix (3.22 g, 10.6 mmol)를 DCM (10 ml) 중 반응 혼합물에 첨가하였다. 생성된 혼합물을 N₂하에서 밤새 교반시켰다. 반응 혼합물을 실리카겔을 통해 여과시키고 농축하였다. 생성된 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피 (50% 내지 80% EtOAc/헥산 구배)로 정제하여 화합물 ciii (N-피라진-2-일카르보닐-Val-Val-4-(TIQ카르보닐옥시)-Pro 메틸 에스테르) (5.27 g, 81.7%)를 수득하였다.

[1226] <화학식 ciii>

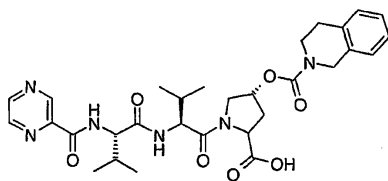


[1227]

[1228] 중간체 실시예 99 - 화합물 civ

[1229] 화합물 ciii (650 mg, 1.29 mmol)을 THF (5 ml)에 용해시켰다. 수성 NaOH (1.42 ml, 1.42 mmol)를 용액에 첨가한 후 밤새 교반시켰다. 용액의 pH를 3으로 낮추고, 유기상을 단리하며 농축하여 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 아세토니트릴/물을 사용하여 역상 HPLC로 정제하여 화합물 civ (N-피라진-2-일카르보닐-Val-Val-4-(TIQ카르보닐옥시)-Pro 산) (600 mg, 95%)을 수득하였다.

[1230] <화학식 civ>

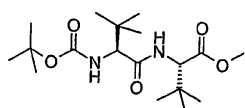


[1231]

[1232] 중간체 실시예 100 - 화합물 cv

[1233] N-Boc-L-tert-루이신 (2.3 g, 10 mmol) 및 L-tert-루이신 메틸 에스테르 염산염 (2 g, 11 mmol)을 DMF (30 ml)에서 혼합하였다. 이어서 HOAt (1.6 g, 11.5 mmol)를 용액에 첨가하였다. 생성된 혼합물을 20 분 동안 N₂ 하에서 교반시킨 후 0 °C로 낮추고, 그 후에 DIC (1.8 ml, 11.5 mmol) 및 2,4,6-콜리딘 (1.45 ml, 11 mmol)을 첨가하였다. 생성된 용액을 실온으로 데우면서 밤새 교반시켰다. 반응 혼합물을 EtOAc로 희석시키고, 유기상을 1 N HCl, 포화된 NaHCO₃ 및 염수로 세척하였다. 유기상을 농축시킨 후, 생성된 잔류물을 20% 내지 30% EtOAc/헥산 구배를 사용하여 크로마토그래피로 정제하여 화합물 cv (3.3 g, 92%)를 수득하였다.

[1234] <화학식 cv>

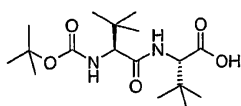


[1235]

[1236] 중간체 실시예 101 - 화합물 cvi

[1237] 화합물 cv (3.3 g, 9.2 mmol)를 디옥산 (40 ml) 및 0.5 N NaOH (37 ml, 18.4 mmol)를 사용하여 가수분해하여 화합물 cvi (2.9 g, 92%)를 수득하였다.

[1238] <화학식 cvi>

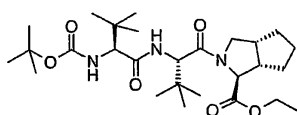


[1239]

[1240] 중간체 실시예 102 - 화합물 cvii

[1241] 화합물 cvi (2 g, 5.8 mmol) 및 화합물 v (1 g, 5.5 mmol)를 DMF (20 ml)에 용해시켰다. 이어서 HOAt (832 mg, 6.6 mmol) 및 DIC (1.1 ml, 6.6 mmol)를 용액에 첨가하였다. 생성된 용액을 N₂하에서 밤새 교반시켰다. 반응 혼합물을 EtOAc로 희석시키고, 유기상을 1 N HCl, 포화된 NaHCO₃ 및 염수로 세척하였다. 유기상을 농축시킨 후, 생성된 잔류물을 20% 내지 30% EtOAc/헥산 구배를 사용하여 크로마토그래피로 정제하여 화합물 cvii (2.4 g, 81%)를 수득하였다.

[1242] <화학식 cvii>

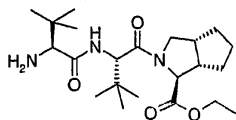


[1243]

[1244] 중간체 실시예 103 - 화합물 cviii

[1245] 화합물 cvii (2.4 g, 4.72 mmol)를 DCM (10 ml)에 용해시켰다. TFA (10 ml)를 용액에 첨가하였다. 생성된 용액을 4 시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 농축시키고, EtOAc에 용해시킨 후, 유기상을 1 N NaOH 및 염수로 세척하였다. 유기상을 농축시켜 화합물 cviii (1.084 g, 56.1%)을 수득하였다.

[1246] <화학식 cviii>

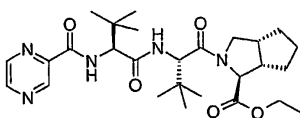


[1247]

[1248] 중간체 실시예 104 - 화합물 cix

[1249] 2-피라진카르복실산 (181 mg, 1.46 mmol) 및 화합물 cviii (541 mg, 1.325 mmol)을 DMF (15 ml)에 용해시켰다. HOAt (207 mg, 1.52 mmol) 및 DIC (0.24 ml, 1.52 mmol)를 용액에 첨가하였다. 생성된 용액을 N₂하에서 밤새 교반시켰다. 반응 혼합물을 EtOAc로 희석시키고, 유기상을 1 N HCl, 포화된 NaHCO₃ 및 염수로 세척하였다. 유기상을 농축시킨 후, 생성된 잔류물을 20% 내지 30% 내지 35% EtOAc/헥산 구배를 사용하여 크로마토그래피로 정제하여 화합물 cix (430 mg, 63%)를 수득하였다.

[1250] <화학식 cix>

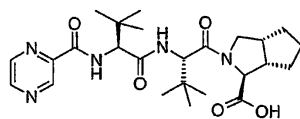


[1251]

[1252] 중간체 실시예 105 - 화합물 cx

[1253] 화합물 cix를 EtOH (7 ml) 및 1 N NaOH (4.7 ml, 4.7 mmol)을 사용하여 가수분해 하여 화합물 cx (700 mg, 91.6%)을 수득하였다.

[1254] <화학식 cx>

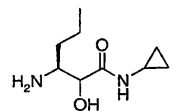


[1255]

[1256] 중간체 실시예 106 - 화합물 cxi

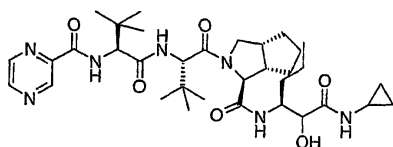
[1257] 화합물 cx (690 mg, 1.42 mmol)를 DCM (9 ml)에 용해시켰다. 이어서 PyBOP (890 mg, 1.7 mmol)를 용액에 첨가한 후, 화합물 xiii' (320 mg, 1.7 mmol)을 첨가하였다. 생성된 혼합물에 DIPEA (0.3 ml, 1.7 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 N₂하에서 밤새 교반시켰다. 이어서 반응 혼합물을 EtOAc로 희석시키고, 포화된 NaHCO₃ 및 염수로 세척하였다. 유기상을 농축시킨 후, 생성된 잔류물을 100% EtOAc를 사용하여 크로마토그래피로 정제하여 화합물 cxi (490 mg, 52.7%)을 수득하였다.

[1258] <화학식 xiii'>



[1259]

[1260] <화학식 cxi>

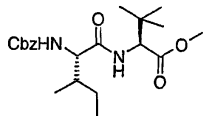


[1261]

[1262] 중간체 실시예 107 - 화합물 cxiv

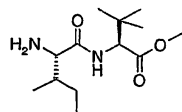
[1263] 화합물 cxii (1.2 g, 3.06 mmol)를 MeOH (12 ml)에 용해시켰다. N₂로 완전히 플러싱한 후, 10 중량%의 탄소상 Pd(OH)₂ (0.6 g)를 첨가하고 혼합물을 밤새 수소화시킨 후, 반응 혼합물의 완료를 TLC (30% EtOAc/헥산)로 확인하였다. 용액을 여과하여 고체 물질로부터 단리시키고 농축하여 상응하는 탈보호된 화합물 cxiii를 무색 오일 (100%)로 수득하여 추가로 정제하지 않고 다음 단계에 사용하였다.

[1264] <화학식 cxii>



[1265]

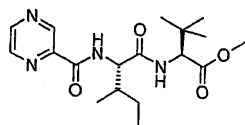
[1266] <화학식 cxiii>



[1267]

[1268] 2-피라진카르복실산 (400 mg, 3.2 mmol, 1.1 당량)을 DCM/THF (4 ml/4 ml)에 용해시킨 후, HOAt (440 mg, 3.2 mmol) 및 DCC (343 ml, DCM 중 1 M)를 첨가하였다. 실온에서 20 분 동안 교반시킨 후, 이미 수득된 화합물 cxiii (0.96 g, 3.2 mmol)을 DCM (6.4 ml)에 용해시키고 활성화된 혼합물을 첨가하였다. 실온에서 밤새 교반시킨 후, 반응 혼합물을 셀리트로 여과시키고 화합물 cxiv를 칼럼 크로마토그래피 (30% EtOAc/헥산)로 정제하여 백색 고체 (0.8 g, 80%)를 수득하였다.

[1269] <화학식 cxiv>

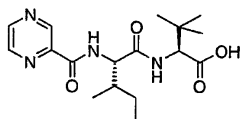


[1270]

[1271] 중간체 실시예 108 - 화합물 cxv

[1272] 화합물 cxiv (0.8 g, 2.2 mmol)를 MeOH (10 ml)에 용해시킨 후, 2 N NaOH (aq) (3.3 ml, 6.6 mmol)를 첨가하였다. 용액을 실온에서 밤새 교반시킨 후, 반응 혼합물의 완료를 TLC (50% EtOAc/헥산)로 확인하였다. 5 N HCl을 사용하여 pH 3으로 산성화시키고 EtOAc로 희석시킨 후 유기상을 추출하였다. 추출된 유기상을 염수로 세척하고 MgSO₄로 건조시키고 농축하여 화합물 cxv (0.74, 95%)를 수득하였다.

[1273] <화학식 cxv>

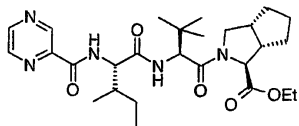


[1274]

[1275] 중간체 실시예 109 - 화합물 cxvi

[1276] 실온의 화합물 cxv (0.74 g, 2.1 mmol)의 DCM 용액 (6 ml)에 HOAt (290 mg, 2.1 mmol)를 첨가한 후, DCM (2.2 ml, 2.2 mmol) 중 1 M DCC 용액을 첨가하였다. 30 분 동안 실온에서 교반시킨 후, 화합물 v (2.1 mmol)의 THF 용액 (10.5 ml, 0.2 M)을 상기 HOAt-활성 산에 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반시켰다. 이 때, 반응 혼합물을 셀리트로 여과하였다. 여액을 EtOAc (120 ml)로 희석시키고 물 및 염수로 세척하였다. 유기상을 건조시키고 농축하여 얻은 황색 오일을 실리카겔 크로마토그래피 (50% EtOAc/헥산)로 정제하여 화합물 cxvi (0.714 g, 66%)를 수득하였다.

[1277] <화학식 cxvi>

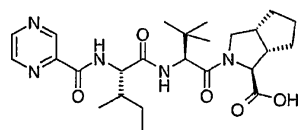


[1278]

[1279] 중간체 실시예 110 - 화합물 cxvii

[1280] 화합물 cxvi (0.7 g, 1.4 mmol)의 EtOH 용액에 2 N NaOH 수용액 (2 ml, 4 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반시킨 후, 5 N HCl을 사용하여 pH 3으로 산성화시키고 EtOAc로 희석시킨 후 유기상을 추출하였다. 추출한 유기상을 염수로 세척하고 MgSO₄로 건조시키고 농축하여 화합물 cxvii (95%)을 수득하였다.

[1281] <화학식 cxvii>

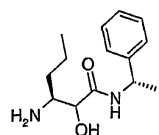


[1282]

[1283] 중간체 실시예 111 - 화합물 cxviii

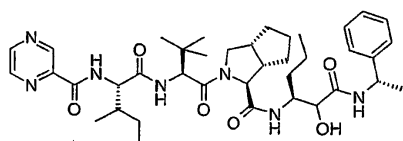
[1284] 화합물 cxvii (300 mg, 0.6 mmol)의 DCM/THF 용액 (10 ml/2 ml)에 PyBOP (416 mg, 0.8 mmol)를 첨가하였다. 용액을 실온에서 30 분 동안 교반시켰다. 이어서 상기 용액에 화합물 xxxvi' (200 mg, 0.8 mmol)을 첨가한 후, DIPEA (0.22 ml, 1.2 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반시킨 후 물 (25 ml)로 30 분 동안 켄칭하였다. 이어서 혼합물을 EtOAc로 추출하였다. 생성된 유기상을 염수로 세척하고 MgSO₄로 건조시킨 후, 농축하여 황색 오일을 수득하였다. 실리카겔 크로마토그래피 (3 내지 5% EtOH/EtOAc)로 정제하여 화합물 cxviii (335 mg, 76%)을 수득하였다.

[1285] <화학식 xxxvi'>



[1286]

[1287] <화학식 cxviii>

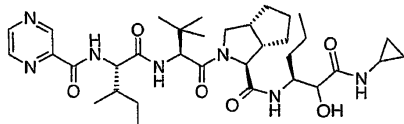


[1288]

[1289] 중간체 실시예 112 - 화합물 cxix

[1290] 화합물 cxvii (340 mg, 0.6 mmol)의 DCM 용액 (10 ml)에 PyBOP (470 mg, 0.9 mmol)를 첨가하였다. 용액을 30 분 동안 실온에서 교반시켰다. 이어서 상기 용액에 화합물 xiii' (170 mg, 0.9 mmol)를 첨가한 후, DIPEA (0.24 ml, 1.2 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 교반시킨 후 물 (25 ml)로 30 분 동안 켄칭하였다. 이어서 혼합물을 EtOAc로 추출하였다. 생성된 유기상을 염수로 세척하고 MgSO₄로 건조시킨 후, 농축하여 황색 오일을 수득하였다. 실리카겔 크로마토그래피 (3 내지 5% EtOH/EtOAc)로 정제하여 화합물 cxix (164 mg, 36%)를 수득하였다.

[1291] <화학식 cxix>



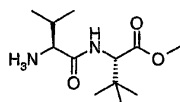
[1292]

[1293] 중간체 실시예 113 - 화합물 xx

[1294] N-Cbz-L-발린 (6.28 g, 25 mmol)을 DCM (30 ml)에 용해시켰다. HOBT (3.38 g, 25 mmol) 및 DCC (25 ml, 1 M 용액)을 상기 용액에 첨가하고 5 분 동안 교반시켰다. L-tert-루이신 메틸 에스테르 염산염 (25 ml, 1 M 용액)을 상기 혼합물에 첨가하고 N₂하에서 밤새 교반시켰다. 반응 혼합물을 EtOAc로 희석시키고, 1 N HCl, 포화된 NaHCO₃ 및 염수로 세척하였다. 유기상을 Na₂SO₄로 건조시키고, 여과하며 농축하였다. 잔류물을 20% 내지 30% EtOAc/헥산을 사용하여 크로마토그래피로 정제하여 화합물 xx (2.96g, 31%)를 수득하였다.

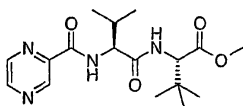
[1295] 중간체 실시예 114 - 화합물 xxi

[1296] 화합물 xx (2.95 g, 7.8 mmol)를 H₂하에서 MeOH (40 ml) 중 10% Pd/C (800 mg)를 사용하여 수소화시켜 상응하는



유리 아민 (1.9g, 100%)을 수득하였다. 2-피라진-카르복실산 (970 mg, 7.8 mmol)을 DCM (20 ml)에 용해시켰다. PyBOP (4.06 g, 7.8 mmol)를 상기 용액에 첨가하였다. DCM (15 ml) 중 유리 아민 (1.9 g, 7.8 mmol)을 상기 용액에 첨가한 후, DIPEA (1.36 ml, 7.8 mmol)를 첨가하였다. 생성된 혼합물을 밤새 N₂하에서 교반시켰다. 반응 혼합물을 EtOAc로 희석시키고, 유기상을 포화된 NaHCO₃ 및 염수로 세척하였다. 유기상을 농축시킨 후, 잔류물을 30% 내지 40% EtOAc/헥산을 사용하여 크로마토그래피로 정제하여 화합물 xxi (2.07g, 75.8%)을 수득하였다.

[1297] <화학식 xxi>

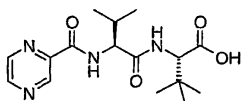


[1298]

[1299] 중간체 실시예 115 - 화합물 xxii

[1300] MeOH (20 ml) 및 1 N NaOH (3 당량)을 사용하여 화합물 xxi를 가수분해하여 화합물 xxii (1.82g, 93.9%)를 수득하였다.

[1301] <화학식 xxii>



[1302]

[1303] 중간체 실시예 116 - 화합물 xxiii

[1304] 화합물 xxii (895 mg, 2.66 mmol)를 DCM (10 ml)에 용해시켰다. DCC (3.2 mmol)를 용액에 첨가한 후, HOAt (435 mg, 3.2 mmol)를 첨가하였다. 이어서 THF (16 ml) 중 화합물 v (3.2 mmol)를 첨가하였다. 생성된 혼합물을 N₂하에서 밤새 교반시켰다. 반응 혼합물을 EtOAc로 희석시키고, 실리카겔을 통해 여과하며 농축하였다. 생성된 잔류물을 50% EtOAc/헥산을 사용하여 크로마토그래피로 정제하여 화합물 xxiii (730 mg, 54.8%)을 수득하였다.

[1305] 중간체 실시예 117 - 화합물 xxiv

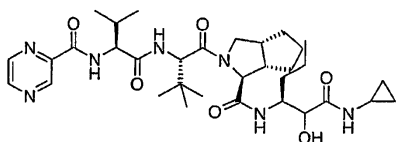
[1306] EtOH (5 ml) 및 1 N NaOH (1.5 당량)을 사용하여 화합물 xxiii를 가수분해하여 화합물 xxiv (690 mg, 100%)를

수득하였다.

[1307] 중간체 실시예 118 - 화합물 cxx

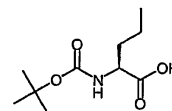
[1308] 화합물 xxiv (245 mg, 0.52 mmol)를 DCM (3 ml)에 용해시켰다. PyBOP (330 mg, 0.62 mmol)를 용액에 첨가한 후, 화합물 xiii' (120 mg, 0.62 mmol)을 첨가하였다. 생성된 혼합물에 DIPEA (0.11 ml, 0.62 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 N₂하에서 밤새 교반시켰다. 반응 혼합물을 EtOAc로 희석시키고, 유기상을 포화된 NaHCO₃ 및 염수로 세척하였다. 유기상을 농축시킨 후, 잔류물을 5% EtOH/EtOAc를 사용하여 크로마토그래피로 정제하여 화합물 cxx (220 mg, 60%)을 수득하였다.

[1309] <화학식 cxx>



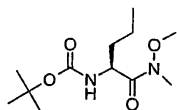
[1310]

[1311] 중간체 실시예 119 - 화합물 xiii'



[1312] Boc-NVA-OH (24.96 g, 114.9 mmol)를 THF (200 ml)에 용해시켰다. CDI (22.35, 137.8 mmol)를 용액에 조금씩 첨가하고, 용액을 30 분 동안 교반시켰다. N,O-디메틸히드록실아민 염산염 (12.33 g, 126.4 mmol)을 DMF (50 ml)에 용해시킨 후 DIPEA (22 ml, 126.4 mmol)를 용액에 첨가하였다. DMF 용액을 20 분 동안 실온에서 교반시킨 후 THF 용액을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 N₂하에서 일주 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 진공으로 농축하여 전체 부피가 100 ml이 되게 하였다. 상기 유기상을 1 N HCl, 포화된 NaHCO₃ 및 염수로 세척하였다. 유기상을 농축하여 조 화합물 cxxi (25.3 g)을 수득하였다.

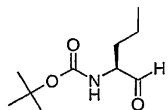
[1313] <화학식 cxxi>



[1314]

[1315] LAH (107.3 mmol)를 N₂하에서 1 M Et₂O 용액 중 건조 1-L 둥근 바닥 플라스크에 첨가하였다. 상기 용액을 0 °C로 냉각시킨 후 화합물 cxxi (97.5 mmol)을 Et₂O (100 ml)에 적가하였다. 첨가가 끝난 후, 생성된 혼합물을 30 분 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 0 °C에서 EtOAc (50 ml)를 천천히 첨가한 후, 5% KHSO₄ (50 ml) 용액을 천천히 첨가하여 켄칭시켰다. 상기 혼합물을 30 분 동안 교반시켰다. 유기상을 1 N HCl, 포화된 NaHCO₃ 및 염수로 세척하였다. 유기상을 농축하여 조 화합물 cxxii (22.28 g)를 수득하였다.

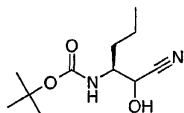
[1316] <화학식 cxxii>



[1317]

[1318] 화합물 cxxii를 MeOH (100 ml)에 용해시켰다. Na₂S₂O₄ (16.82 g, 96.6 mmol)를 물 (100 ml)에 용해시킨 후 0 °C의 화합물 cxxii의 용액에 첨가하였다. 상기 혼합물을 냉각기 (5 °C)에 밤새 두었다. 물 (100 ml) 중 KCN (7.53 g, 115.9 mmol)을 반응 혼합물에 첨가하고 실온에서 1 시간 30 분 동안 교반시켰다. 화합물을 EtOAc (3 × 100 ml)로 추출하였다. 유기상을 염수 (3 × 50 ml)로 세척하고, MgSO₄로 건조시키고, 여과하며 농축하여 조 화합물 cxxiii (15.86g)을 수득하였다.

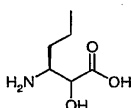
[1319] <화학식 cxxiii>



[1320]

[1321] 화합물 cxxiii (15.86 g)을 디옥산 (100 ml)에 용해시켰다. 농축 HCl (37%, 100 ml)을 상기 용액에 첨가한 후 아니솔 (10 ml)을 첨가하고 환류를 수행하였다 (110 °C). 반응물을 1 시간 30 분 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 용매를 진공으로 제거하여 건조 페이스트를 수득하였다. 잔류물을 밤새 고 진공하에서 건조시켜 조 화합물 cxxiv를 수득하였다.

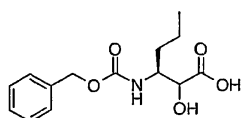
[1322] <화학식 cxxiv>



[1323]

[1324] 화합물 cxxiv (69.6 mmol)를 DMF (60 ml) 및 THF (60 ml)에 용해시켰다. N-(벤질-옥시카르보닐옥시)숙신이미드 (17.33 g, 69.6 mmol)를 혼합물에 첨가한 후, DIPEA (12.1 ml, 69.6 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 N₂하에서 밤새 교반시켰다. 혼합물을 농축하여 부피를 감소시키고 (50 ml) EtOAc로 희석하였다. 유기상을 0.1 N HCl (2 × 100 ml) 및 염수로 세척하여 화합물 cxxv (17.5 g, 5 단계를 거쳐 54.2%)를 수득하였다.

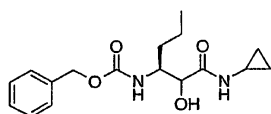
[1325] <화학식 cxxv>



[1326]

[1327] 화합물 cxxv (5.66 g, 20.14 mmol)를 DCM (60 ml)에 용해시켰다. PyBOP (12.57 g, 24.2 mmol) 및 HOBt (3.27 g, 24.2 mmol)를 상기 용액에 첨가하고 5 분 동안 교반시켰다. 생성된 혼합물을 0 °C로 냉각시킨 후, 시클로프로필아민 (1.67 ml, 24.2 mmol) 및 DIPEA (4.2 ml, 24.2 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온으로 데우면서 밤새 교반시켰다. 반응 혼합물을 0.1 N HCl, 포화된 NaHCO₃ 및 염수로 세척하였다. 이어서 유기상을 농축하고 70% EtOAc/헥산을 사용하여 크로마토그래피로 정제하여 화합물 cxxvi (3.18 g, 49.3%)를 수득하였다.

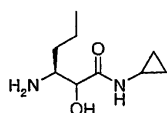
[1328] <화학식 cxxvi>



[1329]

[1330] 화합물 cxxvi (3.18 g, 9.94 mmol)을 MeOH (70 ml) 중 10% Pd/C (600 mg)를 사용하여 수소화하였다. 반응 혼합물을 H₂하에서 밤새 교반시키고, 셀리트로 여과하며 농축하여 조 화합물 xiii' (2.1 g, 100%)을 수득하였다.

[1331] <화학식 xiii'>



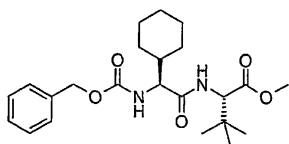
[1332]

[1333] 중간체 실시예 120 - 화합물 cxxvii

[1334] N-Cbz-L-시클로헥실글리신 (3 g, 10.3 mmol)을 DCM (36 ml)에 용해시켰다. HOAt (1.5 g, 11.28 mmol) 및 DCC (11.28 ml, 11.28 mmol)를 상기 용액에 첨가하고 5 분 동안 교반시켰다. L-tert-루이신 메틸 에스테르 염산염 (103 ml, 1 M 용액, 10.3 mmol)을 상기 혼합물에 첨가하고 N₂하에서 밤새 교반시켰다. 반응 혼합물을 셀리트로

여과하고, EtOAc로 행구며 농축하여 얻은 잔류물을 20% 내지 30% EtOAc/헥산을 사용하여 크로마토그래피로 정제하여 화합물 cxxvii (2.2 g, 52%)을 수득하였다.

[1335] <화학식 cxxvii>

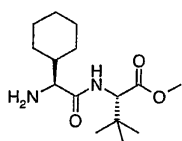


[1336]

[1337] 중간체 실시예 121 - 화합물 lxxix'

[1338] 화합물 cxxvii (2.2 g, 5.2 mmol)을 H₂하에서 MeOH (15 ml) 중 20% Pd(OH)₂/C (1 g)를 사용하여 수소화하여 화합물 lxxix' (1.4 g, 98%)를 수득하였다.

[1339] <화학식 lxxix'>



[1340]

[1341] 중간체 실시예 122 - 화합물 lxxx

[1342] 2-피라진카르복실산 (360 mg, 2.9 mmol)을 DCM (10 ml)에 용해시켰다. PyBOP (1.81 g, 3.5 mmol)를 용액에 첨가하였다. 이어서 THF (10 ml) 중 화합물 lxxix' (825 mg, 2.9 mmol)을 용액에 첨가한 후, DIPEA (0.5 ml, 2.9 mmol)를 첨가하였다. 생성된 혼합물을 N₂하에서 밤새 교반시켰다. 반응 혼합물을 EtOAc로 희석시키고, 유기상을 포화된 NaHCO₃ 및 염수로 세척하였다. 유기상을 농축하여 생성시킨 잔류물을 30% EtOAc/헥산을 사용하여 크로마토그래피로 정제하여 화합물 lxxx (780 mg, 69%)을 수득하였다.

[1343] 중간체 실시예 123 - 화합물 lxxxi

[1344] MeOH (10 ml) 및 1 N NaOH (3 당량)을 사용하여 화합물 lxxx을 가수분해하여 화합물 lxxxi (615 mg, 81.8%)을 수득하였다.

[1345] 중간체 실시예 124 - 화합물 lxxxii

[1346] 화합물 lxxxi (610 mg, 1.6 mmol)을 DCM (10 ml)에 용해시켰다. 이어서 DCC (1.94 ml, 1.94 mmol)를 용액에 첨가한 후, HOAt (270 mg, 1.94 mmol)를 첨가하였다. 이어서 THF (19.4 ml) 중 화합물 v (1.94 mmol)를 용액에 첨가하였다. 생성된 혼합물을 N₂하에서 2 일 밤에 걸쳐 교반시켰다. 반응 혼합물 EtOAc로 희석시키고, 실리카겔로 여과하며, 농축하였다. 생성된 잔류물을 40% EtOAc/헥산을 사용하여 크로마토그래피하여 화합물 lxxxii (450 mg, 83.4%)을 수득하였다.

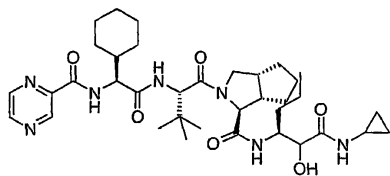
[1347] 중간체 실시예 125 - 화합물 lxxxiii

[1348] EtOH (10 ml) 및 1 N NaOH (3 당량)을 사용하여 화합물 lxxxii을 가수분해하여 화합물 lxxxiii (650 mg, 99%)을 수득하였다.

[1349] 중간체 실시예 126 - 화합물 cxxviii

[1350] 화합물 lxxxiii (400 mg, 0.78 mmol)을 DCM (5 ml)에 용해시켰다. PyBOP (610 mg, 1.2 mmol)를 용액에 첨가한 후, 화합물 xiii' (230 mg, 1.2 mmol)을 첨가하였다. 생성된 혼합물에 DIPEA (0.2 ml, 1.2 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 N₂하에서 밤새 교반시켰다. 반응 혼합물을 EtOAc로 희석시키고, 유기상을 포화된 NaHCO₃ 및 염수로 세척하였다. 유기상을 농축한 후, 잔류물을 100% EtOAc 내지 5% EtOH/EtOAc 구배를 사용하여 크로마토그래피로 정제하여 화합물 cxxviii (365 mg, 68.7%)을 수득하였다.

[1351] <화학식 cxxviii>

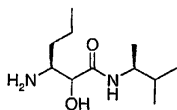


[1352]

[1353] 중간체 실시예 127 - 화합물 cxxx

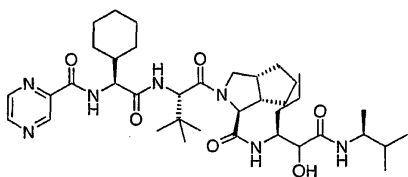
[1354] 화합물 lxxxiii (365 mg, 0.7 mmol)을 DCM (5 ml)에 용해시켰다. PyBOP (440 mg, 0.84 mmol)를 용액에 첨가한 후, THF (8.4 ml) 중 화합물 cxxix (0.84 mmol)를 첨가하였다. 생성된 혼합물에 DIPEA (0.1 ml, 0.84 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 N₂하에서 밤새 교반시켰다. 반응 혼합물을 EtOAc로 희석시키고, 유기상을 포화된 NaHCO₃ 및 염수로 세척하였다. 유기상을 농축시킨 후, 생성된 잔류물을 100% EtOAc를 사용하여 크로마토그래피로 정제하여 화합물 cxxx (350 mg, 70%)을 수득하였다.

[1355] <화학식 cxxix>



[1356]

[1357] <화학식 cxxx>

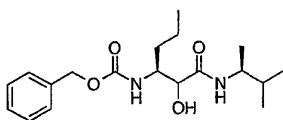


[1358]

[1359] 중간체 실시예 128 - 화합물 cxxxi

[1360] 화합물 cxxv (2.54 g, 9.05 mmol)를 DCM (30 ml)에 용해시켰다. PyBOP (5.65 g, 10.9 mmol) 및 HOBT (1.47 g, 10.9 mmol)를 용액에 첨가하고 5 분 동안 교반시켰다. 생성된 혼합물을 0 °C로 냉각시킨 후, (S)-(+)-3-메틸-2-부틸아민 (1.27 ml, 10.9 mmol) 및 DIPEA (1.9 ml, 10.9 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온으로 데우면서 밤새 교반시켰다. 유기상을 0.1 N HCl, 포화된 NaHCO₃ 및 염수로 세척하였다. 유기상을 농축한 후, 생성된 잔류물을 30% EtOAc/헥산을 사용하여 크로마토그래피로 정제하여 화합물 cxxxi (1.44 g, 45.5%)을 수득하였다.

[1361] <화학식 cxxxi>

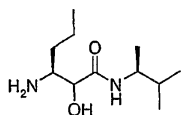


[1362]

[1363] 중간체 실시예 129 - 화합물 cxxix

[1364] 화합물 cxxxi (1.3 g, 3.7 mmol)을 MeOH (40 ml) 중 10% Pd/C (500 mg)을 사용하여 수소화하였다. 반응 혼합물을 H₂하에서 밤새 교반시켰다. 반응 혼합물을 셀리트로 여과하고 유기상을 농축하여 조 화합물 cxxix (800 mg, 100%)을 수득하였다.

[1365] <화학식 cxxix>

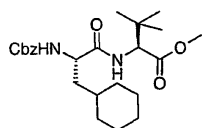


[1366]

[1367] 중간체 실시예 130 - 화합물 cxxxiv

[1368] 화합물 cxxxii (1.6 g, 3.7 mmol)를 메탄올 (12 ml)에 용해시켰다.

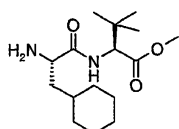
[1369] <화학식 cxxxii>



[1370]

[1371] 이것을 N₂로 완전히 세척하고 탄소 (0.74 g) 중 10 중량%의 Pd(OH)₂ 를 첨가하고, 상기 혼합물을 밤새 수소화한 후 완성된 반응 혼합물을 TLC (30 % EtOAc/헥산)로 확인하였다. 상기 용액을 여과하여 고체 물질과 분리한 후 농축시켜, 다음 단계에서 더 정제하지 않고 사용되는 무색의 오일 (100 %)로서의 화합물 cxxxiii을 수득하였다.

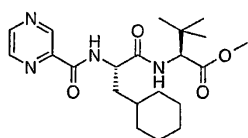
[1372] <화학식 cxxxiii>



[1373]

[1374] 2-피라진카르복실산 (400 mg, 3.2 mmol, 1.1 eq)을 DCM/THF (4 ml/4 ml)에 용해시킨 후, HOAt (440 mg, 3.2 mmol)과 DCC (3.3 ml, DCM 중 1 M)를 첨가하였다. 실온에서 20 분 동안 교반시킨 후, 전 단계에서 수득한 화합물 cxxxiii (0.96 g, 3.2 mmol)를 DCM (6.4 ml)에 용해시키고, 이것을 상기 활성화된 혼합물에 첨가하였다. 실온에서 2 일간 교반한 후, 반응 혼합물을 셀리트로 여과하고 농축시켜 얻은 잔류물을 컬럼 크로마토그래피 (50 % EtOAc/헥산)로 정제하여 백색 고체 (1.06 g, 83 %)로서의 화합물 cxxxiv을 수득하였다.

[1375] <화학식 cxxxiv>

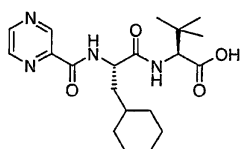


[1376]

[1377] 중간체 실시예 131 - 화합물 cxxxv

[1378] 화합물 cxxxiv (1.06 g, 2.6 mmol)를 메탄올 (10 ml)에 용해시키고, 2 N NaOH (aq)(4 ml, 8 mmol)를 첨가하였다. 상기 용액을 밤새 실온에서 교반한 후, 가수분해 반응의 종결을 TLC (50 % EtOAc/헥산)로 확인하였다. 5 N HCl을 사용하여 상기 용액을 pH 3으로 산성화시키고 EtOAc로 희석한 후 유기층을 추출하였다. 추출된 유기층을 염수로 세척하고 MgSO₄로 건조하여 농축시켜서 화합물 cxxxv (100 %)를 수득하였다.

[1379] <화학식 cxxxv>

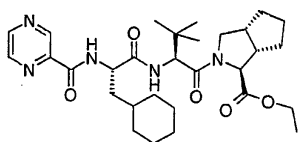


[1380]

[1381] 중간체 실시예 132 - 화합물 cxxxvi

[1382] 실온에서 화합물 cxxxv (1.44 g, 3.7 mmol)의 DCM 용액 (8 ml)에 HOAt (500 mg, 3.7 mmol)를 첨가한 후, DCM (3.7 ml, 3.7 mmol) 중 1M DCC 용액을 첨가하였다. 실온에서 30 분 동안 교반한 후, 화합물 v (3.7 mmol)의 THF 용액 (18.5 ml, 0.2 M)에 상기 HOAt-활성화된 산을 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 상온에서 밤새 교반시켰다. 상기 반응 혼합물을 셀리트로 여과하였다. 상기 여과물을 EtOAc (120 ml)로 희석시킨 후, 물과 염수로 세척하였다. 유기층을 건조 및 농축하고 실리카겔 크로마토그래피 (70 % EtOAc/헥산)로 정제하여 황색 오일의 화합물 cxxxvi (1 g, 71 %)를 수득하였다.

[1383] <화학식 cxxxvi>

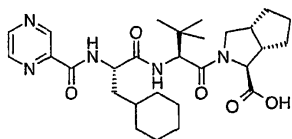


[1384]

[1385] 중간체 실시예 133 - 화합물 cxxxvii

[1386] 화합물 cxxxvi (1 g, 1.8 mmol)의 에탄올 용액 (8 ml)에 2 N NaOH 수용액 (2.7 ml, 5.4 mmol)을 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반한 후, 5 N HCl을 사용하여 pH 3으로 산성화하고 EtOAc로 희석한 후 유기층을 추출하였다. 추출한 유기층을 염수로 세척하고 MgSO₄로 건조하여 농축시켜서 화합물 cxxxvii (88 %)를 수득하였다.

[1387] <화학식 cxxxvii>

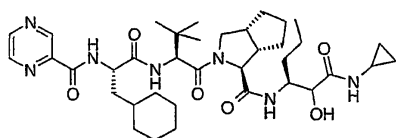


[1388]

[1389] 중간체 실시예 133 - 화합물 cxxxviii

[1390] 화합물 cxxxvii (350 mg, 0.6 mmol)의 DCM 용액 (10 ml)에 PyBOP (450 mg, 0.86 mmol)를 첨가하였다. 상기 용액을 실온에서 밤새 교반시켰다. 이 용액에 화합물 xiii' (160 mg, 0.86 mmol)를 첨가한 후 DIPEA (0.23 ml, 1.3 mmol)를 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반한 후 물 (25 ml)로 30 분 동안 켄칭시켰다. 이 혼합물을 EtOAc로 추출하였다. 황색 오일로서 농축시키기 전에, 상기 추출한 유기층을 염수로 세척하고 MgSO₄로 건조시켰다. 실리카겔 크로마토그래피 (5 % EtOH/EtOAc)로 정제하여 화합물 cxxxviii (407 mg, 88 %)를 수득하였다.

[1391] <화학식 cxxxviii>

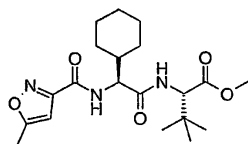


[1392]

[1393] 중간체 실시예 134 - 화합물 cxxxix

[1394] 5-메틸이소카졸-3-카르복실산 (200 mg, 2.05 mmol)을 DCM (5 ml)에 용해시켰다. 상기 용액에 PyBOP (1.07 g, 2.05 mmol)를 첨가하였다. 상기 용액에 DCM (5 ml) 중 화합물 lxxix' (582 mg, 2.05 mmol)를 첨가한 후, DIPEA (0.36 ml, 2.05 mmol)를 첨가하였다. 결과의 혼합물을 N₂ 하에서 밤새 교반시켰다. 이 반응 혼합물을 EtOAc로 희석하고 유기층을 포화된 NaHCO₃와 염수로 세척하였다. 상기 유기층을 농축시키고, 잔류물을 30 % EtOAc/헥산을 사용한 크로마토그래피로 정제하여 화합물 cxxxix (495 mg, 61.4 %)를 수득하였다.

[1395] <화학식 cxxxix>

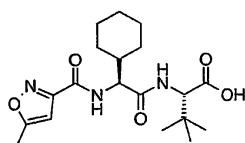


[1396]

[1397] 중간체 실시예 135 - 화합물 cxxxx

[1398] 화합물 cxxxix을 메탄올 (10 ml)과 1 N NaOH (3 eq)로 가수분해시켜 화합물 cxxxx (430 mg, 90 %)를 수득하였다.

[1399] <화학식 cxxxx>

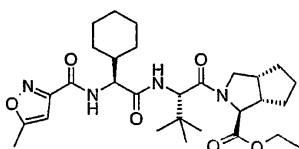


[1400]

[1401] 중간체 실시예 136 - 화합물 cxxxxi

[1402] 화합물 cxxxx (380 mg, 1 mmol)를 DCM (5 ml)에 용해시켰다. 상기 용액에 DCC (1.2 mmol)를 첨가한 후, HOAc (165 mg, 1.2 mmol)를 첨가하였다. 화합물 v (1.2 mmol)를 THF (12 ml)에 첨가하였다. 결과의 혼합물을 N₂ 하에서 밤새 교반시켰다. 상기 반응 혼합물을 EtOAc로 희석하고 실리카겔로 여과한 후 농축시켰다. 잔류물을 35 % EtOAc/헥산을 사용한 크로마토그래피로 정제하여 화합물 cxxxxi (320 mg, 58 %)를 수득하였다.

[1403] <화학식 cxxxxi>

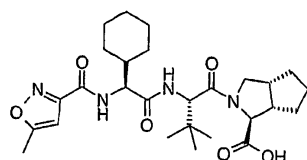


[1404]

[1405] 중간체 실시예 137 - 화합물 cxxxxii

[1406] 화합물 cxxxxi을 에탄올 (10 ml)과 1 N NaOH (3 eq)를 사용하여 가수분해시켜 화합물 cxxxxii (730 mg, 94.3 %)를 수득하였다.

[1407] <화학식 cxxxxii>

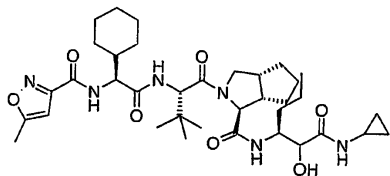


[1408]

[1409] 중간체 실시예 138 - 화합물 cxxxxiii

[1410] 화합물 cxxxxii (240 mg, 0.46 mmol)를 DCM (5 ml)에 용해시켰다. 상기 용액에 PyBOP (295 mg, 0.56 mmol)를 첨가한 후, 화합물 xiii' (110 mg, 0.56 mmol)를 첨가하였다. 결과의 혼합물에 DIPEA (0.1 ml, 0.56 mmol)를 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 N₂ 하에서 밤새 교반시켰다. 이 반응 혼합물을 EtOAc로 희석한 후, 유기층을 포화된 NaHCO₃와 염수로 세척하였다. 상기 유기층을 농축시킨 후, 잔류물을 90 % EtOAc/헥산을 사용한 크로마토그래피로 정제하여 화합물 cxxxxiii (168 mg, 53 %)를 수득하였다.

[1411] <화학식 cxxxxiii>

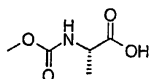


[1412]

[1413] 중간체 실시예 139 - 화합물 cxxxxiv

[1414] NaOH (2 N, 42.1 ml, 84.2 mmol) 용액에 L-알라닌 (5.00 g, 56.1 mmol)을 5 °C에서 첨가하였다. 10 분간 교반한 후, 메틸 클로로포메이트 (6.5 ml, 84.2 mmol)과 NaOH (2 N, 42.1 ml, 84.2 mmol)를 동시에 첨가하였다. 상기 용액을 얼음 조에서 2 시간 동안 교반시킨 후, 실온에서 1 시간 동안 더 교반시켰다. 상기 혼합물을 Et₂O (2 x 50 ml)로 세척하고, 수성층을 5 N HCl을 사용하여 pH 2까지 중화시킨 후 EtOAc (3 x 50 ml)로 추출하였다. 추출된 유기층을 염수로 세척하고 MgSO₄로 건조한 후 농축시켜 무색 오일의 화합물 cxxxxiv와 N-카보메톡시-L-알라닌 (4.54 g, 54 %)을 수득하였다.

[1415] <화학식 cxxxxiv>

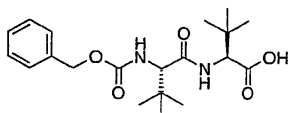


[1416]

[1417] 중간체 실시예 140 - 화합물 cxxxxvi

[1418] THF 중 화합물 cxxxxv (3.57 g, 9.44 mmol)의 용액을 5 °C에서 HOAt (1.28 g, 9.44 mmol)로 처리한 후, DCC (9.50 ml, 9.50 mmol)를 첨가하였다.

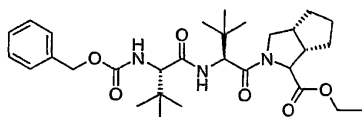
[1419] <화학식 cxxxxv>



[1420]

[1421] 얼음 조에서 45 분 동안 교반한 후, THF 중 화합물 v (104 ml, 10.4 ml)의 용액을 첨가하였다. 상기 혼합물을 상온에서 밤새 교반시켰다. 이 혼합물을 5 °C로 냉각한 후, 포화된 NaHCO₃로 키텅시켰다. 침전된 DCU를 제거하기 위해 여과하고, 상기 혼합물을 EtOAc (100 ml)에 용해시키고 포화된 NaHCO₃와 염수로 세척한 후, MgSO₄로 건조하고 농축시켜 얻은 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피 (25 % EtOAc/헥산)로 정제하여 점착성 포말의 화합물 cxxxxvi (2.91 g, 57 %)를 수득하였다.

[1422] <화학식 cxxxxvi>



[1423]

[1424] 중간체 실시예 141 - 화합물 cviii

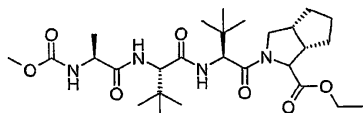
[1425] N₂ 하에 얼음 조에서 냉각시킨, 메탄올 (25 ml) 중 화합물 cxxxxvi 용액에 Pd/C를 천천히 첨가하였다. 상기 혼합물을 1 기압에서 밤새 수소화시켰다. 촉매를 여과하여 제거하고, 여과물에 5 ml DMF를 처리한 후 진공으로 건조시켜 화합물 cviii를 수득하였다.

[1426] 중간체 실시예 142 - 화합물 cxxxxvii

[1427] 얼음 조에서 냉각시킨 THF 중 화합물 cxxxxiv (0.298 g, 2.03 mmol)과 HOAt (0.276 g, 2.03 mmol)의 용액에

DCC (2.05 ml, 2.05 mmol)를 처리하였다. 얼음 조에서 0.5 시간 동안 교반한 후, THF 중 화합물 cviii 용액을 첨가하고 DIPEA (0.39 ml, 2.2 mmol)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 실온에서 밤새 교반한 후, 얼음 조에서 냉각시키고 포화된 NaHCO_3 로 켄칭시켰다. 침전된 DCU를 여과하고 여과물을 EtOAc (100 ml)에 용해시켰다. 유기층을 포화된 NaHCO_3 와 염수로 세척하고 MgSO_4 로 건조시켰다. 유기층을 제거한 후, 잔류물을 실리카 컬럼 크로마토그래피 (60 % EtOAc/헥산)로 정제하여 점착성 포말의 화합물 cxxxxvii (0.47 g, 48 %)를 수득하였다.

[1428] <화학식 cxxxxvii>

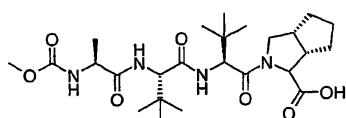


[1429]

[1430] 중간체 실시예 143 - 화합물 cxxxxviii

[1431] 에탄올 (5 ml) 중 화합물 cxxxxvii (0.47 g, 0.847 mmol) 용액에 NaOH (2 N, 1.31 ml, 2.62 mmol)를 5 °C에서 첨가하였다. 상기 혼합물을 실온에서 4 시간 동안 교반시켰다. 상기 용액을 HCl (1 N)을 사용하여 pH 2까지 산성화시키고, 에탄올을 회전 증발시켜 제거하였다. 상기 혼합물을 EtOAc (3 x 30 ml)로 추출하고, 화합된 추출물을 염수로 세척하고, MgSO_4 로 건조시켰다. 상기 용매를 제거하고 잔류물을 진공으로 건조시켜, 점착성 포말의 화합물 cxxxxviii (0.366 g, 82 %)를 수득하였다.

[1432] <화학식 cxxxxviii>

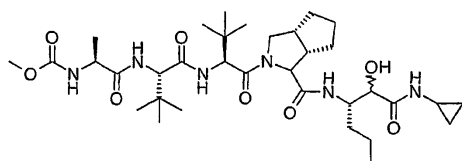


[1433]

[1434] 중간체 실시예 144 - 화합물 cil

[1435] DCM 중 화합물 cxxxxviii (0.366 g, 0.718 mmol)의 용액을 얼음 조에서 냉각시키고 PyBOP (0.599 g, 1.15 mmol)를 처리하였다. 실온에서 0.5 시간 동안 교반한 후 상기 혼합물을 얼음 조에서 냉각시키고, THF 중 화합물 xiii' (0.200 g, 1.08 mmol)과 DIPEA (0.250 ml, 1.44 mmol)를 처리하였다. 상기 혼합물을 실온에서 밤새 교반한 후 NH_4Cl 용액으로 켄칭시켰다. 상기 용매를 농축시킨 후 상기 혼합물을 EtOAc (100 ml)에 용해시켰다. 유기층을 포화된 NaHCO_3 와 염수로 세척하고 MgSO_4 로 건조시켰다. 유기 용매를 제거한 후, 잔류물을 컬럼 크로마토그래피 (5 % 에탄올/EtOAc)로 정제하여 화합물 cil (0.35 g, 72 %)를 수득하였다.

[1436] <화학식 cil>



[1437]

[1438] 중간체 실시예 145 - 화합물 cxxi

[1439] N-Boc-Nva-OH (화합물 1) (8.68 g, 40 mmol)의 THF 용액 (85 ml)에 CDI (7.79 g, 48 mmol)를 첨가하였다. 실온에서 30 분 동안 교반한 후 상기 용액에, N,O-디메틸-히드록실아민 히드로클로리드 (4.25 g, 44 mmol)과 DIPEA (7.66 ml, 44 mmol)를 포함하는 DMF 용액 (25 ml)을 처리하였다. 상기 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반시켰다. 이 반응 혼합물을 진공에서 농축하였다. 결과의 잔류물을 EtOAc (300 ml)로 희석하였다. 상기 용액을 순차적으로 0.1 N HCl (50 ml), 포화된 NaHCO_3 (3 x 50 ml) 및 염수를 사용하여 세척하였다. 진공에서 유기층을 농축하여 얻은 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피 (40 % EtOAc/헥산)로 정제하여 화합물 cxxi (9.38 g, 94 %)를 수득하였다.

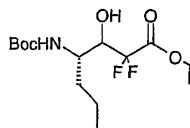
[1440] 중간체 실시예 146 - 화합물 cxxii

[1441] 0 °C로 냉각된 화합물 cxxi (9.38 g, 31.9 mmol)의 디에틸 Et₂O 용액 (50 ml)에 LAH (34.7 ml, 1 M, 34.7 mmol)를 천천히 첨가하였다. LAH를 첨가하는 동안 플라스크의 온도를 5 °C 이하로 유지시켰다. 첨가 후, 상기 반응 혼합물에 EtOAc (20 ml)를 첨가하여 과량의 LAH를 킬링시켰다. 온도를 5 °C 이하로 유지하기 위하여 수성 KHSO₄ (5 %, 20 ml)를 적가하였다. 유기층을 분리한 후, 순차적으로 1 N HCl (3 x 30 ml), 포화된 NaHCO₃ (3 x 30 ml) 및 염수를 사용하여 세척하였다. 상기 유기층을 농축시키고 진공에서 건조시켜 조 화합물 cxxii (5.18 g, 69 %)를 수득하였다.

[1442] 중간체 실시예 147 - 화합물 cl

[1443] Zn (2.75 g, 42 mmol)의 THF (25 ml) 현탁액에 EtOC(O)CF₂Br 0.2 ml을 환류시켜 첨가하였다. 그 후 화합물 cxxii (3.05 g, 15.0 mmol)의 THF 용액 (25 ml)과 EtOC(O)CF₂Br (4.84 ml, 37.5 mmol)을 천천히 첨가하였다. 상기 두 시약의 첨가가 끝난 후, 상기 반응 혼합물을 30 분 동안 더 환류시켰다. 상기 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고 DCM (200 ml)으로 희석하였다. 유기층을 1 N KHSO₄로 세척하였다. 상기 유기층을 농축시키고 진공에서 건조시켜 얻은 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피 (20 % EtOAc/헥산)로 정제하여 화합물 cl (2.78 g, 57 %)을 수득하였다.

[1444] <화학식 cl>



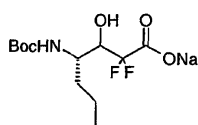
[1445]

[1446] 상기 제조방법은 문헌 [Thaisrivongs et al., J.Med.Chem., 29, 2080-2087 (1986)]에 개시된 것과 본질적으로 동일하다.

[1447] 중간체 실시예 148 - 화합물 cli

[1448] 화합물 cl (2.78 g, 8.53 mmol)의 THF 용액 (40 ml)에 1 N NaOH (12.8 ml, 12.8 mmol)를 처리하였다. 실온에서 밤새 교반한 후, 진공으로 용매를 일부 제거하였다. 남아있는 반응 혼합물을 물 (50 ml)로 희석하고 동결 건조시켜, 나트륨 염으로서의 조 화합물 cli (2.82 g, >100 %)를 수득하였다.

[1449] <화학식 cli>



[1450]

[1451] 상기 제조방법은 문헌 [Thaisrivongs et al., J.Med.Chem., 29, 080-2087 (1986)]에 개시된 것과 본질적으로 동일하다.

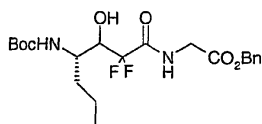
[1452] 중간체 실시예 149 - 화합물 clii

[1453] 조 화합물 cli (516 mg, 1.61 mmol)의 DCM 용액 (10 ml)에 HOBt (436 mg, 3.23 mmol)과 DIC (0.328 ml, 2.09 mmol)를 처리하였다. 실온에서 30 분 동안 교반한 후, 상기 반응 혼합물을, 글리신 벤질에스테르-톨루엔술폰산 염 (815 mg, 2.42 mmol) 과 DIPEA (0.422 ml, 2.42 mmol)를 포함하는 DCM 용액 (5 ml)으로 처리하였다. 실온에서 12 시간 동안 교반한 후, 상기 반응 혼합물을 물로 킬링시키고 EtOAc를 사용하여 추출하였다. 진공에서 유기층을 건조 및 농축시키고 실리카겔 크로마토그래피 (40 % EtOAc/헥산)로 정제하여 화합물 clii (495 mg, 69 %)를 수득하였다.

¹H NMR 화합물 clii의 (400 MHz, CDCl₃): δ 7.29-7.21 (m, 5H), 5.16 (bs, 2H), 4.89 (bs, 1H), 4.20-3.90 (m, 4H), 3.80 (bs, 1H), 1.75-1.42 (m, 4H), 1.38 (s, 9H), 0.87 (m, 3H).

[1454]

[1455] <화학식 clii>



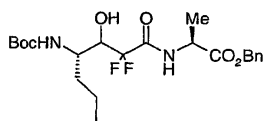
[1456]

[1457] 화합물 cli를 개시물질로 하여, 화합물 cli에 기재된 방법과 동일하게 화합물 cliii (83 %)와 cliv (50 %)를 제조하였다.

¹H NMR 화합물 cliii의 (400 MHz, CDCl₃): δ 7.49 (bs, 1H), 7.34-7.24 (m, 5H), 5.13 (AB q, J = 12.2 Hz, J' = 23.9 Hz, 2H), 4.88 (bd, J = 8.8 Hz, 1H), 4.53 (m, 1H), 3.98-3.91 (m, 2H), 3.82 (m, 1H), 1.65-1.20 [m, 16H, 1.37에서의 단일선 포함 (9H)], 0.86 (t, J = 7.3 Hz, 3H).

[1458]

[1459] <화학식 cliii>

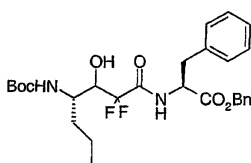


[1460]

¹H NMR 화합물 cliv의 (400 MHz, CDCl₃): δ 7.60-7.0 (m, 10H), 5.30-5.00 (m, 2H), 5.00-4.75 (m, 2H), 4.15-3.70 (m, 3H), 3.30-3.00 (m, 2H), 1.75-1.20 [m, 13H, 1.36에서의 단일선 포함 (9H)], 0.86 (bs, 3H).

[1461]

[1462] <화학식 cliv>



[1463]

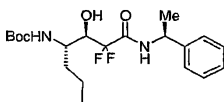
[1464] 중간체 실시예 150 - 화합물 clv

[1465] DCM (10 ml)과 조 화합물 cli (1 g, 3.13 mmol)의 THF (5 ml) 용액에 HOBt (634 mg, 4.69 mmol)와 EDCI (781 mg, 4.07 mmol)를 첨가한 후, (s)-α- 메틸벤질아민 (0.604 ml, 4.69 mmol)을 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반한 후 물로 켄칭시켰다. 이 반응 혼합물을 EtOAc로 추출하였다. 유기층을 염수로 세척하고 Na₂SO₄를 사용하여 건조시켰다. 상기 유기층을 진공에서 농축시켜 얻은 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피 (20 % EtOAc/헥산)로 정제하여 화합물 clv (459 mg, 37 %)를 수득하였다.

¹H NMR 화합물 clv의 (400 MHz, CDCl₃): δ 7.32-7.21 (m, 6H), 5.00 (m, 1H), 4.75 (m, 1H), 3.94 (m, 2H), 3.70 (m, 1H), 1.65-1.15 [m, 16H, 1.51에서의 이중선 (J=6.8 Hz, 3H), 1.39에서의 단일선 포함 (9H)], 0.82 (m, 3H).

[1466]

[1467] <화학식 clv>

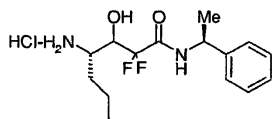


[1468]

[1469] 중간체 실시예 151 - 화합물 clvi

[1470] 화합물 clv (220 mg, 0.55 mmol)를 디옥산 (10 ml) 중 4 N HCl에 용해시켰다. 상기 반응 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반한 후, 진공에서 농축시켜 HCl 염으로서의 조 화합물 clvi (~100 %)를 수득하였다.

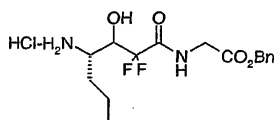
[1471] <화학식 clvi>



[1472]

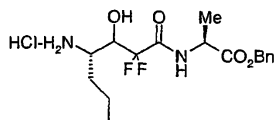
[1473] 화합물 clvi의 제조에서 기재한 방법에 따라, 조 화합물 cli로부터 화합물 clvii, clviii, 및 clix 를 거의 동량으로 수득하였다.

[1474] <화학식 clvii>



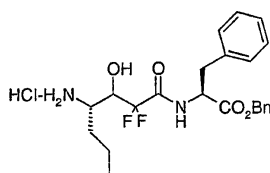
[1475]

[1476] <화학식 clviii>



[1477]

[1478] <화학식 clix>

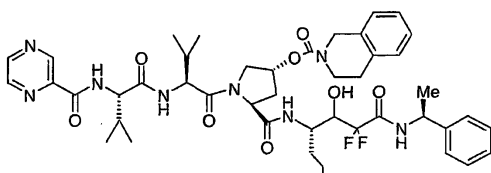


[1479]

[1480] 중간체 실시예 152 - 화합물 clx

[1481] HCl 염의 형태인 화합물 vii (96 mg, 0.144 mmol)의 DCM 용액 (4 ml)에 PyBOP (120 mg, 0.23 mmol)과 DIPEA (0.1 ml, 0.576 mmol)를 처리하였다. 실온에서 30 분 동안 교반한 후 상기 용액을, 화합물 clv (0.288 mmol)과 DIPEA (0.2 ml, 1.152 mmol)를 포함하는 THF 용액 (4 ml)에 처리하였다. 상기 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반시켰다. 이 반응 혼합물을 EtOAc (50 ml)로 희석하고, 유기층을 NaHCO₃와 염수로 세척하였다. 상기 유기층을 진공에서 농축하여 얻은 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피 (80 % EtOAc/헥산)로 정제하여 화합물 clx (113 mg, 89 %)를 수득하였다.

[1482] <화학식 clx>



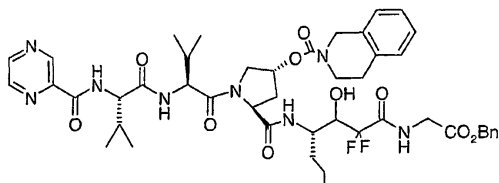
[1483]

[1484] 중간체 실시예 153 - 화합물 clxi

[1485] 화합물 vii (140 mg, 0.235 mmol)의 DCM 용액 (6 ml)에 PyBOP (196 mg, 0.376 mmol)를 30 분 동안 처리하였다. 상기 용액에 화합물 clvii (~0.47 mmol)의 THF 용액 (6 ml)과 DIPEA (0.327 ml, 1.88 mmol)를 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반한 후, 물 (30 분)로 켄칭시켰다. 이 반응 혼합물을 EtOAc (50 ml)로 추출하였다. 유기층을 NaHCO₃와 염수로 세척하였다. 화합된 수성층은 EtOAc (50 ml)를 사용하여 역추출하였다. 화합된 유기층을 진공에서 건조 및 농축시켰다. 결과의 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피

(80-100 EtOAc/헥산)로 정제하여 화합물 clxi (104 mg, 48 %)를 수득하였다.

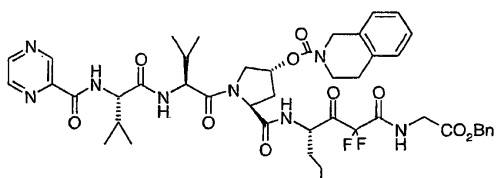
<화학식 clxi>



중간체 실시예 154 - 화합물 clxii

화합물 clxi (280 mg, 0.304 mmol)의 DCM 용액 (10 ml)에 DMP 시약 (193 mg, 0.456 mmol)을 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 실온에서 3 시간 동안 교반한 후, 10 % Na₂SO₃를 사용하여 켄칭시켰다. 유기층을 NaHCO₃와 염수로 세척하였다. 상기 유기층을 진공에서 건조 및 농축시켜 얻은 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피 (80-100 % EtOAc/헥산)로 정제하여 화합물 clxii (271 mg, 97 %)를 수득하였다.

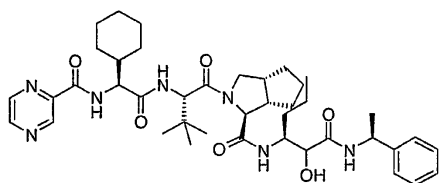
<화학식 clxii>



중간체 실시예 155 - 화합물 clxiii

화합물 lxxxiii (220 mg, 0.43 mmol)를 DCM (5 ml)에 용해시켰다. PyBOP (270 mg, 0.51 mmol)를 DCM 용액에 첨가한 후 5 분 동안 교반시켰다. THF (5.1 ml) 중 화합물 xxxvi' (0.51 mmol)를 상기 용액에 적가하였다. DIPEA (0.09 ml, 0.51 mmol)를 반응 혼합물에 첨가하고, N₂ 하에서 밤새 교반시켰다. 다음 날, 상기 반응 혼합물을 EtOAc로 희석하고, 포화된 NaHCO₃로 세척한 후 염수로 세척하였다. 70 % 내지 90 % 구배의 EtOAc/헥산으로 정제하여 화합물 clxiii (180 mg, 56 %)를 수득하였다.

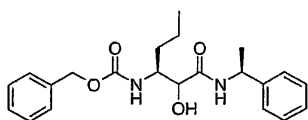
<화학식 clxiii>



중간체 실시예 156 - 화합물 clxiv

화합물 cxxv (2.09 g, 7.4 mmol)를 DCM (20 ml)에 용해시켰다. PyBOP (4.64 g, 8.9 mmol)와 HOBt (1.2 g, 8.9 mmol)를 상기 용액에 첨가하고 5 분 동안 교반시켰다. 결과의 혼합물을 0 °C로 냉각시키고, 여기에 S(-)-α-메틸벤질아민 (1.15 ml, 8.9 mmol)과 DIPEA (1.55 ml, 8.9 mmol)를 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 실온까지 가온시켜 밤새 교반시켰다. 상기 반응 혼합물을 0.1 N HCl, 포화된 NaHCO₃ 및 염수로 세척하였다. 30 % EtOAc/헥산으로 정제하여 화합물 clxiv (1.6 g, 56.3 %)를 수득하였다.

[1498] <화학식 clxiv>



[1499]

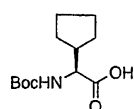
[1500] 중간체 실시예 157 - 화합물 xxxvi'

[1501] 화합물 clxiv (1.48 g, 3.8 mmol)를 메탄올 (50 ml) 중 10 % Pd/C (300 mg)으로 수소화시켰다. 상기 반응 혼합물을 H₂ 하에서 밤새 교반시켰다. 이 반응 혼합물을 셀리트로 여과한 후 농축하여 화합물 xxxvi' (895 mg, 94.2 %)를 수득하였다.

[1502] 중간체 실시예 158 - 화합물 clxvi

[1503] 화합물 clxv (2 g, 8.2 mmol)의 DCM 용액 (15 ml)에 HOAt (1.34 g, 9.84 mmol)와 DCC (9.84 ml, 1 M, 9.84 mmol)를 첨가하였다.

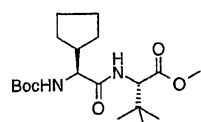
[1504] <화학식 clxv>



[1505]

[1506] 실온에서 20 분 동안 교반한 후, 상기 용액에 tert-L-루신 메틸 에스테르-히드로클로리드 (9.84 mmol)와 DIPEA (1.72 ml, 9.84 mmol)를 포함하는 THF 용액 (9.84 ml)을 첨가하였다. 그 후 DMAP (1 g, 8.2 mmol)를 실온에서 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반시켰다. 이 후 제조 상의 수용액을 이용한 표준 단계와 실리카겔 크로마토그래피 (20 % EtOAc/헥산)를 통하여 화합물 clxvi (1.75 g, 58 %)를 수득하였다.

[1507] <화학식 clxvi>

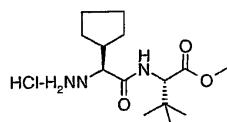


[1508]

[1509] 중간체 실시예 159 - 화합물 clxvii

[1510] 화합물 clxvi (1.75 g, 4.73 mmol)의 THF 용액 (35 ml)에 디옥산 (11.8 ml, 47.3 mmol) 중 4 N HCl 용액을 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반시켰다. 그 후, 감압 하에서 용매를 제거하여 조 화합물 clxvii (~100 %)를 수득하였고, 이것을 DMF에 다시 용해시켜 다음 단계에서 바로 사용하였다.

[1511] <화학식 clxvii>

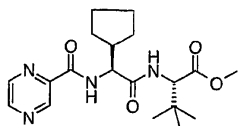


[1512]

[1513] 중간체 실시예 160 - 화합물 clxviii

[1514] 2-피라진카르복실산 (447 mg, 3.6 mmol)과 PyBOP (1.87 g, 3.6 mmol)를 포함한 DCM 용액 (15 ml)에 화합물 clxvii (811 mg, 3 mmol)의 DMF 용액 (15 ml)을 첨가하였다. 그 후, 결과의 혼합물에 DIPEA (0.63 ml, 3.6 mmol)를 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반시킨 후, 물로 켄칭시켰다. 이 반응 혼합물을 EtOAc로 추출하였다. 유기 층을 염수로 세척하고 진공에서 농축시켜 얻은 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피 (40 % EtOAc/헥산)로 정제하여 화합물 clxviii (0.93 g, 82 %)를 수득하였다.

[1515] <화학식 clxviii>

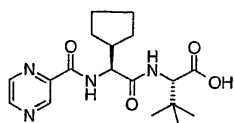


[1516]

[1517] 중간체 실시예 161 - 화합물 clxix

[1518] 화합물 clxviii (0.93 g, 2.47 mmol)의 메탄올 용액 (10 ml)에 2 N NaOH (3.71 ml, 7.41 mmol)를 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반시켰다. 그 후, 반응 혼합물을 1 N HCl을 사용하여 pH 3으로 산성화시켰다. 상기 반응 혼합물을 EtOAc (75 ml)로 희석하고, 물과 염수로 세척하였다. 수득한 유기 층을 진공에서 건조 및 농축시켜 화합물 clxix (~100 %)를 수득하였다.

[1519] <화학식 clxix>

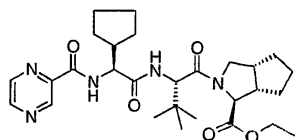


[1520]

[1521] 중간체 실시예 162 - 화합물 clxx

[1522] 화합물 clxix (2.47 mmol)의 DCM 용액 (10 ml)에 HOAt (436 mg, 3.21 mmol)과 DCC (3.2 ml, 1 M, 3.2 mmol)를 처리하였다. 30 분 동안 교반시킨 후, 상기 반응 혼합물에 화합물 v (499 mg, 2.72 mmol)의 THF 용액 (13.6 ml)을 처리하였다. 실온에서 밤새 교반시킨 후, 백색 고체 (우레아)를 여과하였다. 여액을 진공에서 농축하여 얻은 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피로 정제하여 화합물 clxx (0.99 g, 76 %)를 수득하였다.

[1523] <화학식 clxx>

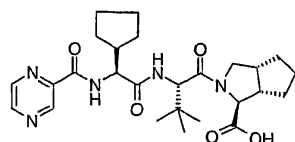


[1524]

[1525] 중간체 실시예 163 - 화합물 clxxi

[1526] 화합물 clxx (0.99 g, 1.88 mmol)의 에탄올 용액 (20 ml)에 2 N NaOH (2.81 ml, 5.63 mmol)를 처리하였다. 실온에서 밤새 교반시킨 후, 상기 반응 혼합물을 1 N HCl을 사용하여 pH 3으로 산성화시켰다. 이 반응 혼합물을 EtOAc (75 ml)로 추출하였다. 유기 층을 진공에서 건조 및 농축하여 화합물 clxxi (772 mg, 82 %)를 수득하였다.

[1527] <화학식 clxxi>

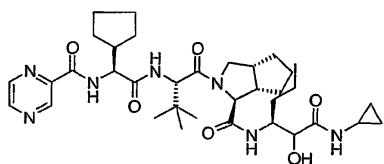


[1528]

[1529] 중간체 실시예 164 - 화합물 clxxii

[1530] 화합물 clxxi (290 mg, 0.58 mmol)의 DCM 용액 (10 ml)에 PyBOP (484 mg, 0.93 mmol)를 처리하였다. 실온에서 20 분 동안 교반시킨 후, 상기 반응 혼합물을 화합물 xiii' (140 mg, 0.75 mmol)의 THF 용액 (7.5 ml)으로 처리하고, DIPEA (0.13 ml, 0.75 mmol)를 처리하였다. 실온에서 밤새 교반시킨 후, 이 반응 혼합물을 물로 켄칭시키고 EtOAc로 추출하였다. 결과의 유기 층을 염수로 세척하고, 진공에서 건조 및 농축시켰다. 결과의 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피 (5 % 에탄올/EtOAc)로 정제하여 화합물 clxxii 290 mg (75 %)을 수득하였다.

[1531] <화학식 clxxii>

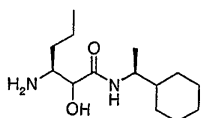


[1532]

[1533] 중간체 실시예 165 - 화합물 clxxiv

[1534] 화합물 lxxxiii (600 mg, 1.17 mmol)를 DCM (4 ml)에 용해시켰다. PyBOP (670 mg, 1.3 mmol)를 첨가하고 5 분 동안 교반시킨 후, 0 °C로 냉각시켰다. 상기 용액에 THF (13 ml) 중 화합물 clxxiii (333 mg, 1.3 mmol)를 적 가하였다.

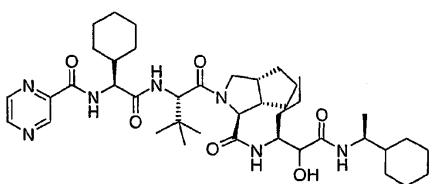
[1535] <화학식 clxxiii>



[1536]

[1537] DIPEA (0.23 ml, 1.3 mmol)를 반응 혼합물에 첨가하고, 실온까지 가온하며 2 일 동안 교반시켰다. 다음 날, 상 기 반응 혼합물을 2 % 에탄올/EtOAc를 사용하여 농축 및 정제하여 조 화합물 clxxiv (900 mg, 100 % 과량)를 수득하였다.

[1538] <화학식 clxxiv>

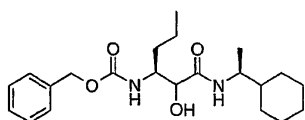


[1539]

[1540] 중간체 실시예 166 - 화합물 clxxxvi

[1541] 화합물 cxxv (3.01 g, 10.7 mmol)를 DCM (30 ml)에 용해시키고 -78 °C로 냉각시켰다. 상기 용액에 PyBOP (6.1 g, 11.7 mmol)과 HOBT (1.58 g, 11.7 mmol)를 첨가한 후 (S)-(+)-1-시클로헥실에틸아민, 화합물 clxxv (1.74 ml, 11.7 mmol) 및 DIPEA (2.1 ml, 11.7 mmol)를 첨가하였다. 결과의 혼합물을 실온에서 밤새 교반시켰다. 다음 날, 상기 반응 혼합물을 EtOAc로 희석하고, 0.1 N HCl, 포화된 NaHCO₃ 및 염수로 세척하였다. 생성물을 40 % EtOAc/헥산으로 정제하여 화합물 clxxvi 2 g (47.8 %)을 수득하였다.

[1542] <화학식 clxxvi>



[1543]

[1544] 중간체 실시예 167 - 화합물 clxxiii

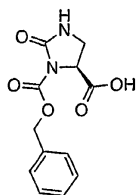
[1545] 화합물 clxxvi (2 g, 5.13 mmol)를 메탄올 (40 ml) 중 10 % Pd/C (500 mg)를 사용하여 수소화시켰다. 상기 반응 혼합물을 H₂ 하에서 밤새 교반시켰다. 이 반응 혼합물을 셀리트로 여과하고 농축시켜서 화합물 clxxiii (1.31 g, 99.8 %)를 수득하였다.

[1546] 중간체 실시예 168 - 화합물 clxxix

[1547] 비활성 대기 조건의 둥근바닥 플라스크에서, 화합물 clxxvii [(S)-(-)-2-옥소 1,5 이미다졸린 디카르복실산 1-

벤질 에스테르] (290 mg, 1.1 mmol)를 무수 DMF (6 ml)에 용해시켰다.

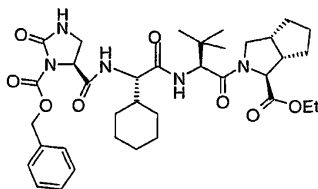
[1548] <화학식 clxxvii>



[1549]

[1550] HOAt (151 mg, 1.2 mmol)를 첨가한 후, 상기 반응 혼합물을 실온에서 25 분 동안 교반시켰다. 이 반응 혼합물을 얼음 조에서 냉각시켰다. 그 후, DIC (0.2 ml, 0.16 g, 1.2 mmol)를 첨가하고, 무수 DMF (4 ml) 중 화합물 clxxviii (1 mmol, 435 mg)를 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 실온까지 천천히 가온하고 2 일 동안 교반시켰다. 그 후, 이 반응 혼합물을 EtOAc 120 ml을 포함하는 분별 깔때기에 쏟고 1 N HCl (50 ml)로 2 회 세척하고 염수로 1 회 세척하였다. 유기 층을 분리시키고 MgSO₄로 건조시켰다. 상기 용매를 감압하에서 증발시키고, 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피 (DCM 상, 순차적으로 30 % EtOAc/DCM, 50 % EtOAc/DCM 및 2 % 메탄올/EtOAc를 사용하여 용출시킴)로 정제하여 생산물 clxxix (434 mg, 64 %)를 수득하였다.

[1551] <화학식 clxxix>

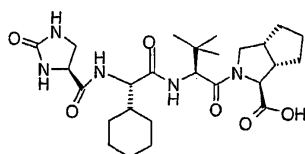


[1552]

[1553] 중간체 실시예 169 - 화합물 clxxx

[1554] 개시물질 clxxix (434 mg, 0.64 mmol)를 디옥산 (6 ml)과 0.5 M 수성 NaOH 용액 (4 ml, 3 eq)에 용해시켰다. 상기 반응을 밤새 진행시켰다. 100 % EtOAc (PMA 염료 사용)에서의 TLC는 목적인 산 생성물 외에, 착점에서 빠르게 분리되는 물질을 나타내었다. 상기 반응 혼합물을 1 N HCl를 사용하여 pH 2로 산성화시키고 EtOAc로 2 회 추출하였다. 추출을 용이하게 하기 위하여 고체 NaCl을 상기 수성 용액에 첨가하였다. 유기 추출물을 혼합시키고 MgSO₄로 건조시킨 후, 감압 하에서 증발시켰다. 가수분해로 CBZ기가 제거되었음을 MS로 확인하였다. 결과의 화합물 clxxx (양적 수율)를 다음 단계에서 사용하였다.

[1555] <화학식 clxxx>



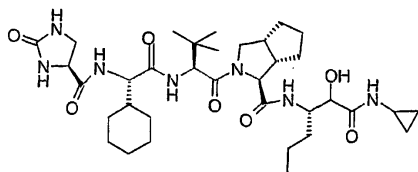
[1556]

[1557] 중간체 실시예 170 - 화합물 clxxxi

[1558] 비활성 대기 조건의 둥근바닥 플라스크에서, 화합물 clxxx (279 mg, 0.54 mmol)를 무수 DMF (6 ml)에 용해시켰다. HOAt (82 mg, 0.65 mmol)를 첨가한 후, 상기 반응 혼합물을 실온에서 25 분 동안 교반시켰다. 그 후, 이 반응 혼합물을 얼음 조에서 냉각시켰다. DIC (0.11 ml, 0.65 mmol)를 첨가한 후, 무수 DMF (4 ml) 중 화합물 xiii' (0.7 mmol)를 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 실온까지 천천히 가온시키고 21 시간 동안 교반시켰다. 그 후, 상기 반응 혼합물을 EtOAc 120 ml을 포함하는 분별 깔때기에 쏟고 1 N HCl (50 ml)로 2 회 세척하고, 염수로 1 회 세척하였다. 유기 층을 분리시키고 MgSO₄로 건조시켰다. 용매를 감압하에서 증발시키고, 생성물을 실리카겔 크로마토그래피 (DCM 상, 순차적으로 50 % EtOAc/헥산, 3 % 메탄올/EtOAc, 20 % 에탄올/EtOAc을 사용하여 용출시킴)로 정제하였다. 용매를 제거한 후, 잔류물을 Dri Solv THF에 재용해시키고, 여분의 실리카겔

을 여과로 제거하였다. 용매 제거 후, 화합물 clxxxix (434 mg, 64 % 수율)를 수득하였다.

[1559] <화학식 clxxxix>

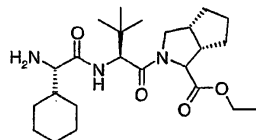


[1560]

[1561] 중간체 실시예 171 - 화합물 clxxxiii

[1562] 비활성 대기 조건의 둥근바닥 플라스크에서, 6-히드록시 피콜리닉 (153 mg, 1.1 mmol)을 무수 DMF (6 ml)에 용해시켰다. HOAt (151 mg, 1.2 mmol)를 첨가한 후, 상기 반응 혼합물을 실온에서 25 분 동안 교반시켰다. 그 후, 이 반응 혼합물을 얼음욕에서 냉각시켰다. DIC (0.2 ml, 0.16 g, 1.2 mmol)를 첨가한 후, 무수 DMF (4 ml) 중 화합물 clxxxiii (1.0 mmol, 435 mg)를 첨가하였다.

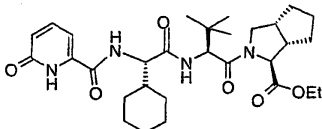
[1563] <화학식 clxxxiii>



[1564]

[1565] 상기 반응 혼합물을 실온까지 천천히 가온하고 2 일 동안 교반시켰다. 그 후, 이 반응 혼합물을 EtOAc 120 ml 을 포함하는 분별 깔때기에 쏟고 1 N HCl (50 ml)로 2 회 세척하고 염수로 1 회 세척하였다. 유기 층을 분리시키고 MgSO₄로 건조시켰다. 용매를 감압하에서 증발시키고, 생성물을 실리카겔 크로마토그래피(DCM 상, 순차적으로 30 % EtOAc/DCM, 50 % EtOAc/DCM 및 2 % 메탄올/EtOAc를 사용하여 용출시킴)로 정제하여 화합물 clxxxiii (314 mg, 56 %)를 수득하였다.

[1566] <화학식 clxxxiii>

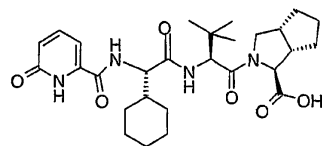


[1567]

[1568] 중간체 실시예 172 - 화합물 clxxxiv

[1569] 개시물질 clxxxiii (314 mg, 0.56 mmol)를 디옥산 (5 ml)과 0.5 M NaOH (3.4 ml, 3 eq)에 용해시켰다. 상기 반응 혼합물을 밤새 진행시켰다. 100 % EtOAc (UV 사용)에서의 TLC는, 착점에서 천천히 분리되는 산 생성물을 나타내었다. 상기 반응 혼합물을 1 N HCl을 사용하여 pH 2로 산성화시킨 후 EtOAc로 2 회 추출하였다. 추출을 용이하게 하기 위하여 고체 NaCl을 상기 수성 용액에 첨가하였다. 그 후, 유기 추출물을 회합시키고 MgSO₄로 건조시킨 후 감압 하에서 증발시켜, 다음 단계에서 사용되는 화합물 clxxxiv (0.5 mmol, 89 %)를 수득하였다.

[1570] <화학식 clxxxiv>



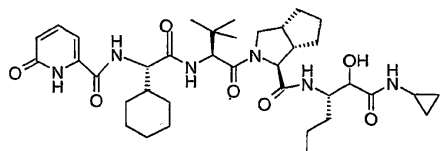
[1571]

[1572] 중간체 실시예 173 - 화합물 clxxxv

[1573] 비활성 대기 조건의 둥근바닥 플라스크에서, 산 화합물 clxxxiv (265 mg, 0.5 mmol)를 무수 DMF (6 ml)에 용해시켰다. HOAT (75.6 mg, 0.6 mmol)를 첨가하고 상기 반응 혼합물을 실온에서 25 분 동안 교반시켰다. 그 후,

상기 반응 혼합물을 얼음 조에서 냉각시켰다. DIC (0.1 ml, 0.6 mmol)를 첨가한 후, 무수 DMF (4ml) 중 화합물 xiii' (0.65 mmol)를 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 실온까지 천천히 가온하고 21 시간 동안 교반시켰다. 이 반응 혼합물을 EtOAc (120 ml)를 포함하는 분별 깔때기에 쏟고 1 N HCl (50 ml)로 2 회 세척하고 염수로 1 회 세척하였다. 유기 층을 분리하고 MgSO₄로 건조시켰다. 용매를 감압하에서 증발시키고, 생성물을 실리카겔 크로마토그래피 (DCM 상, 순차적으로 50 % EtOAc/헥산, 순수한 EtOAc 및 4 % 메탄올/EtOAc을 사용하여 용출시킴)로 정제하여 화합물 clxxxv (185 mg, 52 %)를 수득하였다.

[1574] <화학식 clxxxv>

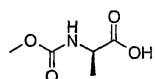


[1575]

[1576] 중간체 실시예 174 - 화합물 cxxxxiv'

[1577] 0 °C의 1 N NaOH (152 ml, 152 mmol) 중 D-알라닌 (5 g, 56.1 mmol) 용액에 디에틸에테르 (30 ml) 중 MeOC(O)Cl (6.5 ml, 84.2 mmol)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 얼음 조에서 3 시간 동안 교반시키고, 1 N NaOH를 사용하여 pH 9로 조절하였다. 실온에서 1 시간 동안 교반시킨 후, 상기 혼합물을 에테르 (3 x 50 ml)로 세척하고 5 N HCl을 사용하여 pH 2까지 산성화한 후, EtOAc (5 x 50 ml)로 추출하였다. 유기 추출물을 물과 염수로 세척한 후 건조 (MgSO₄)시켰다. 용매를 제거하여, 무색 오일의 화합물 cxxxiv (N-메톡시카르보닐-D-알라닌)(6.48 g, 79 %)를 수득하였다.

[1578] <화학식 cxxxiv>

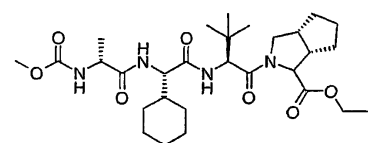


[1579]

[1580] 중간체 실시예 175 - 화합물 clxxxvi

[1581] 얼음 조에서 냉각시킨, N-메톡시카르보닐-D-알라닌 (0.193 g, 1.31 mmol)과 DCM (10 ml) 중 HOAt (0.177 g, 1.31 mmol)의 용액에 DCC (1.31 ml, 1.31 mmol)를 처리하였다. 얼음 조에서 0.5 시간 동안 교반시킨 후, THF (8.8 ml) 중 화합물 clxxxii (0.88 mmol)의 용액을 첨가하였다. 상기 혼합물을 실온까지 가온시키고 밤새 교반시킨 후, 얼음 조에서 냉각시키고 포화된 NaHCO₃ 용액으로 켄칭시켰다. 침전물을 여과시키고 여액을 EtOAc (100 ml)에 용해시켰다. 유기층을 포화된 NaHCO₃ 용액과 염수로 세척하고 건조 (MgSO₄)시켰다. 용매를 제거한 후, 잔류물을 실리카 겔럼 크로마토그래피 (60 % EtOAc/헥산)로 정제하여 점착성 포말의 화합물 clxxxvi (0.321 g, 68 %)를 수득하였다.

[1582] <화학식 clxxxvi>

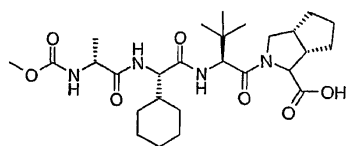


[1583]

[1584] 중간체 실시예 176 - 화합물 clxxxvii

[1585] 5 °C의 에탄올 (5 ml) 중 화합물 clxxxvi (0.321 g, 0.597 mmol)의 용액에 2 N NaOH (1.05 ml, 2.1 mmol)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 실온에서 4 시간 동안 교반시켰다. 상기 용액을 1 N HCl을 사용하여 pH 2까지 산성화시키고, 회전 증발로 에탄올을 제거하였다. 상기 혼합물을 EtOAc (3 x 30 ml)로 추출하고 화합된 추출물을 염수로 세척한 후 건조 (MgSO₄)시켰다. 용매를 제거하고 잔류물을 진공에서 건조시켜 점착성 포말의 화합물 clxxxvii (0.235 g, 77 %)를 수득하였다.

[1586] <화학식 clxxxvii>



[1587]

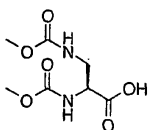
[1588] 중간체 실시예 177 - 화합물 clxxxviii

[1589] DCM (10 ml) 중 화합물 clxxxvii (0.363 g, 0.712 mmol)의 용액을 얼음 조에서 냉각시키고 PyBOP (0.594 g, 1.14 mmol)를 처리하였다. 실온에서 0.5 시간 동안 교반시킨 후, 상기 혼합물을 얼음 조에서 냉각시키고, THF (11 ml) 중 화합물 xiii' (1.1 mmol)와 DIPEA (0.249 ml, 1.42 mmol)를 처리하였다. 상기 혼합물을 실온에서 밤새 교반시키고, NH₄Cl 용액으로 켄칭시켰다. 용매를 농축시키고 상기 혼합물을 EtOAc (100 ml)에 용해시켰다. 유기 층을 포화된 NaHCO₃ 용액과 염수로 세척하고 건조 (MgSO₄)시켰다. 용매를 제거한 후, 잔류물을 컬럼 크로마토그래피 (5 % 에탄올/EtOAc)로 정제하여 화합물 clxxxviii (0.341 g, 71 %)를 수득하였다.

[1590] 중간체 실시예 178 - 화합물 clxxxix

[1591] 디아미노프로피온산 (3 g, 28.7 mmol)을 1 M NaOH (86.2 ml, 86.2 mmol)에 용해시키고 0 °C로 냉각시킨 후, Et₂O (25 ml) 중 MeOC(O)Cl (5.54 ml, 71.75 mmol)을 첨가하였다. 결과의 혼합물을 실온에서 밤새 교반시켰다. 상기 반응 혼합물의 pH 2까지 낮추고, 수성층을 EtOAc로 3 회 추출하였다. 추출물을 화합시키고 Na₂SO₄로 건조하고, 여과 및 농축시켜 화합물 clxxxix (3.09 g, 48.9 %)를 수득하였다.

[1592] <화학식 clxxxix>

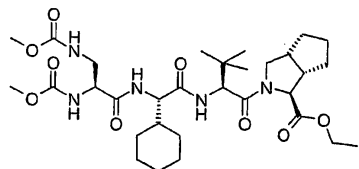


[1593]

[1594] 중간체 실시예 179 - 화합물 cc

[1595] 화합물 clxxxix (340 mg, 1.55 mmol)를 DCM (4 ml)에 용해시켰다. DCC (1.7 mmol)과 HOAt (235 mg, 1.7 mmol)를 첨가한 후, DCM (3.4 ml) 중 화합물 clxxxii (1.7 mmol)를 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 밤새 교반시켰다. 다음 날, 상기 반응 혼합물을 실리카 패드로 여과한 후 농축시켰다. 75 % EtOAc/헥산으로 정제하여 화합물 clxxxx (715 mg, 72.4 %)를 수득하였다.

[1596] <화학식 clxxxx>

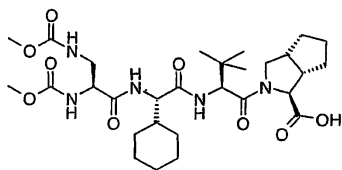


[1597]

[1598] 중간체 실시예 180 - 화합물 clxxxxi

[1599] 화합물 clxxxx (715 mg, 1.12 mmol)를 표준 조건하에서 에탄올 (4 ml)과 1 N NaOH (3 eq)를 사용하여 가수분해시켜 화합물 clxxxxi (600 mg, 88.0 %)를 수득하였다.

[1600] <화학식 clxxxxxi>

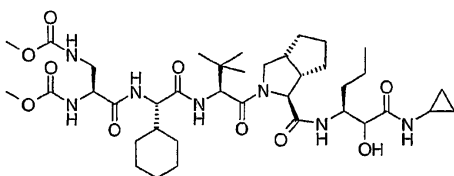


[1601]

[1602] 중간체 실시예 181 - 화합물 clxxxxii

[1603] 화합물 clxxxxxi (550 mg, 0.9 mmol)를 DCM (8 ml)에 용해시켰다. PyBOP (675 mg, 1.3 mmol)를 첨가한 후, THF (1.3 ml) 중 화합물 xiii' (1.3 mmol)를 첨가하였다. DIPEA (0.23 ml, 1.3 mmol)를 첨가하고, 상기 용액을 밤새 교반시켰다. 다음 날, 상기 반응 혼합물을 EtOAc로 희석하고, 포화된 NaHCO₃와 염수로 세척한 후 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 결과의 잔류물을 5 % 에탄올/EtOAc로 정제하여 화합물 clxxxxii (290 mg, 41.5 %)를 수득하였다.

[1604] <화학식 clxxxxii>

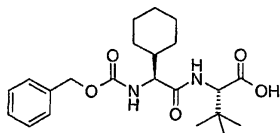


[1605]

[1606] 중간체 실시예 182 - 화합물 clxxxxiii

[1607] Cbz-시클로헥시글리신-tert-루신 메틸 에스테르 (7.36 g, 17.6 mmol)를 표준조건 하에서 메탄올 (60 ml)과 1 N NaOH (52.8 ml, 3 eq)를 사용하여 가수분해시켜 중간체 clxxxxiii (92 %)를 수득하였다.

[1608] <화학식 clxxxxiii>

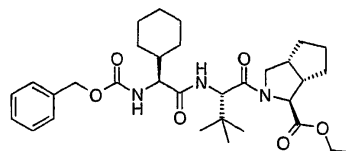


[1609]

[1610] 중간체 실시예 183 - 화합물 clxxxxiv

[1611] 화합물 clxxxxiii (3.82 g, 9.46 mmol)를 DCM (30 ml)에 용해시켰다. DCM (11.35 ml) 중 DCC (11.35 mmol)를 첨가한 후 HOAt (1.54 g, 11.35 mmol)를 첨가하였다. 결과의 혼합물을 5 분 동안 교반시키고, THF (40 ml) 중 화합물 v (9.46 mmol)를 첨가하였다. 상기 결과의 혼합물을 밤새 교반시켰다. 다음 날, 상기 반응 혼합물을 EtOAc로 희석하고 1 N HCl, 포화된 NaHCO₃ 및 염수로 세척한 후 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 결과의 잔류물을 20 % 내지 30 % 구배의 실리카겔로 정제하여 clxxxxiv (3.03 g, 56.3 %)를 수득하였다.

[1612] <화학식 clxxxxiv>



[1613]

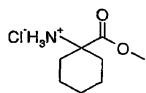
[1614] 중간체 실시예 183 - 화합물 clxxxii

[1615] 화합물 clxxxxiv (3.03 g, 5.33 mmol)를 H₂ 하에서 메탄올 (30 ml) 중 10 % Pd/C (500 mg)으로 4 시간 동안 수소화시켜 화합물 clxxxii (2.3 g, 99 %)를 수득하였다.

[1616] 중간체 실시예 184 - 화합물 clxxxxv

[1617] 0 °C에서 메탄올 (40 ml) 중 1-아미노-1-시클로헥산카르복실산 (2.86 g, 20 mmol)에 SOCl_2 (3 ml)를 적가하였다. 상기 혼합물을 실온까지 천천히 가온한 후, 5 시간 동안 환류시켰다. 그 후, 상기 투명 용액에 Et_2O 를 첨가하고 침전물을 분리하였다. 상기 고체물을 진공에서 더 건조시켜, 백색 분말의 화합물 clxxxxv (95 %)를 수득하였다.

[1618] <화학식 clxxxxv>

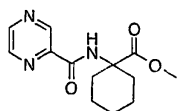


[1619]

[1620] 중간체 실시예 185 - 화합물 clxxxxvi

[1621] 2-피라진카르복실산 (1 g, 8 mmol, 1 eq)에, HOAt (1.1 g, 8 mmol)와 DCM 중 DCC (8 ml, 1 M)를 첨가하면서 DCM (15 ml)에 용해시켰다. 실온에서 20 분 동안 교반시킨 후, 화합물 clxxxxv (1.3 g, 8 mmol)를 상기 활성화된 혼합물에 첨가하였다. 그 후, DIPEA (2 ml, 12 mmol)를 첨가하고 DMAP (1.5 g, 12 mmol)를 첨가하였다. 실온에서 3 일 동안 교반시킨 후, 반응 혼합물을 셀리트로 여과시키고 농축하고, 컬럼 크로마토그래피 (50 % EtOAc/헥산)로 정제하여 황색 오일의 화합물 clxxxxvi (2.1 g, 100 %)를 수득하였다.

[1622] <화학식 clxxxxvi>

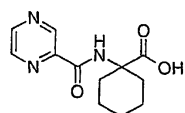


[1623]

[1624] 중간체 실시예 186 - 화합물 clxxxxvii

[1625] 화합물 clxxxxvi (1.06 g, 2.6 mmol)에 2 N NaOH (aq)(12 ml, 24 mmol)를 첨가하면서 메탄올 (30 ml)에 용해시켰다. 상기 용액을 실온에서 밤새 교반시킨 후, TLC (50 % EtOAc/헥산)로 완전한 가수분해를 확인하였다. 이 용액을 5 N HCl을 사용하여 pH 3으로 산성화시키고 EtOAc로 희석한 후, 유기 층을 추출하였다. 상기 유기 층을 염수로 세척하고 MgSO_4 로 건조시킨 후 농축시켜 화합물 clxxxxvii (84 %)를 수득하였다.

[1626] <화학식 clxxxxvii>

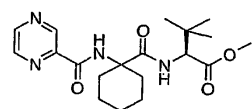


[1627]

[1628] 중간체 실시예 187 - 화합물 clxxxxviii

[1629] 화합물 clxxxxvii (1.6 g, 6.4 mmol)를 DCM (18 ml)에 용해시키고, 실온에서 순차적으로 HOAt (0.96 g, 7 mmol)과 DCC (7 ml, DCM 중 1 M)를 첨가하였다. 실온에서 20 분 동안 교반시킨 후, L-tert-루신 메틸 에스테르 히드로클로리드 (7 ml, THF 중 1 M)를 상기 활성화된 혼합물에 첨가하였다. 그 후, DIPEA (1.2 ml, 7 mmol)를 첨가하고 DMAP (1.2 g, 9.8 mmol)를 첨가하였다. 실온에서 3 일 동안 교반시킨 후, 상기 반응 혼합물을 셀리트로 여과하고 컬럼 크로마토그래피 (60 % EtOAc/헥산)로 정제하고 농축시켜 백색 고체의 화합물 clxxxxviii (1.74 g, 72 %)를 수득하였다.

[1630] <화학식 clxxxxix>

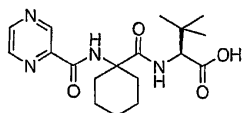


[1631]

[1632] 중간체 실시예 188 - 화합물 cic

[1633] 화합물 clxxxxviii (1.74 g, 4.6 mmol)에 2 N NaOH (aq)(7 ml, 14 mmol)를 첨가하면서 메탄올 (22 ml)에 용해시켰다. 상기 용액을 실온에서 밤새 교반시킨 후, TLC (50 % EtOAc/헥산)로 완전한 가수분해를 확인하였다. 이 용액을 5 N HCl을 사용하여 pH 3으로 산성화시키고 EtOAc로 희석한 후, 유기 층을 추출하였다. 유기 층을 염수로 세척하고 MgSO₄로 건조시킨 후 농축하여 화합물 cic (100 %)를 수득하였다.

[1634] <화학식 cic>

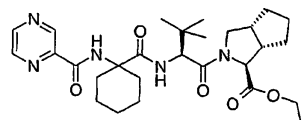


[1635]

[1636] 중간체 실시예 189 - 화합물 cc

[1637] 실온에서 화합물 cic (1.5 g, 4.1 mmol)의 DCM 용액 (15 ml)에 HOAt (610 mg, 4.5 mmol)를 첨가한 후, DCM (4.5 ml, 4.5 mmol) 중 1 M DCC 용액을 첨가하였다. 상온에서 30 분 동안 교반시킨 후, 화합물 v (4 mmol)의 THF 용액 (20 ml, 0.2 M)을 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반시켰다. 그 후, 이 반응 혼합물을 셀리트로 여과하였다. 여액을 농축시켜 황색 오일을 수득하였고, 상기 오일을 실리카겔 크로마토그래피 (50 % EtOAc/헥산)로 정제하여 화합물 cci (660 mg, 32 %)를 수득하였다.

[1638] <화학식 cc>

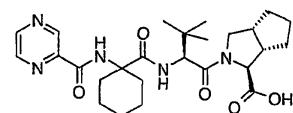


[1639]

[1640] 중간체 실시예 190 - 화합물 cci

[1641] 화합물 cc (600 mg, 1.13 mmol)의 에탄올 용액 (6 ml)에 2 N NaOH (1.7 ml, 3.4 mmol)를 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반시킨 후, 5 N HCl을 사용하여 pH 3으로 산성화시켰다. 그 후, 상기 혼합물을 EtOAc로 희석하고 유기 층을 추출하였다. 유기 층을 염수로 세척하고 MgSO₄로 건조시킨 후 농축하여 화합물 cci (92 %)를 수득하였다.

[1642] <화학식 cci>

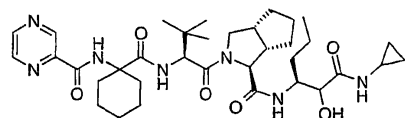


[1643]

[1644] 중간체 실시예 191 - 화합물 ccii

[1645] 화합물 ccii (310 mg, 0.62 mmol)의 DCM 용액 (8 ml)에 PyBOP (420 mg, 0.8 mmol)를 첨가하였다. 상기 용액을 실온에서 30 분 동안 교반시켰다. 이 용액에 THF 중 화합물 xiii' (8 ml, 0.1 M)를 첨가한 후 DIPEA (0.23 ml, 1.3 mmol)를 첨가하였다. 상기 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반시킨 후, 30 분 동안 물로 켄칭시켰다. 그 후, 상기 혼합물을 EtOAc로 추출하였다. 결과의 유기 층을 염수로 세척하고 MgSO₄로 건조시킨 후 농축하여 황색 오일을 수득하였다. 실리카겔 크로마토그래피 (3 % 에탄올/EtOAc)로 정제하여 화합물 ccii (140 mg, 33 %)를 수득하였다.

[1646] <화학식 ccii>



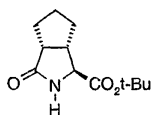
[1647]

[1648] 중간체 실시예 192 - 화합물 ccxiv

[1649] $\text{CsOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (6.9 g, 0.0412 mmol)를 -60°C , N_2 가스 조건에서 화합물 cciii, tert-부틸(N-디페닐메틸렌)-글리신 에스테르 (6 g, 0.0206 mmol)와, 건조 DCM (48 ml) 중 키랄 PTC (1.08 g, 0.00206 mmol)에 첨가하였다. 상기 반응 혼합물에, DCM 10 ml 중 1-카르복시-1-시클로펜텐 메틸 에스테르 (5.2 ml, 0.0412 mmol)를 적가하였다. 상기 혼합물을 -60°C 에서 4 일 동안 교반시킨 후 Et_2O 200 ml로 희석하고, 포화된 NH_4Cl 수용액 15 ml를 첨가하였다. 상 분리 후, 유기 층을 물 15 ml과 염수 15 ml로 세척하였다. 수성 층을 Et_2O 100 ml로 추출하였다. 유기 상은 모아서 Na_2SO_4 로 건조시켰다. 용매를 제거하여 수득한 조 생성물을 에탄올 100 ml에 용해시키고, $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ (1.43 g, 0.0206 mmol)과 NaOAc (1.68 g, 0.0206 mmol)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 48 시간 동안 환류시켰다. 그 후, 용매를 제거하여 얻은 조 잔류물을 바로 플래쉬 크로마토그래피 (30 % 및 50 % EtOAc /헥산으로 용출시킴)로 정제하여, 백색 고체의 화합물 cciv (65 %)를 수득하였다.

[1650] $\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{NO}_3$ (M.W. = 225.29); MS: m/z ($M+1$) = 226.5. 거울상이성질체의 양: 18 % ee, 키랄 HPLC로 측정함.

[1651] <화학식 cciv>



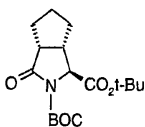
[1652]

[1653] 중간체 실시예 193 - 화합물 ccv

[1654] ACN 60 ml 중 화합물 cciv (2 g, 0.0088 mmol)에 촉매량의 DMAP (0.216 g, 0.0017 mmol)와, ACN 30 ml 중 di-tert-부틸-디-카보네이트 (2.49 g, 0.011 mmol)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 상온에서 14 시간 동안 교반시킨 후, DCM 100 ml로 희석하고 포화된 NaHCO_3 (10 ml)와 염수 (10 ml)로 세척하였다. 유기 상을 Na_2SO_4 로 건조시켰다. 용매를 증발시켜 수득한 조 생성물을, 실리카겔 컬럼(15 % EtOAc /헥산으로 용출시킴)으로 정제하여 백색 고체의 화합물 ccv (86 %)를 수득하였다.

[1655] $\text{C}_{17}\text{H}_{27}\text{NO}_5$ M.W. = 325.40 MS: m/z ($M+1$) = 326.2

[1656] <화학식 ccv>



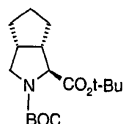
[1657]

[1658] 중간체 실시예 194 - 화합물 ccvi

[1659] -78°C 의 THF (0.14 M) 50 ml 중 화합물 ccv (1.7 g, 0.0052 mmol)에 DIBAL-H (7.8 ml, 0.0078 mmol)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 1 시간 동안 교반시킨 후, 메탄올 10 ml를 첨가하였다. 이 혼합물을 EtOAc 25 ml과, 타르타르산 나트륨의 포화 수용액 25 ml로 희석하고 실온에서 1 시간 동안 교반시켰다. 상 분리 후, 수성 상을 EtOAc 50 ml로 1 회 추출하였다. 유기 상은 화합시켜 Na_2SO_4 로 건조시켰다. 용매를 증발시켜 얻은 조 잔류물을 정제없이 사용하였다. 상기 조 잔류물을 DCM 25 ml에 용해시키고, Et_3Si (0.84 ml, 0.0052 mmol)를 첨가한 후 상기 혼합물을 -78°C 로 냉각시키고 BP_3OEt_2 (0.71 ml, 0.0061 mmol)를 적가하였다. 30 분 후 Et_3Si (0.84 ml)과 BF_3OEt_2 (0.71 ml)를 첨가하고, 상기 혼합물을 -78°C 에서 2 시간 동안 교반시켰다. 상기 반응 혼합물을 포화된 수성 NaHCO_3 (10 ml)로 켄칭시키고 DCM (2x 20 ml)으로 추출하였다. 유기 상은 화합시켜 Na_2SO_4 로 건조시켰다. 용매를 증발시켜 얻은 조 잔류물을 플래쉬 크로마토그래피 (13 % EtOAc /헥산으로 용출시킴)로 정제하여 화합물 ccvi (87 %)를 수득하였다.

[1660] $\text{C}_{17}\text{H}_{29}\text{NO}_4$ M.W. = 311.42 MS: m/z ($M+1$) = 312.6

[1661] <화학식 ccvi>



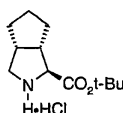
[1662]

[1663] 중간체 실시예 195 - 화합물 ccvii

[1664] 화합물 ccvi (0.5 g, 0.0016 mmol)를, EtOAc 중 1N HCl 8 ml (건조 HCl을 건조 EtOAc에 버블링시키고, EtOAc를 더 첨가하여 1 N로 희석시켜 제조함)에 용해시켰다. 상기 혼합물을 실온에서 6 시간 동안 교반시켰다. 진공에서 용매를 제거하고, 결과의 침전물을 Et₂O에 용해시켰다. 상기 혼합물을 15 분 동안 교반시킨 후, 용매를 감압 하에서 제거하였다. 결과의 백색 고체를 Et₂O로 세척한 후 여과하여 화합물 ccvii (0.27 g, 80 % 수율)를 분리하였다.

[1665] C₁₂H₂₁NO₂ M.W.: 211,15 MS: m/z (M⁺+1) = 212.6

[1666] <화학식 ccvii>



[1667]

[1668] 중간체 실시예 196 - 화합물 v

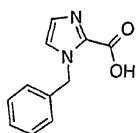
[1669] DCM (3.7 ml) 중 화합물 ccxvi (0.230 g, 0.74 mmol)에 TFA (2.85 ml)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 밤새 교반시킨 후 용매를 진공에서 제거하여 건조시키고, 잔류물을 에탄올 (7.5 ml)에 용해시켰다. 상기 혼합물을 0 °C로 냉각시키고 SOCl₂ (0.22 ml, 2.96 mmol)를 적가한 후, 2 시간 동안 환류시켰다. 감압 하에서 에탄올을 제거하고 잔류물을 DCM (10 ml)에 용해시켰다. 상기 용액을 NaHCO₃ (5 ml)의 포화된 수용액으로 2 회 세척하였다. 상 분리 후, 유기 상을 Na₂SO₄로 건조시키고 진공에서 용매를 제거하여 오일의 화합물 v (80 %)를 수득하였다.

[1670] C₁₀H₁₇NO₂ M.W.: 183.25 MS: m/z (M⁺+1) = 184.2

[1671] 중간체 실시예 197 - 화합물 cd

[1672] 1-벤질이미다졸 (6 g, 37.9 mmol)을 Et₂O (180 ml)에 용해시켰다. 상기 용액을 -60 °C로 냉각시키고 n-BuLi (1.6 M, 24 ml)를 처리하였다. 상기 반응 혼합물을 30 분 동안 교반시킨 후, 15 분 동안 CO₂로 상기 혼합물을 버블링시켰다. 침전물을 여과하고 Et₂O로 세척한 후, 물에 용해시켰다. 상기 수용액을 5 N HCl을 사용하여 pH 3으로 산성화시켰다. 동결건조 후, 원하는 생성물인 백색 고체의 cd를 분리하였다.

[1673] <화학식 cd>



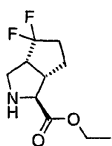
[1674]

[1675] 중간체 실시예 198 - 화합물 cdi

[1676] 화합물 i (9.25 g, 27.9 mmol)의 DCM 용액 (100 ml)을 0 °C에서 DAST (9.2 ml, 69.8 mmol)에 처리하였다. 실온에서 밤새 교반시킨 후, 상기 반응 혼합물을 얼음으로 퀀칭시키고 DCM (200 ml)으로 추출하였다. 유기 층을 염수로 세척하고 진공에서 농축시켰다. 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피 (30 % EtOAc/헥산)로 정제하여 플루오르화된 중간체 8.5 g (86 %)을 수득하였다. 상기 중간체의 일부 (4.5 g, 14.2 mmol)를 에탄올 (75 ml)에

용해시켰다. 상기 용액을 Pd(OH)₂/C (2.98 g, 20 % Pd 함량, 4.26 mmol)를 사용하여 수소화시켰다. 실온에서 밤새 교반시킨 후, 상기 반응 혼합물을 셀리트로 여과하였다. 여액을 진공에서 농축시켜 화합물 cdi (2.5 g, 96 %)를 수득하였다.

[1677] <화학식 cdi>

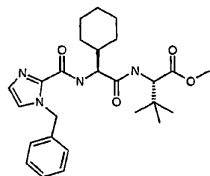


[1678]

[1679] 중간체 실시예 199 - 화합물 cdii

[1680] 화합물 cd (890 mg, 4.4 mmol)의 용액에 DCM (15 ml)을 첨가하였다. HOBt (595 mg, 4.4 mmol)와 DCC (4.4 mmol, DCM 중 1 M)를 첨가한 후 20 분 동안 교반시켰다. 화합물 lxxix' (990 mg, 3.5 mmol)의 DCM 용액 (15 ml)을 상기 혼합물에 첨가하였다. 결과의 혼합물을 질소 하에서 밤새 교반시켰다. 상기 반응 혼합물을 EtOAc 로 희석하고 포화된 NaHCO₃와 염수로 세척하였다. 유기 층을 진공에서 농축시켜 얻은 잔류물을 30 % EtOAc/헥산에서 정제하여 화합물 cdii (666 mg, 41 %)를 수득하였다.

[1681] <화학식 cdii>

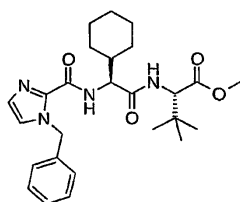


[1682]

[1683] 중간체 실시예 200 - 화합물 cdiii

[1684] 메틸 알콜 (10 ml)과 1 N NaOH (3 eq)를 사용한 표준 가수분해 조건에서 화합물 cdii를 사용하여 화합물 cdiii 를 제조하였다. 화합물 cdiii 565 mg (88 %)을 수득하였다.

[1685] <화학식 cdiii>

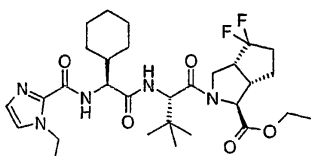


[1686]

[1687] 중간체 실시예 201 - 화합물 cdiv

[1688] 화합물 cdiii (1.24 mmol)를 DCM (5 ml)에 용해시켰다. DCC (1.6 mmol, DCM 중 1 M)를 첨가하고 HOAT (1.6 mmol)를 첨가하였다. 결과의 혼합물을 20 분 동안 교반시키고, 화합물 cdi (1.6 mmol)를 THF (8 ml)에 적가하였다. 상기 반응의 혼합물을 밤새 교반시켰다. 이 반응 혼합물을 여과하고 EtOAc로 세척하였다. 화합된 유기 층을 포화된 NaHCO₃와 염수로 세척하고, MgSO₄로 건조 후 농축시켰다. 30 % EtOAc/헥산에서 정제하여 화합물 cdiv (565 mg, 70 %)를 수득하였다.

[1689] <화학식 cdiv>

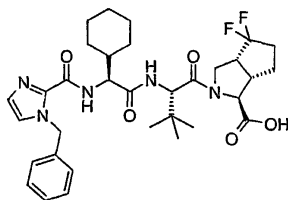


[1690]

[1691] 중간체 실시예 202 - cdv

[1692] 에틸 알콜 (10 ml)과 1 N NaOH (3 eq)를 사용한 표준 가수분해 조건에서 화합물 cdv를 사용하여 화합물 cdv (565 mg, 0.86 mmol)를 제조하였다. 화합물 cdv 490 mg (91 %)을 수득하였다.

[1693] <화학식 cdv>

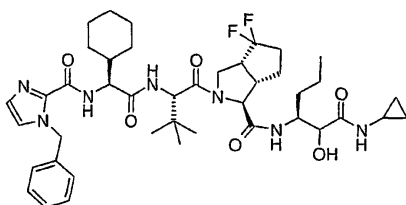


[1694]

[1695] 중간체 실시예 203 - cdvi

[1696] 화합물 cdv (490 mg, 0.78 mmol)를 DCM (10 ml)에 용해시켰다. PyBOP (520 mg, 1 mmol)를 DCM 용액에 첨가하고, 화합물 xiii (186 mg, 1 mmol)의 THF 용액 (10 ml)을 첨가하였다. DIEA (0.18 ml, 1 mmol)를 상기 반응 혼합물에 첨가하고, 질소 하에서 밤새 교반시켰다. 다음 날, 상기 반응 혼합물을 EtOAc로 희석하고, 포화된 NaHCO₃와 염수로 세척하였다. 100 % EtOAc로 정제하여 화합물 cdvi (478 mg, 77 %)를 수득하였다.

[1697] <화학식 cdvi>

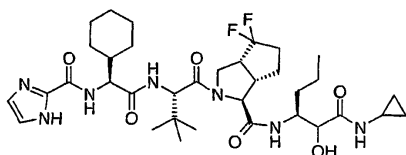


[1698]

[1699] 중간체 실시예 204 - cdvii

[1700] 화합물 cdvi (478 mg, 0.6 mmol)를, 메탄올 (40 ml) 중 Pd(OH)₂/C (20 % 건조량, 100 mg)를 사용하여 수소화시켰다. 상기 반응 혼합물을 수소 하에서 밤새 교반시켰다. 그 후, 상기 반응 혼합물을 셀리크로 여과하고 농축시켜 화합물 cdvii (417 mg, 98 %)를 수득하였다.

[1701] <화학식 cdvii>

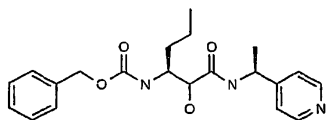


[1702]

[1703] 중간체 실시예 205 - cdx

[1704] 화합물 cxxv (Albany Molecular Research Inc.에서 구입, 1.5 g, 5.2 mmol)를 DCM (15 ml)에 용해시켰다. PyBOP (2.7 g, 5.2 mmol)와 HOBT (700 mg, 5.2 mmol)를 상기 용액에 첨가하였다. (-)-α-(4-피리딜)에틸아민 (640 mg, 5.2 mmol)의 THF 용액 (15 ml)을 상기 용액에 첨가한 후, DIEA (0.93 ml, 5.2 mmol)를 첨가하였다 (상기 (-)-α-(4-피리딜)에틸아민은, (-)-α-(4-피리딜)에틸아민 (알드리치사)의 타르타르산 염을 1 N NaOH (2 eq)와 함께 1 시간 동안 교반시킨 후 EtOAc로 3 회 추출 (70 % 회수)하여 수득함). 상기 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반시켰다. 이 반응 혼합물을 포화된 NaHCO₃와 염수로 세척하였다. 5 % 에탄올/EtOAc에서 정제하여 중간체 화합물 cdx 2 g (99 %)을 수득하였다.

[1705] <화학식 cdx>

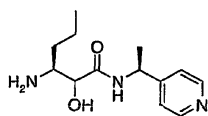


[1706]

[1707] 중간체 실시예 206 - cdviii

[1708] 화합물 cdx (2 g, 5.2 mmol)를, 메탄올 (50 ml) 중 10 % Pd/C (500 mg)를 사용하여 수소화시켰다. 상기 반응 혼합물을 수소 하에서 밤새 교반시켰다. 생성물을 셀리트로 여과한 후 농축시켜, 화합물 cdviii (1.3 g, 98 %)를 수득하였다.

[1709] <화학식 cdviii>



[1710]

[1711] 약리학

[1712] 본원에 정의된 본 발명의 화합물은 HCV 프로테아제를 억제함에 있어서 유용하며, 따라서 HCV 복제를 억제하는데 유용하다.

[1713] 따라서, 본 발명은 항-HCV 프로테아제 억제량의 화학식 1의 화합물을 HCV 프로테아제를 포함하는 조성물과 접촉시키는 것을 포함하는, HCV 프로테아제를 억제하는 방법에 관한 것이다.

[1714] 본 발명의 다른 측면은 HCV를 유효량의 화학식 1의 화합물과 접촉시키는 것을 포함하는, HCV의 복제를 억제하는 방법에 관한 것이다. 또한, 본 발명의 또다른 측면은, HCV 감염으로 고통받거나 HCV 감염된 환자에게 치료 유효량의 화학식 1의 화합물을 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자를 치료하는 방법에 관한 것이다. 본원에서 HCV 감염을 치료하는 것은, 확립된 급성 또는 만성 HCV 감염 또는 HCV 감염과 관련된 생리적 증상을 치료하여 본질적으로 감염 환자를 치유하거나 감염의 정도 (양)를 억제하거나 이와 관련된 생리적 증상을 완화시키는 것뿐만 아니라, HCV 감염을 예방하거나 억제하는 예방 요법도 포함하는 것으로 이해해야 한다. "유효량"은 합리적인 생물학적 판단의 범위 내에서 효과적이고, 과도한 독성, 자극 및 알레르기 반응 등을 나타내지 않고 인간 또는 다른 포유동물 세포에 접촉시켜 사용하기에 적합하며, HCV 감염을 치료함에 있어서 합리적인 이점/위험 비율로 균형이 잡혀 원하는 치료 효과를 나타내는 본 발명 화합물의 양을 의미한다.

[1715] 본원에서 논의한 생리적 증상은 항-HCV 치료가 효과적인 일부의 (전부는 아님) 가능한 임상적 상황을 포함한다. 당업계 숙련자는 특정한 항-HCV 치료가 필요한 상황을 잘 알고 있다.

[1716] 본 발명의 특정한 측면은, 본 발명의 화합물이 단독으로 투여될 수 있고 있기는 하지만, 제약 조성물의 형태로 투여되는 본 발명의 화합물을 제공한다. "제약 조성물"은 화학식 1의 화합물과, 투여 방식 및 투여 형태에 따라 제약상 허용되는 담체, 희석제, 코팅제, 보조제, 부형제 또는 비히클, 예를 들어 보존제, 충전제, 붕해제, 습윤제, 유화제, 에멀전 안정화제, 현탁화제, 등장화제, 감미제, 향미료, 방향제, 착색제, 항균제, 항진균제, 기타 치료제, 윤활제, 흡착 지연제, 흡착 촉진제 및 분배제 (dispensing agent)를 포함하는 군으로부터 선택된 하나 이상의 성분을 포함하는 조성물을 의미한다. 본 발명의 조성물은 정제, 환약, 입제, 분말제, 수용액, 수성 현탁액, 주사 용액, 엘릭서제 또는 시럽제의 형태로 존재할 수 있다. 현탁화제의 예로는 에톡시화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 및 소르비탄 에스테르, 미정질 셀룰로스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가-아가 및 트라가칸트, 또는 이들 물질의 혼합물이 있다. 미생물의 작용을 억제하기 위한 항균제 및 항진균제의 예로는 파라벤, 클로로부탄올, 페놀 및 소르브산 등이 있다. 등장화제의 예로는 당 및 염화나트륨 등이 있다. 흡수를 지연시키는 흡착 지연제의 예로는 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴이 있다. 흡수를 증진시키는 흡착 촉진제의 예로는 디메틸 술폰이드 및 관련 유사체가 있다. 담체, 희석제, 용매, 비히클, 가용화제, 유화제 및 에멀전 안정화제의 예로는 물, 클로로포름, 수크로스, 에탄올, 이소프로필 알코올, 에틸 카르보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 테트라히드로푸르푸릴 알코올, 벤질 벤조에이트, 폴리올, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸렌 글리콜, 글리세롤, 폴리에틸렌 글리콜, 디메틸포름아미드, 트윈 (등록상표, Tween) 60, 스펠 (등록상표, Span) 80, 세토스테아릴 알코올, 미리스틸 알코올, 글리세릴 모노-스테아레이트 및 나트륨 라

우릴 술페이트, 소르비탄의 지방산 에스테르, 식물성 오일 (예를 들어, 면실유, 땅콩유, 옥수수 배아유, 올리브유, 비버유 및 참기름) 및 주사용 유기 에스테르 (예를 들어, 에틸 올레에이트 등), 또는 이들 물질의 적합한 혼합물이 있다. 부형제의 예로는 락토스, 유당, 나트륨 시트레이트, 칼슘 카르보네이트, 이칼슘 포스페이트 포스페이트가 있다. 봉해제의 예로는 전분, 알긴산 및 특정 복합 실리케이트가 있다. 윤활제의 예로는 마그네슘 스테아레이트, 나트륨 라우릴 술페이트, 활석, 및 고분자량 폴리에틸렌 글리콜이 있다.

[1717] 다른 항-HCV제를 비롯한 다른 치료제가 본 발명의 화합물과 함께 사용될 수 있다. 항-HCV제로 공지된 몇몇 예로는 α -, β - 또는 γ -인터페론과 같은 면역조절제; PEG화 유도체인 인터페론- α 화합물, 기타 항바이러스제, 예를 들어 리바비린 및 아만타딘; 다른 C형 간염 바이러스 프로테아제의 억제제; 헬리카제, 중합효소, 메탈로프로테아제, 내부 리보솜 유입을 비롯한 HCV 생활사에서의 다른 표적에 대한 억제제, 또는 광범위 항바이러스성 화합물, 예를 들어 VX-497, 세포성 이노신 모노포스페이트 데히드로게나제의 억제제인 IMPDH (미국 특허 제 5,807,876호 참조); 또는 이들의 조합이 있다. 본 발명의 화합물과 조합하여 사용되는 치료제는 개별적으로, 동시에 또는 순차적으로 투여될 수 있다.

[1718] 화학식 1의 화합물 이외에 제약 조성물에 포함되는 물질은 일반적으로 활성 화합물의 화학적 특성 (예를 들어, 용해도), 투여 방식, 및 제약 실무상의 투여량에 따라 선택한다. 예를 들어, 윤활제 (예, 마그네슘 스테아레이트, 나트륨 라우릴 술페이트 및 활석)와 혼합된 부형제 (예, 락토스, 나트륨 시트레이트, 칼슘 카르보네이트, 이칼슘 포스페이트) 및 봉해제 (예, 전분, 알긴산 및 특정 복합 실리케이트)가 정제의 제조에 사용될 수 있다.

[1719] 제약 조성물은 정제, 환약, 입제, 분말제, 수용액, 수성 현탁액, 주사 용액, 엘릭서제 또는 시럽제와 같은 개별 형태로 존재할 수 있다.

[1720] "액체 투여 형태"는 환자에 투여될 활성 화합물이 액체 형태, 예를 들어 제약상 허용되는 에멀전, 용액, 현탁액, 시럽제 및 엘릭서제인 것을 의미한다. 활성 화합물 이외에, 액체 투여 형태는 당업계에서 통상적으로 사용되는 불활성 희석제, 예를 들어 용매, 가용화제 및 유화제를 함유할 수 있다.

[1721] 또한 고체 조성물이, 락토스 또는 유당과 같은 부형제 및 고분자량 폴리에틸렌 글리콜 등을 사용하는 연질 및 경질 젤라틴 캡슐 중의 충전제로서 사용될 수 있다.

[1722] 수성 현탁액이 사용되는 경우, 이는 유화제 또는 현탁 촉진제를 함유할 수 있다.

[1723] 에멀전 제약 조성물의 오일상은 공지의 방식으로 공지의 성분으로부터 구성될 수 있다. 오일상이 단순히 유화제 (다르게는 에멀전제로도 알려짐)를 포함할 수도 있지만, 1종 이상의 유화제와, 지방 또는 오일 또는 지방과 오일 둘 다와의 혼합물을 포함하는 것이 바람직하다. 바람직하게는, 친수성 유화제가 안정화제로서 작용하는 친지성 유화제와 함께 포함된다. 또한, 오일과 지방 둘 다가 포함되는 것이 바람직하다. 동시에, 안정화제가 포함되거나 포함되지 않은 유화제가 유화 왁스를 구성하고, 이 왁스는 오일 및 지방과 함께 크림 제형의 오일성 분산상을 형성하는 유화 연고 기재를 구성한다.

[1724] 필요한 경우, 크림 기재의 수성상은, 예를 들어 30 중량/중량%의 다가 알코올, 즉 프로필렌 글리콜, 부탄 1,3-디올, 만니톨, 소르비톨, 글리세롤 및 폴리에틸렌 글리콜 (PEG 4000 포함)과 같이 2개 이상의 히드록실기를 갖는 알코올, 및 이들의 혼합물을 포함할 수 있다. 국소 제형은 피부 또는 다른 영향 부위를 통해 활성 성분이 흡수 또는 통과하는 것을 증진시키는 화합물을 포함하는 것이 바람직하다.

[1725] 제형에 적합한 오일 또는 지방의 선택은 원하는 미용 특성의 달성에 좌우된다. 따라서, 크림은 바람직하게는 튜브 또는 다른 용기로부터의 누출을 피하기에 적합한 경도를 지닌, 미끄럽지 않고 염색되지 않으며 세척 가능한 제품이어야 한다. 직쇄 또는 분지쇄의 일염기 또는 이염기 알킬 에스테르, 예를 들어 디-이소프로필 미리스테이트, 데실 올레에이트, 이소프로필 팔미테이트, 부틸 스테아레이트, 2-에틸헥실 팔미테이트 또는 크로다몰 (Crodamol) CAP로 공지된 분지쇄 에스테르의 혼합물이 사용될 수 있다. 이들은 필요한 특성에 따라 단독으로, 또는 조합하여 사용될 수 있다. 별법으로, 고용융점의 지질, 예를 들어 백색의 연질 파라핀 및(또는) 액체 파라핀 또는 다른 미네랄 오일이 사용될 수 있다.

[1726] 사실상, 본 발명의 화합물 및 제약 조성물은 인간 및 동물에게 적합한 제형으로, 경구 투여, 흡입 투여, 직장 투여, 비강 투여, 구강 투여, 설하 투여, 질내 투여, 결장 투여, 비경구 투여 (피하, 근육내, 정맥내, 피부내, 경막내 및 경막외 투여 포함), 시스terna내 (intracisternal) 투여 및 복막내 투여를 비롯한 국소 또는 전신 투여에 의해 투여될 수 있다. 바람직한 경로가 수용자의 상태 등에 따라 달라질 수 있음은 자명하다.

[1727] "제약상 허용되는 투여 형태"는 본 발명 화합물의 투여 형태를 나타내며, 그 예로는 정제, 당의정, 분말제, 엘

릭서제, 시럽제, 액형 제제 (현탁액 포함), 스프레이, 흡입 정제, 로젠지, 에멀전, 용액제, 입제, 캡슐 및 좌약 뿐만 아니라, 리포솜 제제를 비롯한 주사용 액형 제제가 있다. 기술 및 제형은 일반적으로 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, PA]의 최신판에서 찾아볼 수 있다.

- [1728] "경구 투여에 적합한 제형"은 소정량의 활성 성분을 함유하는 캡슐, 카세제 또는 정제와 같은 개별 단위로서; 분말제 또는 입체로서; 수용액 또는 비-수용액 중의 용액 또는 현탁액으로서; 또는 수중유 액체 에멀전 또는 유중수 액체 에멀전으로서 존재할 수 있다. 활성 성분은 또한 볼루스, 연약 또는 페이스트로서 존재할 수 있다.
- [1729] 정제는 압착 또는 몰딩에 의해, 임의로 1종 이상의 부가 성분과 함께 제조될 수 있다. 압착 정제는 적합한 기계에서 분말 또는 과립과 같은 자유 유동 형태의 활성 성분을, 임의로 결합제, 윤활제, 불활성 희석제, 보존제, 표면 활성제 또는 분산제와 함께 압착함으로써 제조할 수 있다. 몰딩 정제는 적합한 기계에서 불활성 액체 희석제로 습윤화된 분말 화합물의 혼합물을 몰딩함으로써 제조할 수 있다. 정제는 임의로 코팅하거나 눈금을 새길 수 있으며, 내부에 포함된 활성 성분의 서방성 또는 제어 방출성을 제공하도록 제형화할 수 있다.
- [1730] 직장 투여용 고체 조성물에는 공지의 방법에 따라 제형화되어 본 발명의 1종 이상의 화합물을 함유하는 좌약이 포함된다.
- [1731] 필요한 경우, 그리고 보다 효과적인 분배를 위해, 본 발명의 화합물은 서방형 시스템 또는 표적 전달 시스템, 예를 들어 생체적합성 생분해성 중합체 매트릭스 (예, 폴리(d,l-락티드 코-글리콜리드), 리포솜 및 마이크로스피어 중에 미세캡슐화되거나 거기에 부착될 수 있으며, 피하 또는 근육내 데포라 불리우는 기술에 의해 피하 또는 근육내 주사되어 본 발명의 화합물(들)을 2주 이상의 기간동안 지속적으로 서서히 방출할 수 있다. 본 발명의 화합물은, 예를 들어 박테리아 차단 필터를 통해 여과시킴으로써, 또는 사용 직전에 멸균수 또는 다른 몇몇 멸균 주사용 매체 중에 용해될 수 있는 멸균 고체 조성물 형태의 멸균제를 혼입시킴으로써 멸균될 수 있다.
- [1732] "비강 또는 흡입 투여에 적합한 제형"은 환자에게 비강 투여 또는 흡입에 의해 투여하기 적합한 형태의 제형을 의미한다. 이 제형은, 입도 범위가 1 내지 500 μm (입도 범위가 20 내지 500 μm 에서 5 μm 씩 증가하는 값, 예를 들어 30 μm , 35 μm 등을 포함)인 분말 형태의 담체를 함유할 수 있다. 담체가 액체이며 비강 스프레이 또는 비강 점적액 등으로서 투여하기에 적합한 제형에는 활성 성분의 수성 또는 오일성 용액이 포함된다. 에어로졸 투여에 적합한 제형은 종래의 방법에 따라 제조할 수 있으며, 다른 치료제와 함께 전달될 수 있다. 흡입 요법은 계량된 투여량의 흡입제에 의해 용이하게 투여된다.
- [1733] "경구 투여에 적합한 제형"은 환자에게 경구 투여하기 적합한 형태의 제형을 의미한다. 이 제형은 소정량의 활성 성분을 함유하는 캡슐, 카세제 또는 정제와 같은 개별 단위로서; 분말제 또는 입체로서; 수용액 또는 비-수용액 중의 용액 또는 현탁액으로서; 또는 수중유 액체 에멀전 또는 유중수 액체 에멀전으로서 존재할 수 있다. 활성 성분은 또한 볼루스, 연약 또는 페이스트로서 존재할 수 있다.
- [1734] "비경구 투여에 적합한 제형"은 환자에게 비경구 투여하기 적합한 형태의 제형을 의미한다. 이 제형은 멸균된 것이고, 여기에는 에멀전, 현탁액, 수성 및 비-수성 주사 용액이 포함되며, 이들은 현탁화제 및 증점제, 및 산화방지제, 완충제, 항균제, 및 제형을 등장성으로 만드는 용질을 함유할 수 있고, 의도된 수용자의 혈액에 적합하도록 pH를 조절할 수 있다.
- [1735] "직장 또는 질내 투여에 적합한 제형"은 환자에게 직장 투여 또는 질내 투여하기 적합한 형태의 제형을 의미한다. 이 제형은 바람직하게는, 본 발명의 화합물을 적합한 무자극성 부형제 또는 담체, 예를 들어 코코아 버터, 폴리에틸렌 글리콜 또는 좌약용 왁스 (통상의 온도에서는 고체이지만 체온에서는 액체이기 때문에, 직장 또는 질강에서 용해되어 활성 성분을 방출함)와 혼합함으로써 제조될 수 있는 좌약 형태이다.
- [1736] "전신 투여에 적합한 제형"은 환자에게 전신 투여하기 적합한 형태의 제형을 의미한다. 이 제형은 바람직하게는 근육 주사, 정맥내 주사, 복막내 주사 및 피하 주사를 비롯한 주사에 의해 투여된다. 주사의 경우, 본 발명의 화합물은 액체 용액 중에, 바람직하게는 생리적으로 적합한 완충액 (예, 행크 (Hank's) 용액 또는 링거 용액) 중에 제형화된다. 또한, 이 화합물은 고체 형태로 제형화되어, 사용 전에 재용해 또는 현탁화될 수 있다. 동결건조 형태도 포함된다. 또한, 전신 투여는 경점막 또는 경피 수단에 의한 것일 수도 있으며, 이 화합물은 경구 투여될 수도 있다. 경점막 또는 경피 투여의 경우, 투과될 장벽에 적당한 투과제 (penetrant)가 제형 중에 사용된다. 그러한 투과제는 일반적으로 당업계에 공지되어 있으며, 그 예로는 경점막 투여용의 담즙 산염 및 후시딘산 유도체가 있다. 또한, 계면활성제가 투과를 용이하게 하기 위해 사용될 수 있다. 경점막 투여는 비강 스프레이의 사용을 통한 것일 수도 있고, 또는 좌약을 통한 것일 수도 있다. 경구 투여의 경우, 본 발명의 화합물은 캡슐, 정제 및 강장제와 같은 종래의 경구 투여 형태로 제형화된다.

- [1737] "국소 투여에 적합한 제형"은 환자에게 국소 투여하기 적합한 형태의 제형을 의미한다. 이 제형은 국소용 연고, 고약, 분말제, 스프레이 및 흡입제, 겔 (물 또는 알코올 기재), 크림과 같이 당업계에 일반적으로 공지된 형태로 존재하거나, 또는 경피 장벽을 통해 화합물의 제어 방출을 가능하게 하는 패치 투여용 매트릭스 기재로 혼입될 수 있다. 연고로 제형화되는 경우, 활성 성분은 파라핀성 또는 수혼화성 연고 기재로 제형화될 수 있다. 별법으로, 활성 성분은 수중유 크림 기재의 크림 중에 제형화될 수 있다. 안구에 국소 투여하기 적합한 제형에는, 활성 성분이 적합한 담체, 특히 활성 성분을 위한 수성 용매에 용해 또는 현탁화된 안구 점적액이 포함된다. 구강에 국소 투여하기 적합한 제형에는, 통상 수크로스 및 아카시아 또는 트라가칸트와 같은 향미성 기재 중에 활성 성분을 포함하는 로젠지; 젤라틴 및 글리세린, 또는 수크로스 및 아카시아와 같은 불활성 기재 중에 활성 성분을 포함하는 향정 (pastille); 및 적합한 액체 담체 중에 활성 성분을 포함하는 구강 세정액이 포함된다.
- [1738] "고체 투여 형태"는 본 발명 화합물의 투여 형태가 고체 형태, 예를 들어 캡슐, 정제, 환약, 분말제, 당의정 또는 입제인 것을 의미한다. 그러한 고체 투여 형태에 있어서, 본 발명의 화합물은 1종 이상의 통상적인 부형제 (또는 담체), 예를 들어 나트륨 시트레이트 또는 이칼슘 포스페이트, 또는 (a) 충전제 또는 증량제, 예를 들어 전분, 락토스, 수크로스, 글루코스, 만니톨 및 규산, (b) 결합제, 예를 들어 카르복시메틸셀룰로스, 알기네이트, 젤라틴, 폴리비닐피롤리돈, 수크로스 및 아카시아, (c) 습윤제, 예를 들어 글리세롤, (d) 봉해제, 예를 들어 아가-아가, 칼슘 카르보네이트, 감자 전분, 타피오카 전분, 알긴산, 특정 복합 실리케이트 및 나트륨 카르보네이트, (e) 용액 지연제 (retarder), 예를 들어 파라핀, (f) 흡수 가속화제, 예를 들어 4급 암모늄 화합물, (g) 습윤제, 예를 들어 세틸 알코올 및 글리세롤 모노스테아레이트, (h) 흡착제, 예를 들어 카올린 및 벤토 나이트, (i) 윤활제, 예를 들어 활석, 칼슘 스테아레이트, 마그네슘 스테아레이트, 고휘 폴리에틸렌 글리콜, 나 트륨 라우릴 술페이트, (j) 유백제 (opacifying agent), (k) 완충제, 및 본 발명의 화합물(들)을 소장관의 특정 부위에 지연된 방식으로 방출하는 보조제와 혼합된다.
- [1739] 본 발명의 조성물 중 활성 성분(들)의 실제 투여량은 환자를 위한 특정 조성물 및 투여 방법에 대해 원하는 치료 반응을 얻기에 효과적인 활성 성분(들)의 양을 얻기 위해 달라질 수 있다. 따라서, 임의의 특정 환자에 대해 선택된 투여량은 원하는 치료 효과, 투여 경로, 원하는 치료 기간, 질환의 병인 및 심각성, 환자의 상태, 체 중, 성별, 식이요법 및 연령, 각 활성 성분의 유형 및 효능, 흡수율, 물질 대사 및(또는) 배설 작용 및 기타 인 자를 비롯한 다양한 인자에 의존적이다.
- [1740] 환자에게 단일 투여량 또는 분리 투여량으로 투여되는 본 발명 화합물의 일일 총 투여량은, 예를 들어 하루에 체중 1 kg당 약 0.001 내지 약 100 mg, 바람직하게는 하루에 체중 1 kg당 0.01 내지 10 mg이다. 예를 들어, 성인의 경우에는 투여량이 흡입에 의해 일반적으로 하루에 체중 1 kg당 약 0.01 내지 약 100 mg, 바람직하게는 약 0.01 내지 약 10 mg이고, 경구 투여에 의해 하루에 체중 1 kg당 약 0.01 내지 약 100 mg, 바람직하게는 0.1 내지 70 mg, 보다 바람직하게는 0.5 내지 10 mg이며, 정맥내 투여에 의해 하루에 체중 1 kg당 약 0.01 내지 약 50 mg, 바람직하게는 0.01 내지 10 mg이다. 조성물 중 활성 성분의 비율은 적합한 투여량이 얻어지는 비율이어 야 하기는 하지만, 이 비율은 달라질 수 있다. 투여 단위 조성물은 위와 같은 양, 또는 일일 투여량을 구성하 기 위해 사용될 수 있는 그러한 양의 약수로 된 양을 함유할 수 있다. 분명하게도, 여러가지 단위 투여 형태가 거의 동시에 투여될 수 있다. 원하는 치료 효과를 얻기 위해 특정 투여량을 원하는 빈도로 투여할 수 있다. 몇몇 환자들은 보다 높거나 보다 낮은 투여량에 대해 신속하게 반응할 수 있으며, 보다 낮은 유지 투여량이 적 절함을 알 수 있을 것이다. 다른 환자의 경우, 각 특정 환자의 생리적 요구에 따라 하루에 1 내지 4회 복용량 의 비율로 장기간 치료가 필요할 수 있다. 물론, 다른 환자의 경우에는 하루에 1 또는 2회 복용량 이하의 처방 이 필요할 것이다.
- [1741] 본 발명의 제형은 제약업 분야에 잘 공지된 임의의 방법에 의해 단위 투여 형태로 제조될 수 있다. 그러한 방 법은 활성 성분을, 1종 이상의 부가 성분을 구성하는 담체와 혼합하는 단계를 포함한다. 일반적으로, 이 제형 은 활성 성분을 액체 담체 또는 미분쇄 고체 담체 또는 둘 모두와 균일하고 친밀하게 혼합한 후, 필요에 따라 생성물을 성형함으로써 제조된다.
- [1742] 본 발명의 제형은 단위-투여 또는 다중-투여 용기, 예를 들어 탄성 마개가 있는 밀봉 앰플 및 바이알 중에 제조 될 수 있으며, 주사용 물과 같은 멸균 액체 담체를 사용 직전에 첨가하기만 하면 되는 동결 건조 상태로 보관될 수 있다. 즉석 주사 용액 및 현탁액은 상기 설명한 유형의 멸균 분말제, 입제 및 정제로부터 제조될 수 있다.
- [1743] 본 발명의 범위 내에 포함되는 화합물은 문헌 및 하기에 설명된 시험들에 따라 현저한 약리학적 활성을 나타내 며, 이들 시험의 결과는 인간 및 다른 포유동물에서의 약리학적 활성과 관련성이 있을 것으로 믿어진다.

- [1744] 시험관내 효소 분석 과정
- [1745] HCV NS3 세린 프로테아제의 억제
- [1746] HCV NS3 프로테아제 도메인을 기존에 설명된 바와 같이 발현 및 정제하였다 (Vertex, PCT 공개 W098/17679호, 본원에 참고로 도입됨). 발색성 펩티드 기질인 EDVVAbuC-p-니트로아닐리드, 및 NS3 프로테아제에 대한 NS4A 보조인자 단편 (-KKGSVVIVGRIVLSGK-)을 아메리칸 펩티드 컴 (American Peptide Com; Ca)에 의해 주문 합성하였다. 본 발명의 화합물을, EDVVAbuC-p-니트로아닐리드를 기질로 사용한 분광 분석법을 이용하여 HCV NS3 프로테아제 활성을 억제하는 이들의 능력에 대해 시험하였다. 이 분석법은 반응속도 분석능을 지닌 스펙트라맥스 (SpectraMax) 250 판독기 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA)를 이용하여 96-웰 마이크로타이터 플레이트에서 수행하였다. 정제된 HCV NS3 프로테아제 (0.5 μ M)에 의한 EDVVAbuC-p-니트로아닐리드 (500 μ M) 기질의 절단은, 시험 화합물의 존재 또는 부재하에 30 μ M NS4A 단편, 46 mM Hepes, pH 8.0, 92 mM NaCl, 18% 글리세롤, 5 mM DTT 및 7.5% DMSO를 함유하는 완충액 중의 30℃에서 수행하였다. 405 nm에서 pNA (p-니트로아닐린)의 방출에 대해 반응을 모니터링하였다.
- [1747] V_{max} , K_m 및 V_{max}/K_m 을 비롯한 반응속도 파라미터의 측정은 상기 언급한 조건하에서 수행하였다. K_i 값은 속도 대 [억제제] 그래프로부터, 고정된 농도의 효소 및 기질에서, 단단한 결합의 경쟁적 억제에 대한 모리슨 (Morrison) 방정식 테이타의 비선형 최소 자승 피트 (nonlinear least squares fit)에 의해 측정하였다 [J. F. Morrison, Biochim. Biophys. Acta., 185, 269-286 (1969)]. 프리즘 (Prism) 프로그램 (GraphPad Software, Inc.)을 이 과정에 이용하였다.
- [1748] 본원에 개시된 HCV 세린 프로테아제 억제제는, 환자에서 수축성 HCV 감염에 대한 위험을 예방하거나 이미 감염된 환자를 치료하는 항-HCV 활성을 직접적으로 나타내거나 간접적으로 도출하는 다른 분자들과 조합하여 사용할 수 있다. 용어 "항-HCV 활성"은 특정 분자의 부재시의 HCV 비리온 축적에 비해 그러한 분자의 존재시에 HCV 비리온의 축적을 완전히 억제하거나 감소시키는 분자의 능력, 및(또는) 환자의 HCV 감염 또는 발병과 관련된 증상 또는 징후를 감소시키거나 완화시키는 분자의 능력을 의미한다. 항-HCV 활성을 갖는 분자에는 HCV 감염 또는 복제에서 하나 이상의 단계를 방해하는 분자들 뿐만 아니라, 숙주 세포에서 면역조절 작용 및 항-증식 작용을 도출하는 분자들이 포함된다. 항-HCV 활성을 갖는 분자들은 HCV-유래의 핵산 또는 단백질 합성 등을 비롯한 HCV-특이적 복제 사건을 억제할 수 있다. 항-HCV 활성을 갖는 분자들이 작용할 수 있는 HCV 복제의 단계에는 세포 유입 (예를 들어, 부착, 통과); 탈코팅 (uncoating) 및 HCV 게놈의 방출; HCV 게놈의 복제 (예를 들어, 바이러스 RNA 게놈의 어느 한 가닥 복제, 바이러스 전령 RNA의 전사); HCV 단백질의 번역; HCV 단백질의 번역후 변형 (예를 들어, 단백질 분해성 절단, 글리코실화); 바이러스 단백질의 세포내 수송; 비리온 성분의 어셈블리; 및 바이러스 입자의 방출 (예를 들어, 버딩 (budding))이 포함된다. 항-바이러스 활성을 갖는 분자들의 부류에는 가용성 수용체 미끼 및 항-수용체 항체; 이온 채널 차단 물질, 캡시드 안정화제 및 융합 단백질 억제제; 바이러스 중합효소, 역전사효소, 헬리카제, 프리마제 또는 인테그라제의 억제제; 안티센스 올리고뉴클레오타이드 및 리보자임; 인터페론과 같은 사이토카인, 및 펩티드 작용제, 스테로이드, 및 레바미솔 (levamisole)과 같은 전통적인 약물을 비롯한 면역조절제 및 면역자극제; 조절성 단백질의 억제제; 프로테아제 억제제; 어셈블리 단백질 억제제; 및 항-바이러스 항체 및 세포독성 림프구 등이 포함된다. 용어 "항-HCV 유효량" 또는 "제약상 유효량"은 본원에 개시된 화합물 또는 화합물들의 조합 체계의 양으로, 환자의 HCV 감염 또는 관련 병인과 관련된 증상 또는 징후를 감소 또는 완화시키는 데 효과적이거나, 또는 시험관내 또는 생체내에서 바이러스 양을 감소시키는 데 효과적인 양을 의미한다. 시험관내 적용에는 하기 설명하는 레플리콘 분석 시스템 (Replicon Assay system)이 포함되며, 여기서 그러한 양은 HCV 레플리콘 RNA의 축적 및(또는) 거기에 함유된 유전자에 의해 코딩되는 단백질의 축적을 감소시키는 데 효과적이다.
- [1749] 본원에 개시된 조합 치료의 조성물 및 방법에서 사용을 고려하고 있는, 항-HCV 활성을 갖는 화합물에는 면역자극성 사이토카인을 비롯한 면역조절성 분자, 및 다양한 항-바이러스성 뉴클레오시드 및 뉴클레오타이드와 같이 HCV 항-바이러스 활성을 갖는 것으로 공지된 다른 화합물들이 포함되지만, 이것으로 한정되지는 않는다.
- [1750] 본원에 개시된 HCV 세린 프로테아제 억제제와 조합하여 사용을 고려하고 있는 면역조절성 분자에는 인터페론-알파 2B (인트론 A, Schering Plough); 레바트론 (Rebatron; Schering Plough, 인터페론-알파 2B + 리바비린 (Ribavirin)); PEG화 인터페론 알파 (Reddy, K. R. et al. Efficacy and safety of pegylated (40-kd) interferon alpha-2a compared with interferon alpha-2a in noncirrhotic patients with chronic hepatitis C. Hepatology 33, 433-438 (2001)); 컨센서스 인터페론 (Kao, J. H., Chen, P. J., Lai, M. Y. & Chen, D. S. Efficacy of consensus interferon in the treatment of chronic hepatitis C. J. Gastroenterol.

Hepatol. 15, 1418-1423 (2000)); 인터페론-알파 2A (로페론 (Roferon) A; Roche); 림프아구성 (lymphoblastoid) 또는 "천연" 인터페론; 인터페론 타우 (Clayette, P. et al. IFN-tau, a new interferon type I with antiretroviral activity. Pathol. Biol. (Paris) 47, 553-559 (1999)); 인터루킨 2 (Davis, G. L., Nelson, D. R. & Reyes, G. R. Future options for the management of hepatitis C. Seminars in Liver Disease 19, 103-112 (1999)); 인터루킨 6 (Davis, G. L., Nelson, D. R. & Reyes, G. R. Future options for the management of hepatitis C. Seminars in Liver Disease 19, 103-112 (1999)); 인터루킨 12 (Davis, G. L., Nelson, D. R. & Reyes, G. R. Future options for the management of hepatitis C. Seminars in Liver Disease 19, 103-112 (1999)); 리바비린; 및 제1형 헬퍼 T 세포 반응의 전개를 증진시키는 화합물 (Davis, G. L., Nelson, D. R. & Reyes, G. R. Future options for the management of hepatitis C. Seminars in Liver Disease 19, 103-112 (1999))가 포함되지만, 이것으로 한정되지는 않는다. 인터페론은 직접적인 항-바이러스 효과를 발휘함으로써 및(또는) 감염에 대한 면역 반응을 변화시킴으로써 바이러스 감염을 완화시킬 수 있다. 인터페론의 항-바이러스 효과는 대체로 바이러스 통과 또는 탈코팅, 바이러스 RNA의 합성, 바이러스 단백질의 번역, 및(또는) 바이러스 어셈블리 및 방출의 억제를 통해 매개된다.

[1751] 세포에서 인터페론의 합성을 자극하는 화합물 (Tazulakhova, E. B., Parshina, O. V., Gusev, T. S. & Ershov, F. I. Russian Experience in Screening, Analysis, and Clinical Application of Novel Interferon Inducers. J. Interferon Cytokine Res. 21, 65-73)에는 단독 또는 토브라마이신 (tobramycin)과 조합된 이중 가닥 RNA, 및 이미퀴모드 (Imiquimod; 3M Pharmaceuticals) (Sauder, D. N. Immunomodulatory and pharmacologic properties of imiquimod. J. Am. Acad. Dermatol. 43, S6-11 (2000))가 포함되지만, 이것으로 한정되지는 않는다.

[1752] 비-면역조절 메카니즘에 의해 HCV 항-바이러스 활성을 갖거나 가질 수 있는 다른 화합물에는 리바비린 (ICN Pharmaceuticals); 이노신 5'-모노포스페이트 데히드로게나제 억제제 (VX-497, Vertex Pharmaceuticals에서 개발함); 아만타딘 (amantadine) 및 리만타딘 (rimantadine) (Younossi, A. M. and Perillo, R. P. The roles of amantadine, rimantadine, ursodeoxycholic acid, NSAIDs, alone or in combination with alpha interferons, in the treatment of chronic hepatitis C. Seminars in Liver Disease 19, 95-102 (1999)); LY217896 (미국 특허 제4,835,168호) (Colacino, J. M. et al. Evaluation of the anti-influenza virus activities of 1,3,4-thiadiazol-2-ylcyanamide (LY217896) and its sodium salt. Antimicrobial Agents & Chemotherapy 34, 2156-2163 (1990)); 및 9-히드록시이미노-6-메톡시-1,4a-디메틸-1,2,3,4,4a,9,10,10a-옥타히드로-페난트렌-1-카르복실산 메틸 에스테르; 6-메톡시-1,4a-디메틸-9-(4-메틸-피페라진-1-일이미노)-1,2,3,4,4a,9,10,10a-옥타히드로-페난트렌-1-카르복실산 메틸 에스테르-하이드로클로라이드; 1-(2-클로로-페닐)-3-(2,2-디페닐-에틸)-우레아 (미국 특허 제6,127,422호)가 포함되지만, 이것으로 한정되지는 않는다.

[1753] 상기 분자들의 제형, 투여량 및 투여 경로는 하기 인용된 참고문헌에 교시되어 있거나, 또는 예를 들어 문헌 [F. G. Hayden, in Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, Ninth Edition, Hardman et al., Eds., McGraw-Hill, New York (1996), Chapter 50, pp. 1191-1223] 및 거기에 인용된 참고문헌에 개시된 당업계 공지 사항의 것이다. 다르게는, 일단 HCV 항-바이러스 활성을 나타내는 화합물을 찾아내면, 당업자에게 공지된 기술을 이용하여 그 화합물의 제약상 유효량을 결정할 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Benet et al., in Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, Ninth Edition, Hardman et al., Eds., McGraw-Hill, New York (1996), Chapter 1, pp. 3-27] 및 거기에 인용된 참고문헌을 참조할 수 있다. 따라서, 그러한 화합물의 적당한 제형, 투여량 범위 및 투여 방식은 통상적인 방법에 의해 용이하게 결정할 수 있다.

[1754] 본 발명의 약물 조합 제제는, 1종 이상의 치료제를 함유하며 동시에 또는 순차적으로 투여되는 제약상 허용되는 개별 제형 중에서, 또는 단일 약제 및 다중 약제 제형의 편성에 의해, 세포(들)에게 또는 인간 환자에게 제공될 수 있다. 어떻게 투여되든지, 이들 약물 조합 제제는 항-HCV 유효량의 성분을 형성한다.

[1755] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 다수의 다른 면역조절제 및 면역자극제가 현재 입수가 가능하며, 여기에는 AA-2G; 아다만틸아미드 디펩티드; 아데노신 데아미나제 (Enzon); 보조제 (Alliance); 보조제 (Ribi); 보조제 (Vaxcel); 아주박스 (Adjuvax); 아겔라스핀 (agelasphin)-11; AIDS 치료제 (Chiron); 조류의 글루칸 (SRI); 알가물린 (algammulin; Anutech); 안긴릭 (Anginlyc); 항-세포 인자 (Yeda); 안티코트 (Anticort); 항-가스트린-17 면역원 (Ap); 항원 전달 시스템 (Vac); 항원 제형 (IDBC); 항-GnRH 면역원 (Aphton); 항-헤르핀 (Antiherpin); 아르비돌 (Arbidol); 아자롤 (azarole); Bay-q-8939; Bay-r-1005; BCH-1393; 베타펙틴 (Betafectin); 바이오스팀 (Biostim); BL-001; BL-009; 브론코스타트 (Broncostat); 칸타스팀 (Cantastim);

CDRI-84-246; 세포디짐 (cefodizime); 케포카인 억제제 (ICOS); CMV 펩티드 (City of Hope); CN-5888; 사이토카인 방출제 (St); DHEAS (Paradigm); DISC TA-HSV; J07B; IO1A; IO1Z; 디티오카르브 나트륨; ECA-10-142; ELS-1; 엔도톡신 (Novartis); FCE-20696; FCE-24089; FCE-24578; FLT-3 리간드 (Immunex); FR-900483; FR-900494; FR-901235; FTS-Zn; G-단백질 (Cadus); 글루타핀 (gludapcin); 글루타우린 (glutaurine); 글리코포스포펩티달 (glycophosphopeptical); GM-2; GM-53; GMDP; 성장 인자 백신 (EntreM); H-BIG (NABI); H-CIG (NABI); HAB-439; 헬리코박터 파일로리 (*Helicobacter pylori*) 백신; 허피스-특이적 면역 인자; HIV 치료제 (United Biomed); HyperGAM+CF; 이뮤맥스 (Immumax); 이문 (Immun) BCG; 면역 치료제 (Connective); 면역조절제 (Evans); 면역조절제 (Novacell); 임레그 (imreg)-1; 임레그-2; 인도문 (Indomune); 이노신 프라노박스 (inosine pranobex); 인터페론 (Dong-A; 알파2); 인터페론 (Genentech; 감마); 인터페론 (Novartis; 알파); 인터루킨-12 (Genetics Ins); 인터루킨-15 (Immunex); 인터루킨-16 (Research Cor); ISCAR-1; J005X; L-644257; 리코마라스민산; 리포테르 (LipoTher); LK-409; LK-410; LP-2307; LT (R1926); LW-50020; MAF (Shionogi); MDP 유도체 (Merck); met-엔케팔린 (enkephalin) (TNI); 메틸푸틸부티로락톤; MIMP; 미로모스팀 (mirimostim); 혼합 박테리아 백신 (Tem); MM-1; 모닐리아스타트 (moniliastat); MPLA (Ribi); MS-705; 무라부티드 (murabutide); 무라부티드 (Vacsyn); 무라밀 디펩티드 유도체; 무라밀 펩티드 유도체 마이엘로피드 (myelopid); -563; NACOS-6; NH-765; NISV (Proteus); NPT-16416; NT-002; PA-485; PEFA-814; 펩티드 (Scios); 펩티도글리칸 (Pliva); 페르톤 (Perthon; Advanced Plant); PGM 유도체 (Pliva); 파마프로젝트 (Pharmaprojects) 제1099호; 제1426호; 제1549호; 제1585호; 제1607호; 제1710호; 제1779호; 제2002호; 제2060호; 제2795호; 제3088호; 제3111호; 제3345호; 제3467호; 제3668호; 제3998호; 제3999호; 제4089호; 제4188호; 제4451호; 제4500호; 제4689호; 제4833호; 제494호; 제5217호; 제530호; 피도티모드 (pidotimod); 피멜라우티드 (pimelauteide); 피나피드 (pinafide); PMD-589; 포도필로톡신 (podophyllotoxin; Conpharm); POL-509; 폴리-ICLC; 폴리-ICLC (Yamasa Shoyu); 폴리A-폴리U; 폴리스카라이드 A; 단백질 A (Berlox Bioscience); PS34W0; 슈도모나스 (*Pseudomonas*) MAb (Teijin); 소마글로빈 (Psmaglobin); PTL-78419; 파이렉솔 (Pyrexol); 파이리페론 (pyriferone); 레트로젠 (Retrogen); 레트로펩 (Retropep); RG-003; 리노스타트 (Rhinostat); 리파막실 (rifamaxil); RM-06; 롤린 (Rollin); 로무르티드 (romurtide); RU-40555; RU-41821; 루벨라 (*Rubella*) 항체 (ResCo); S-27609; SB-73; SDZ-280-636; SDZ-MRL-953; SK&F-107647; SL04; SL05; SM-4333; 솔루테인 (Solutein); SRI-62-834; SRL-172; ST-570; ST-789; 스타파지 (staphage) 용균액; 스티물론 (Stimulon); 서프레신 (suppressin); T-150R1; T-LCEF; 타빌라우티드 (tabilautide); 테무르티드 (temurtide); 테라다임 (Theradigm)-HBV; 테라다임-HPV; 테라다임-HSV; THF (Pharm & Upjohn); THF (Yeda); 티말파신 (thymalfasin); 흥선 호르몬 분획; 티모카르틴 (thymocartin); 티모림프트로핀 (thymolymphotropin); 티모펜틴 (thymopentin); 티모펜틴 유사체; 티모펜틴 (Peptech); 티모신 (thymosin) 분획 5 (Alpha); 티모스티물린 (thymostimulin); 티모트리난 (thymotrinan); TMD-232; TO-115; 수송 인자 (Viragen); 터프신 (tuftsin; Selavo); 우베니맥스 (ubenimex); 울사스타트 (Ulsastat); ANGG-; CD-4+; Collag+; COLSF+; COM+; DA-A+; GAST-; GF-TH+; GP-120-; IF+; IF-A+; IF-A-2+; IF-B+; IF-G+; IF-G-1B+; IL-2+; IL-12+; IL-15+; IM+; LHRH-; LIPCOR+L LYM-B+; LYM-NK+; LYM-T+; OPI+; PEP+; PHG-MA+; RNA-SYN-; SY-CW-; TH-A-1+; TH-5+; TNF+; UN이 포함된다.

[1756]

본 발명에 유용한 대표적 뉴클레오시드 및 뉴클레오타이드 화합물에는 (+)-cis-5-플루오로-1-[2-(히드록시-메틸)-[1,3-옥사티올란-5-일]시토신; (-)-2'-데옥시-3'-티오시티딘-5'-트리포스페이트 (3TC); (-)-cis-5-플루오로-1-[2-(히드록시-메틸)-[1,3-옥사티올란-5-일]시토신 (FTC); (-)-2',3'-디데옥시-3'-티아시티딘 [(-)-SddC]; 1-(2'-데옥시-2'-플루오로-베타-D-아라비노푸라노실)-5-요오도시토신 (FIAC); 1-(2'-데옥시-2'-플루오로-베타-D-아라비노푸라노실)-5-요오도시토신 트리포스페이트 (FIACTP); 1-(2'-데옥시-2'-플루오로-베타-D-아라비노푸라노실)-5-메틸우라실 (FMAU); 1-베타-D-리보푸라노실-1,2,4-트리아졸-3-카르복사미드; 2',3'-디데옥시-3'-플루오로-5-메틸-텍소시티딘 (FddMeCyt); 2',3'-디데옥시-3'-클로로-5-메틸-텍소시티딘 (ClddMeCyt); 2',3'-디데옥시-3'-아미노-5-메틸-텍소시티딘 (AddMeCyt); 2',3'-디데옥시-3'-플루오로-5-메틸-시티딘 (FddMeCyt); 2',3'-디데옥시-3'-클로로-5-메틸-시티딘 (ClddMeCyt); 2',3'-디데옥시-3'-아미노-5-메틸-시티딘 (AddMeCyt); 2',3'-디데옥시-3'-플루오로티미딘 (FddThd); 2',3'-디데옥시-베타-L-5-플루오로시티딘 (베타-L-FddC); 2',3'-디데옥시-베타-L-5-티아시티딘; 2',3'-디데옥시-베타-L-5-시티딘 (베타-L-ddC); 9-(1,3-디히드록시-2-프로폭시메틸)구아닌; 2'-데옥시-3'-티아-5-플루오로시토신; 3'-아미노-5-메틸-텍소시티딘 (AddMeCyt); 2-아미노-1,9-[(2-히드록시메틸-1-(히드록시메틸)에톡시)메틸]-6H-푸린-6-온 (간시클로버 (gancyclovir)); 2-[2-(2-아미노-9H-푸린-9-일)에틸]-1,3-프로판딜 디아세테이트 (팜시클로버 (famciclovir)); 2-아미노-1,9-디히드로-9-[(2-히드록시-에톡시)메틸]6H-푸린-6-온 (아시클로버 (acyclovir)); 9-(4-히드록시-3-히드록시메틸-부트-1-일)구아닌 (펜시클로버 (penciclovir)); 9-(4-히드록시-3-히드록시메틸-부트-1-일)-6-데옥시-구아닌 디아세테이트 (팜시클로버

(famciclovir)); 3'-아지도-3'-테옥시티미딘 (AZT); 3'-클로로-5-메틸-텍소시티딘 (ClddMeCyt); 9-(2-포스포닐-메톡시에틸)-2',6'-디아미노푸린-2',3'-디데옥시리보시드; 9-(2-포스포닐메톡시에틸)아데닌 (PMEA); 아시클로버 트리포스페이트 (ACVTP); D-카르보시클릭-2'-데옥시구아노신 (CdG); 디데옥시-시티딘 (ddC); 디데옥시-시토신; 디데옥시-구아닌 (ddG); 디데옥시-이노신 (ddI); E-5-(2-브로모비닐)-2'-데옥시우리딘 트리포스페이트; 플루오로-아라비노푸라노실-요오도우라실; 1-(2'-데옥시-2'-플루오로-1-베타-D-아라비노푸라노실)-5-요오도-우라실 (FIAU); 스타부딘 (stavudine); 9-베타-D-아라비노푸라노실-9H-푸린-6-아민 모노하이드레이트 (Ara-A); 9-베타-D-아라비노푸라노실-9H-푸린-6-아민-5'-모노포스페이트 모노하이드레이트 (Ara-AMP); 2-데옥시-3'-티아-5-플루오로시티딘; 2',3'-디데옥시-구아닌; 및 2',3'-디데옥시-구아노신이 포함되지만, 이것으로 한정되지는 않는다.

[1757] 본 발명에 유용한 뉴클레오시드 및 뉴클레오티드의 제조를 위한 합성 방법은 문헌 [Acta Biochim. Pol., 43, 25-36 (1996)], [Swed. Nucleosides Nucleotides 15, 361-378 (1996)], [Synthesis 12, 1465-1479 (1995)], [Carbohydr. Chem. 27, 242-276 (1995)], [Chem. Nucleosides Nucleotides 3, 421-535 (1994)], [Ann. Reports in Med. Chem., Academic Press] 및 [Exp. Opin. Invest. Drugs 4, 95-115 (1995)]에 개시된 바와 같이 당업계

[1758] 상기 인용된 참고문헌에 기재된 화학 반응은 일반적으로 본 발명의 화합물을 제조하기 위한 가장 넓은 적용의 관점에서 개시되어 있다. 종종, 이 반응은 본원에 개시된 화합물의 범위 내에 포함된 각 화합물에 대해 기재된 바와 같이 적용할 수 없는 경우도 있다. 이 반응이 일어나는 화합물은 당업계 숙련자에 의해 용이하게 인식될 것이다. 그러한 모든 경우에 있어서, 어떤 반응은 당업계 숙련자에게 공지된 종래의 변형법에 의해, 예를 들어 반응을 방해하는 기의 적당한 보호에 의해, 다른 종래의 시약으로의 변화에 의해, 반응 조건의 통상적인 변형 등에 의해 성공적으로 수행될 수 있으며, 본원에 기재된 다른 반응 또는 다른 통상적인 반응이 본 발명의 상응하는 화합물을 제조하는 데 적용될 수도 있다. 모든 제조 방법에 있어서, 모든 출발 물질은 공지의 것이거나, 또는 공지의 출발 물질로부터 용이하게 제조할 수 있는 것이다.

[1759] 뉴클레오시드 유사체는 일반적으로 그 자체로 항-바이러스제로 사용되는 한편, 뉴클레오티드 (뉴클레오시드 포스페이트)는 세포막을 통한 수송을 용이하게 하기 위해 인젠가는 뉴클레오시드로 전환되어야만 한다. 세포에 유입될 수 있는, 화학적으로 개질된 뉴클레오티드의 예로는 S-1-3-히드록시-2-포스포닐메톡시프로필 시토신 (HPMPC, Gilead Sciences)이 있다. 산 형태인 본 발명의 뉴클레오시드 및 뉴클레오티드 화합물은 염을 형성할 수 있다. 그 예로는 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속, 예를 들어 나트륨, 칼륨, 칼슘 또는 마그네슘과의 염, 또는 유기 염기와의 염 또는 염기성 4급 암모늄염이 포함된다.

[1760] 본 발명의 복합 요법에 유용한 면역조절제 및 면역자극제는 당업계 통상의 양보다 적은 양으로 투여될 수 있다. 예를 들어, 인터페론 알파는 통상적으로 HCV 감염의 치료를 위해 인간에게 매주 3회씩 1인당 약 1×10^6 단위의 양 내지 매주 3회씩 1인당 약 10×10^6 단위의 양으로 투여된다 (Simon et al., Hepatology 25: 445-448 (1997)). 본 발명의 방법 및 조성물에 있어서, 이 투여량은 매주 3회씩 1인당 약 0.1×10^6 단위 내지 매주 3회씩 1인당 약 7.5×10^6 단위; 보다 바람직하게는 매주 3회씩 1인당 약 0.5×10^6 단위 내지 매주 3회씩 1인당 약 5×10^6 단위; 가장 바람직하게는 매주 3회씩 1인당 약 1×10^6 단위 내지 매주 3회씩 1인당 약 3×10^6 단위의 범위일 수 있다. 본 발명의 HCV 세린 프로테아제 억제제가 존재하는 경우에는 면역조절제 및 면역자극제의 C형 간염 바이러스에 대한 항-바이러스 효과가 증진되기 때문에, 이들 면역조절제/면역자극제의 양을 감소시켜 본원에 개시된 방법 및 조성물에 사용할 수 있다. 이와 유사하게, 면역조절제 및 면역 자극제가 존재하는 경우에는 HCV 세린 프로테아제 억제제의 C형 간염 바이러스에 대한 항-바이러스 효과가 증진되기 때문에, 이들 HCV 세린 프로테아제 억제제의 양을 감소시켜 본원에 개시된 방법 및 조성물에 사용할 수 있다. 이와 같은 감소된 양은 치료를 수행중인 감염 환자에서 C형 간염 바이러스의 역가 (titer)를 통상적으로 모니터링함으로써 결정할 수 있다. 이는 예를 들어, 슬롯-블롯 (slot-blot), 도트-블롯 (dot-blot) 또는 RT-PCR 기술에 의한 환자 혈청의 HCV RNA 모니터링에 의해, 또는 HCV 표면 항원 또는 다른 항원의 측정에 의해 수행할 수 있다. 본원에 개시된 HCV 세린 프로테아제 억제제와 항-HCV 활성을 갖는 다른 화합물 (예를 들어, 뉴클레오시드 및(또는) 뉴클레오티드 항-바이러스제)을 사용하는 조합 치료시에 환자를 유사하게 모니터링하여, 조합 제제 사용시 각각의 최저 유효 투여량을 결정할 수 있다.

[1761] 본원에 개시된 조합 치료의 방법에서, 뉴클레오시드 또는 뉴클레오티드 항-바이러스 화합물, 또는 이들의 혼합물을 약 0.1 mg/1인/일 내지 약 500 mg/1인/일 범위, 바람직하게는 약 10 mg/1인/일 내지 약 300 mg/1인/일 범

위, 보다 바람직하게는 약 25 mg/1인/일 내지 약 200 mg/1인/일 범위, 보다 더 바람직하게는 약 50 mg/1인/일 내지 약 150 mg/1인/일 범위, 가장 바람직하게는 약 1 mg/1인/일 내지 약 50 mg/1인/일 범위의 양으로 인간에게 투여할 수 있다.

[1762] 화합물의 투여량은 단일 투여량으로, 또는 비례하는 다중 하위 투여량으로 환자에 투여될 수 있다. 후자의 경우, 투여 단위 조성물은 일일 투여량을 구성하는 그의 약수의 양으로 함유할 수 있다. 다중 일일 투여량은 또한, 약물을 처방하는 사람이 원한다면 총 일일 투여량을 증가시킬 수도 있다.

[1763] HCV 감염을 앓고 있는 환자를 본 발명의 화합물 및(또는) 조성물로 치료하는 치료법은 환자의 연령, 체중, 성별, 식이요법 및 의학적 상태, 감염의 심각성, 투여 경로, 약리학적 고려사항 (예를 들어, 사용되는 특정 화합물의 활성, 효능, 약물동력학 및 독물학 프로필), 및 약물 전달 시스템이 이용되는지의 여부를 비롯한 다양한 인자에 따라 선택된다. 본원에 개시된 약물 조합 제제의 투여는 일반적으로 바이러스 역가가 허용가능한 수준이 되어 감염이 제어 또는 근절되었다고 나타날 때까지 수주 내지 수개월 또는 수년의 기간에 걸쳐 지속되어야 한다. 본원에 개시된 약물 조합 제제로 치료를 수행하고 있는 환자를, 슬롯-블롯, 도트-블롯 또는 RT-PCR 기술에 의한 환자 혈청의 간염 바이러스 RNA 측정에 의해, 또는 혈청에서 C형 간염 바이러스 항원 (예를 들어, 표면 항원)의 측정에 의해 통상적으로 모니터링하여 치료법의 효과를 결정할 수 있다. 이들 방법에 의해 얻어진 데이터들을 연속적으로 분석함으로써, 치료시 치료법을 변형하여 조합 제제 중 각 성분의 최적량이 투여되도록, 그리고 치료 기간도 결정되도록 할 수 있다. 따라서, 치료 방법 및 투여량 스케줄은, 만족할만한 항-C형 간염 바이러스 효과를 나타내는 조합 제제에 함께 사용되는 각각의 항-바이러스 화합물의 최소량이 투여되도록, 그리고 조합 제제 중 각 항-바이러스 화합물의 투여가 감염의 성공적인 치료에 필수적인 기간 동안 지속되도록, 치료 기간 동안 합리적으로 변화될 수 있다.

[1764] 본 발명은 항-HCV 활성을 갖는 화합물의 상기 유형 및 유사한 유형과의 다양한 조합 제제 중에서 본원에 개시된 HCV 세린 프로테아제 억제제를 사용하여 환자에서 HCV 감염을 치료 또는 예방하는 것을 포함한다. 예를 들어, 1종 이상의 HCV 세린 프로테아제 억제제가, 항-HCV 활성을 갖는 1종 이상의 인터페론 또는 인터페론 유도체; 항-HCV 활성을 갖는 1종 이상의 비-인터페론 화합물; 또는 항-HCV 활성을 갖는 1종 이상의 인터페론 또는 인터페론 유도체, 및 항-HCV 활성을 갖는 1종 이상의 비-인터페론 화합물과 조합하여 사용될 수 있다. 인간 환자에서 HCV 감염을 치료 또는 예방하기 위한 조합 제제 중에 사용하는 경우, 현재 개시된 모든 HCV 세린 프로테아제 억제제 및 항-HCV 활성을 갖는 상기 화합물이 제약상 유효량 또는 항-HCV 유효량으로 존재할 수 있다. 이들의 상가 효과 또는 상승 효과에 의해, 상기 설명한 조합 제제 중에 사용하는 경우에는 각각이 준임상적인 제약상 유효량 또는 항-HCV 유효량으로, 즉 단독으로 사용하면 HCV 세린 프로테아제 억제제 및 항-HCV 활성을 갖는 화합물을 제약상 유효량으로 사용하는 경우에 비해 HCV 바이러스의 축적을 완전히 억제하거나 감소시키고(시키거나) 환자에서 HCV 감염 또는 발병과 관련된 증상 또는 징후를 감소시키거나 완화시키는 데 제약상 효과가 감소하는 양으로 존재할 수도 있다. 또한, 본 발명은 상기 설명한 HCV 세린 프로테아제 억제제와 항-HCV 활성을 갖는 화합물의 조합 제제를 사용하여 HCV 감염을 치료 또는 예방하는 것을 포함하며, 여기서 1종 이상의 이들 억제제 또는 화합물은 제약상 유효량으로 존재하고, 다른 것(들)은 이들의 상가 효과 또는 상승 효과로 인해 준임상적인 제약상 유효량 또는 항-HCV 유효량으로 존재한다. 본원에서 사용된 "상가 효과"는 2종 (또는 그 이상)의 제약 활성제가 나타내는 조합 효과가 각 약제 단독의 효과를 합한 것과 동일한 것을 나타낸다. 상승 효과는 2종 (또는 그 이상)의 제약 활성제가 나타내는 복합 효과가 각 약제 단독의 효과를 합한 것보다 큰 것이다.

[1765] 실시예 42

[1766] C형 간염 바이러스 (HCV) 감염에 대한 현행 표준 치료법은 면역조절제 알파-인터페론을 사용한 치료이다 (Chronic Hepatitis C: Current Disease Management, U. S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, 1999). 이 치료법은 장기간의 인터페론 치료법 후에도 반응이 없거나 재발하는 대부분의 HCV 환자에게 효과가 없다. 또한, 인터페론 치료법과 관련하여 심각한 부작용이 존재한다.

[1767] HCV 감염 환자를 치료하기 위한 새롭고 보다 효과적인 항-바이러스 약물에 대한 집요한 요구의 관점에서, 본 발명자들은 HCV의 세린 프로테아제 (HCV 바이러스 단백질인 NS3과 NS4A의 복합체)를 억제하는 일련의 화합물을 개발하였다. 이들 화합물은 단독으로, 다른 화합물과 함께, 그리고 HCV 감염을 치료 또는 예방하기 위한 다른 부류의 화합물들과 조합하여 사용될 수 있다. 본 실시예는 3가지 대표적인 HCV 세린 프로테아제 억제제, 즉 화합물 CU, 화합물 EP 및 화합물 EC를 단독으로, 그리고 인터페론 세트의 개개 구성원 (인터페론 알파-2B (Schering Plough), 인터페론 알파-2A (PBL Biomedical Laboratories, New Brunswick, NJ), 인터페론 베타 (Research Diagnostics Inc, Flanders, NJ) 및 양-인터페론 타우 (Research Diagnostics Inc, Flanders, NJ))과 조합하여

HCV 서브게놈 RNA 레플리콘 분석법 (Replicon Assay)에서 2종의 화합물이 함께 HCV RNA 축적을 감소시키는 데 작용하는지의 여부를 결정하는 시험에 관해 설명한다. 레플리콘 분석법은 약물 치료 2일 후에 레플리콘 세포에 남아있는 HCV 서브게놈 RNA (레플리콘 RNA)의 양 (Lohmann et al. Science 285: 110-113 (1999))을 비처리 세포에서의 레플리콘 RNA의 양과 비교하여 측정한다. 이 분석법에서, HCV 항-바이러스 약물로서의 화합물의 효능은 레플리콘 RNA 축적의 억제량과 정비례한다.

[1768] 2종의 약물을 조합하여 시험관내 레플리콘 분석 시스템에서 시험하여, 함께 사용시 이들이 항-HCV 활성의 상가 효과 또는 상승 효과를 나타내는지 여부를 결정하였다. 레플리콘 분석법을 시험관내 HCV 감염에 대한 대리 모델로서 사용하여 면역조절제, 예를 들어 인터페론-알파 2B (인트론 A; Schering Plough)와 HCV 세린 프로테아제 억제제, 예를 들어 화합물 CU의 조합 효과를 평가하였다. 하기에 나타난 바와 같이, 그 결과는 레플리콘 분석법에서 HCV RNA의 양을 감소시키는 능력을 분석하기 위한 상승 효과의 정규 수학 측정법을 이용하여 측정된 2가지 유형의 약물이 분명한 항-HCV 상승 효과를 나타냄을 입증하였다.

[1769] 레플리콘 분석법

[1770] 자기-복제 HCV 서브게놈 RNA (레플리콘)를 함유하는 세포주를 이용한 레플리콘 분석법은 문헌 [Lohmann et al. Science 285: 110-113 (1999)]에 기재되어 있다. 본원에 기재된 실험에서 사용된 레플리콘의 서열에 대한 진뱅크 (Genbank) 허가번호는 상기 참고문헌에 AJ242654호로 기재되어 있다. 상기 논문은 레플리콘 cDNA로부터 RNA의 시험관내 전사 방법, 전기천공법에 의한 레플리콘 RNA의 Huh7 세포로의 형질감염 방법, 및 항생제 G418을 사용한 레플리콘 RNA 함유 세포의 선별 방법이 개시되어 있다. Huh7 세포는 폭스 체이스 암 연구 센터 (Fox Chase Cancer Research Center, Philadelphia)의 메이슨 박사 (Dr. William Mason)로부터 얻은 간암 세포주이다. 이들 세포는 폭스 체이스로부터 공개적으로 입수 가능하며, 과학 문헌 (Nakabayashi et al. Cancer Res. 42: 3858-3863 (1982))에 광범위하게 기재되어 있다. 본원에 설명된 실험에서, 레플리콘 RNA를 Huh7 세포에 전기천공법으로 도입하기 전에, DNase로의 다수 처리 (3회의 순차적 처리)에 의해 모든 주형 DNA를 시험관내 전사된 레플리콘 RNA로부터 제거하였다.

[1771] 레플리콘 분석법은 하기 상세히 설명하는 바와 같이 수행하였다. 요컨대, 레플리콘 세포를 웰당 10,000개 세포의 밀도로 96웰 트레이 (tray)에 넣어 37°C에서 배양하였다. 이 세포를 10% 태아소 혈청, 글루타민, 비-필수 아미노산 및 항생제 G418 (0.25 mg/ml)이 보충된 DMEM (Dulbecco's Minimal Essential Media)에서 배양하였다. 밤새 배양한 후, 배지를 2% 태아소 혈청 및 다양한 농도의 세린 프로테아제 억제제 (예를 들어, 화합물 CU) 및 (또는) 인터페론 (예를 들어, 인터페론-알파 2B; 인트론 A, Schering Plough)을 함유하는 DMEM으로 대체하였다. 각 화합물을 6 내지 8종의 상이한 농도에서 시험하였다. 극한 범위의 농도는, 처리 2일 후에 레플리콘 RNA 축적을 거의 완전히 억제하는 화합물의 높은 농도를 선택하였다. 이 출발 농도로부터, 레플리콘 분석법에서 시험되는 농도 범위가 화합물이 높은 효과를 나타내는 농도 및 유의한 효과가 없는 농도를 포함하도록 일련의 희석을 수행하였다. 각 HCV 세린 프로테아제 억제제 농도에 있어서, 인터페론을 첨가하지 않은 경우와 6 내지 8종의 상이한 인터페론 투여량을 첨가한 경우에 대해 시험하였다. 이와 유사하게, HCV 세린 프로테아제 억제제를 첨가하지 않고 인터페론을 시험하였다. 화합물과 함께 48시간 동안 배양한 후, 플레이트로부터 배지를 제거하고, 전체 세포성 RNA를 RNeasy-96 키트 (Qiagen Inc., Valencia, CA)를 이용하여 세포로부터 추출하였다. 그 후, 이 RNA를 정량 RT-PCR 또는 택맨 (등록상표, TaqMan; Applied Biosystems, Foster City, CA)에 의해 분석하였다. 택맨 (등록상표) RT-PCR 표적은 레플리콘 RNA의 네오마이신 내성 유전자였다. 각 약물 처리 샘플 5배수, 및 비처리 샘플 16배수로 플레이트를 셋업 (set-up)하였다. 이는 정량 RT-PCR 데이터의 통계적 신뢰도를 더 크게 해주었다.

[1772] 레플리콘 분석법의 데이터를 분석한 결과, 잠재적 HCV 항-바이러스제의 효능을 평가하는 데 유용한 2개의 값을 얻었다. 시험된 각 화합물 농도에서, 비처리 세포의 레플리콘 RNA량에 대해 2일간의 처리에 의해 유발된 레플리콘 RNA 축적의 억제량을 측정하였다. 이는 억제율로서 기록하였다. 특정 농도 범위에서 세포의 처리에 의해 생성된 일련의 데이터 지점을 얻었을 때, IC₅₀ 값, 즉 HCV 레플리콘 RNA 축적이 화합물에 의해 50% 감소한 화합물 농도가 생성되었다. 레플리콘 분석법에서 HCV 세린 프로테아제 억제제의 시험을 반복함으로써, IC₅₀ 값이 약 20%의 변이 계수율 (percent coefficient of variation; %CV 또는 $100\% \times \text{IC}_{50} / \text{평균 IC}_{50}$ 의 표준 편차)을 갖는 것으로 결정되었다. IC₅₀은 이 분석법에서 시험된 개개 화합물을 HCV 항-바이러스제로서 이들의 효능에 등급을 매기기 위해 사용되는 값이다. IC₅₀ 결정 요소만으로는 조합 제제에 사용된 화합물들의 유용성을 평가하기에 부적절하다. 상이한 인터페론과 세린 프로테아제의 모든 조합 제제를 사용하여 생성된 데이터 배열의 가장 효과

적인 분석은, 복합 치료가 작용적, 상가적 또는 상승적인지의 여부를 결정하기 위해 고안된 하기 수학적 방법을 이용하여 표 7에 나타난 바와 같은 억제율의 평가를 필요로 한다.

[1773] 레플리콘 분석법에 대한 상세한 설명은 아래와 같다:

[1774] **택맨 (등록상표) RT-PCR을 사용한 HCV 레플리콘 분석법에서 HCV 레플리콘 RNA의 정량 분석 과정**

[1775] 레플리콘 분석법을 이용하여 잠재적 HCV 항-바이러스제가 Huh7 세포주에서 HCV 서브게놈 RNA 레플리콘 분자의 축적을 억제하는지 측정하였다 (Lohmann et al. Replication of Subgenomic Hepatitis C Virus RNAs in a Hepatoma Cell Line. Science 285, 110-113 (1999)). 이 분석법은 3가지 조작 성분, 즉 (1) 레플리콘 세포 유지, 분석 플레이트 셋업, 및 화합물 투여, (2) 레플리콘 세포로부터 전체 세포성 RNA의 추출, 및 (3) 실시간 RT-PCR (TaqMan, 등록상표)로 각 샘플의 레플리콘 RNA량 측정을 포함한다. 레플리콘 분석법을 수행하기 위해서는 적어도 4일이 소요되지만, 각 단계들 사이에서 공정을 멈추고 샘플을 동결시킬 수 있다. 각 분석 성분을 아래에 설명한다.

[1776] **1. 레플리콘 세포 유지, 분석 플레이트 셋업, 및 화합물 투여**

[1777] **1.1 레플리콘 세포주 유지**

[1778] 레플리콘 분석법에 사용된 세포주를 문헌 [Lohmann et al., Replication of Subgenomic Hepatitis C Virus RNAs in a Hepatoma Cell Line. Science 285, 110-113 (1999)]에 기재된 바와 같이 제조하였다. 레플리콘 세포를 함유하는 150 cm² 세포 배양 플라스크 (Costar)를 37℃ 및 5% CO₂에서 배양하여 조밀한 상태가 되도록 하고, 세포를 1:10 (부피/부피)으로 희석하여 새로운 150 cm² 세포 배양 플라스크에 넣었다. 배지는 10% 태아소 혈청 (FBS), 1X 비-필수 아미노산 (NEAA), 1X 글루타민 (Glu) 및 0.25 mg/ml G418을 함유하는 DMEM이었다. 3회의 계대 배양을 수행하되, 각 회마다 세포가 조밀한 상태가 되도록 한 후, 세포를 희석하여 새로운 150 cm² 세포 배양 플라스크에 넣었다. "최초 세포 (original cell)"라 불리우는 이들 세포를 분취하여, 이후에 레플리콘 분석에 사용하기 위해 보관하였다. 택맨 (등록상표) 기재의 분석법을 수행하여 각 세포당 HCV 레플리콘의 수를 측정한 결과, 세포당 약 150 카피수의 레플리콘이 존재함이 밝혀졌다. 이는 인간 *apoB* 유전자 카피수의 2배 (반수체 게놈의 수)에 대한 레플리콘 RNA 카피수의 비율에 기초한 것이다.

[1779] 1.1.1 최초 세포를 액체 N₂에 보관하였다. 레플리콘 분석법에 사용되는 세포의 경우, 20회의 계대 배양 후에 세포를 폐기하고 액체 N₂ 저장물로부터 신선한 세포를 소생시켰다.

[1780] **1.2 레플리콘 분석용 96-웰 트레이로의 세포 플레이팅**

[1781] 1.2.1 96-웰 플레이트의 제조를 위해, 75% 조밀도의 레플리콘 함유 세포가 들어있는 75 cm² 플라스크를 트립신 처리하여 10 ml의 배지 A에 재현탁하였다. 트립신 처리는, 배지를 제거하고, 1 ml의 트립신-EDTA (0.25 중량/부피%)를 첨가한 후, 트립신-EDTA를 제거함으로써 수행하였다. 5 내지 10분 후에 세포가 플라스크로부터 떨어졌고, 이를 배지 중에 재현탁하였다.

[1782] 1.2.2 세포를 헤마사이토미터 (hemacytometer)로 계수하고, 세포 농도를 10⁵ 세포/ml로 조정하였다.

[1783] 1.2.3 임팩트2 멀티-채널 피펫 (Impact2 multi-channel pipette; Matrix)을 이용하여 각 웰에 100 μl의 세포 현탁액을 시딩하되, 단일 세포 현탁액으로부터 4개 이하의 96-웰 플레이트에 플레이팅하였다.

[1784] 1.2.4 96-웰 플레이트를 37℃에서 밤새 배양하였다.

[1785] **1.3 화합물 희석 및 레플리콘 세포 트레이로의 투여**

[1786] 1.3.1 HCV 세린 프로테아제 억제제 화합물을 디메틸설폭사이드 (DMSO)에 최종 농도 20 mM로 용해하였다. 0.1 중량/부피%의 소 혈청 알부민을 함유하는 인산염 완충 염수에 인터페론을 현탁하였다.

[1787] 1.3.2 20 mM 화합물 용액을 DMSO로 1 mM이 되게 희석하였다.

[1788] 1.3.3 DMSO에 용해된 50 μl의 화합물을 10 ml의 배지 B (화합물 농도는 5 mM이고, DMSO 농도는 이제 0.5%임)에 첨가하거나, 또는 20 μl의 1 mM 화합물 및 30 μl의 DMSO를 10 ml의 배지 B (화합물 농도는 2 μM임)에 첨가하였다.

- [1789] 1.3.4 화합물 및 배지 B의 용액을 배지 C (0.5% DMSO 함유)와 혼합함으로써 최종 농도로의 화합물 희석을 완결하였다. 2 ml 폴리프로필렌 96-웰 블록에서 배지 C로 화합물을 1 내지 5회 연속 희석하여 원하는 최종 농도의 화합물을 얻었다.
- [1790] 1.3.5 세포 플레이트를 37℃ 배양기에서 꺼내어 뚜껑의 우측 상단과 기저부의 우측면에 표지하였다. 배지를 96-웰 플레이트에서 제거하였다.
- [1791] 1.3.6 96-웰 희석 블록의 각 웰로부터의 화합물 및 배지의 용액 100 μ l를 임팩트2 피펫을 이용하여 96-웰 세포 플레이트에 첨가하였다.
- [1792] 1.3.7 상이한 1, 3 또는 6종의 농도에서의 시험 화합물에 대한 표 3에 따라 모든 비처리 웰에 100 μ l의 배지 C를 첨가하였다.

표 3

2종의 화합물 6종의 농도 5회 반복 실험

	화합물 1						화합물 2					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A		untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	
B		con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	
C		con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	
D		con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	
E		con.4	con.4	con.4	con.4	con.4	con.4	con.4	con.4	con.4	con.4	
F		con.5	con.5	con.5	con.5	con.5	con.5	con.5	con.5	con.5	con.5	
G		con.6	con.6	con.6	con.6	con.6	con.6	con.6	con.6	con.6	con.6	
H		untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	

4종의 화합물 3종의 농도 5회 반복 실험

	화합물 1						화합물 2					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A		untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	
B		con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	
C		con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	
D		con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	
E		con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	con.1	
F		con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	con.2	
G		con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	con.3	
H		untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	

16종의 화합물 1종의 농도 4회 반복 실험

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A		untx	cpd 1	cpd 2	cpd 3	cpd 4	cpd 5	cpd 6	cpd 7	cpd 8	untx	
B		untx	cpd 1	cpd 2	cpd 3	cpd 4	cpd 5	cpd 6	cpd 7	cpd 8	untx	
C		untx	cpd 1	cpd 2	cpd 3	cpd 4	cpd 5	cpd 6	cpd 7	cpd 8	untx	
D		untx	cpd 1	cpd 2	cpd 3	cpd 4	cpd 5	cpd 6	cpd 7	cpd 8	untx	
E		untx	cpd 9	cpd 10	cpd 11	cpd 12	cpd 13	cpd 14	cpd 15	cpd 16	untx	
F		untx	cpd 9	cpd 10	cpd 11	cpd 12	cpd 13	cpd 14	cpd 15	cpd 16	untx	
G		untx	cpd 9	cpd 10	cpd 11	cpd 12	cpd 13	cpd 14	cpd 15	cpd 16	untx	
H		untx	cpd 9	cpd 10	cpd 11	cpd 12	cpd 13	cpd 14	cpd 15	cpd 16	untx	

12종의 화합물 1종의 농도 5회 반복 실험

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A		untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	
B		cpd 1	cpd 1	cpd 1	cpd 1	cpd 1	cpd 7	cpd 7	cpd 7	cpd 7	cpd 7	
C		cpd 2	cpd 2	cpd 2	cpd 2	cpd 2	cpd 8	cpd 8	cpd 8	cpd 8	cpd 8	
D		cpd 3	cpd 3	cpd 3	cpd 3	cpd 3	cpd 9	cpd 9	cpd 9	cpd 9	cpd 9	
E		cpd 4	cpd 4	cpd 4	cpd 4	cpd 4	cpd 10	cpd 10	cpd 10	cpd 10	cpd 10	
F		cpd 5	cpd 5	cpd 5	cpd 5	cpd 5	cpd 11	cpd 11	cpd 11	cpd 11	cpd 11	
G		cpd 6	cpd 6	cpd 6	cpd 6	cpd 6	cpd 12	cpd 12	cpd 12	cpd 12	cpd 12	
H		untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	untx	

- [1793]
- [1794] 1.4 플레이트를 37℃에서 48시간 동안 배양한 후, RNA를 추출하였다.

표 4

[1795]	세포 배양 및 화합물 셋업에 사용되는 장비와 공급물의 요약		
	8 채널 임팩트2 피펫, 1250 μ l	cat no. 2004	매트릭스

2 ml 폴리프로필렌 딥-웰 블록, 96-웰, 멸균된 것	cat no. 4222	매트릭스
25 ml 시약 용기, 멸균된 것	cat no. 8096	매트릭스
1250 μ l 엑스트라 롱 피펫 팁	cat no. 8255	매트릭스
96-웰 플레이트	cat no. 3595	코스타
헤마사이토미터	밝은 선이 개선된 누바우어 0.1 mm 딥	레이체르트
DMEM	cat no. 51444-79P	JRH
L-글루타민 (Glu)	cat no. 12403-010	GIBCO-BRL
비-필수 아미노산 (NEAA)	cat no. 11140-050	GIBCO-BRL
태아소 혈청 (FBS)	cat no. 16250-078	GIBCO-BRL
G418	cat no. 55-0273	인비트로겐
DMSO	cat no. D-2650	시그마
배지 A	DMEM, 10% FBS, 1X NEAA, 1X Glu, 0.25 mg/ml G418	
배지 B	DMEM, 2% FBS, 1X NEAA, 1X Glu	
배지 C	DMEM, 2% FBS, 1X NEAA, 1X Glu, 0.5% DMSO	
트립신-EDTA 0.25%	GIBCO-BRL	

[1796] **2. 레플리콘 세포로부터 전체 세포성 RNA의 추출**

[1797] **2.1 도입**

[1798] 이 과정의 목적은, 시험관내 조직 배양 샘플로부터 바이러스 또는 세포 RNA를 정량적으로 회수하여 정량 HCV RT-PCR 분석법에 의해 분석하기에 충분할 정도로 순수하게 하는 것이다.

[1799] RNA 추출 효율의 변화를 검출하기 위해, 표준량의 소의 바이러스성 설사 바이러스 (BVDV; HCV와 어느 정도 유사성을 갖는 RNA 바이러스)를 RNA 추출 전에 각 세포 샘플에 첨가하였다. 따라서, 최종의 다중 RT-PCR 반응에서 검출된 BVDV RNA의 양은 모든 웰에서 레플리콘 분석법과 관련된 변화 한도 내에서 일관되어야 한다. 이 RNA 추출 효율의 내부 대조구는 하기 택맨 (등록상표)에 관한 단락에서 더 논의된다.

[1800] 이용된 RNA 추출 방법은 퀴아젠사 (Qiagen Inc., Valencia, CA)에서 제조한 RNeasy-96 방법이었다. 이 방법은 96-웰 조직 배양 조작에 적합한 배열로 위치한 96 실리카-기재 미니-컬럼을 이용한다. RNA 추출 기술은, 모든 세포성 단백질을 비롯한 핵산이 우선 강력한 카오트로픽 (chaotropic) 염 (구아니디늄 티오시아네이트)으로 변성되는 붐 (Boom) 방법의 변형법이다. 이러한 환경에서, 핵산은 미니-컬럼 디스크의 재료인 실리카에 대해 강력한 친화도를 갖지만, 단백질 및 다른 오염물은 실리카에 결합하지 않고 컬럼을 통과한다. 컬럼을 카오트로픽 및 에탄올의 용액으로 세척한 후, 샘플을 부분적으로 건조시키고, 핵산을 컬럼에서 소량의 물 증으로 방출한다.

[1801] 회수하는 HCV RNA의 변화를 감소시키기 위해, 컬럼을 세척하고 부분적으로 건조하는 조건에 주의를 기울여야 한다. 컬럼에 소량의 에탄올이 존재하더라도 최종 RNA가 오염되어 RT-PCR 검출 시스템을 방해하게 된다. 상기 과정의 모든 단계에 신중을 기해야 하는데, 이는 출발 샘플이 생물학적 위험물이고, 카오트로픽 염이 고부식성이며, 티오시아네이트는 산성 환경에 접촉하게 되면 독성 시아나이드 기체를 생성할 수 있기 때문이다.

표 5

[1802]

HCV RNA 추출 과정에 필요한 장비 및 공급물의 요약		
RNeasy 96 키트 (24)	cat no. 74183	퀴아젠
QIA vac 96 매니폴드	cat no. 19504	퀴아젠
2×96 플레이트용 원심분리 4-15C, 6000 x g	cat no. 81010	퀴아젠
2×96 플레이트용 플레이트 로터	cat no. 81031	퀴아젠
200 프루프 에틸 알코올		
8 채널 임팩트2 피펫, 250 μ l	cat no. 2002	매트릭스
8 채널 임팩트2 피펫, 1250 μ l	cat no. 2004	매트릭스
2 ml 폴리프로필렌 딥-웰 블록, 96-웰, 멸균된 것	cat no. 4222	매트릭스
25 ml 시약 용기, 멸균된 것	cat no. 8096	매트릭스

1250 μ l 엑스트라 롱 피펫 팁	cat no. 8255	매트릭스
200 μ l 피펫 팁	cat no. 7275	매트릭스
무혈청 배지	cat no. 11095-80	GIBCO-BRL

- [1803] **2.2 공정 :**
- [1804] 2.2.1 세포 용해
- [1805] 2.2.1.1. 용해 완충액을 제조한다: 96-웰 플레이트에 150 μ l의 β -머캅토포에탄올 (β -ME) 및 1 μ l의 BVDV 스톱 (첨가전 스톱을 교반함)을 15 ml의 RLT 완충액 (RNeasy 키트 (퀴아젠 (Qiagen))의 성분)에 첨가한다. 상기 스톱을 MDBK 세포 (소의 신장 세포, #CCL-22, VA 마나썬스 소재의 아메리칸 타입 컬처 콜렉션 (American Type Culture Collection) 제품)를 BVDV로 감염시키고 최대 세포변성 효과 (CPE)에서 배양액을 수확함으로써 제조한다. 상기 스톱은 대략 1×10^7 pfu/ml의 전염성 역가 (infectious titer)를 가진다. 이것은 BVDV에 택맨 (등록상표) 에세이에서 약 22의 한계치 사이클 (C_t)을 제공한다. BVDV 스톱을 -80 °C의 냉동기에 보관한다.
- [1806] 2.2.1.2. 세포를 150 μ l의 무-혈청 MEM 매질 (8 채널 전기 피펫 P1250에서 프로그램 4: Fill 1250, Disp 150 x 8)로 세척한다. 150 μ l의 용해 완충액을 각 웰에 첨가한다 (동일한 프로그램).
- [1807] 2.2.1.3. RNA를 즉시 추출하거나, 또는 세포를 -80 °C에서 냉동시킨다.
- [1808] 2.2.2. RNA 추출용 시약 및 재료의 제조.
- [1809] 2.2.2.1. RPE 및 RNeasy 96 키트의 로트번호를 기록한다.
- [1810] 2.2.2.2. RPE : 720 ml의 100 %의 에탄올을 한 병의 RPE (퀴아젠)에 첨가하고 잘 혼합한다. RPE 병은 항상 사용 전에 잘 진탕시킨다.
- [1811] 2.2.2.3. 70 % 에탄올 : 150 ml의 디에틸피로카르보네이트 (DEPC) 물을 350 ml의 100 % 에탄올에 첨가하고 잘 혼합한다.
- [1812] 2.2.3. RNeasy 96 키트의 준비
- [1813] 2.2.3.1. 냉동된 샘플을 실온에서 40 분 동안 해동시킨다. 동시에, 익스트랙션 컨트롤 (Extraction Control)의 하나의 컬럼을 각 플레이트에 대해 해동시킨다 (익스트랙션 컨트롤: RNeasy 익스트랙션 컨트롤은 모두 함께 연결된 튜브 8개의 세트이다. 각 튜브내에는 특정 비율의 HCV 포지티브 또는 네가티브 세포를 갖는 170 μ l의 세포 용해물이 있다. 최상부로부터 최하부까지에 로우, 미디엄, 하이 및 체로 수 대조군 중 각각 2개씩 있다 (하기 프로토콜의 섹션 2.3 참조).
- [1814] 2.2.3.2. 샘플을 100 μ l를 상하로 5회 피펫팅함으로써 혼합한다. 모든 샘플을 2 ml의 매트릭스 (Matrix) 사각형-웰 블록의 컬럼 1 내지 10으로 옮긴다 (P250에서 프로그램 1: Mix 100 x 5, Fill 170, Purge).
- [1815] 2.2.3.3. 150 μ l의 레플리콘 표준을 컬럼 11로 옮긴다 (컬럼 12에는 샘플이 없음).
- [1816] 2.2.3.4. 150 μ l의 70 % 에탄올(EtOH)를 각 샘플에 첨가한다 (P1250에서 프로그램 4: Fill 1250, Disp 150).
- [1817] 2.2.3.5. 적절한 플레이트 번호에 대한 라벨이 붙어 있는 RNeasy 96 플레이트를 진공 매니폴드에 놓는다. 용해물/EtOH를 혼합하고 이를 RNeasy 96 플레이트로 옮긴다 (P1250에서 프로그램 1: Mix 200, Times 5, Fill 330, 및 Purge). 임의의 사용하지 않은 웰 (보통 컬럼 12)을 투명한 테이프 (퀴아젠 제품)로 밀봉한다.
- [1818] 2.2.3.6. 진공 (대략 800 mbar)을 적용하여 샘플을 미니-컬럼에 적재한다.
- [1819] 2.2.3.7. RNeasy-96 플레이트를 1000 μ l의 RW 1 완충액 (퀴아젠)/웰 (P1250에서 프로그램 2: Fill 1000, Disp 1000)로 세척한다.
- [1820] 2.2.3.8. 진공을 RW 1 완충액을 통해 필터에 적용하고, 통과-유동액 (flow-through)을 비운다.
- [1821] 2.2.3.9. RNeasy-96 플레이트를 1000 μ l의 RPE 완충액/웰로 세척한다 (P1250에서 프로그램 2).
- [1822] 2.2.3.10. 진공을 RPE 완충액을 통해 필터에 적용한다.
- [1823] 2.2.3.11. 단계 2.2.3.9를 반복한다.

- [1824] 2.2.3.12 진공을 RPE 완충액을 통해 필터에 적용하고, 적용한 진공을 3 분 동안 유지한다.
- [1825] 2.2.3.13. RNeasy 96 플레이트를 건조시킨다: RNeasy-96 플레이트를 수집 마이크로튜브 랙 (키아젠 제품)에 놓고, 지급된 에어포어 (AirPore) 테이프로 덮고, 유닛을 10 분 동안 6000 x g로 원심분리한다 (키아젠 시그마 (Sigma) 원심분리기; 4-15 °C).
- [1826] 2.2.3.15. RNeasy 96-웰 플레이트로부터 RNA를 용출시킨다: RNeasy-96 플레이트를 새로운 수집 마이크로튜브 랙의 최상부로 옮긴다. 70 μ l의 RNase가 없는 물을 각 웰의 중앙에 첨가한다 (P1250에서 프로그램 3: Fill 850, Disp 70).
- [1827] 2.2.3.16. 실온에서 1 분 동안 배양한 후, 새로운 에어포어 테이프를 플레이트 위에 놓는다.
- [1828] 2.2.3.17. 그 후 유닛을 시그마 4-15C 원심분리기에서 4 분 동안 6000 x g로 원심분리한다. 용출된 부피는 28 μ l 내지 50 μ l로 측정된다.
- [1829] 2.2.3.18. RNeasy-96 플레이트를 버리고, 수거 튜브 랙을 키아젠 제품인 캡으로 밀봉한다 (스트립당 8개).
- [1830] 2.2.3.19. 용출된 RNA를 -80 °C에서 보관하거나 택맨 (등록상표) 분석에서 바로 분석한다.
- [1831] **2.3 추출 대조군 준비**
- [1832] **제1일**
- [1833] 2.3.1.1 150 cm² 조직 배양 플라스크 (T-150)중에서 2.5 x 10⁷ 레플리콘-생성 세포를 플레이트 아웃 (plate out)시킨다.
- [1834] 2.3.1.2. 75 cm² 조직 배양 플라스크 (T-75) 중에서 2.0 x 10⁷ Huh7 세포를 플레이트 아웃시킨다.
- [1835] 2.3.1.3 37 °C에서 밤새 배양시킨다.
- [1836] **제2일**
- [1837] 2.3.1.4. 세포를 용해 완충액으로 용해시킨다.
- [1838] 2.3.1.5. Huh7 및 레플리콘-생성 세포로부터 상청액을 제거하고, 혈청이 없는 매질 (MEM) 10 ml로 단일층을 세척한다.
- [1839] 2.3.1.6. BVDV 스톡 1 μ l/용해 완충액 15 ml와 함께 30 μ l의 용해 완충액을 Huh7 세포에 첨가하고, 피펫팅을 반복하여 혼합하고, 50 ml 원추형-바닥의 조직 배양 원심분리 튜브 중 세포 용해물을 넣는다.
- [1840] 2.3.1.7. 10.5 ml의 용해 완충액을 레플리콘-생성 세포에 첨가하고, 피펫팅을 반복하여 혼합하고, 15 ml 원추형-바닥의 조직 세포 원심분리 튜브에 세포 용해물을 넣는다.
- [1841] 2.3.2. 하이 추출 표준을 위해: 레플리콘-생성 세포 용해물의 분취물 170 μ l을 2개의 매트릭스 0.75 ml 튜브 랙의 제5 및 6 열에 나눈다.
- [1842] 2.3.3. 미디엄 추출 표준을 위해: 1.0 ml의 레플리콘-생성 세포 용출물을 9 ml의 Huh7 용해물에 첨가하고, 잘 혼합한다. 혼합물의 분취물 170 μ l을 2개의 매트릭스 0.75 ml 튜브 랙의 제3 및 4열에 나눈다.
- [1843] 2.3.4. 로우 추출 표준을 위해: 50 μ l의 레플리콘-생성 세포 용출물을 10 ml의 Huh7 용해물에 첨가하고, 잘 혼합한다. 이 혼합물의 분취물 170 μ l을 2개의 매트릭스 0.75 ml 튜브 랙의 제1 및 2열에 나눈다.
- [1844] 2.3.5. 제로 추출 대조군: Huh7 세포의 분취물 170 μ l을 2개의 매트릭스 0.75 ml 튜브 랙의 제7 및 8열에 나눈다.
- [1845] 2.3.6. - 80 °C에서 대조군을 보관한다.
- [1846] **3. 택맨 (등록상표) RT-PCR 및 데이터 분석**
- [1847] **3.1 소개:** 실시간 정량 RT-PCR을 사용하여 각 샘플 중 HCV 레플리콘 RNA의 양을 측정한다. 이러한 기술은 또한 PCR-계 5' 뉴클레아제 분석 및 택맨 (등록상표)라고도 한다. 분석 장치는 어플라이드 바이오시스템스 7700 프리즘 서열 검출 시스템 (Applied Biosystems, Foster City, CA)이다. 상기 장치는 본질적으로 열 사이클러와 커플링된 시간-다중화 레이저-유도된 형광 스펙트로그래프이다. 이것은 PCR 공정에 걸쳐 96-웰 샘플 트레이의

각 웰에서 PCR 앰플리콘의 축적을 모니터링한다.

[1848] **3.2. BVDV 내부 대조군의 사용** : 상기 섹션에 언급한 바와 같이, 내부 포지티브 대조군을 모든 샘플에 혼입한다. 이들은 RNA 추출 효율의 척도로 작용하며 샘플이 택맨 (등록상표) PCR을 억제하는 오염물을 함유하는지의 여부를 나타낸다. BVDV를 카로트로픽 (chaotropic) 세포 용해 완충액과 혼합한 후 용해 완충액을 세포에 적용한다. 모든 샘플에 포지티브 대조군이 있음에도 불구하고, HCV 레플리콘 RNA 분석 데이터가 예상된 한도를 벗어날 때에만 BVDV 내부 포지티브 대조군 분석이 수행되는 것은 샘플에 문제점이 있을 수 있음을 시사한다. 7700은 2개의 상이한 형광 리포터 염료로 표시된 검출 프로브를 사용하여 동일한 튜브 중 2개의 상이한 PCR 앰플리콘의 축적을 동시에 모니터링할 수 있다 ("다중화 (multiplexing)"). 샘플 플레이트의 BVDV 내부 포지티브 대조군에 대한 택맨 (등록상표) 분석을 도출해내는 구체적인 기준이 데이터 분석에 대한 섹션 (3.6)에 기재되어 있다.

[1849] **3.3 HCV 레플리콘 RNA 택맨 (등록상표) 프로브 및 프라이머.**

[1850] 레플리콘에서 코딩된 네오마이신 저항 유전자 (*neo*)에서 예상되는 RNA 2차 구조의 유전학상 안정성 및 일반적인 결핍으로 인해, 상기 지역에 결합하는 프라이머 및 프로브를 사용한다. 레플리콘 RNA의 이러한 세그먼트는 8001 염기 쌍 레플리콘의 염기 342-1193 (SEQ ID NO: 1)으로부터 걸쳐 있다:

```

301 gtgcttgcca gtgccccggg aggtctcgta gaccgtgcac catgagcacg aatcctaaac
361 ctcaaagaaa aaccaaactt aacaccaacg ggccgcgcat gattgaacaa gatggattgc
421 acgcaggttc tccggccgct tgggtggaga ggctattcgg ctatgactgg gcacaacaga
481 caatcggctg ctctgatgcc gccgtgttcc ggctgtcagc gcagggggcg cgggttcttt
541 ttgtcaagac cgacctgtcc ggtgccctga atgaactgca ggacgaggca gcgcggctat
601 cgtggctggc caccagcggc gttccttgcg cagctgtgct cgacgttgtc actgaagcgg
661 gaagggaact gctgctattg ggccaagtgc cggggcagga tctcctgtca tctcaccttg
721 ctccctgccg gaaagtatcc atcatggctg atgcaatgca gcggctgcat acgcttgatc
781 cggctacctg cccattcgac caccagcga aacatcgcat cgagcgagca cgtactcgga
841 tgggaagccg tcttgctgat caggatgata tggacgaaga gcatcagggg ctcgcgccag
901 ccgaactgtt cgccaggctc aaggcgcgca tgcccagcgg cgaggatctc gtcgtgacct
961 atggcgatgc ctgcttgccg aatatcatgg tggaaaatgg CCGCTTTTCT GGATTCATCG
                                     forward primer
1021 aCTGTGGCCG GCTGGGTGTG Gcggaccgct atcaggacat agcgttggct acccgtgata
      TaqMan® probe
1081 ttgctgaaga gCTTGGCGGC GAATGGGctg accgcttcct cgtgctttac ggtatcgccg
      reverse primer
1141 ctcccgatcc gcagcgcata gccttctatc gccttcttga cgagttcttc tgagttttaa
    
```

[1851] **3.4. 공정**

[1852] **3.4.1. NEO 및 BVDV RT-PCR을 위한 1 x 마스터 혼합물의 제조 방법**

[1853]

표 6a

RT-PCR 10-플레이트 마스터 믹스를 제조하는데 사용되는 장비 및 공급물의 요약		
장비 및 공급물	주문 번호	공급자
0.5-10 μ l 피펫	22 47 005-1 2000 시리즈	에펜도르프
2-20 μ l 피펫	22 47 015-9 2000 시리즈	에펜도르프
10-100 μ l 피펫	22 47 020-5 2000 시리즈	에펜도르프
50-200 μ l 피펫	22 47 025-6 2000 시리즈	에펜도르프
100-1000 μ l 피펫	22 47 030-2 2000 시리즈	에펜도르프
1250 μ l 매트릭스 튜브	cat no. 8255	매트릭스
200 μ l 매트릭스 튜브	cat no. 7275	매트릭스
10 μ l ART 튜브	cat no.2140	몰레큘라 바이오프로덕츠
20 μ l ART 튜브	cat no.2149P	몰레큘라 바이오프로덕츠
100 μ l ART 튜브	cat no.2065E	몰레큘라 바이오프로덕츠
200 μ l ART 튜브	cat no.2069	몰레큘라 바이오프로덕츠
1000 μ l ART 튜브	cat no.2079E	몰레큘라 바이오프로덕츠
전동 피펫, 임팩트 2	cat no. 2001	매트릭스
RNase가 없는 1.5ml 마이크로퓨즈 튜브	cat no. 12450	암비온
14 ml 폴리프로필렌 튜브	cat no. 352059	팔콘
25 ml 시약 용기	cat no. 8096	매트릭스
96-웰 반응 플레이트	cat no. N801-0560	어플라이드 바이오시스템스
광학 캡 스트립	cat no. N801-0935	어플라이드 바이오시스템스
일회용 멸균 가운	cat no. 9515-E	박스터
시약	주문 번호	공급자
산	0.1N HCl	피셔
RNaseZap	cat no. 9780	암비온
RNase away	cat no. 7005	몰레큘라 바이오프로덕츠
10-팩, EZ RT-PCR 코어 시약 키트, 5x 반응 완충제, 25 mM 아세트이트 망간, 데옥시 NTPs	cat no. 403028	어플라이드 바이오시스템스
VIC NEO 프로브, 2 μ M (=10x), 분취액 당 550 μ l	cat no. 450003, custom, 5'-VIC-CTG TGG CCG GCT GGG TGT GG-TAMRA -3' (SEQ ID NO:2)	어플라이드 바이오시스템스
VIC BVDV 프로브, 2 μ M (=10x), 분취액 당 550 μ l (블랙스)	cat no. 450003, custom, 5'-VIC-CCC TCG TCC ACG TGG CAT CTC GA-TAMRA -3' (SEQ ID NO:3)	어플라이드 바이오시스템스
NEO 전방향 프라이머, 3 μ M (=10x)	cat no. 4304972, custom, 5'-	어플라이드 바이오시스템스

[1854]

표 6b

전방향/역방향 프라이머 믹스, 분취액 당 550 μ l	CCG CTT TTC TGG ATT CAT CG-3' (SEQ ID NO:4)	
NEO 역방향 프라이머, 3 μ M (=10x) 전방향/역방향 프라이머 믹스, 550 μ l 분취액 당 550 μ l	cat no. 4304972, custom, 5'- CCC ATT CGC CGC CAA- 3' (SEQ ID NO:5)	어플라이드 바이오시스템스
BVDV 전방향 프라이머, 3 μ M (=10x) 전방향/역방향 프라이머 믹스, 분취액 당 550 μ l	custom, 5'-CAG GGT AGT CGT CAG TGG TTC G-3' (SEQ ID NO:6), 1.0 μ M scale w/gel purification	올리고 등
BVDV 역방향 프라이머, 3 μ M (=10x) 전방향/역방향 프라이머 믹스, 분취액 당 550 μ l	custom, 5'-GGC CTC TGC AGC ACC CTA TC-3' (SEQ ID NO:7), 1.0 μ M scale w/ gel purification	올리고 등
NEO RNA 표준물	T7 RNA 폴리메라제를 사용하여 HCV 레플리콘 RNA의 neo 유전자 부위를 함유하는 플라스미드로부터 시험관내 전사된 RNA. 이 시험관내 전사 RNA는 전사체의 공지된 분자량 및 정제된 전사체 용액의 UV-흡광도를 기초로 하여 정량하였다. 이 RNA는 회석하고 분취하여 -80℃에 저장하였다. 개별 분취액은 각 TaqMan (등록상표) 분석을 위해 해동시켰다.	
시험할 RNA 샘플은 HCV 레플리콘 세포로부터 단리함(이 프로토콜의 단락2), 10 μ l/96-웰 플레이트		
뉴클리아제가 없는 물 (DEPC 처리되지 않은 것)	cat no. 9930	암비온

[1855]

[1856]

3.4.2. 마스터 믹스를 위한 시약의 제조

[1857]

3.4.2.1.

[1858]

하기 2 단계에 따라 벤치를 소독하고 RNase Away를 사용하여 피펫을 와이핑하였다.

[1859]

RNase Zap (Ambion, Austen, TX)

[1860]

RNase Away (Molecular Bioproducts, 샌디에고, CA)

[1861]

3.4.2.2. 코어 EZ RT-PCR 시약 (어플라이드 바이오시스템스)을 열고 얼음에 5x 완충액을 넣고 실온에서 약 15 분 동안 냉동된 시약을 해동시킨 후, 얼음위에 놓는다. EZ RT-PCR 시약 키트를 사용하여 2개의 96-웰 RNA 추출액을 분석할 수 있다.

[1862]

3.4.2.3. -20 °C로부터 하나의 2 μ M VIC 프로브 (NEO 또는 BVDV, 튜브 한개당 550 μ l)를 꺼내어 얼음 위에 놓는다.

[1863]

3.4.2.4. - 20 °C로부터 하나의 3 μ M 전방향/역방향 프라이머 믹스 (NEO 또는 BVDV, 튜브 한개당 550 μ l)를 꺼내어 얼음 위에 놓는다.

[1864]

3.4.2.5. - 80 °C로부터 하나의 표준 RNA 전사 (10^8 copies/10 μ l) 튜브 (30 μ l)을 꺼내어 얼음 위에 놓는다.

[1865]

3.4.2.6. 실온의 암비온 H₂O에서 튜브 하나를 꺼낸다.

[1866]

3.4.3. 하나의 96-웰 플레이트 반응을 위한 마스터 믹스의 조합

[1867]

3.4.3.1. 1 ml 피펫을 사용하여 5 x 완충액 (어플라이드 바이오시스템스)를 14 ml 튜브로 옮긴다. 첨가되는 총 부피는 1100 μ l이다.

[1868]

3.4.3.2. 1 ml 피펫을 사용하여 25 mM Mn(OAc)₂ (어플라이드 바이오시스템스)를 14 ml 튜브로 옮긴다. 첨가되는 총 부피는 660 μ l이다.

[1869]

3.4.3.3. 200 ml 피펫을 사용하여 165 μ l의 10 mM dATP를 14 ml 튜브로 옮긴다. 10 mM의 dCTP, 20 mM의 dUTP

및 10 mM dGTP에 대해 동일하게 한다.

- [1870] 3.4.3.4. 1 ml 피펫을 사용하여 550 μ l의 10 x 3 μ l 전방향/후방향 프라이머 믹스를 첨가한다.
- [1871] 3.4.3.5. 1 ml 피펫을 사용하여 550 μ l의 10 x 2 μ l 프로브를 첨가한다.
- [1872] 3.4.3.6. 1 ml 피펫을 사용하여 220 μ l의 *rTth* DNA 폴리머라제 (어플라이드 바이오시스템스)를 첨가한다.
- [1873] 3.4.3.7. 100 ml 피펫을 사용하여 55 AmpErase UNG (어플라이드 바이오시스템스)를 첨가한다.
- [1874] 3.4.3.8. 1 ml 피펫을 사용하여 605 μ l dm1 암비온 H₂O를 14 ml 튜브에 첨가한다. 최종 부피는 총 4400 μ l이다.
- [1875] 3.4.3.9. 4400 μ l의 마스터 믹스를 25 ml의 시약 저장기에 옮긴다.
- [1876] 3.4.3.10. 8-채널 피펫을 사용하여 모든 96 웰에 대해 하나의 웰당 40 μ l를 디스펜싱한다.
- [1877] 3.4.3.11. 10 μ l의 추출된 알려지지 않은 샘플을 8-채널 피펫을 사용하여 컬럼 1 내지 컬럼 11에 걸쳐 컬럼마다 반응 플레이트의 웰로 옮긴다. 이동 후 각 컬럼에 뚜껑을 덮는다.
- [1878] 3.4.3.12. 표준 곡선 및 믹스에서 사용하기 위해 270 μ l의 암비온 H₂O를 30 μ l의 10⁸ copies/10 μ l의 RNA 전사에 첨가한다. 이제 HCV 레플리콘 정량 표준 RNA/10 μ l의 10⁷ copies가 있다.

[1879] 3.4.4. 각 수행에 대한 ABI 7700의 셋팅

- [1880] 3.4.4.1. 각 수행 전, ABI 7700에 대해 컴퓨터를 재부팅하고 데스크탑을 개조한다.
- [1881] 3.4.4.2. 하드 드라이브로부터 임의의 여분의 프로그램을 닫고 오버런 (overrun) 데이터를 지운다.
- [1882] 3.4.4.3. 시퀀스 디텍터 (Sequence Detector) v1.7 프로그램 (SDS 소프트웨어)를 연다.
- [1883] 3.4.4.5. "Replicon Assay Runs" 폴더를 연다.
- [1884] 3.4.4.6. "Replicon Assay" 템플레이트 플레이트를 연다. 템플레이트에 프로그램된 열 사이클러 조건은 하기와 같다:

Stage 1: 50°C for 2 min.
 Stage 2: 60°C for 30 min.
 Stage 3: 95°C for 5 min.
 Stage 4: 95°C for 15 sec.
 Stage 5: 60°C for 60 sec.
 Cycle repeat number of stages 4-5: 40.
 Template instrument:diagnosis: advanced options:
 Select views: display mse.
 Select views: display best fit.
 Select miscellaneous: reference dye ROX.

- [1885]
- [1886] 3.4.4.7. "Replicon Assay Runs" 폴더에 파일을 "저장 (Save)"한다 ("Save as"가 아님).
- [1887] 3.4.4.8. Show setup: RUN을 누른다.

[1888] 3.5. SDS 소프트웨어를 사용하여 수행 후 ABI7700 데이터의 준비

- [1889] 3.5.1. 분석 플레이트를 ABI7700으로부터 제거하고 열지 말고 폐기한다. 이는 PCR 교차 오염에 관련된 실험실 문제점들을 크게 감소시킨다.
- [1890] 3.5.2. 데이터를 시퀀스 디텍터 시스템 (Sequence Detector System) 소프트웨어 V1를 사용해 분석한다.
- [1891] 3.5.3. 역치 수준을 초기에 디폴트 설정을 사용하여 설정한다.
- [1892] 3.5.4. 데이터 거부 기준: 데이터의 한 점 또는 일련의 전체 플레이트가 거절될 수 있다. 프로토콜, 시약 실패 또는 사고, 또는 ABI7700 수행 실패로부터의 유의한 편차가 있다면, 데이터는 폐기될 수 있다. 명백하게 정상인 수행으로부터의 임의의 데이터의 한 점을 거절하기 위해서는 하나 이상의 기준이 충족되어야만 한다.
- [1893] 3.5.4.1. 역치 사이클 계산. 일반적으로 SDS 소프트웨어에 대한 디폴트 값을 사용한다. 대부분의 농축된 샘플

의 Ct가 15 미만이라면, 역치 값 중단 한계를 필요에 따라 더 낮은 값으로 변화시켜 최대 농축 샘플의 Ct가 중단 값보다 훨씬 크도록 한다. 상기 변경 후 계산을 갱신한다.

- [1894] 3.5.4.2. *neo* RNA 표준의 분석에 의해 생성된 선의 기울기 및 y-축 절편에 대한 평균 값으로부터의 편차에 의해 표시된 바와 같은 전체 비정상 택맨 (등록상표) 수행을 거절하는 것을 고려한다. 상기 값들에 대해 허용가능한 범위는 하기와 같다:
- [1895] 기울기 값은 3.0 내지 3.6이어야 한다.
- [1896] y-절편 싸이클은 36 내지 41 싸이클이어야 한다.
- [1897] 3.5.4.3. 급격한 Rn/ Δ Rn에 의해 표시되는 바와 같이 변형된 (aberrant) 각각의 택맨 (등록상표) 웰들을 데이터 분석 전에 제거할 수 있으므로, 이들은 SDS 소프트웨어 계산에 영향을 미치지 않는다.
- [1898] 3.5.4.4. 템플레이트가 없는 대조군 Ct 값을 시험하고 기록하고, 이들이 임의의 화합물 처리된 샘플에 대한 Ct 보다 > 7.0 Ct (> 100X) 더 높은지를 확인한다.
- [1899] 3.5.5. HCV RNA 표준 Ct 값을 이전의 결과와 비교한다.
- [1900] 3.5.6. HCV RNA 표준 곡선을 이전의 결과와 비교한다.
- [1901] 3.5.7. 변형된 확대가 각각의 웰에서 명백한 경우, 이들 웰들을 확인하고 기록한다.
- [1902] 3.5.8. "결과 (results)" 화일을 익스포트 (export)하고 마이크로소프트 엑셀 (Microsoft Excel)을 사용한 분석을 위해 7700 컴퓨터로부터 다른 컴퓨터로 이동시킨다.
- [1903] 3.5.9. 사용하는 시약 제제 또는 희석물에서 임의의 하기 변화들이 보고된다.
- [1904] 벤더 (vendor)로부터의 새로운 프로브 또는 프라이머 합성.
- [1905] 새로운 프로브 또는 프라이머 희석 및 분취.
- [1906] 새로운 표준 RNA 전사 제조.
- [1907] 새로운 표준 RNA 전사 희석 및 분취.
- [1908] 새로운 BVDV 바이알 제조.
- [1909] 새로운 컬럼 11 표준 제조.
- [1910] **3.6 택맨 (등록상표) 데이터 분석.**
- [1911] 3.6.1. 택맨 (등록상표) HCV Ct 수를 복사하여 붙여넣기하고, 택맨 (등록상표) 결과 화일로부터의 수를 레플리콘 분석 데이터 분석 마이크로소프트 엑셀 매크로의 적절한 세포로 복사하고, 매크로를 실행시킨다.
- [1912] 3.6.2. 매크로 시트로부터 택맨 (등록상표) 결과 표를 또다른 시트에 복사하고, 화합물 일련 번호 및 로트 번호를 입력한다.
- [1913] 3.6.3. 이러한 엑셀 시트로부터, 평균, 표준 편차, 및 화합물 억제 활성의 CV 퍼센트 뿐만 아니라 5 복사본 및 무-화합물 대조군에서 모든 희석점의 HCV 복사 개수, HCV Ct 수, 및 BVDV Ct 수 (입수가가능하다면)가 계산될 것이다.
- [1914] 3.6.4. BVDV 콘트롤 택맨 (등록상표)의 데이터 거절 및 실행에 대한 기준, 모든 계산을 점검한다. 데이터의 한 점 또는 일련의 전체 플레이트를 거절할 수 있다. 프로토콜, 시약 실패 또는 사고, 또는 ABI7700 수행 실패로부터의 유의한 편차가 있다면, 데이터는 폐기될 수 있다. 명백하게 정상인 수행으로부터의 임의의 데이터의 한 점의 거절을 위해서는 하나 이상의 기준이 충족되어야만 한다. 퍼센트 억제율의 표준 편차는 활성 화합물에서 30 % 미만이어야 한다. HCV 복사 수의 %CV는 30 % 미만이어야 한다. 모든 샘플의 HCV Ct의 표준 편차는 0.5 미만이어야 하고, 이는 보통 대부분의 샘플에서 약 0.1 내지 0.3이다. HCV Ct 표준 편차가 0.5 초과인 경우, 원래 데이터 표로 돌아가서 5개 복사본의 Ct 수를 점검한다. 어느 하나의 웰에서라도 Ct 수가 5개 복사본의 평균 Ct 수와는 다른 2 Ct인 경우, 상기 웰은 분석으로부터 생략되어야 한다. (동일한 컬럼에서가 아닌) 3개 이상의 웰이 통상적이지 않은 Ct 수를 갖는 경우, BVDV 택맨 (등록상표) 내부 대조군 분석을 수행하여야 한다. BVDV 데이터가 불규칙성을 나타내는 경우, 화합물을 다시 시험해야 한다.

[1915] 3.6.5. IC_{50} 계산: 평균 억제 및 표준 편차의 데이터를 비선형 회귀 방법을 사용하는 가변성 기울기 계산기를 갖는 S자형 투여량 반응으로 복사하여 붙여넣는다. 이러한 도구를 사용하여, 최상부를 100 % 억제에만 고정하거나, 최상부를 100 % 억제에 고정하고 최하부를 0 % 억제에 고정하는 두가지 방법 모두를 사용하여 IC_{50} 을 계산한다. 이어서, 가장 분명한 피트를 제공하는 방법을 각 화합물에 대해 기록한다. 가장 신뢰할 수 있는 IC_{50} 은 가장 낮은 표준 오차를 갖는 계산으로부터의 것이다. 이들 2개의 곡선 피트 옵션으로부터 계산된 IC_{50} 이 1배의 차이를 나타내거나, 또는 IC_{50} SD가 IC_{50} 보다 큰 경우 화합물을 조절된 농도에서 다시 시험해야 한다.

[1916] **인터페론과 조합된 HCV 세린 프로테아제 억제제의 효과의 계산**

[1917] 조합물 중 HCV 세린 프로테아제 억제제 (HSPi)의 영향 및 인터페론을 레플리콘 분석에서 다양한 수준의 인터페론의 존재하에서 HSPi에 대해 투여량 반응 곡선을 생성함으로써, 또는 다양한 수준의 HSPi의 존재하에서 인터페론에 대한 투여량 반응 곡선을 결정함으로써 평가할 수 있다. 2종의 약물이 RNA에 대해 추가의 효과를 생성하는 경우 예상되는 바에 비해 바이러스성 RNA 축적의 억제가 더 많이 또는 더 적게 있는지 여부를 평가하는 것이 그 목적이다. 더욱 구체적으로는, 문헌 [Lowe (1928) Die Quantitation Probleme der Pharmakologic, Ergebn. Physiol., 27, 47-187])의 가산성 정의가 사용된다. 이는 하기와 같이 정의된다. $D_{E, INF}$ 를 효과 E를 야기하는 인터페론의 농도로 하고 $D_{E, HSPi}$ 를 효과 E를 야기하는 프로테아제 억제제의 농도로 한다.

수학식 1

$$1 = \frac{D_1}{D_{E, INF}} + \frac{D_2}{D_{E, HSPi}}$$

[1918]

[1919] INF의 농도 D_1 및 HSPi의 농도 D_2 의 조합은 효과 E를 생성하는 관계에 의해서는 어떠한 상호작용 또는 로웨 (Lowe) 가산성도 정의되지 않는다.

[1920] 상승작용 또는 길항작용의 정도는 이소-효과 곡선 또는 이소볼에 의해 표현된다. 조합 (D_1 , D_2)는 축들이 인터페론 및 HSPi의 농도인 그래프의 점이다 (도 2). 효과 수준 E를 생성하는 이러한 모든 조합들은 E 효과 이소볼을 형성한다. ($D_{E, INF}$, 0) 및 (0, $D_{E, HSPi}$)가 이소볼상의 점들인 경우가 반드시 있다. 이소볼은 가산성 관계 (1)이 충족될 경우 점 ($D_{E, INF}$, 0) 및 (0, $D_{E, HSPi}$)를 연결하는 직선이다.

[1921] 위로 오목한 이소볼은 상승작용을 나타내고, 아래로 오목한 이소볼은 길항작용을 나타낸다. 문헌 [Berenbaum, M. C., (1985), The expected effect of a combination of agents: the general solution. J. Theor. Biol., 114, 413-431] 및 문헌 [Greco, Park and Ruston (1990), Application of a New Approach for the Quantitation of Drug Synergism to the Combination of cis-Diamminedichloroplatinum and 1- β -D-Arabinofuranosylcytosine, Cancer Research, 50, 5318-5327]의 지침에 따라, 상승작용 또는 길항작용을 설명하기 위해 항을 더한다. 방정식은 모든 조합 치료에서 퍼센트 대조군 값에 일치할 수 있는 반응 표면을 정의한다. 이러한 피팅된 반응 표면으로부터의 윤곽 플롯이 이소볼이다.

[1922] 이러한 반응 표면 모델은 하기 수학식 2에 의해 정의된 각 화합물에 대한 S자형 투여량 반응을 가정한다.

수학식 2

$$E = \frac{E_{\text{최대}}}{1 + \left(\frac{[Drug]}{IC50} \right)^m} + B$$

[1923]

[1924] 특이적인 수준의 활성 E 만을 제공하는 농도는 하기 수학식 3에 의해 주어진다.

수학식 3

$$D_{E, INF} = IC50_{INF} \left(\frac{E - B}{E_{\text{최대}} - E + B} \right)^{1/m_{INF}} \quad D_{E, HSPi} = IC50_{HSPi} \left(\frac{E - B}{E_{\text{최대}} - E + B} \right)^{1/m_{HSPi}}$$

[1925]

[1926] 그레코 (Greco) 등 (1990)의 모델을 충족시키기 위해, 약물의 조합 작용은 반응 수준 E를 생성하는 약물의 모든 조합에 대해 하기 방정식 4를 만족시켜야만 한다.

수학식 4

$$1 = \frac{[INF]}{IC50_{INF} \left(\frac{E-B}{E_{최대}-E+B} \right)^{1/m_{INF}}} + \frac{[HSPI]}{IC50_{HSPI} \left(\frac{E-B}{E_{최대}-E+B} \right)^{1/m_{HSPI}}} + \frac{\alpha[INF][HSPI]}{IC50_{INF} IC50_{HSPI} \left(\frac{E-B}{E_{최대}-E+B} \right)^{1/2m_{INF}} \left(\frac{E-B}{E_{최대}-E+B} \right)^{1/2m_{HSPI}}}$$

[1927]

[1928] 파라미터 α 는 상호작용의 양을 측정한다. $\alpha = 0$ 인 경우 방정식이 상기 수학식 1로 감소되기 때문에, 알파값이 0인 경우 상호작용 또는 가산성이 없음을 의미한다. IC_{50} , 힐 (Hill) 기울기 (m), 최대값 ($E_{최대}$), 및 최소값 (B)가 주어지면, 상기 방정식을 풀어 임의의 조합 치료 [INF] 및 [HSPI]로부터 야기되는 효과를 얻을 수 있다. 따라서, 이러한 방정식은 반응 표면을 한정한다. [INF] 및 [HSPI]가 변화되는 실험이 주어진다면, 비선형 가중 최소 제곱 회귀를 사용하여 파라미터들을 선택할 수 있다. 파라미터 α 는 상승작용 척도 S (문헌 [Hewlett, P. S. (1969) Measurement of potencies of drug mixtures. Biometrics, 25, 477-487])와 연관될 수 있으며, 상기 50 % 효과에서 이소볼로부터 직접 얻어진다. S 는 축으로부터 45 도의 선을 따라 원점으로부터 가산성을 한정하는 이소볼까지의 거리의 원점으로부터 피팅된 데이터의 이소볼까지의 거리에 대한 비율이다 ($S = ON/OM$, 도 3 참조). 관계식은 $\alpha = 4(S^2 - S)$ 이다.

[1929] 반응 표면을 피팅하고 유의한 수준을 갖는 상승작용 파라미터 α 를 결정하기 위한 상기 그레코 등 (1990)의 문헌에 논의된 방법은 몇몇 상이한 인터페론과 조합하여 HSPI를 시험하는 일련의 실험에서 상승작용의 정도를 분석한다. 그러나, 더 높은 계수를 갖는 것보다 더 낮은 계수를 갖는 관찰에 더 많은 가중치를 줄 필요가 있다. 계수는 효과가 E인 퍼센트 대조군과 직접적으로 연관된다. 문헌 [Carroll, R. J. and Rupert, D. (1998) Transformation and Weighting in Regression, Chapman and Hall, New York]에 기재된 방법에 따라, 웰-투-웰 (well-to-well) 변이성이 평균 퍼센트 대조군 값의 제공에 따라 증가되는 것이 관찰될 수 있다. 따라서, 관찰은 제공된 피팅된 퍼센트 대조군 값 (E)에 대해 가중치를 둔다. 이들 실험들을 분석하는데 사용되는 분산 및 가중은 라디오리간드 (Radioligand) 분석 (문헌 [Finney, D. J., (1976), Radioligand Assay, Biometrics, 32, 721-740] 및 문헌 [Dudley, R. A. Edwards, P., Ekins, R. P., McKinzie, I. G. M., Raab, G. M., Rodbard, D. and Rodgers, R. P. C. (1985), Guidelines for Immunoassay Data Processing, Clinical Chemistry, 31/8, 1264-1271])을 분석하기 위한 연구 방법으로 연구자들이 관찰한 변이성과 일치한다.

[1930] 결과

[1931] 초기 실험에서, HCV 세린 프로테아제 억제제 화합물 CU를 3 μM 내지 0.0123 μM 의 농도 범위 (즉, 244배 범위)에 대해 시험한다. 인터페론-알파 2B 농도는 샘플당 30 유닛으로부터 샘플당 0.0096 유닛 (즉, 3125배 범위)으로 변화된다. 표 7에 도시된 바와 같이, 단일 약물 치료로 사용한 경우, 화합물 CU는 0.48 μM 의 IC_{50} 을 나타내고, 인터페론은 2.19 U의 IC_{50} 을 나타낸다. 레플리콘 에세이의 정확도 (대략 20 %임) 내에서, 인터페론-알파 2B의 첨가는 투여량-의존 방식에서 레플리콘 RNA 축적의 억제의 증가를 야기한다. 예를 들어, 0.333 μM 의 화합물 CU를 사용한 세포의 치료는 레플리콘 RNA 축적을 28 % 억제시킨다. 0.333 μM 의 화합물 CU (IC_{50} 투여량 (0.469 μM)의 71 %임) 및 0.24 U의 인터페론-알파 2B (인터페론-알파 2B IC_{50} (2.05 μM)의 11 %임)를 조합하여 셀을 치료하는 것은 레플리콘 RNA 축적의 49 % 억제를 야기한다. 따라서, 11 %의 다른 약물과 조합된 71 %의 IC_{50} 투여량은 레플리콘 RNA 축적의 49 % 억제를 야기한다. 조합 치료가 상승작용적 또는 가산성 또는 길항작용성인지를 결정하기 위한 직관에 의한 접근을 사용하면, 조합 치료의 효과가 단기 가산성이라는 것을 예측할 수 있고, 레플리콘 RNA 축적의 49 % 억제를 얻는데 필요한 2가지 IC_{50} 투여량의 조합 분수는 98 %라는 것을 예측할 것이다. 본원의 실험 결과는 조합 치료의 가산성 효과에 대해 예상한 바와 같은 98 %이 아닌 71 % + 11 %, 즉, 82 %의 IC_{50} 투여량을 사용하여 레플리콘 RNA 축적의 억제 수준이 달성된다는 것을 입증하고 있다. 따라서, 이러한 농도의 화합물에서, 98 %의 IC_{50} 투여량이 필요한 각 화합물 단독의 경우보다 더 적은 각 화합물의

IC₅₀ 투여량의 분할 투여량을 사용하여 HCV 레플리콘 RNA의 49 % 억제를 얻기 때문에 그 효과가 상승작용적인 것으로 보인다. 이러한 조합 치료의 결과를 하기 표 8에 나타내고 도 1에 도표로 도시한다.

화합물 CU 및 인터페론-알파 2B를 개별적으로 처리하거나 함께 처리한지 48시간 후 레플리콘 RNA 축적의 억제

인터페론-알파 2B (유니트)

화합물	30 U	6 U	1.2 U	0.24 U	0.048 U	0.0096 U	0 U
CU (농도)							
3 μ M	99%	99%	99%	99%	98%	98%	98%
1 μ M	99%	98%	96%	95%	92%	93%	88%
0.333 μ M	94%	87%	66%	49%	33%	27%	28%
0.1111 μ M	93%	79%	46%	29%	12%	15%	11%
0.0370 μ M	92%	78%	44%	21%	2%	7%	8%
0.0123 μ M	92%	78%	44%	20%	19%	19%	5%
0 μ M	89%	73%	38%	16%	8%	12%	0%

[1932]

[1933]

실험관내 레플리콘 에세이 및 상기 분석에 의해 얻어진 데이터의 간단한 가산성 분석을 사용하여 상기 기재된 바와 같이 유도된 이러한 초기 결과들은 레플리콘 세포를 HCV 세린 프로테아제 억제제 및 인터페론으로 조합 치료하는 것은 적어도 가산성 항바이러스성 효과 및 아마도 상승작용적인 항바이러스성 효과를 얻는다는 것을 입증하고 있다.

[1934]

상기 기재된 정식 수학적 도구를 사용하여 상기 데이터를 재분석하여 HCV 세린 프로테아제 억제제 CU 및 인터페론 알파-2B간의 연관성이 상승작용성, 가산성, 또는 길항작용성인지를 결정한다. 재분석된 데이터를 표 8에 수치적으로 나타내고, 도 4에 도표로 도시한다.

[1935]

표 8은 또한 레플리콘-함유 세포를 48 시간 동안 본 발명의 다양한 HCV 세린 프로테아제 억제제 및 몇몇 상이한 인터페론으로 개별적으로 또는 조합하여 처리한 후 레플리콘 에세이에서 얻어진 결과를 요약하고 있다. 본 발명자들은 레플리콘 에세이에서 HCV 레플리콘 RNA의 억제에 대해 측정된 값의 표준 편차가 약 20 %임을 지적하고 있다. 화합물을 넓은 농도 범위에 대해 및 HCV 레플리콘 RNA 농도의 유의한 억제를 야기하지 못하는 낮은 화합물 농도에서 시험한다. 분석의 약 20 %의 표준 편차 때문에, 몇몇 데이터의 점들은 음수를 생성할 것이다. 특정 실험에서 음의 억제 수는 대략 모크 처리된 샘플에서 보다 샘플로 처리된 화합물 중 HCV 레플리콘 RNA 분자가 더 많다는 것을 나타낸다.

표 8a

HCV 세린 프로테아제 억제제 및 다양한 인터페론을 개별적으로 또는 함께 처리한지 48시간 후 레플리콘 RNA 축적의 억제

		실험 1						
		IFN 알파-2B (유니트)						
		30.00	6.00	1.20	0.24	0.048	0.0096	0.000
화합물 CU (μ M)	0.000	89%	73%	38%	16%	8%	12%	0%
	0.012	92%	78%	44%	20%	19%	19%	5%
	0.037	92%	78%	44%	21%	2%	7%	8%
	0.111	93%	79%	46%	29%	12%	15%	11%
	0.333	94%	87%	66%	49%	33%	27%	28%
	1.000	99%	98%	96%	95%	92%	93%	88%
	3.000	99%	99%	99%	99%	98%	98%	98%

		실험 2						
		IFN 알파-2A (유니트)						
		30	6	1.2	0.24	0.048	0.0096	0
화합물 CU (μ M)	0	86%	61%	27%	4%	-7%	5%	0%
	0.0123	87%	66%	17%	-23%	8%	8%	10%
	0.37	85%	62%	13%	-2%	0%	-1%	1%
	0.1111	87%	68%	37%	20%	-6%	12%	10%
	0.333	92%	77%	58%	41%	26%	25%	44%
	1	98%	96%	90%	86%	84%	83%	85%
	3	99%	99%	98%	98%	98%	98%	98%

[1936]

표 8b

실험 3

화합물 CU (μM)

	3	1.5	0.75	0.375	0.1875	0.0938	0.0469	0.0234	0
0	98%	93%	62%	23%	12%	-2%	-4%	-2%	0
0.049	98%	95%	70%	39%	12%	2%	6%	9%	3%
0.123	98%	95%	70%	43%	15%	7%	2%	5%	2%
0.307	98%	95%	73%	46%	16%	14%	7%	19%	-3%
0.768	98%	95%	82%	56%	43%	34%	28%	32%	28%
1.920	98%	98%	87%	71%	51%	54%	49%	52%	45%
4.8	99%	98%	92%	82%	74%	71%	69%	71%	59%
12.0	99%	98%	96%	89%	87%	85%	85%	85%	80%
30.0	99%	99%	98%	95%	93%	92%	92%	93%	89%

인터페론
알파-2B
(유니트)

실험 4

화합물 CU (μM)

	3	1.5	0.75	0.375	0.1875	0.0938	0.0469	0.0234	0
0	98%	94%	74%	38%	17%	3%	-1%	6%	0%
0.049	98%	93%	60%	22%	29%	21%	-9%	-6%	6%
0.123	98%	93%	67%	29%	21%	12%	3%	2%	-8%
0.307	98%	93%	66%	29%	22%	4%	-3%	-4%	10%
0.768	98%	95%	67%	46%	24%	21%	20%	9%	15%
1.920	98%	96%	73%	48%	43%	44%	27%	33%	29%
4.8	98%	97%	82%	61%	61%	59%	52%	55%	43%
12.0	99%	98%	91%	75%	76%	72%	71%	74%	73%
30.0	99%	98%	96%	89%	86%	85%	84%	84%	83%

인터페론
알파-2A
(유니트)

[1937]

표 8c

실험 5

화합물 CU (μM)

	3	1.5	0.75	0.375	0.1875	0.0938	0.0469	0.0234	0
양의 인터페론 tau(유닛)									
0.0	98%	95%	65%	24%	-1%	-14%	-14%	-12%	0
0.9375	97%	95%	72%	41%	17%	11%	12%	6%	17%
1.875	97%	95%	71%	40%	31%	18%	18%	11%	4%
3.75	98%	96%	75%	44%	38%	25%	34%	18%	17%
7.5	98%	96%	82%	61%	42%	37%	25%	26%	36%
15	98%	97%	84%	64%	59%	61%	56%	51%	53%
30	98%	98%	90%	79%	72%	68%	65%	68%	68%
60	98%	98%	93%	87%	80%	80%	74%	77%	82%
120	98%	98%	95%	92%	86%	87%	86%	86%	87%

실험 6

화합물 EC (μM)

	3	1.5	0.75	0.375	0.1875	0.0938	0.0469	0.0234	0
양의 알파 2B(유닛)									
0	96%	93%	81%	56%	29%	23%	19%	1%	0
0.0492	96%	92%	80%	60%	31%	15%	19%	29%	6%
0.1229	96%	94%	78%	58%	32%	13%	20%	20%	4%
0.3072	97%	95%	82%	60%	38%	32%	34%	42%	23%
0.768	97%	95%	87%	66%	43%	41%	46%	43%	25%
1.92	98%	97%	90%	73%	62%	51%	54%	58%	47%
4.8	98%	97%	94%	87%	76%	73%	78%	76%	69%
12.0	98%	98%	96%	92%	86%	86%	86%	85%	84%
30.0	98%	98%	96%	96%	93%	92%	92%	95%	91%

[1938]

표 8d

실험 7

		화합물 EC (μM)								
		3.0	1.5	0.75	0.375	0.1875	0.0938	0.0469	0.02344	0
인터페론- 알파-2A (유닛)	0	96%	92%	81%	47%	28%	17%	-1%	-8%	0
	0.0492	96%	93%	78%	58%	21%	8%	-12%	10%	-17%
	0.1229	95%	93%	79%	64%	14%	5%	14%	7%	-22%
	0.3072	95%	91%	80%	64%	22%	15%	5%	2%	-5%
	0.768	96%	95%	81%	64%	34%	21%	19%	20%	4%
	1.92	96%	95%	88%	78%	44%	41%	19%	33%	21%
	4.8	97%	95%	91%	85%	60%	58%	60%	53%	49%
	12.0	97%	97%	95%	91%	77%	72%	76%	70%	71%
	30.0	98%	98%	97%	94%	91%	86%	85%	85%	84%

실험 8

		화합물 CU (μM)								
		3.0	1.5	0.75	0.375	0.1875	0.0938	0.0469	0.02344	0
인터페론- 베타(유닛)	0	97%	95%	77%	34%	16%	6%	-7%	0%	0
	0.2344	98%	97%	83%	49%	31%	19%	-21%	-7%	1%
	0.4688	98%	96%	84%	56%	39%	27%	10%	-3%	21%
	0.9375	98%	97%	91%	73%	54%	42%	31%	15%	30%
	1.875	98%	98%	95%	80%	65%	58%	65%	60%	60%
	3.75	98%	98%	97%	92%	86%	81%	77%	73%	79%
	7.5	99%	98%	98%	96%	93%	93%	93%	90%	92%
	15.0	99%	99%	99%	97%	97%	96%	97%	95%	96%
	30.0	99%	99%	99%	99%	98%	99%	98%	98%	97%

[1939]

표 8e

실험 9

		화합물 EP (μM)								
		8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.0625	0
인터페론- 알파-2B (유니트)	0	94%	96%	96%	92%	64%	36%	23%	8%	0
	0.0492	95%	96%	96%	91%	67%	25%	28%	8%	3%
	0.1229	95%	97%	96%	91%	65%	44%	4%	11%	4%
	0.3072	95%	97%	96%	91%	71%	46%	20%	8%	20%
	0.7680	96%	97%	97%	93%	75%	49%	36%	24%	24%
	1.92	96%	97%	97%	94%	82%	67%	49%	52%	54%
	4.8	96%	98%	97%	96%	90%	79%	75%	75%	70%
	12	97%	98%	98%	97%	94%	89%	89%	87%	83%
	30	97%	98%	98%	98%	96%	94%	94%	95%	92%

실험 10

		리바비린 (μM)								
		200	80	32	12.8	5.12	2.048	0.8192	0.3277	0
인터페론- 알파-2B (유니트)	0	85%	62%	43%	3%	-8%	-17%	-22%	-6%	0
	0.0492	87%	66%	48%	44%	11%	-4%	-10%	11%	-7%
	0.1229	84%	64%	53%	40%	26%	-12%	-5%	11%	-9%
	0.3072	86%	70%	62%	44%	28%	1%	6%	14%	7%
	0.7680	90%	80%	72%	65%	38%	30%	28%	44%	29%
	1.92	93%	85%	77%	76%	61%	57%	58%	50%	46%
	4.8	96%	92%	87%	83%	82%	74%	71%	77%	72%
	12	97%	95%	93%	91%	90%	89%	90%	89%	85%
	30	98%	97%	96%	95%	94%	94%	93%	95%	94%

[1940]

[1941]

상승작용을 측정하기 위해 상기 기재된 수학적 방법을 사용하여 표 8의 데이터를 플로팅하여 도표로 도시한 도 4 내지 13에서 도시된 바와 같이, 시험한 HCV 세린 프로테아제 억제제 및 인터페론의 모든 조합에 대한 이소볼 곡선은 위로 오목하며, 이는 레플리콘 에세이에서 치료의 항바이러스성 효과가 상승작용적이라는 것을 나타낸다. 이러한 결과들은 표 9에 표로 나타내었으며, 상기 결과들은 조합 치료에 대한 상승작용의 상대 수준 및 개별적으로 사용된 항바이러스성 화합물에 대한 IC₅₀ 값을 나타내고 있다. 표 9에서 주요 요소들은 측정을 위한 α 값 및 p-값이다. α 값은 각 조합 치료에 대한 이소볼의 최대 굴곡의 척도이다. α 값은 0일 때 가산성을 나타내고, 음의 값일 때 길항작용을 나타내고, 상기 도시된 HCV 세린 프로테아제 억제제 및 인터페론을 사용한 조합 치료에서의 경우와 같이 값이 1 보다 큰 경우 상승작용을 나타낸다. α 파라미터가 클수록 상승작용이 크다. HCV 세린 프로테아제 억제제 및 인터페론의 조합에 대해 표 9에 도시된 바와 같이, 각 실험에서 유의성 수준을 무시하더라도 평균 알파 값 0에 대한 9회의 실험을 기준으로 한 t 시험 (상호작용 없음)은 0.00014의 p-값을 갖고, 이는 결과들이 매우 중요하다는 것을 나타낸다.

[1942]

상기 분석에 사용되는 그레코 러스텀 (Greco Rustom, (1990) Application of a New Approach for the Quantitation of Drug Synergism to the Combination of cis-Diamminedichloroplatinum and 1-β-D-Arabinofuranosylcytosine, Cancer Research, 50, 5318-5327)의 방법을 기준으로 한 상승작용의 계산은 HCV 레플리콘 에세이를 사용하여 생성될 수 있는 실험 데이터의 종류의 평가를 위한 이상적인 도구이다. 프리차드 및 쉐프먼 (Prichard, M.N., and Shipman, C. Jr., (1990) "A three-dimensional model to analyze drug-drug interactions (review)," Antiviral Res. 14: 181-206)과 같은 항바이러스성 화합물에 대한 연구에 사용되는 다른 방법이 있다. 역시 HCV 세린 프로테아제 억제제 및 인터페론을 사용한 레플리콘 세포의 조합 치료를 나타내는 표 8에 도시된 데이터에 상승작용 계산 방법을 적용하는 것은 HCV 레플리콘 RNA 축적의 상승작용적 억제를 야기할 것이다 (데이터는 도시되지 않음).

표 9

조합 치료를 위한 상대적인 상승작용도
및 개별적으로 사용된 항바이러스 화합물들의 IC₅₀

HCV 세린			IC ₅₀ INF	IC ₅₀ HSPi	α	P-값
프로테아제	인터페론		(유니트)	(μ M)	(SE) ¹	$\alpha > 0$
억제제						
(HSPi)						
실험 1	화합물 CU	IFN 알파-2B	2.05	0.469	0.477 (0.09)	<0.0001
실험 2	화합물 CU	IFN 알파-2A	3.72	0.446	0.770 (0.12)	<0.0001
실험 3	화합물 CU	IFN 알파-2B	2.36	0.587	0.730 (0.08)	<0.0001
실험 4	화합물 CU	IFN 알파-2A	5.67	0.633	0.438 (0.08)	<0.0001
실험 5	화합물 CU	IFN tau	13.22	0.605	0.328 (0.07)	<0.0001
실험 6	화합물 EC	IFN 알파-2B	2.53	0.384	0.516 (0.10)	<0.0001
실험 7	화합물 EC	IFN 알파-2A	5.50	0.312	1.24 (0.20)	<0.0001
실험 8	화합물 CU	IFN 베타	1.82	0.466	0.551 (0.09)	<0.0001
실험 9	화합물 EP	IFN 알파-2B	3.06	0.426	0.490 (0.12)	<0.0001
실험 10	리바비린	IFN 알파-2B	1.22	145	-0.24 (0.067)	0.0004

¹(SE) 표준 오차

[1943]

[1944]

본 발명의 HCV 세린 프로테아제 억제제 및 인터페론을 사용한 항-HCV 약물 치료의 상승작용적인 특성을 평가하기 위한 또다른 척도는, 상기 기재된 바와 동일한 방법을 사용하여 HCV, 즉 레플리콘 분석에서 리바비린과 조합된 인터페론 알파-2B에 대한 현행의 표준 조합 치료를 평가하는 것이다. 표 9의 마지막 행은 인터페론 알파-2B 및 리바비린의 혼합물에 대한 α 파라미터가 음수라는 것을 보여주고 있는데, 이는 상기 2종의 약물간에 소량의 길항작용이 있다는 것을 나타낸다. 이는 인터페론과 함께 조합하여 본 발명의 HCV 세린 프로테아제 억제제를 사용하는 본원에 개시된 조합 치료의 유의성을 더 강조하고 있으며, 상기 치료는 명백하게 상승작용을 생성하지 만, HCV (리바비린과 조합된 인터페론 알파-2B)에 대한 사용에서 표준 조합 치료는 레플리콘 에세이에서 상승작용성이 아니다.

[1945]

본 발명의 HCV 세린 프로테아제 억제제와 인터페론을 사용한 조합치료 대 레플리콘 에세이에서 리바비린과 인터페론을 사용한 조합 치료의 상기 비교는 전자가 상승작용적이며 후자는 그렇지 않다는 것을 명백하게 표시한다. 레플리콘 에세이를 사용하여 얻어진 실험 결과는 인터페론을 HCV 세린 프로테아제 억제제와 조합하여 사용할 경우에는 인터페론 알파-2B를 리바비린과 조합하는 경우보다 훨씬 적은 투여량의 인터페론이 효과적일 수 있다는 것을 나타낸다. 레플리콘 에세이는 잠재적인 항-HCV 화합물을 시험하는데 유용한 모델 시스템이며, 화합물 항-HCV 활성의 효과적인 예보자로서 현재 널리 의존된다. 예를 들어 문헌 [Blight et al. (2000) Efficient Initiation of HCV RNA Replication in Cell Culture. Science 8; 290:1972-1974] 및 문헌 [Chung et al. (2001) Hepatitis C virus replication is directly inhibited by IFN- α in a full-length binary expression system. Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A. 98(17):9847-52]를 참조한다. 리바비린 단독은 레플리콘 에세이에서 HCV 레플리콘 RNA의 축적을 감소시키는데 아주 약간 효과적이다 (표 8, 실험 10 및 표 9의 마지막 행). 이러한 결과는 단독으로 사용될 때 리바비린이 HCV의 치료에 대해 유의한 치료 값을 가지지 않는다는 생체내 연구와 명백하게 불일치한다. 반대로, 하기 논의된 바와 같은 세포파괴에 대해 수정한 레플리콘 에세이에서 리바비린은 145 μ M의 IC₅₀을 가진다. 이는 하기 논의된 바와 같은 세포파괴와 일치한다. 이러한 결과는 레플리콘 에세이가 생체내 세포파괴로 인해 사람 치료법에서는 가능하지 않을 수 있는 높은 리바비린 농도의 평가를 허용한다는 것을 인지함으로써 설명될 수 있다 (문헌 [Chutaputti A. (2000) Adverse effects and other safety aspects of the hepatitis C antivirals. Journal of Gastroenterology and Hepatology. 15 Suppl : E156-63]).

[1946]

이러한 평가는 리바비린의 세포파괴에 대한 판단을 반드시 필요로 한다. 상기 세포파괴는 환자에게서 및 세포 분석에서 발생한다 (문헌 [Shiffman M. L., Verbeke S. B., Kimball P. M. (2000) Alpha interferon combined with ribavirin potentiate proliferative suppression but not cytokine production in mitogenically stimulated human lymphocytes. Antiviral Research. 48 (2): 91-9]). 본원에 개시된 실험에서, 레플리콘 에

세이에서 리바비린 세포파괴가 관찰되며 2가지 방법으로 측정된다. 레플리콘 세포 생존도를 결정하기 위한 XTT 대사 분석 (문헌 [Roehm N. W., Rodgers G. H., Hatfield S. M., Glasebrook A. L. (1991) An improved colorimetric assay for cell proliferation and viability utilizing the tetrazolium salt XTT. *Journal of Immunol. Methods*. 142 (2): 257-65]) 및 레플리콘 분석에서 치료된 세포 대 치료되지 않은 세포의 글리세르알데히드-3-포스페이트 데히드로게나제 (GAPDH) mRNA 수준을 측정하기 위한 택맨 (등록상표) 정량 RT-PCR 분석 (문헌 [Brink N., Szamel M., Young A. R., Wittern K. P., Bergemann J. (2000) Comparative quantification of IL-1beta, IL-10, IL-10r, TNFalpha and IL-7 mRNA levels in UV-irradiated human skin in vivo. *Inflammation Research*. 49 (6): 290-6]) 둘 다에서 유의한 리바비린-유도된 세포파괴가 관찰되지만, 하기와 같이 수정된다. 구조적으로 발현된 하우스키핑 유전자인 GAPDH mRNA의 수준이 모든 생존가능한 세포에서 동일하다고 가정한다. GAPDH mRNA의 반감기가 단지 몇 시간인 전사 억제제 액티노마이신 D로 처리된 세포에서의 GAPDH mRNA 수준의 측정으로부터 공지되어 있다 (데이터는 도시되지 않음). 따라서, 다른 사람들에 의해 행해진 바와 같이 사람 세포에서 특정 mRNA의 수준을 결정하기 위해 택맨 (등록상표) 기술을 사용하여, 임의의 주어진 샘플에서 GAPDH mRNA 수준은 $VCN=2^{(40-Ct_{GAPDH\ mRNA})}$ 의 관계로 생존가능한 세포 수 (VCN)에 비례한다고 가정된다. VCN을 각각의 레플리콘 에세이 샘플 웰에 대해 계산하고, 특정한 웰에 대한 HCV 레플리콘 RNA 복사 개수를 상기 웰에 대한 VCN로 나눈다. 일단 계산되면, 이 비율은 억제제를 계산하기 위해 HCV 복사 개수 대신 사용된다 ("측정된 평균 억제율"; Fig 14.A). 이러한 레플리콘 에세이를 세포파괴에 대해 수정하지 않고, 상기 세포파괴는 HCV RNA 레플리콘 측정에 거트된 포지티브 억제제로 이해된다. 레플리콘 에세이에서, HCV RNA 레플리콘 측정의 측정된 억제는 HCV RNA 레플리콘 측정의 실제 억제 및 세포파괴로 인한 HCV RNA 레플리콘 측정의 명백한 억제의 합이라 가정된다. 또한, 세포파괴의 XTT 및 택맨 (등록상표) GAPDH mRNA 측정의 밀접한 상관관계를 기준으로 레플리콘 에세이에서 시험된 화합물에 의해 야기된 GAPDH mRNA의 측정 억제는 세포파괴로 인한 HCV RNA 레플리콘 측정의 명백한 억제의 신뢰할만한 척도이다. 따라서, 일반적인 세포파괴에 대해 수정된 레플리콘 에세이에서 화합물의 진정한 항-HCV 활성은 각 샘플에서 측정된 HCV 레플리콘 RNA 분자의 개수를 VCN에 의해 나눔으로써 각 샘플에서 생존가능한 세포의 개수로 표준화함으로써 추정될 수 있다. 상기 방법을 사용하여, 도 14. A에는 레플리콘 에세이 ("측정된 평균 억제율")에서의 진정한 리바비린 항-HCV 활성의 추정값이 도시되어 있다. 리바비린에 대한 IC₅₀의 추정값은 상기 방법을 사용하여 가장 잘 계산된다. 도 14.A에서, "보정된 평균 억제율"은 리바비린에 대한 보정되지 않은 IC₅₀이 대략 80 μM임을 보여주지만 "측정된 평균 억제율" 곡선으로부터 계산된 보정된 IC₅₀ 값은 대략 145 μM임을 보여준다. 인터페론 알파-2B 치료의 결과로서 HCV RNA 레플리콘 측정의 보정된 억제율 및 측정된 억제율간의 차이는 (도 14.B) 레플리콘 에세이의 약 20 % CV에서는 미미한 정도이다. 인터페론 알파-2B와 같이, 본 실시예에서 시험한 HCV 세린 프로테아제 억제제는 사용한 농도에서 유의한 세포파괴를 나타내지 않는다. 상기는 XTT 분석을 사용하여 결정되고, 다양한 화합물에 대한 TC₅₀ 값은: CU=64.7 μM, EP > 10 μM 및 EC > 50 μM와 같다. 이러한 TC₅₀ 값은 표 9에 도시된 IC₅₀ 값보다 20 내지 140 배 더 크다. 따라서, 이들 화합물의 세포파괴는 분석의 정밀도 내에서 레플리콘 에세이 중 HCV RNA 측정에 대해 유의한 효과를 갖지 못하는데, HCV 세린 프로테아제 억제제 농도가 레플리콘 에세이에서 시험한 농도보다 유의하게 큰 경우에만 이러한 세포파괴가 발생하기 때문이다.

[1947] **개별적인 HCV 세린 프로테아제 억제제 및 인터페론, 및 이들의 조합물의 효과에 대한 결론**

[1948] HCV 레플리콘 에세이에서 단독으로 사용시 본 발명의 HCV 세린 프로테아제 억제제 및 다양한 인터페론의 항-HCV 활성은 1종의 항바이러스제만을 사용하는 표 8을 구성하는 각 실험의 열 및 행에 도시된 바와 같다. 표 9는 단독으로 시험시 각 항바이러스성 화합물에 대해 측정된 IC₅₀ 값을 나열하고 있다. 시험관내 레플리콘 에세이를 사용함으로써 얻어진 상기 결과들도 또한 본 발명의 HCV 세린 프로테아제 억제제 및 다양한 인터페론을 사용한 레플리콘 세포의 조합 치료가 상승작용적 항바이러스성 효과를 얻는다는 것을 입증하고 있다. 이러한 효과들이 생체내 유효성으로 변형될 것이라는 것이 충분히 예상된다.

[1949] 본 발명의 HCV 세린 프로테아제 억제제를 사용하는 조합 치료는 단일 약물 치료에 비해 몇몇 두드러진 장점들을 갖는다. 첫번째로, 치료에서 약물을 단독으로 사용하는 경우에 가능한 것보다 더 적은 투여량의 각 약물을 사용할 수 있도록 함으로써 치료와 관련된 독성 및 부작용이 감소될 것임을 예상할 수 있다. 이는 부작용이 심각하며, 상기 부작용은 환자에게 투여되는 투여량에 비례적이라 밝혀진 인터페론 치료법의 경우에 특히 중요하다. 상기 데이터는 IC₉₅ 수준에서 CU와 같은 HCV 세린 프로테아제 억제제의 투여량이 예를 들어 IC₅₀ 수준에서 소정 투여량의 인터페론 알파와 조합될 수 있으며 상기 결과는 HCV 세린 프로테아제 억제제를 단독으로 사용하여 달

성하는 것보다 높은 투여량의 인터페론 알파에 의해 야기되는 해로운 부작용이 없는 더욱 효과적인 치료법일 것임을 나타낸다. 조합 치료의 두번째 중요한 장점은 2종의 약물이 독립적으로 작용하기 때문에 치료에 저항하는 돌연변이 HCV 스트레인 발달의 기회가 적다는 것이다. 저항성의 발달은 HCV와 같은 RNA 바이러스에서 주된 관심사이다. 이들의 높은 돌연변이율로 인해, 바이러스는 신속하게 환경적인 스트레스에 적응할 수 있다. 조합 치료의 세번째 장점은 효과적인 치료를 위해 더 적은 양의 치료제가 필요하므로 비용을 절감할 수 있다는 점이다.

[1950] 본 발명에 개시된 방법에 사용할 수 있는 추가적인 면역조절물질은 예를 들어 알파 인터페론 2A, 교감 인터페론, 타우 인터페론, 인터페론 + 리바비린 (레바트론 (Rebatron)), 폐결화(pegylated) 인터페론 및 인터페론 유전자 발현의 촉진자를 포함한다. 본원에 개시된 것과 같은 HCV 세린 프로테아제 억제제와 조합되어 사용될 때 이들 화합물의 항-HCV 활성이 개선될 것임이 충분히 예상된다. 인터페론은 생체내에서 및 레플리콘 에세이에서 활성인 것으로 공지되어 있고, 본 발명의 HCN 세린 프로테아제 억제제도 또한 생체내에서 활성일 것이며, 더욱 중요하게는 인터페론, 그의 면역 시스템 자극제, 또는 HCV 세린 프로테아제의 억제 이외의 메커니즘에 의해 작용하는 HCV 항바이러스성 활성을 갖는 다른 화합물들과 조합하여 사용시에 상승작용적 활성을 제거할 수 있음이 예상된다.

[1951] HCV에 대한 가장 최근의 치료법은 인터페론 알파 및 뉴클레오시드 유사체 리바비린을 사용한다. 이러한 치료는 단지 조금 효과적일 뿐이며, 환자의 순응도를 감소시키는 상당한 부작용을 야기한다 (문헌 [Chronic Hepatitis C: Current Disease Management, U. S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, 1999]). 추가적으로, 이식 환자에서는 리바비린-인터페론 조합이 작용하는지가 확실하지 않으며, 사실 인터페론 단독인 경우보다 더 나쁠 수 있다 (문헌 [Chronic Hepatitis C: Current Disease Management, U. S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, 1999]).

발명의 효과

[1952] 상기 나타난 결과들은 인터페론을 신규한 종의 HCV 항바이러스성 물질, 즉 본 발명의 세린 프로테아제 억제제과 함께 사용할 경우의 상승작용적인 조합 효과를 입증한다. 본 발명자들은 본원에 개시된 생체의 결과들은 현재 가능한 인터페론을 단독으로 사용하는 것보다 HCV 환자의 더욱 효과적인 치료를 야기할 것이라는 것을 충분히 예상한다. 치료상 투여량 미만의 인터페론은 환자의 면역 시스템이 바이러스와 더 잘 싸우도록 동원될 수 있고, 세린 프로테아제 억제제는 상이한 작용 메커니즘을 통해 2회의 찌르는 공격으로 바이러스를 직접 공격할 수 있다. 따라서 HCV 감염증의 치료는 감소된 부작용 및 효과적인 HCV 항바이러스성 치료법에 필요한 약물 2종들 다에 대한 비용보다 필요한 제약에 대한 비용이 더 적다는 면에서 환자에게 절감된 비용으로 달성될 수 있다.

[1953] 본 발명은 그의 주제 또는 본질에서 벗어나지 않으면서 다른 구체적인 형태로 구현될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0001] 본 발명의 위와 같은 및 다른 측면, 특성 및 이점은 수반되는 도면과 함께 하기 상세한 설명에 의해 더욱 이해될 것이며, 이들 모두는 단지 설명을 위한 것으로 본 발명을 제한하려는 것은 아니다.

[0002] 도 1은 화합물 CU 및 인터페론-알파 2B를 단독으로 또는 조합으로 하여 레플리콘 함유 세포를 처리한지 48 시간 후 HCV 레플리콘 RNA 축적의 억제를 나타낸다.

[0003] 도 2는 그레코, 파크 및 러스툼(Greco, Park and Rustom)의 상승작용 계산 방법[(1990) Application of a New Approach for the Quantitation of Drug Synergism to the Combination of cis-Diamminedichloroplatinum and 1-β-D- Arabinofuranosylcytosine, Cancer Research, 50, 5318-5327]에 따라 길항성이고, 부가적이며 상승적인 조합으로 사용되는 화합물에 의해 나타나는 이소볼(isobol) 요면을 도시적으로 나타낸다.

[0004] 도 3은 α와 이소볼 곡물의 양 사이의 기하학적 관계를 나타낸다. E = 50 %의 효과 수준에서 가정한 이소볼을 부가하에서 예상될 수 있는 직선 이소볼로 도시하였다. M은 y = x인 직선과 가정한 이소볼의 교차점이다. N은 y = x인 직선과 직선 이소볼과의 교차점이다. O는 원점 (0,0)이다. S는 S=ON/OM인 이소볼 곡물의 양의 측정값이다. ON은 O에서부터 N까지의 거리이고, OM은 O에서부터 M까지의 거리이다. 파라미터 α는 식 $\alpha = 4(S^2 - S)$ 에 따라 S와 관련된다.

[0005] 도 4는 실험 1에서 각 화합물의 희석액 6개를 사용한 화합물 CU와 인터페론 알파-2B (Schering-Plough)의 조합

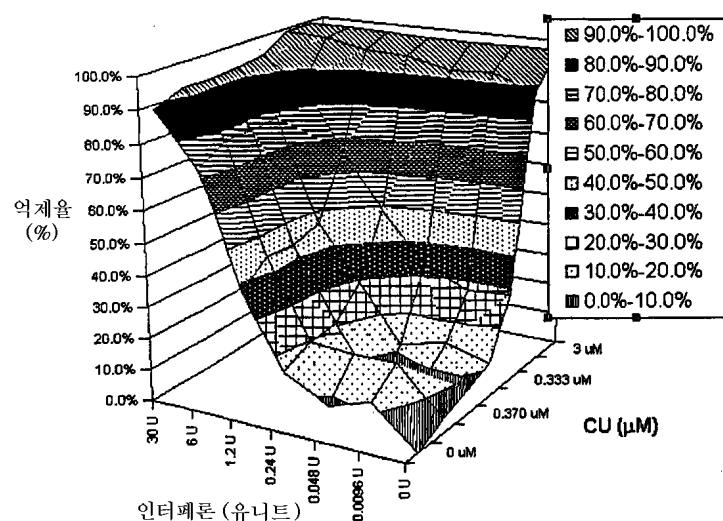
에 대해 그레코 등의 방법을 사용한 이소볼 계산을 나타낸다.

- [0006] 도 5는 실험 2에서 각 화합물의 희석액 6개를 사용한 화합물 CU와 인터페론 알파-2A의 조합에 대해 그레코 등의 방법을 사용한 이소볼 계산을 나타낸다.
- [0007] 도 6은 실험 3에서 각 화합물의 희석액 8개를 사용한 화합물 CU와 인터페론 알파-2B (Schering-Plough)의 조합에 대해 그레코 등의 방법을 사용한 이소볼 계산을 나타낸다.
- [0008] 도 7은 실험 4에서 각 화합물의 희석액 8개를 사용한 화합물 CU와 인터페론 알파-2A의 조합에 대해 그레코 등의 방법을 사용한 이소볼 계산을 나타낸다.
- [0009] 도 8은 실험 5에서 각 화합물의 희석액 8개를 사용한 화합물 CU와 양-인터페론 타우의 조합에 대해 그레코 등의 방법을 사용한 이소볼 계산을 나타낸다.
- [0010] 도 9는 실험 6에서 각 화합물의 희석액 8개를 사용한 화합물 EC와 인터페론 알파-2B (Schering-Plough)의 조합에 대해 그레코 등의 방법을 사용한 이소볼 계산을 나타낸다.
- [0011] 도 10은 실험 7에서 각 화합물의 희석액 8개를 사용한 화합물 EC와 인터페론 알파-2A의 조합에 대해 그레코 등의 방법을 사용한 이소볼 계산을 나타낸다.
- [0012] 도 11은 실험 8에서 각 화합물의 희석액 8개를 사용한 화합물 CU와 인터페론 베타의 조합에 대해 그레코 등의 방법을 사용한 이소볼 계산을 나타낸다.
- [0013] 도 12는 실험 9에서 각 화합물의 희석액 8개를 사용한 화합물 EP와 인터페론 알파-2B (Schering-Plough)의 조합에 대해 그레코 등의 방법을 사용한 이소볼 계산을 나타낸다.
- [0014] 도 13은 실험 10에서 각 화합물의 희석액 8개를 사용한 화합물 리바비린과 인터페론 알파-2B (Schering-Plough)의 조합에 대해 그레코 등의 방법을 사용한 이소볼 계산을 나타낸다.
- [0015] 도 14는 (A) 리바비린 단독 또는 (B) 인터페론 알파-2B 단독에 의한 레플리콘 세포의 처리로 부터 기인한 HCV 레플리콘 RNA 축적의 억제율(%)을 나타낸다. 양 패널 모두에서, 측정된 억제율 뿐 아니라 화합물의 세포파괴에 대해 보정된 억제율이 나타난다.

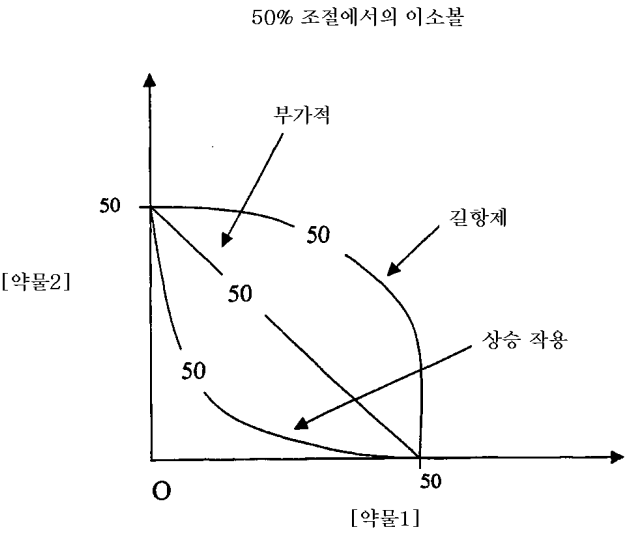
도면

도면1

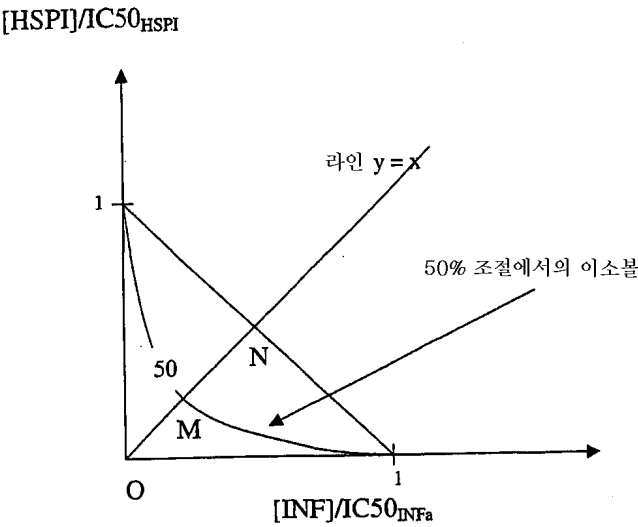
인터페론 알파-2B 및 화합물 CU의 조합 처리



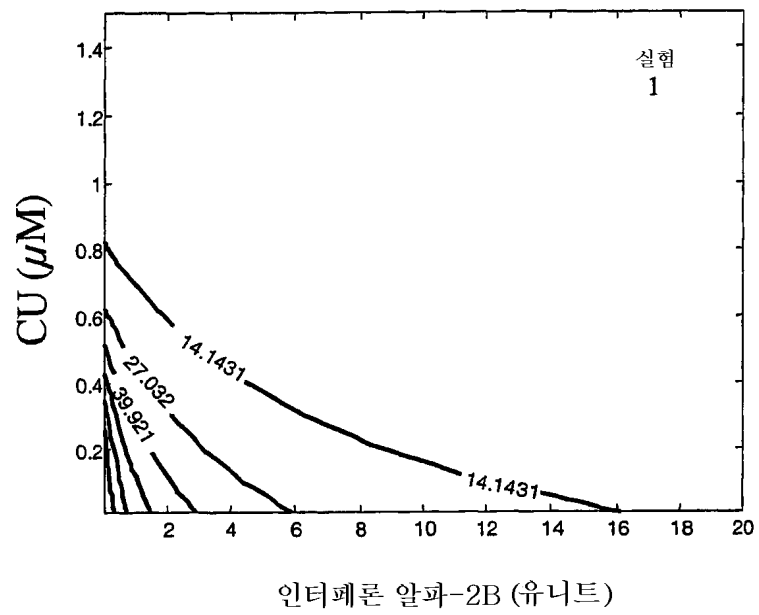
도면2



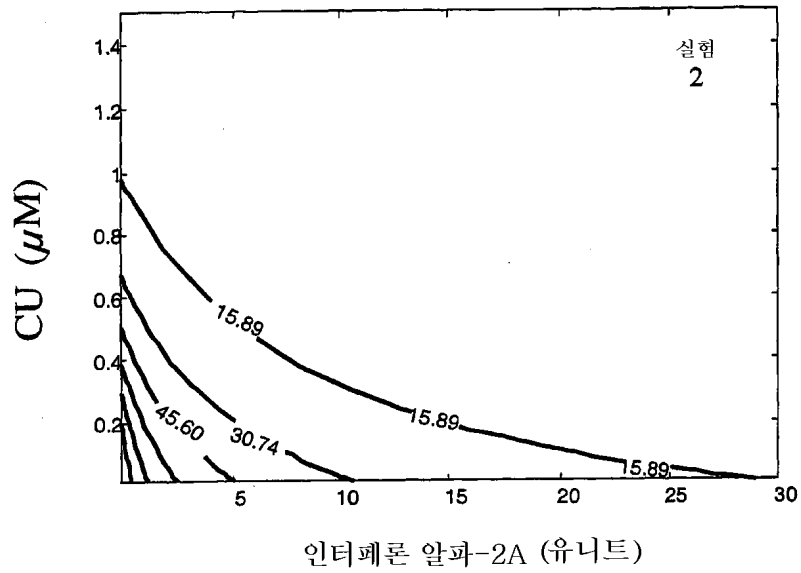
도면3



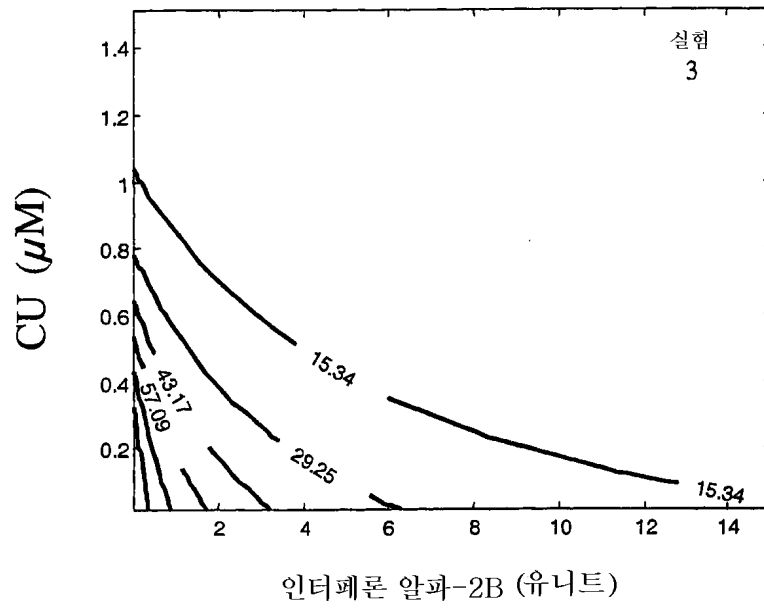
도면4



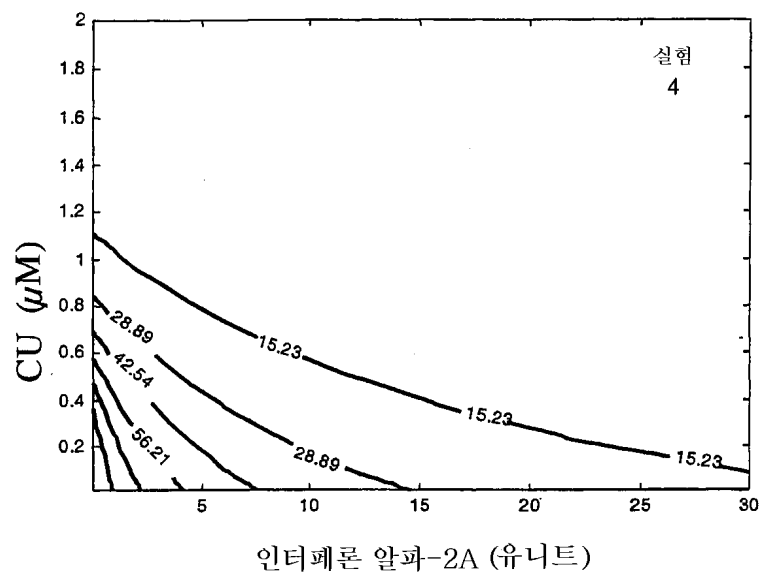
도면5



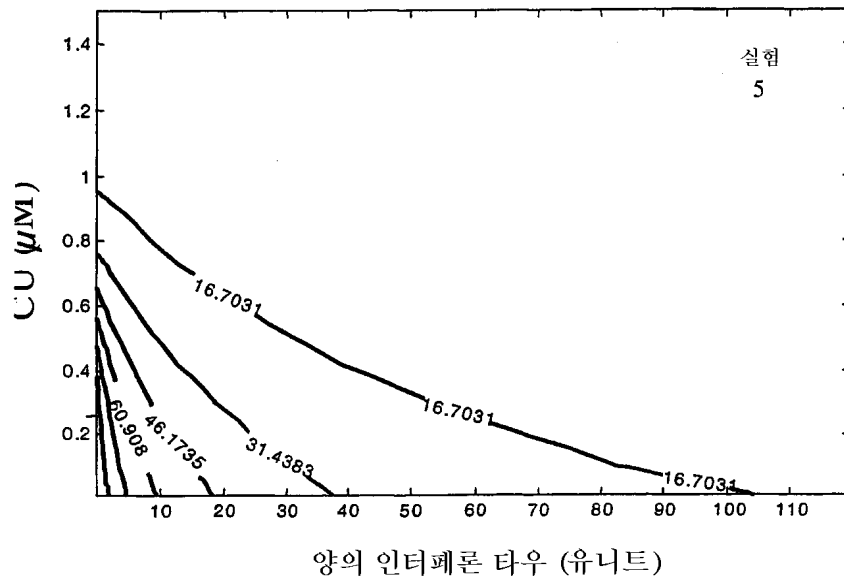
도면6



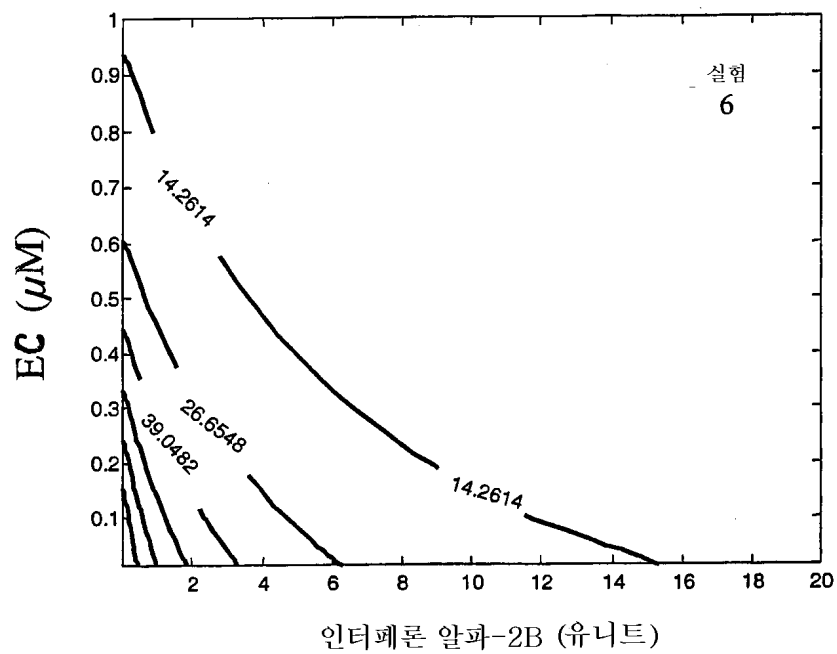
도면7



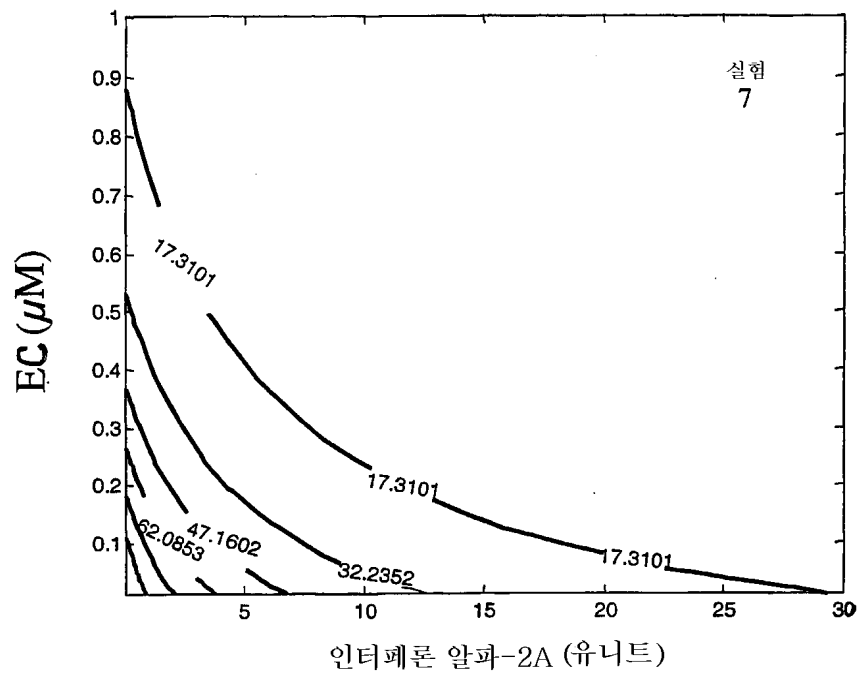
도면8



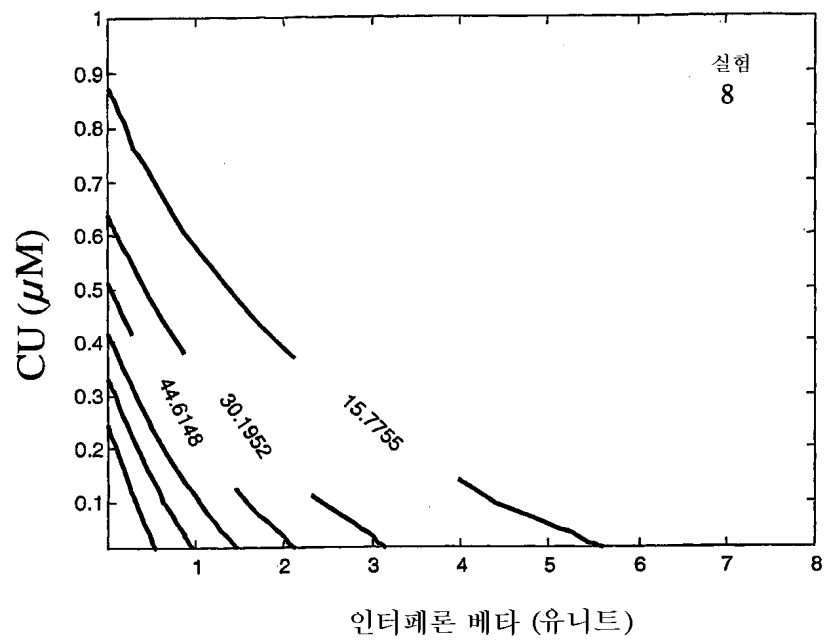
도면9



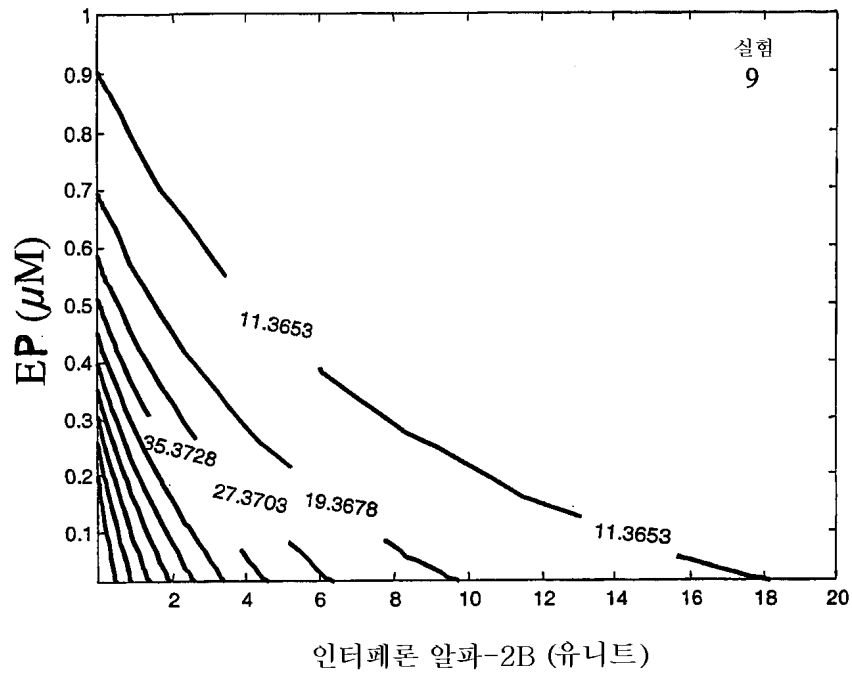
도면10



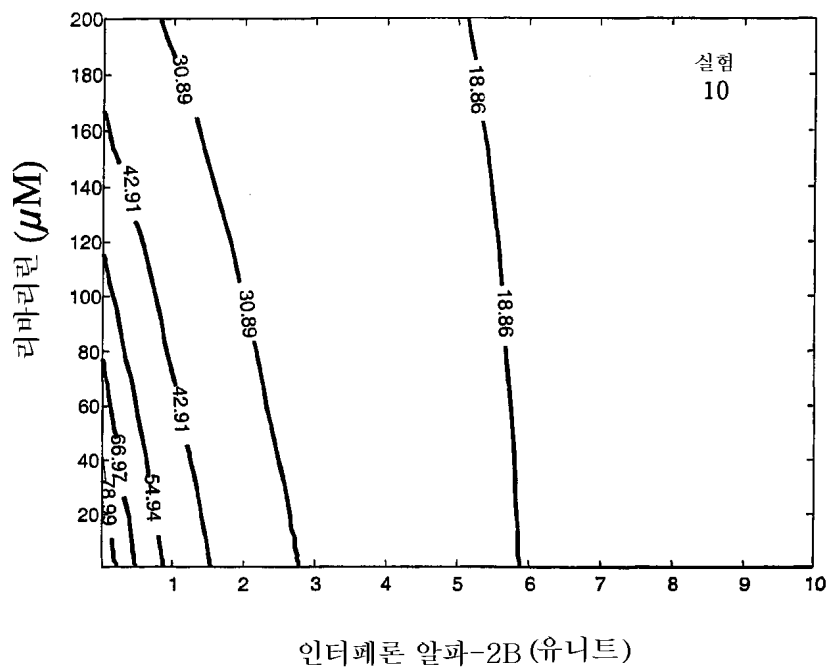
도면11



도면12



도면13



도면14

