



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0045032
(43) 공개일자 2011년05월03일

- (51) Int. Cl.
C07K 7/64 (2006.01) C07K 1/113 (2006.01)
A61K 38/13 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
- (21) 출원번호 10-2011-7004849
(22) 출원일자(국제출원일자) 2009년07월03일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2011년02월28일
(86) 국제출원번호 PCT/CA2009/000917
(87) 국제공개번호 WO 2010/012073
국제공개일자 2010년02월04일
- (30) 우선권주장
61/084,999 2008년07월31일 미국(US)
61/137,522 2008년07월30일 미국(US)
- (71) 출원인
이소테크니카 파마 인크.
캐나다 티6이 6더블유2 앨버타 애드몬튼 5120-75 스트리트
- (72) 발명자
아벨, 마크, 디.
캐나다 티6제이 7비2 앨버타 애드몬튼 애브뉴 11530 - 9에이
차이코프스키, 데이빗, 피.
캐나다 티6케이 0에이취7 앨버타 애드몬튼 스트리트 노스웨스트 3819-86
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인에이아이피

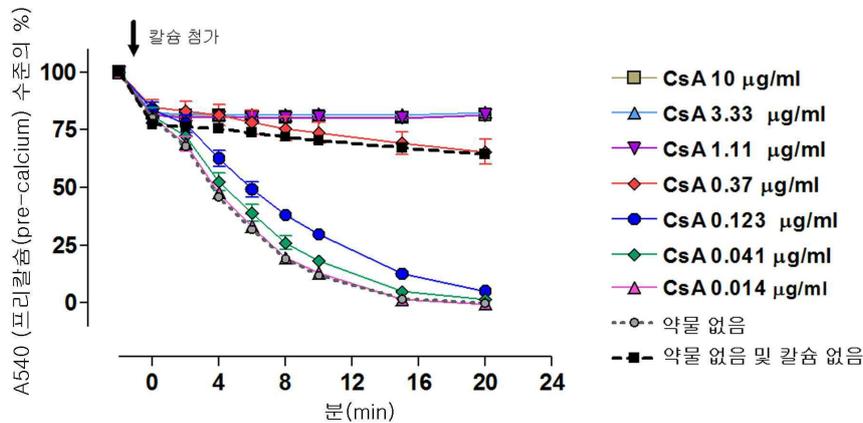
전체 청구항 수 : 총 27 항

(54) 비면역억제성 사이클로스포린 유사체 분자

(57) 요약

본 발명의 화합물은 사이클로필린을 결합할 수 있는 비(non)면역억제 사이클로스포린 유사체이다. 상기 화합물은 치환기 R', R1 및 R2를 갖는 옥시알킬로 이루어진 사이클로스포린 A의 아미노산 I의 변성 결사슬을 포함하고, 여기서, R'는 H 또는 아세틸이고; R1은 포화 또는 불포화된, 곧은 사슬 또는 분지된 지방족 탄소 사슬이고; R2는 수소; 비치환, N-치환 또는 N,N-2치환된 아미드; N-치환 또는 비치환된 아실 보호된 아민; 카르복실산; N-치환 또는 비치환된 아민; 니트릴; 에스테르; 케톤; 히드록시, 디히드록시, 트리히드록시 또는 폴리히드록시 알킬; 또는 치환 또는 비치환된 아릴일 수 있다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

펜스크, 브루스, 더블유.

캐나다 티6엘 6티6 앨버타 애드몬튼 케인 윈드 노스웨스트 1156

헤그먼스, 알렉산더

캐나다 티6더블유 0이7 앨버타 애드몬튼 애브뉴 사우스웨스트 11813-13에이

맥글레이드, 데이브

캐나다 티5티 5더블유4 앨버타 애드몬튼 스트리트 노스웨스트 7416-187

트리패니어, 덴, 제이.

캐나다 티6알 3이1 앨버타 애드몬튼 해스웰 플레이스 1417

유레, 대런, 알.

캐나다 티6알 1제이8 앨버타 애드몬튼 스트리트 3912-149에이

수지야마, 신

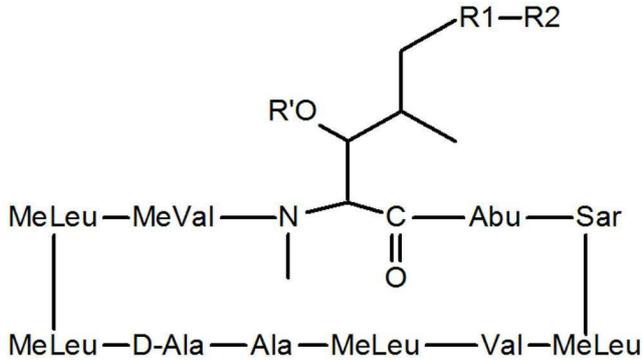
캐나다 티6이 1와이2 앨버타 애드몬튼 81 애브뉴 #20-10755

특허청구의 범위

청구항 1

화학식 I의 화합물:

[화학식 I]



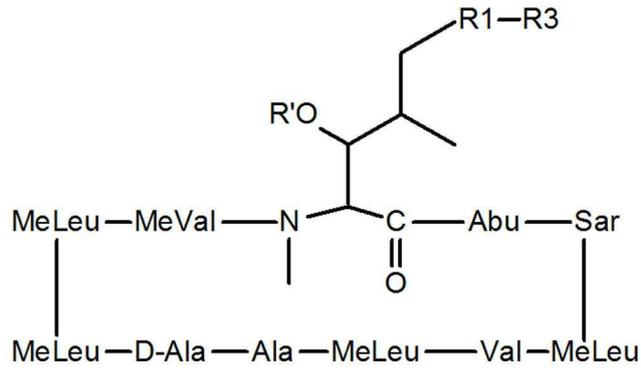
상기 식에서,

- a. R'는 H 또는 아세틸이고;
- b. R1은 그 길이가 2 내지 15개의 탄소 원자인, 포화 또는 불포화된, 끝은 사슬 또는 분지된 지방족 탄소 사슬 이고;
- c. R2는,
 - i. H;
 - ii. 비치환, N-치환, 또는 N,N-2치환된 아미드;
 - iii. N-치환 또는 비치환된 아실 보호된 아민;
 - iv. 카르복실산;
 - v. N-치환 또는 비치환된 아민;
 - vi. 니트릴;
 - vii. 에스테르;
 - viii. 케톤;
 - ix. 히드록시, 디히드록시, 트리히드록시, 또는 폴리히드록시 알킬; 및
 - x. 치환 또는 비치환된 아릴로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

청구항 2

화학식 II의 화합물:

[화학식 II]

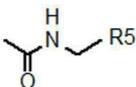
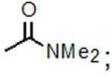
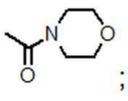
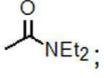
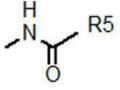
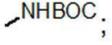
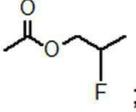
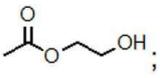
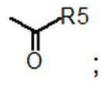
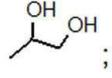
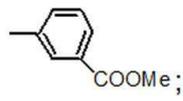
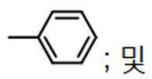
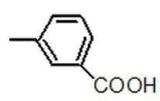


상기 식에서,

- a. R'는 H 또는 아세틸이고;
- b. R1은 그 길이가 2 내지 15개의 탄소 원자인, 포화 또는 불포화된, 곧은 사슬 또는 분지된 지방족 탄소 사슬 이고;
- c. R3은,
 - i. 수소, 케톤, 히드록실, 니트릴, 카르복실산, 에스테르 및 1,3-디옥솔란으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 치환기를 갖는 포화 또는 불포화된, 곧은 또는 분지된 지방족 사슬;
 - ii. 할라이드, 에스테르 및 니트로로 이루어진 그룹으로부터 선택된 치환기를 함유하는 방향족 그룹; 및
 - iii. (i)의 포화 또는 불포화된, 곧은 또는 분지된 지방족 사슬과 (ii)의 방향족 그룹의 결합으로 이루어진 그룹 으로부터 선택된다.

청구항 3

제1항에 있어서, R2는,

- a. 
- b. 
- c. 
- d. 
- e. 
- f. 
- g. 
- h. 
- i. 
- j. 
- k. 
- l. 
- m. 
- n. 
- o. 
- p.  ; 및
- q. 

로 이루어진 그룹으로부터 선택되고,

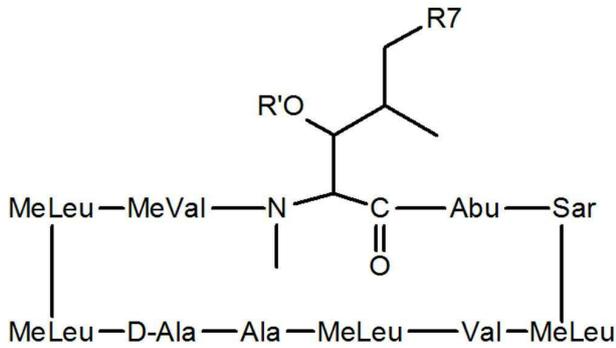
상기 식에서,

- i. R5는 그 길이가 1 내지 10개의 탄소인, 포화 또는 불포화된, 곧은 사슬 또는 분지된 지방족 탄소 사슬이고;
- ii. R6은 그 길이가 1 내지 10개의 탄소인, 모노히드록실화, 디히드록실화, 트리히드록실화 또는 폴리히드록실화된, 포화 또는 불포화된, 곧은 사슬 또는 분지된 지방족 탄소 사슬이다.

청구항 4

화학식 IV의 화합물:

[화학식 IV]

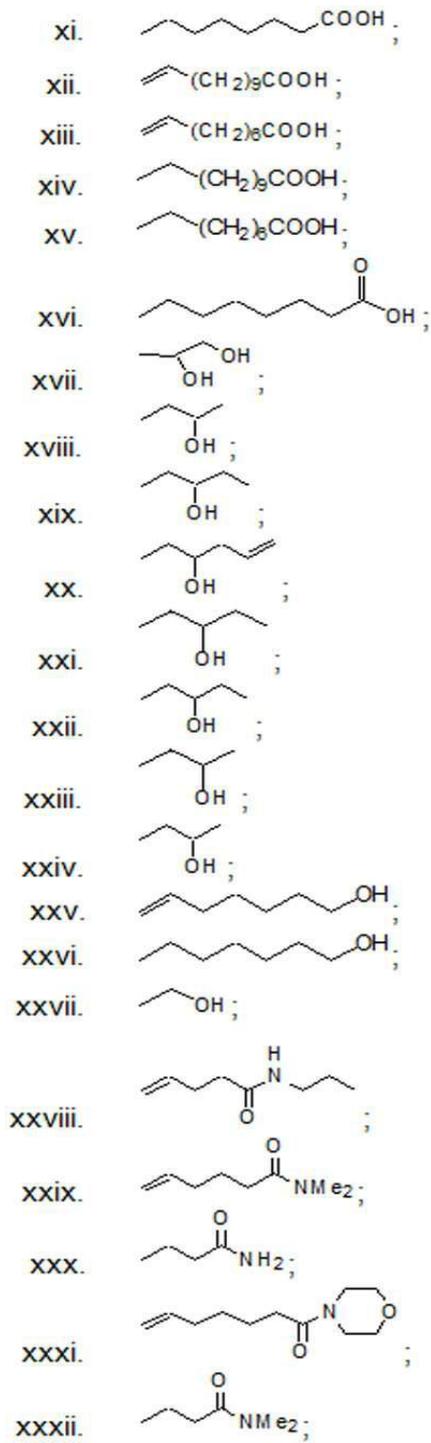


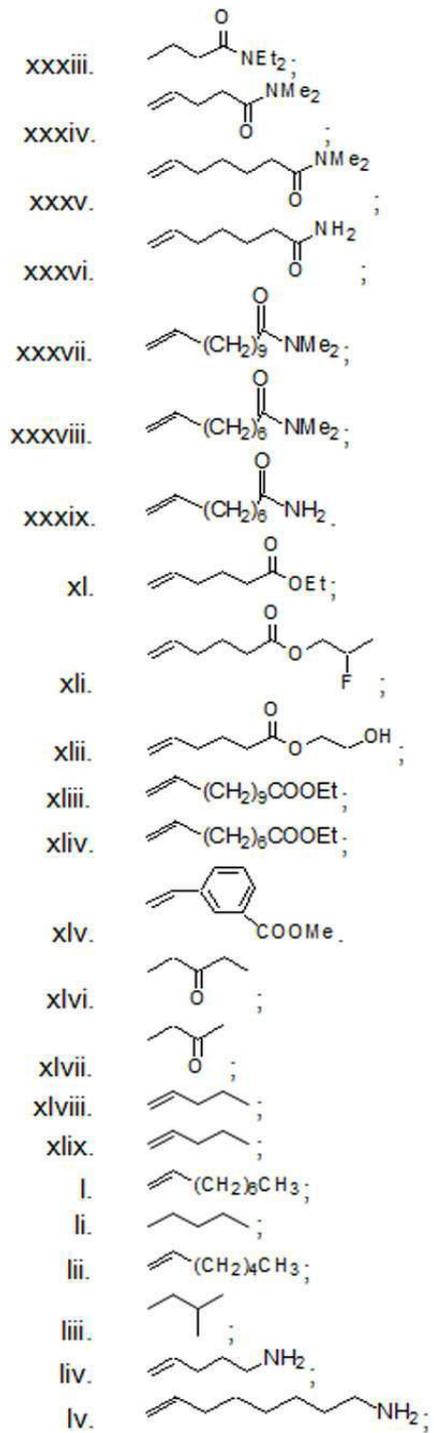
상기 식에서,

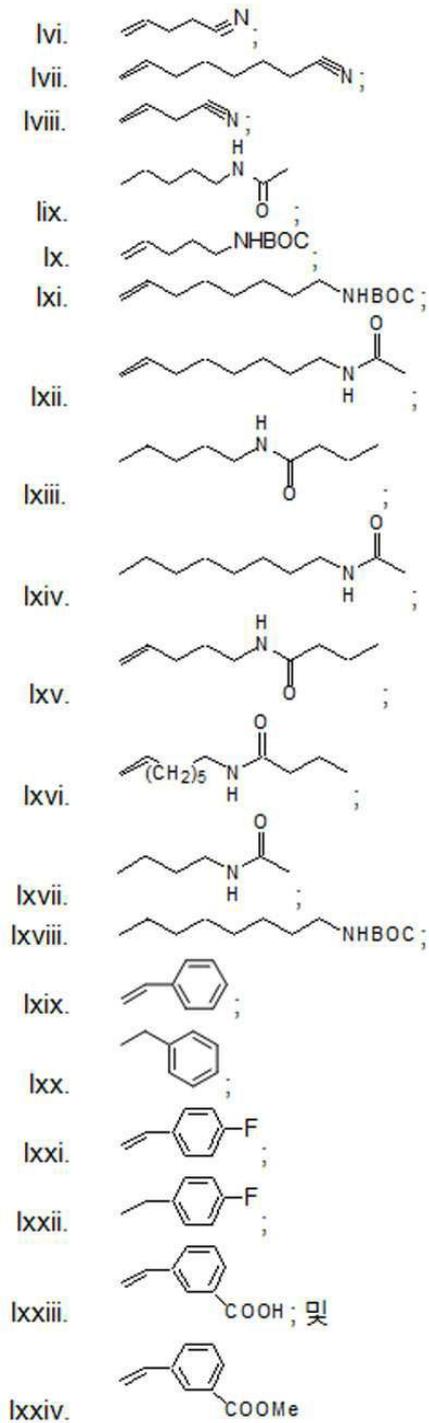
I. R'는 H 또는 아세틸이고;

II. R7은,

- i. COOH;
- ii.
- iii.
- iv.
- v.
- vi.
- vii.
- viii.
- ix.
- x.





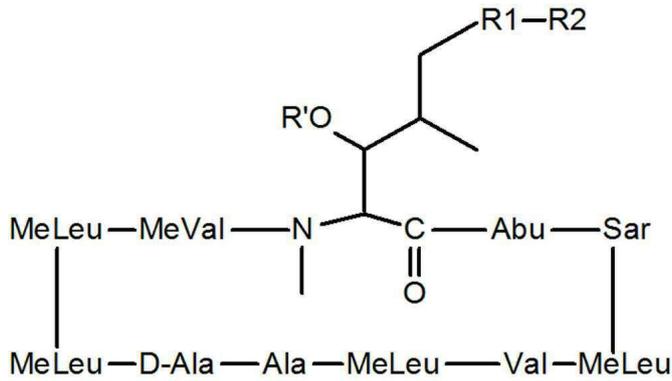


로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

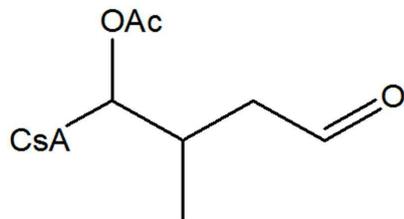
청구항 5

- a. 화학식 IX의 아미노산 1에서 변성된 아세틸 CsA 알데히드를 염기의 존재에서 화학식 VIII의 포스포늄 염과 반응시켜 화학식 X의 아세틸화 화합물을 생성시키는 단계;
- b. 염기를 사용하여 화학식 X의 화합물을 탈아세틸화하는 단계; 및
- c. R1이 포화된 경우, 상기 화합물을 수소첨가제와 반응시켜 화학식 X의 화합물의 이중결합에 수소첨가하여 화학식 I의 포화된 유사체를 생성시키는 단계를 포함하는, 화학식 I의 화합물의 제조 방법.

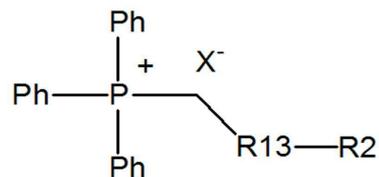
[화학식 I]



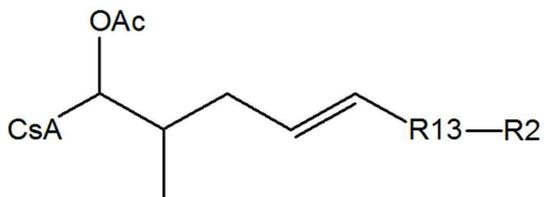
[화학식 IX]



[화학식 VIII]



[화학식 X]



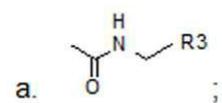
상기 식에서,

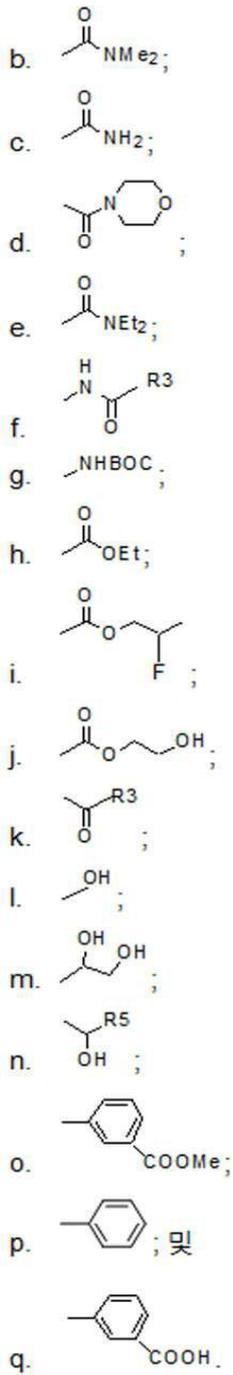
상기 식에서, R1 및 R2는 제1항에 정의된 바와 같고;

R13은 그 길이가 1 내지 14개의 탄소 원자인, 포화 또는 불포화된, 곧은 사슬 또는 분지된 지방족 탄소 사슬이다.

청구항 6

제5항에 있어서, R2는 하기로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 방법:





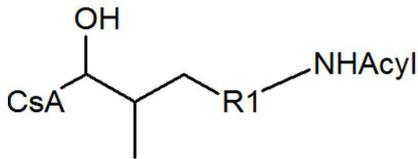
상기 식에서,

- i. R5는 그 길이가 1 내지 10개의 탄소인, 포화 또는 불포화된, 곧은 사슬 또는 분지된 지방족 탄소 사슬이고;
- ii. R6은 그 길이가 1 내지 10개의 탄소인, 모노히드록실화, 디히드록실화, 트리히드록실화 또는 폴리히드록실화된, 포화 또는 불포화된, 곧은 사슬 또는 분지된 지방족 탄소 사슬이다.

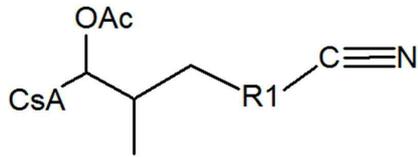
청구항 7

- a. 환원제 및 아실화제의 존재에서 화학식 XV의 화합물을 반응시켜 화학식 XVI의 아세틸화 화합물을 생성시키는 단계: 및
- b. 염기를 사용하여 화학식 XVI의 화합물을 탈아세틸화시키는 단계를 포함하는, 화학식 XIV의 화합물의 제조 방법.

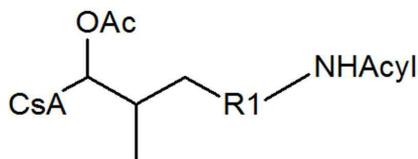
[화학식 XIV]



[화학식 XV]



[화학식 XVI]

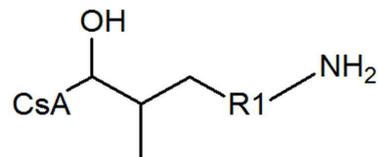


상기 식에서, 화학식 XIV, XV 및 XVI의 R1은 그 길이가 2 내지 15개의 탄소 원자인, 포화 또는 불포화된, 끝은 사슬 또는 분지된 지방족 탄소 사슬이다.

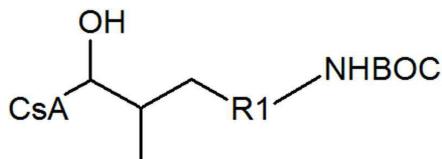
청구항 8

- a. 무수 용매에서 화학식 XX의 화합물을 용해시키는 단계; 및
- b. 상기 용액을 트리플루오로아세트산 (TFA)과 반응시키는 단계를 포함하는, 화학식 XXI의 화합물의 제조 방법.

[화학식 XXI]



[화학식 XX]

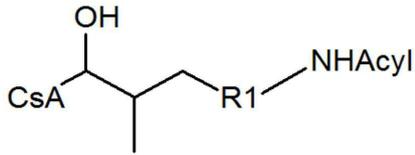


상기 식에서, 화학식 XX 및 XXI의 R1은 사슬 길이가 2 내지 15개의 탄소인, 포화 또는 불포화된, 끝은 사슬 또는 분지된 지방족 탄소 사슬이다.

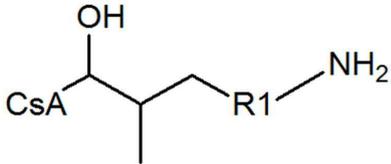
청구항 9

- a. 무수 피리딘에서 화학식 XXI의 화합물을 용해시키는 단계;
- b. 상기 용액을 아실화제와 반응시키는 단계; 및
- c. 용매를 제거하여 화학식 XIV의 화합물을 수득하는 단계를 포함하는, 화학식 XIV의 화합물의 제조 방법.

[화학식 XIV]



[화학식 XXI]

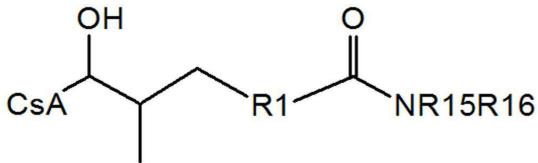


상기 식에서, 화학식 XIV 및 XXI의 R1은 그 길이가 2 내지 15개의 탄소 원자인, 포화 또는 불포화된, 곧은 사슬 또는 분지된 지방족 탄소 사슬이다

청구항 10

- a. 화학식 XXV의 화합물을 티오닐클로라이드와 조합시켜 화학식 XXVI의 잔기를 생성시키는 단계;
- b. 상기 잔기를 무수 용매에서 용해시키고 화학식 XXVII의 화합물과 반응시켜 화학식 XXVIII의 화합물을 수득하는 단계; 및
- c. 화학식 XXVIII의 화합물을 염기로 탈아세틸화시키는 단계를 포함하는, 화학식 XXIV의 화합물의 제조 방법.

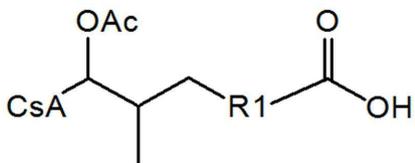
[화학식 XXIV]



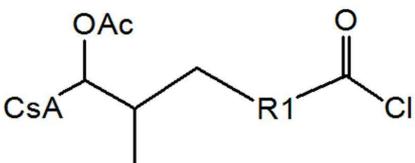
상기 식에서,

- I. R1은 사슬 길이가 2 내지 15개의 탄소인, 포화 또는 불포화된, 곧은 또는 분지된 지방족 탄소 사슬이고;
- II. R15 및 R16은 독립적으로 수소 또는 포화 또는 불포화된, 곧은 사슬 또는 분지된 지방족 그룹이고; 또는 NR15R16은 함께 모르폴리닐 잔기를 형성하고;

[화학식 XXV]



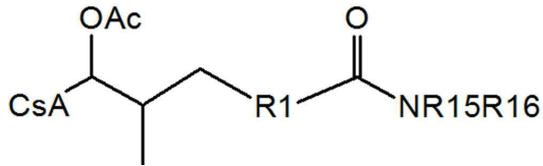
[화학식 XXVI]



[화학식 XXVII]

R15R16NH

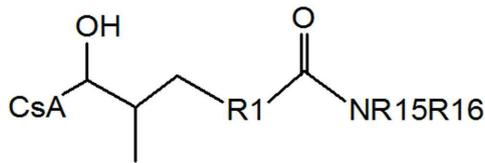
[화학식 XXVIII]



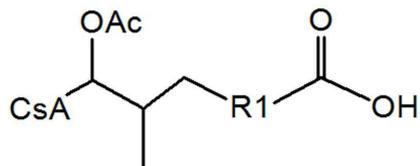
청구항 11

- a. 질소 하 무수 용매에서 화학식 XXV의 화합물을 용해시키는 단계;
- b. 디시클로헥실카보디이미드, 1-히드록시벤조트리아졸 수화물 및 화학식 XXVII의 화합물과 반응시키는 단계; 및
- c. 화학식 XXVIII의 화합물을 염기로 탈아세틸화하는 단계를 포함하는, 화학식 XXIV의 화합물의 제조 방법.

[화학식 XXIV]



[화학식 XXV]



[화학식 XXVII]

R15R16NH

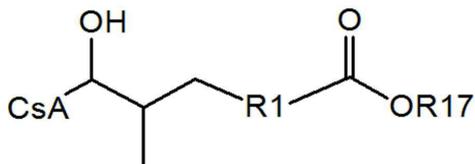
상기 식에서,

- I. R1은 그 길이가 2 내지 15개의 탄소 원자인, 포화 또는 불포화된, 곧은 사슬 또는 분지된 지방족 탄소 사슬 이고;
- II. R15 및 R16은 독립적으로 수소 또는 포화 또는 불포화된, 곧은 사슬 또는 분지된 지방족 그룹이고; 또는 NR15R16은 함께 모르폴리닐 잔기를 형성한다.

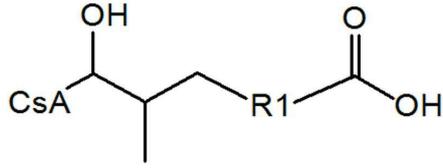
청구항 12

산의 존재에서 화학식 XXX의 화합물을 화학식 XXXI의 화합물과 반응시켜서 화학식 XXXII의 화합물을 제조하는 방법.

[화학식 XXXII]



[화학식 XXX]



[화학식 XXXI]

R17OH

상기 식에서,

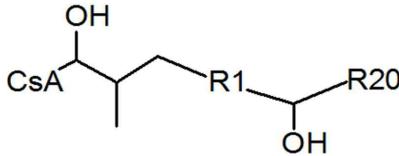
- I. R1은 그 길이가 2 내지 15개의 탄소 원자인, 포화 또는 불포화된, 곧은 사슬 또는 분지된 지방족 탄소 사슬 이고;
- II. R17은 할로겐 또는 히드록실 치환기를 임의로 함유하는, 포화 또는 불포화된, 곧은 사슬 또는 분지된 지방족 그룹이다.

청구항 13

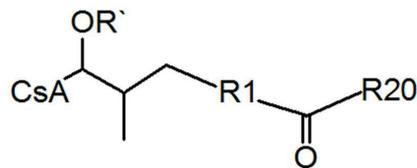
화학식 XXXV의 화합물을 나트륨 보로히드라이드와 반응시키는 단계; 및

R'가 아세틸인 경우, 화학식 XXXV의 화합물을 염기로 탈아세틸화시키는 단계를 포함하는, 화학식 XXVI의 화합물의 제조 방법.

[화학식 XXVI]



[화학식 XXXV]



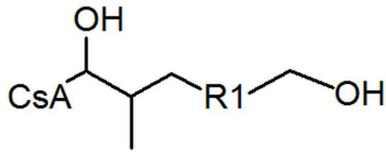
상기 식에서,

- I. R1은 그 길이가 2 내지 15개의 탄소 원자인, 포화 또는 불포화된, 곧은 사슬 또는 분지된 지방족 탄소 사슬 이고;
- II. R20은 포화 또는 불포화된, 곧은 사슬 또는 분지된 지방족 그룹이고;
- III. R'는 임의로 H 또는 아세틸이다.

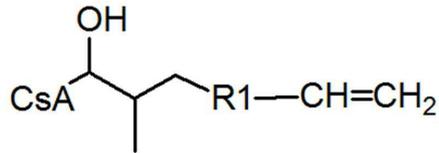
청구항 14

화학식 XXVIII의 화합물을 보란-테트라히드로푸란 및 과산화나트륨과 반응시켜서 화학식 XXIX의 화합물을 제조하는 방법.

[화학식 XXIX]



[화학식 XXVIII]

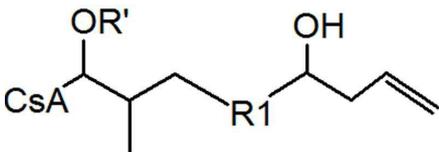


상기 식에서, R1은 그 길이가 2 내지 15개의 탄소 원자인, 포화 또는 불포화된, 곧은 사슬 또는 분지된 지방족 탄소 사슬이다.

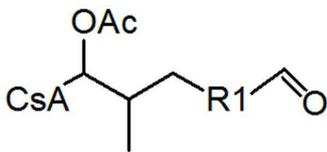
청구항 15

무수 용매에서 화학식 XLI의 화합물을 화학식 XLII의 화합물과 반응시키는 단계; 및
 XLII의 화합물을 염기로 탈아세틸화시키는 단계를 포함하는, 화학식 XLIII의 화합물의 제조 방법.

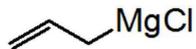
[화학식 XLIII]



[화학식 XLI]



[화학식 XLII]



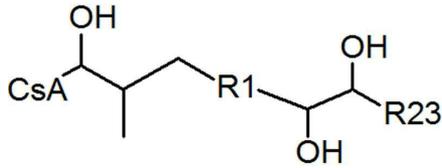
상기 식에서,

- I. R'는 H 또는 아세틸이고;
- II. R1은 그 길이가 2 내지 15개의 탄소 원자인, 포화 또는 불포화된, 곧은 또는 분지된 지방족 사슬이다.

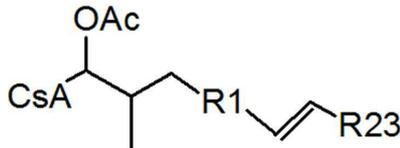
청구항 16

- a. 화학식 XLV의 화합물을 과산화수소 및 포름산과 반응시키는 단계;
- b. 상기 생성물을 염기와 반응시켜 화학식 XLVI의 화합물을 획득하는 단계; 및
- c. 화학식 XLVI의 화합물을 염기로 탈아세틸화하는 단계를 포함하는, 화학식 XLVI의 화합물의 제조 방법.

[화학식 XLVI]



[화학식 XLVII]



상기 식에서,

I. R1은 그 길이가 2 내지 15개의 탄소 원자인, 포화 또는 불포화된, 끝은 사슬 또는 분지된 지방족 탄소 사슬 이고;

II. R23은 포화 또는 불포화된, 끝은 사슬 또는 분지된 지방족 그룹이다.

청구항 17

치료적 유효량의 제1항 내지 제4항 중 어느 하나의 항의 화합물 및 하나 이상의 약제학적 부형제를 포함하는 약 제학적 조성물.

청구항 18

사이클로필린 매개된 질환 또는 손상을 치료하기 위한 조건 하에서 치료적 유효량의 제1항 내지 제4항 중 어느 하나의 항의 화합물을 포유동물에 투여하는 것을 포함하는, 포유동물의 사이클로필린 매개된 질환의 치료 방법.

청구항 19

제18항에 있어서, 상기 질환은 사이클로필린의 과발현에 의해 매개되는 방법.

청구항 20

제19항에 있어서, 상기 질환은 사이클로필린의 선천성 과발현인 방법.

청구항 21

제18항에 있어서, 상기 사이클로필린 매개된 질환은,

- a. 바이러스성 감염;
- b. 염증성 질환;
- c. 암;
- d. 근육 퇴행성 장애;
- e. 신경퇴행성 장애; 및
- f. 세포 칼슘 항상성의 손실과 연관된 손상으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 방법.

청구항 22

제21항에 있어서, 상기 바이러스성 감염은 인간 면역결핍 바이러스, A형 간염, B형 간염, C형 간염, D형 간염, 및 E형 간염으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 바이러스에 의해 야기되는 방법.

청구항 23

제21항에 있어서, 상기 염증성 질환은 천식, 자가면역 질환, 만성 염증, 만성 전립선염, 사구체신염, 과민성 질환, 염증성 장질환, 폐혈증, 혈관 평활근세포 질환, 동맥류, 골반 염증성 질환, 재관류 손상, 류마티스성 관절염, 이식 거부, 및 맥관염으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 방법.

청구항 24

제21항에 있어서, 상기 압은 소세포 및 비(non)소세포 폐암, 방광암, 간세포암, 췌장암 및 유방암으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 방법.

청구항 25

제21항에 있어서, 상기 근육 퇴행성 장애는 심근 재관류 손상, 근이영양증, 및 교원질 VI 근병변(collagen VI myopathies)로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 방법.

청구항 26

제21항에 있어서, 상기 신경퇴행성 장애는 알츠하이머병, 파킨슨병, 헌팅턴병, 다발계 위축증, 다발성 경화증, 뇌성마비, 뇌졸중, 당뇨병성 신경병증, 근위축성 측삭경화증 (루이게릭병), 척추 손상, 및 뇌 손상으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 방법.

청구항 27

제21항에 있어서, 상기 세포 칼슘 항상성의 손실과 연관된 손상은 심근경색, 뇌졸중, 급성 간독성, 담즙정체, 및 이식 장기의 보관/재관류 손상으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 방법.

명세서

기술분야

[0001] 본원은 2008년 7월 30일에 제출된 미국 특허출원 제61/137,522호 및 2008년 7월 31일에 제출된 미국 특허출원 제61/084,999호를 우선권으로 주장하며, 상기 출원은 전체가 참조로써 본 명세서에 통합되어 있다.

[0002] 본 발명은 면역억제 활성이 감소되거나 없으며 사이클로필린 (cyclophilin, CyP)에 결합하는, 사이클로스포린 패밀리에 속하는 분자, 특히 사이클로스포린 A의 신규 유사체에 관한 것이다.

배경기술

[0003] 사이클로스포린 (cyclosporine)은 강력한 면역억제 활성을 갖는 고리형 폴리펩타이드 부류의 멤버이다. 이들 화합물 중 적어도 일부, 예컨대 사이클로스포린 A (CsA)는 톨리포클라디움 인플라툼(*Tolypocladium inflatum*) 종에 의해 이차 대사산물로 생성된다. CsA는 체액성 면역 및 세포매개 면역 반응, 예컨대 동종이식된 거부반응 (allograft rejection), 지연성 과민반응(delayed hypersensitivity), 실험적 알리지성 뇌척수염(experimental allergic encephalomyelitis), 프로인트 보조 관절염(Freund's adjuvant arthritis) 및 이식편대숙주질환 (graft versus host disease)을 억제하는 것으로 입증된 강력한 면역억제제이다. 이는 장기 이식에서 장기 거부반응의 예방; 류마티스 관절염의 치료; 및 건선(psoriasis)의 치료에 사용된다.

[0004] 사이클로스포린 패밀리에 내 수많은 화합물들이 알려져 있음에도 불구하고, CsA가 아마 의학적으로 가장 폭넓게 사용된다. CsA의 면역억제 효과는 T-세포 매개 활성화의 억제와 관련되어 있다. 면역억제는 사이클로스포린이 사이클로필린 (CyP)이라 불리는 모든 세포에 존재하는(ubiquitous) 세포내 단백질에 결합함으로써 이뤄진다. 이 복합체는 결국 효소 칼시뉴린(calcineurin)의 칼슘 및 칼모둘린-의존성 세린-트레오닌 포스포타아제 활성을 억제한다. 칼시뉴린의 억제는 T-세포 활성화 동안 사이토카인 유전자 (*IL-2*, *IFN-g*, *IL-4*, 및 *GM-CSF*)의 유도에 필요한 NFAT_{p/c} 및 NF-κB와 같은 전사 인자의 활성화를 방지한다.

[0005] 사이클로스포린이 최초로 발견된 이후, 자연적으로 발생하는 다양한 사이클로스포린이 분리 및 동정되어 왔다. 또한, 자연적으로 발생하지 않는 많은 사이클로스포린이 부분적 또는 전체 합성 방법에 의해, 그리고 변성된 세포 배양 기법의 적용에 의해 제조되어 왔다. 따라서, 사이클로스포린을 포함하는 부류는 상당히 많으며, 예를 들어 자연적으로 발생하는 사이클로스포린 A 내지 Z; 자연적으로 발생하지 않는 다양한 사이클로스포린 유도체;

디하이드로- 및 이소-사이클로스포린을 포함하는 인공 또는 합성 사이클로스포린; 유도체화된 사이클로스포린 (예를 들어, MeBmt 잔기의 3'-O- 원자가 아크릴화될 수 있으며, 또 다른 치환체가 3-위치의 사르코실(sarcosyl) 잔기에 도입될 수 있음); MeBmt 잔기가 이성체 형태로 존재하는 사이클로스포린 (예컨대, MeBmt 잔기의 6' 및 7' 위치의 맞은편 배열이 트랜스보다는 시스인 사이클로스포린); 및 펩타이드 서열 내 특정 위치에 변이 아미노산이 포함되어 있는 사이클로스포린을 포함한다.

[0006] 1-위치에 변성된 아미노산을 함유하는 사이클로스포린 유사체는 WO 99/18120 및 WO 03/033527에 개시되어 있으며, 이들은 전체가 참조로써 본 명세서에 통합되어 있다. 이들 출원은 "ISA_{TX}247" 또는 "ISA247" 또는 "ISA"로 알려진 사이클로스포린 유도체를 기술하고 있다. 이 유사체는 아미노산-1 잔기에서의 변성을 제외하면 CsA와 구조적으로 동일하다. 출원인들은 주로 트랜스 ISA247로 구성된 혼합물을 포함하여, ISA247의 시스 및 트랜스 이성체의 특정 혼합물이 자연적으로 발생하며 현재 공지된 사이클로스포린에 비해 향상된 면역억제력 및 감소된 독성의 조합을 나타내었다는 것을 앞서 발견하였다.

[0007] 사이클로스포린은 잘 확립된 세 가지 세포 표적인 칼시뉴린, CyP 이소형태 (CyP-A, CyP-B 및 CyP-D를 포함하나, 이에 제한되지는 않음), 및 P-당단백질 (PgP)을 갖는다. 사이클로스포린의 칼시뉴린으로의 결합은 현저한 면역억제를 야기하며, 이식과 자가면역 징후와의 전통적인 연관성의 원인이 된다.

[0008] **사이클로필린 패밀리**

[0009] CyP (효소 번호(EC number) 5.1.2.8)는 펩티딜-프롤릴 시스-트랜스 이소머라아제 활성을 갖는 단백질 그룹에 속하며, 상기 단백질은 통틀어 이뮤노필린(immunophilin)으로 알려져 있고, 또한 FK-506 결합 단백질 및 파블린(parvulin)을 포함한다. CyP는 연구된 모든 생물, 즉 원핵생물과 진핵생물의 모든 세포에서 발견되며 진화를 통해 구조적으로 잘 보존되어 있다. 인간에게는 7개의 주요 CyP, 즉 CyP-A, CyP-B, CyP-C, CyP-D, CyP-E, CyP-40, 및 CyP-NK (최초로 인간 자연살해 세포로부터 동정됨)과 총 16개의 고유 단백질이 존재한다(Galat A. Peptidylprolyl *cis/trans* isomerases (immunophilins): biological diversity - targets - functions. *Curr Top Med Chem* 2003, 3:1315-1347; Waldmeier PC et al. cyclophilin D as a drug target. *Curr Med Chem* 2003, 10:1485-1506).

[0010] 포유동물에서 동정된 CyP 중 최초의 멤버는 CyP-4였다. CyP-4는 18-kDa 세포질 단백질이며 가장 풍부한 CsA 결합 단백질이다. CyP-A는 총 세포질 단백질 중 0.6%를 차지하는 것으로 추정된다 (Mikol V et al. X-ray structure of monmeric cyclophilin A-cycloporin A crystal complex at 2.1 Å resolution. *J. Mol. Biol.* 1993, 234:1119-1130; Galat A et al. Metcalfe SM. Peptidylproline *cis/trans* isomerases. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 1995, 63:67-118).

[0011] **사이클로필린의 세포내 위치**

[0012] CyP는 대부분의 조직의 대부분의 세포내 구획 내에 발견될 수 있으며 독특한 기능을 암호화한다. 포유동물에서, CyP-A 및 CyP-40은 세포질 신호 서열인데 반해, CyP-B 및 CyP-C는 이들을 소포체 단백질 분비 경로에 대한 표적으로 하는 아미노-말단 신호 서열을 갖는다(Galat, 2003; Dornan J et al. Structures of immunophilins and their ligand complexes. *Curr Top Med Chem* 2003, 3:1392-1409). CyP-D는 이를 미토콘드리아로 향하게 하는 신호 서열을 가지며 (Andreeva, 1999; Hamilton GS et al. immunophilins: beyond immunosuppression. *J Med Chem* 1998, 41:5119-5143); CyP-E는 아미노-말단 RNA 결합 도메인을 가지며 핵 내에 위치하며 (Mi H et al. A nuclear RNA-binding cyclophilin in human T cells. *FEBS Lett* 1996, 398:201-205), CyP-40은 TPR를 가지며 세포질 내에 위치한다 (Kieffer LJ et al. cyclophilin-40, a protein with homology to the P59 component of the steroid receptor complex. Cloning of the cDNA and further characterization. *J Biol Chem* 1993, 268:12303-12310). 인간 CyP-NK는 거대한 친수성 및 양전하를 띠는 카르복실 말단을 갖는 가장 큰 CyP로서, 세포질 내에 위치한다 (Anderson SK et al. A cyclophilin-related protein involved in the function of natural killer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993, 90:542-546; Rinfret A et al. The N-terminal cyclophilin-homologous domain of a 150-kilodalton tumor recognition molecule exhibits both peptidylprolyl *cis-trans* isomerase and chaperone activities. *Biochemistry* 1994, 33:1668-1673).

[0013] 사이클로필린의 기능 및 활성화

[0014] CyP는 세포 과정에 관여하는 다기능 단백질이다. CyP는 진화를 거쳐 고도로 보존되었기 때문에, 이는 CyP에 대한 필수적인 역할을 제시한다. 초기에, CyP는 펩티딜-프롤릴 결합의 시스-트랜스 이성체화에 촉매작용을 하는 특정 효소 특성을 갖는 것으로 밝혀졌다 (Galat, 1995; Fisher GA, Halsey J, Hausforff J, et al. A phase I study of paclitaxel (taxol) (T) in combination with SDZ valsopodar, a potent modulator of multidrug resistance (MDR). *Anticancer Drugs*. 1994; 5(Suppl 1): 43). 따라서, CyP는 펩티딜-프롤릴-시스-트랜스 이성머라아제 (PPIase)로 불리며, 이는 새롭게 합성된 단백질의 적절한 접힘(folding)에 있어서 가속화 인자로 작용할 수 있으며, PPIase는 또한 열적 스트레스, 자외선 조사, 세포 환경의 pH의 변화 및 산화제 처리를 포함하는 환경적 스트레스로 인해 손상된 단백질을 복구하는데 관여한다. 이 기능은 분자 샤페론 활성화로 알려져 있다 (Yao Q et al. Roles of Cyclophilins in Cancers and Other Organs Systems. *World J. Surg.* 2005, 29: 276-280).

[0015] 또한, CyP의 PPIase 활성화는 세포내 단백질 수송(trafficking) (Andreeva L et al. Cyclophilins and their possible role in the stress response. *Int J Exp Pathol* 1999, 80:305-315, Caroni P et al. New member of the cyclophilin family associated with the secretory pathway. *J Biol Chem* 1991, 266:10739-42), 미토콘드리아 기능 (Halestrap AP et al. CsA binding to mitochondrial cyclophilin inhibits the permeability transition pore and protects hearts from ischaemia/reperfusion injury. *Mol cell Biochem* 1997, 174:167-72; Connern CP, Halestrap AP. Recruitment of mitochondrial cyclophilin to the mitochondrial inner membrane under conditions of oxidative stress that enhance the opening of a calcium-sensitive non-specific channel. *Biochem J* 1994, 302:321-4), pre-mRNA 가공 (Bourquin JP et al. A serine/arginine-rich nuclear matrix cyclophilin interacts with the C terminal domain of RNA polymerase II. *Nucleic Acids Res* 1997, 25:2055-61), 및 다중단백질 복합체 안정성의 유지 (Andreeva, 1999)에 관여하는 것으로 최근에 밝혀졌다.

[0016] 사이클로스포린은 소수성 포켓(pocket) 내에서의 접촉을 통해 CyP-A에 나노몰의 친화도로 결합하며 (Colgan J et al. cyclophilin A-Deficient Mice Are Resistant to Immunosuppression by Cyclosporine. *The Journal of Immunology* 2005, 174: 6030-6038, Mikol, 1993), PPIase 활성을 억제한다. 하지만, 이 효과는 면역억제에 무관한 것으로 여겨진다. 오히려, CsA 및 CyP-A 간의 복합체가 칼시뉴린에 결합하여 칼시뉴린이 사이토카인 유전자 전사를 조절하는 것을 방지하는 복합 표면을 생성한다 (Friedman J et al. Two cytoplasmic candidates for immunophilin action are revealed by affinity for a new cyclophilin: one in the presence and one in the absence of CsA. *Cell* 1991, 66: 799-806; Liu J et al. Calcineurin is a common target of cyclophilin-CsA and FKBP-FK506 complexes. *Cell* 1991, 66: 807-815).

[0017] 사이클로필린의 상동성

[0018] 상기 패밀리 원형(prototypical) 멤버인 CyP-A는 포유동물 세포에서 고도로 보존된 단백질이다 (Handschumacher RE et al. Cyclophilin: a specific cytosolic binding protein for CsA. *Science* 1984, 226: 544-7). 인간 CyP-A의 서열 상동성 분석은 인간 CyP-A가 인간 CyP-B, CyP-C, 및 CyP-D와 상동성이 매우 높음을 보여준다 (Harding MW, Handschumacher RE, Speicher DW. Isolation and amino acid sequence of cyclophilin. *J Biol Chem* 1986, 261:8547-55). 모든 CyP의 사이클로스포린 결합 포켓은 고도로 보존된 영역인 대략 109개의 아미노산에 의해 형성된다. 공지된 CyP 중에서, CyP-D는 CyP-A와 가장 높은 상동성을 갖는다. 사실, 이 영역에서, CyP-A 및 CyP-D 간의 서열 동일성은 100%이다 (Waldmeier 2003; Kristal BS et al. The Mitochondrial Permeability Transition as a Target for Neuroprotection. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes* 2004, 36(4); 309-312). 그러므로, CyP-A 친화도는 CyP-D 친화도의 가장 좋은 예측변수이며, 반대의 경우도 마찬가지이다 (Hansson MJ et al. The Nonimmunosuppressive Cyclosporine analogues NIM811 and UNIL025 Display Nanomolar Potencies on Permeability Transition in Brain-Derived Mitochondria. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 2004, 36(4): 407-413). 이 관계는 사이클로스포린 유사체를 이용한 실험에 의해 여러 차례 입증되어 왔다 (Hansson, 2004; Ptak Rg et al. Inhibition of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Replication in Human Cells by Debio-025, a Novel Cyclophilin Binding Agent. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2008: 1302-1317; Millay DP et al. Genetic and pharmacologic inhibition of mitochondrial dependent necrosis attenuates muscular dystrophy. *Nature Medicine* 2008, 14(4): 442-447;

Harris R et al. The Discovery of Novel Non-Immunosuppressive Cyclosporine Ethers and Thioethers With Potent HCV Activity. Poster # 1915, *59th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD)*, 2008). CyP 간의 서열 상동성은 모든 CyP가 사이클로스포린 유사체에 대한 잠재적인 표적임을 제시한다. CyP가 관련된 다수의 세포내 과정 때문에, 이는 CyP에 대한 상당한 결합을 보유하는 CsA 유사체가 많은 질환 징후의 치료에 유용할 수 있음을 시사한다.

[0019] 사이클로필린 매개된 질환

[0020] 인간 면역결핍 바이러스(HIV):

[0021] HIV는 레트로바이러스(retrovirus) 패밀리의 렌티바이러스(lentivirus)로서, 특정 바이러스의 감염 및 복제 과정에 CyP가 관여하는 한 가지 예를 제공한다. CyP-A는 수십 년 이상 전에 확립된 항-HIV 화학치료에서 유효한 표적이다 (Rosenwirth BA et al. Cyclophilin A as a novel target in anti-HIV-1 chemotherapy. *Int. Antivir. News* 1995, 3:62-63). CyP-A는 HIV-1 복제 주기 초기에 필수적인 기능을 충족시킨다. CyP-A는 HIV-1 Gag 다단백질(polyprotein)에 특이적으로 결합하는 것으로 밝혀졌다 (Luban JKL et al. Human immunodeficiency virus type 1 Gag protein binds to cyclophilins A and B. *Cell* 1993, 73: 1067-1078). 캡시드 단백질 p24 (CA)의 G89 및 P90 주위의 정의된 아미노산 서열이 CyP-A에 대한 결합 부위로 확인되었다 (Bukovsky AAA et al. Transfer of the HIV-1 cyclophilin-binding site to simian immunodeficiency virus from *Macaca mulatta* can confer both cyclosporine sensitivity and cyclosporine dependence. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1997, 94: 10943-10948; Gamble TRF et al. Crystal structure of human cyclophilin A bound to the amino-terminal domain of HIV-1 capsid. *Cell* 1996, 87: 1285-1294). CA에 대한 CyP-A의 친화도는 조립(assembly) 동안에 CyP-A의 비리온(virion) 입자 내로 유입을 촉진한다 (Thali MA et al. Functional association of cyclophilin A with HIV-1 virions. *Nature* 1994, 372: 363-365). 실험적 증거는 CyP-A-CA 상호작용이 HIV-1 복제에 필수적이며, 이 상호결합의 역제가 인간 세포에서 HIV-1 복제를 손상시킨다는 것을 보여준다 (Hatzioannou TD et al. Cyclophilin interactions with incoming human immunodeficiency virus type 1 capsids with opposing effects on infectivity in human cells. *J. Virol.* 2005, 79: 176-183; Steinkasserer AR et al. Mode of action of SDZ NIM 811, a nonimmunosuppressive CsA analog with activity against human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1): interference with early and late events in HIV-1 replication. *J. Virol* 1995, 69: 814-824). CyP-A가 관련된 바이러스 복제 주기에서의 단계는 바이러스 입자가 침입한 후와 이중가닥의 바이러스 DNA가 세포 게놈 내로 삽입(integration)되기 전의 사건임이 입증되었다 (Braaten DEK et al. Cyclophilin A is required for an early step in the life cycle of human immunodeficiency virus type 1 before the initiation of reverse transcription. *J. Virol* 1996 70: 3551-3560, Mlynar ED et al. The non-immunosuppressive CsA analogue SDZ NIM 811 inhibits cyclophilin A incorporation into virions and virus replication in human immunodeficiency virus type 1-infected primary and growth-arrested T cells. *J. Gen. Virol* 1996, 78: 825-835; Steinkasserer, 1995). CsA의 항-HIV-1 활성은 1988년에 최초로 보고되었다 (Wainberg MA et al. The effect of CsA on infection of susceptible cells by human immunodeficiency virus type 1. *Blood* 1998, 72: 1904-1910). HIV 복제를 억제하기 위한 CsA 및 많은 유도체의 평가는 비면역억제성 CsA 유사체가 면역억제성 유사체와 동등하거나 보다 우수한 항-HIV-1 활성을 가진다는 것을 밝혀내었다 (Bartz SRE et al. Inhibition of human immunodeficiency 바이러스 replication by nonimmunosuppressive analogs of CsA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1995, 92: 5381-5385, Billich AF et al. Mode of action of SDZ NIM 811, a nonimmunosuppressive CsA analog with activity against human immunodeficiency virus (HIV) type 1: interference with HIV protein-cyclophilin A interactions. *J. Virol* 1995, 69: 2451-2461; Ptak, 2008).

[0022] 염증

[0023] 질환에서의 염증은 병의 부위로의 백혈구의 유입(influx)을 수반한다. 백혈구는 세포활성화제(chemoattracting agent)의 패밀리에인 케모카인에 의해 이끌린다. 시험관내 연구는 세포의 CyP-A가 인간 백혈구 및 T 세포에 대한 강력한 세포활성화제임을 보여왔다 (Kamalpreet A et al. Extracellular Cyclophilins Contribute to the Regulation of Inflammatory Responses *Journal of Immunology* 2005; 175: 517-522; Yurchenko VG et al. Active-site residues of cyclophilin A are crucial for its signaling activity via CD147. *J. Biol. Chem.*

2002; 277: 22959-22965; Xu QMC et al. Leukocyte chemotactic activity of cyclophilin. *J. Biol. Chem.* 1992; 267: 11968-11971; Allain FC et al. Interaction with glycosaminoglycans is required for cyclophilin B to trigger integrin-mediated adhesion of peripheral blood T lymphocytes to extracellular matrix. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2002; 99: 2714-2719). 더욱이, CyP-A는 생체내로 주사될 때, 백혈구 유입에 특징이 있는, 급성 염증 반응을 유도할 수 있다 (Sherry BN et al. Identification of cyclophilin as a proinflammatory secretory product of lipopolysaccharide-activated macrophages. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1992; 89: 3511-3515). CyP-A는 세포 내부 도처에 분포하지만, 염증 반응이 진행되는 동안 CyP-A는 살아있는 세포와 사멸한 세포 모두에 의해 세포외 조직으로 방출된다 (Sherry, 1992). 실제로, CyP-A 수치의 상승이 패혈증(sepsis), 류마티스 관절염, 및 혈관 평활근세포 질환을 포함하는, 몇 가지 상이한 염증 질환에 보고되어 왔다 (Jin ZG et al. Cyclophilin A is a secreted growth factor induced by oxidative stress. *Circ. Res.* 2000; 87: 789-796; Teger, 1997; Billich, 1997). 류마티스 관절염의 경우, 류마티스 관절염 환자의 활액(synovial fluid)에서 CyP-A 수치와 호중구(neutrophil) 수 간의 직접적인 상관관계가 보고되었다 (Billich, 1997).

[0024] 암

[0025] CyP-A는 최근에 소세포 및 비소세포 폐암, 방광암, 간세포암, 췌장암 및 유방암을 포함하나 이에 제한되지 않는 많은 암 조직 및 세포주에서 과발현되는 것으로 나타났다 (Li, 2006; Yang H et al. Cyclophilin A is upregulated in small cell lung cancer and activates ERK1/2 signal. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2007; 361: 763-767; Campa, 2003). 외인성 CyP-A가 공급되는 경우, 이는 암세포 성장을 자극하는 반면 (Li, 2006; Yang, 2007), CsA는 성장을 정지시키는 것으로 나타났다 (Campa, 2003). 가장 최근에는, CyP (A 및 B)가 인간 유방암세포를 성장시키는 생화학적 경로에 복잡하게 관련되어 있다는 것과, CyP 녹다운(knockdown) 실험이 암세포 성장, 증식 및 이동을 감소시킨다는 것이 입증되었다 (Fang F et al. The expression of Cyclophilin B is Associated with Malignant Progression and Regulation of Genes Implicated in the Pathogenesis of Breast Cancer. *The American Journal of Pathology* 2009; 174(1): 297-308; Zheng J et al. Prolyl Isomerase Cyclophilin A Regulation of Janus-Activated Kinase 2 and the Progression of Human Breast Cancer. *Cancer Research* 2008; 68 (19): 7769-7778). 매우 흥미롭게도, 유방암 세포로 이종이식된 마우스를 CsA로 치료시 중앙 괴사를 유도하여 전이를 완전히 억제하였다 (Zheng, 2008). 연구자들은 "사이클로스포린 B 작용이 인간 유방암의 발병에 상당한 원인이 될 수 있으며" "사이클로스포린 억제제 인간 유방암 치료에 있어 신규 치료 전략이 될 수 있다"고 결론내리고 있다 (Fang, 2009; Zheng, 2008).

[0026] C형 간염

[0027] C형 간염 바이러스 (HCV)는 전세계적으로 가장 흔한 간질환으로, 세계보건기구(WTO)에 의해 전염병으로 간주되고 있다. HCV는 발견되기에 앞서 수십 년 동안 환자를 감염시킬 수 있기 때문에, 종종 "침묵의" 전염병이라 불린다. 연구들은 전세계적으로 2억 이상의 사람들이 HCV에 감염되어 있고, 총 발병률이 전 세계 인구의 약 3.3% 임을 보여준다. 미국에서만, 거의 4백만 명의 사람들이 HCV에 감염되어 있거나 감염되었으며, 270만명의 사람들이 계속 진행중인 만성 감염이 있다. HCV로 감염된 모든 개인들은 생명을 위협하는 심각한 간 질환으로 발전할 위험성에 있다. 현재 만성 C형 간염을 위한 표준 치료법은 일반적인 항바이러스 제제인 페길화된 인터페론과 리바비린(ribavirin)의 조합이다 (Craxi A et al. Clinical trial results of peginterferons in combination with ribavirin. *Semin Liver Dis* 2003; 23(Suppl 1): 35-46). 상기 치료에 대한 실패 확률은 약 50%이다 (Molino BF. Strategic Research Institute: 3rd annual viral hepatitis in drug discovery and development world summit 2007. *AMRI Technical Reports*; 12(1)).

[0028] 최근에 CyP-B가 C형 간염 바이러스 (HCV) 게놈의 효율적인 복제에 중요하다는 것이 입증되었다 (Watashi K et al. Cyclophilin B Is a Functional Regulator of Hepatitis C Virus RNA Polymerase. *Molecular Cell* 2005, 19: 111-122). 바이러스는 효율적인 게놈 복제를 위해 CyP-B와 같은 숙주 유래 인자에 의존한다. CyP-B는 HCV RNA 폴리머라아제 NS5B와 상호작용하여 그의 RNA 결합 활성을 직접적으로 자극한다. 내인성 CyP-B 발현의 RNA 간섭 (RNAi) 매개 감소 및 CyP-B에 대한 NS5B 결합의 손실 모두가 HCV 복제 수준을 감소시킨다. 따라서, CyP-B는 HCV 복제 기구(machinery)에서 NS5B의 자극 조절제로 기능한다. 바이러스 복제에 대한 이러한 조절 기전은 항바이러스 치료 전략을 위한 표적으로서 CyP-B를 식별한다. 다른 HCV 치료와는 달리, 사이클로스포린 억제제는 HCV

바이러스를 직접적으로 표적으로 하지 않는다. 그러므로, CyP 결합 약물에 대한 내성이 현 HCV 치료약물보다 더 느리게 일어날 것으로 여겨진다 (Manns MP, et al. The way forward in HCV treatment- finding the right path. *Nature Reviews Drug Discovery* 2007; 6: 991-1000). 또한, 숙주-바이러스 상호작용 수준에 간섭함으로써, CyP 억제제는 인터페론 기반의 치료뿐만 아니라 프로테아제와 폴리머라아제 억제제와 같은 HCV 복제 효소를 직접 표적으로 하는 미래의 치료에 상호보완적일 수 있는 항-HCV 치료에 대한 새로운 접근에 길을 열어줄 수 있다 (Flisiak R, Dumont JM, Crabbe R. Cyclophilin inhibitors in hepatitis C viral infection. *Expert Opinion on Investigational Drugs* 2007, 16(9): 1345-1354). HCV 바이러스 복제에 효과적인 새로운 항-HCV 약물의 개발은 적절한 실험실 HCV 모델의 부족으로 지연되었다. 이 장애는 몇 가지 적절한 세포 배양 모델 (Subgenomic HCV Replicon Systems) 및 인간 간세포를 함유하는 마우스 모델 (Goto K, et al. Evaluation of the anti-hepatitis C virus effects of cyclophilin inhibitors, CsA, and NIM811. *Biochem Biophys Res Comm* 2006; 343: 879-884; Mercer DF, et al. Hepatitis C virus replication in mice with chimeric human livers. *Nat Med* 2001; 7: 927-933)에 의해 최근에 극복되었다. 최근에 사이클로스포린은 스크리닝 모델과 소규모 임상 시험에서 항-HCV 활성을 입증한 바 있다 (Watashi K, et al. CsA suppresses replication of hepatitis C virus genome in cultured hepatocytes. *Hepatology* 2003; 38:1282-1288; Inoue K, Yoshida M. Interferon combined with cyclosporine treatment as an effective countermeasure against hepatitis C virus recurrence in liver transplant patients with end-stage hepatitis C virus related disease. *Transplant Proc* 2005; 37:1233-1234).

[0029] 근육 퇴행성 장애

[0030] CyP-D는 모든 세포에서 미토콘드리아 투과성 변이공(mitochondrial permeability transition pore, MTP)의 필수 부분이다. MTP 기공의 기능은 세포 내 칼슘 항상성을 제공하는 것이다. 정상 조건하에서, MTP 기공의 개폐는 가역적이다. 세포 내로의 과도한 칼슘 유입을 수반하는 병적 조건하에서, 이것은 미토콘드리아에게 과부하를 걸어 MTP 기공의 비가역적인 열림을 유도함으로써 세포 사멸을 야기한다. CsA는 올리치 선천성 근육퇴행위축 (Ullrich congenital muscular dystrophy) 및 베틀렘 근병증(Bethlam myopathy)을 갖는 환자에서 미토콘드리아의 기능장애 및 근육 세포사멸을 바로잡는 것으로 보고되었다 [(Merlini L et al. CsA corrects mitochondrial dysfunction and muscle apoptosis in patients with collagen VI myopathies. *PNAS* 2008; 105(13): 5225-5229]. CsA는 분리된 심장 미토콘드리아에서 mMTP 열림을 용량 의존적으로 억제함으로써 세포사멸을 막고 세포에게 회복을 위한 귀중한 시간을 허여하는 것으로 시험관내에서 입증되었다 (Gomez L et al. Inhibition of mitochondrial permeability transition improves functional recovery and reduces mortality following acute myocardial infarction in mice *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007, 293: H1654-H1661). 급성 심근 경색을 나타내는 58명의 환자를 대상으로 한 임상 연구는 재판류 시간에 CsA의 투여가 위약(placebo)에서 관찰된 것보다 더 작은 경색부(infarct)의 원인임을 입증하였다 (Piot C et al. Effect of Cyclosporine on Reperfusion Injury in Acute Myocardial Infarction. *New England Journal of Medicine* 2008; 395(5): 474-481)).

[0031] 만성 신경퇴행성 질환

[0032] CsA는 두부 외상 (head trauma)의 결과로서 급성 뇌허혈 및 뇌손상의 경우에 신경보호제로 작용할 수 있다 (Keep M, et al. Intrathecal cyclosporine prolongs survival of late-stage ALS mice. *Brain Research* 2001; 894: 327-331). CsA로 치료받은 동물은 치료가 없을시 생존율이 단지 10%에 불과한 것에 비해 급격히 80%의 생존율을 나타내었다. 이는 주로 CsA가 미토콘드리아 CyP-D에 결합한 결과인 것으로 추후에 밝혀졌다. 후에 CsA 치료가 남은 수명을 2배 이상 늘렸던 루게릭병(Lou Gerhig's Disease, ALS) 랫트 모델에서 입증된 바와 같이, CsA의 유용성이 만성 신경퇴행까지 확장된다는 것이 후에 밝혀졌다 (US 특허 제5,972,924호). 또한, CyP-D 녹아웃 마우스에서 CyP-D 불활성화가 다발성 경화증의 동물 모델인, 실험적 자가면역 뇌척수염에서 축삭(axon)을 보호하는 것으로 최근에 나타났다 (Forte M et al. Cyclophilin D inactivation protects axons in experimental autoimmune encephalomyelitis, an animal model of multiple sclerosis. *PNAS* 2007; 104(18): 7558-7563). 알츠하이머병 마우스 모델에서, CyP-D 결핍은 학습과 기억 및 기넵스 기능을 상당히 개선시킨다 (Du H et al. Cyclophilin D deficiency attenuates mitochondrial and neuronal perturbation and ameliorates learning and memory in Alzheimer's disease *Nature Medicine* 2008, 14(10): 1097-1105).

또한, CsA는 헌팅턴병 랫트 모델에 효과적이며 (Leventhal L et al. CsA protects striatal neurons in vitro and in vivo from 3-nitropropionic acid toxicity. *Journal of Comparative Neurology* 2000, 425(4): 471-478), 파킨슨병 마우스 모델에서 일부 효과적인 것으로 나타났다 (Matsuura K et al. CsA attenuates degeneration of dopaminergic neurons induced by 6-hydroxydopamine in the mouse brain. *Brain Research* 1996, 733(1): 101-104). 따라서, 미토콘드리아 의존성 괴사는 CyP-D의 억제가 이러한 질환에 대한 새로운 약학 치료전략을 제공할 수 있음을 제시하는 중요한 질환 기전에 해당한다 (Du, 2008).

[0033] 세포 칼슘 이온 (Ca^{2+}) 항상성의 손실로 인한 세포, 조직 및 장기 손상

[0034] Ca^{2+} 는 건강한 미토콘드리아 기능을 포함하는, 세포 수준에서의 수많은 생리학적 과정에 관여한다. 심근경색, 뇌졸중, 급성 간독성, 담즙정체(cholestasis), 및 이식 장기의 보관/재관류 손상과 같은, 특정 병적 조건하에서, 미토콘드리아는 칼슘을 조절하는 능력을 잃어 미토콘드리아 기질 내 과도한 칼슘 축적이 내부 미토콘드리아막에서 커다란 기공이 열리게 한다 (Rasola A. et al. The mitochondrial permeability transition pore and its involvement in cell death and in disease pathogenesis. *Apoptosis* 2007, 12: 815-833). 미토콘드리아 투과성 변이라 불리는 과정인, 기공을 통한 1.5 킬로달톤까지의 이온 및 분자의 비선택적 전도(nonselective conductance)는 미토콘드리아의 팽창 및 세포사멸의 유도를 포함하는 세포 사멸로 귀결되는 다른 사건을 야기한다. 미토콘드리아 투과성 변이공 (MPTP)의 요소 중 하나는 CyP-D이다. CyP-D는 이소머라아제 활성이 MPTP의 열림을 조절하는 이뮤노필린 분자로서, CsA 또는 CsA 유사체에 의한 상기 이소머라아제 활성의 억제가 MPTP의 생성을 억제함으로써 세포 사멸을 방지한다.

[0035] 비면역억제성 사이클로스포린 유사체 사이클로필린 억제제

[0036] 상기 언급된 징후에서의 CsA의 유용한 효과에도 불구하고, 면역억제의 부수적인 효과가 임상 실습에서 CyP 억제제로서의 CsA의 유용성을 제한한다. 현재, 면역억제 활성이 없거나 감소되며 (즉, <10%의 CsA의 면역억제능), CyP에 결합하는 능력을 여전히 보유 (즉, CsA 대비 >10% CyP 결합)하는 것으로 입증된 단지 몇 가지의 CsA 유사체만이 존재한다.

[0037] NIM 811 ($MeIle^4$ -사이클로스포린)

[0038] NIM 811은 아미노산 4가 변성된 진균 톨리포클라디움 니베움(*Tolypocladium niveum*)의 발효 산물로서 면역억제 활성을 나타내진 않지만 (칼시뉴린 결합이 없음으로 인해), CyP-A에 대한 결합 친화도를 보유한다 (Rosenwirth BA et al. Inhibition of human immunodeficiency virus type 1 replication by SDZ NIM 811, a nonimmunosuppressive Cyclosporine Analogue. *Antimicrob Agents Chemother* 1994, 38: 1763-1772).

[0039] DEBIO 025 ($MeAla^3EtVal^4$ -사이클로스포린)

[0040] DEBIO 025는 아미노산 3 및 4에서의 CsA의 이중 화학 변성체로서, 또한 면역억제 활성을 나타내지는 않지만 CyP-A PPIase 활성에 대한 결합 친화도를 보유하고 있다 (Kristal, 2004).

[0041] SCY-635 (디메틸아미노에틸티오 Sar^3 -하이드록시 Leu^4 -사이클로스포린)

[0042] SCY-635는 아미노산 3 및 4에서의 CsA의 이중 화학 변성체이며, 또한 면역억제 활성을 나타내지는 않지만 CyP-A PPIase 활성에 대한 결합 친화도를 보유하고 있다 (PCT 공개 제W02006/039668호).

[0043] 일반적으로, 이들 화합물은 칼시뉴린 결합을 담당하는 CsA의 면 상에 변성을 가지며, 일반적으로 아미노산 3 및 4의 변성을 요한다. 아미노산 3 및 4의 변성은 힘들고 복잡한데, 이 접근법은 전형적으로 사이클로스포린 고리를 열고, 상기 아미노산을 대체 및/또는 변성시킨 다음, 고리를 닫아 변성된 사이클로스포린을 생성하는 것을 포함하기 때문이다.

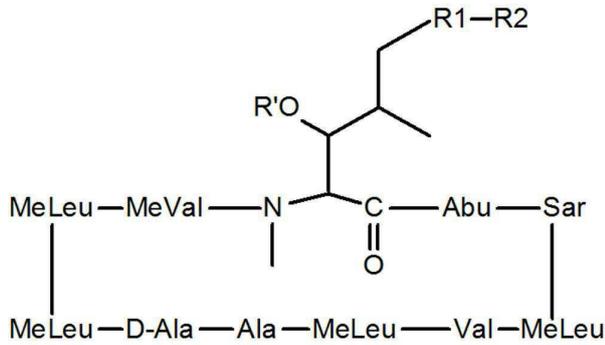
[0044] 반면, 아미노산 1의 결사슬의 변성은 사이클로스포린 고리의 열림을 필요로 하지 않는다. 하지만, 아미노산 1은 CyP 결합과 연관되며(칼시뉴린 결합과는 대조적), CsA의 면역억제 효능을 증가시키기 위해 변성되었다. 예를 들어, 미국 특허 제6,605,593호는 증가된 면역억제능을 갖는 CsA 유사체를 야기하는 아미노산 1의 단일 변성을 개시하고 있다.

[0045] 그러므로, 손쉽게 합성되며 CyP 매개된 질환의 치료에 효과적인 비면역억제성 사이클로스포린 유사체 분자 ("NICAM")를 갖는 것이 바람직할 것이다.

[0046] **발명의 요약**

[0047] 본 발명의 제1 측면은 화학식 I의 화학 구조로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염에 관한 것이다:

[0048] [화학식 I]

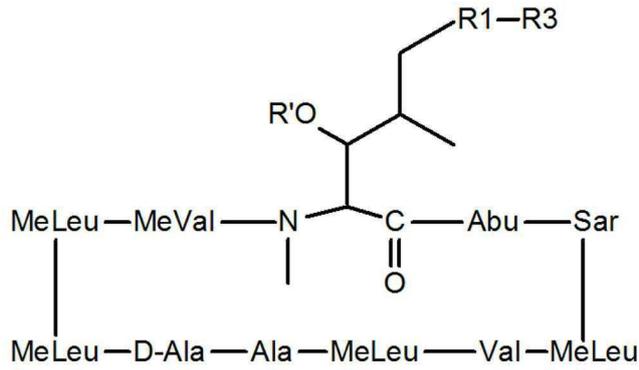


[0049] 상기 식에서,
[0050]

- [0051] a. R'는 H 또는 아세틸이고;
- [0052] b. R1은 그 길이가 2 내지 15개의 탄소 원자인, 포화 또는 불포화된, 끝은 사슬 또는 분지된 지방족 탄소 사슬 이고;
- [0053] c. R2는,
 - [0054] (i) H;
 - [0055] (ii) 비치환, N-치환, 또는 N,N-2치환된 아미드;
 - [0056] (iii) N-치환 또는 비치환된 아실 보호된 아민;
 - [0057] (iv) 카르복실산;
 - [0058] (v) N-치환 또는 비치환된 아민;
 - [0059] (vi) 니트릴;
 - [0060] (vii) 에스테르;
 - [0061] (viii) 케톤;
 - [0062] (ix) 히드록시, 디히드록시, 트리히드록시, 또는 폴리히드록시 알킬; 및
 - [0063] (x) 치환 또는 비치환된 아릴로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0064] 본 발명의 제2 측면은 화학식 II의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염에 관한 것이다:

[0065] [화학식 II]



[0066]

[0067] 상기 식에서,

[0068] a. R'는 H 또는 아세틸이고;

[0069] b. R1은 그 길이가 2 내지 15개의 탄소 원자인, 포화 또는 불포화된, 곧은 사슬 또는 분지된 지방족 탄소 사슬 이고;

[0070] c. R3은,

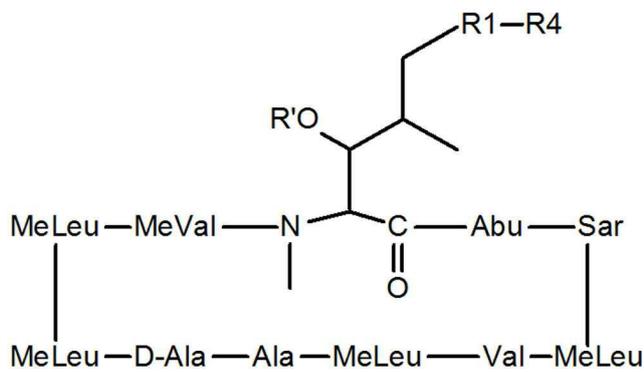
[0071] (i) 수소, 케톤, 히드록실, 니트릴, 카르복실산, 에스테르 및 1,3-디옥솔란으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 치환기를 갖는 포화 또는 불포화된, 곧은 또는 분지된 지방족 사슬;

[0072] (ii) 할라이드, 에스테르 및 니트로로 이루어진 그룹으로부터 선택된 치환기를 함유하는 방향족 그룹; 및

[0073] (iii) (i)의 포화 또는 불포화된, 곧은 또는 분지된 지방족 사슬과 (ii)의 방향족 그룹의 결합으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0074] 본 발명의 제3 측면은 화학식 III의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염에 관한 것이다:

[0075] [화학식 III]



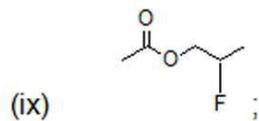
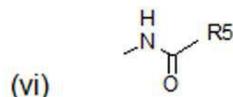
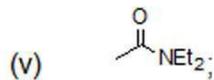
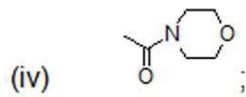
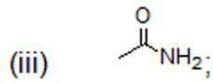
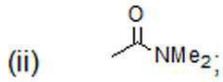
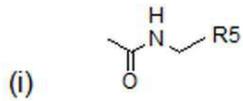
[0076]

[0077] 상기 식에서,

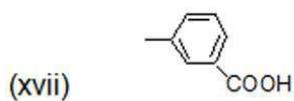
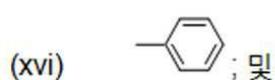
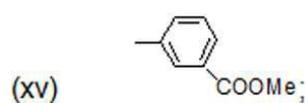
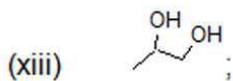
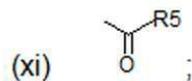
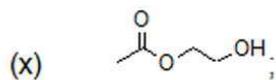
[0078] a. R'는 H 또는 아세틸이고;

[0079] b. R1은 그 길이가 2 내지 15개의 탄소 원자인, 포화 또는 불포화된, 곧은 사슬 또는 분지된 지방족 탄소 사슬 이고;

[0080] c. R4는,



[0081]



[0082]

[0083] 로 이루어진 그룹으로부터 선택되고,

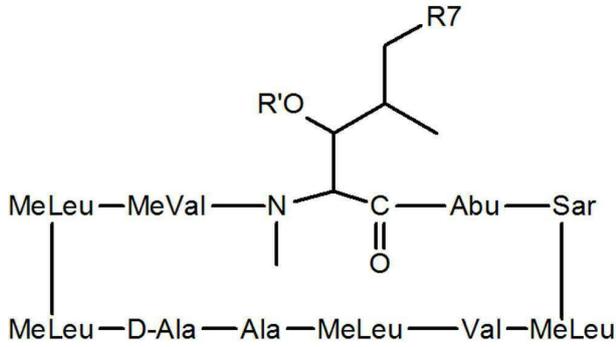
[0084] 상기 식에서,

[0085] 1. R5는 그 길이가 1 내지 10개의 탄소인, 포화 또는 불포화된, 곧은 사슬 또는 분지된 지방족 탄소 사슬이고;

[0086] 2. R6은 그 길이가 1 내지 10개의 탄소인, 모노히드록실화, 디히드록실화, 트리히드록실화 또는 폴리히드록실화된, 포화 또는 불포화된, 끝은 사슬 또는 분지된 지방족 탄소 사슬이다.

[0087] 본 발명의 제4 측면은 화학식 IV의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염에 관한 것이다:

[0088] [화학식 IV]



[0089]

[0090] 상기 식에서,

[0091] I. R'는 H 또는 아세틸이고;

[0092] II. R7은,

i. COOH;

ii. ;

iii. ;

iv. ;

v. ;

vi. ;

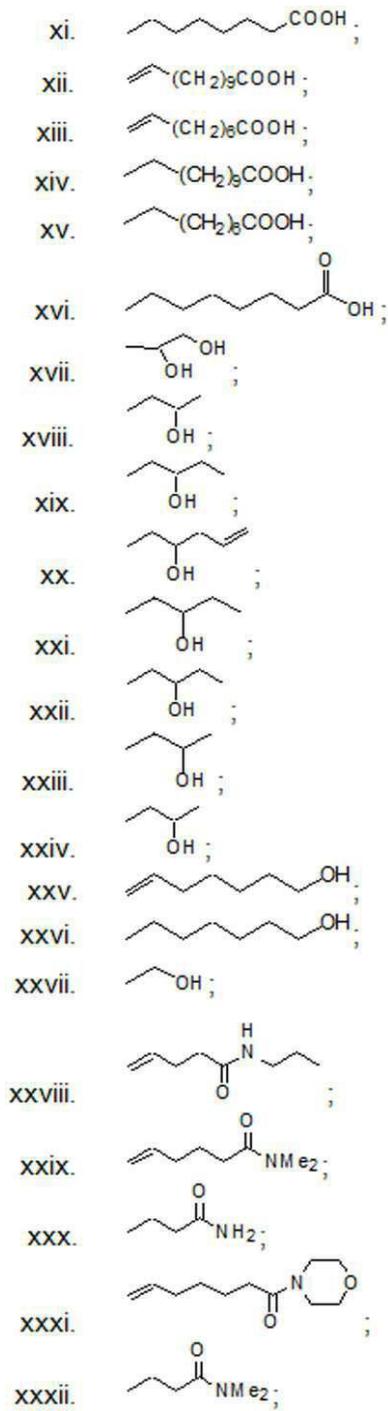
vii. ;

viii. ;

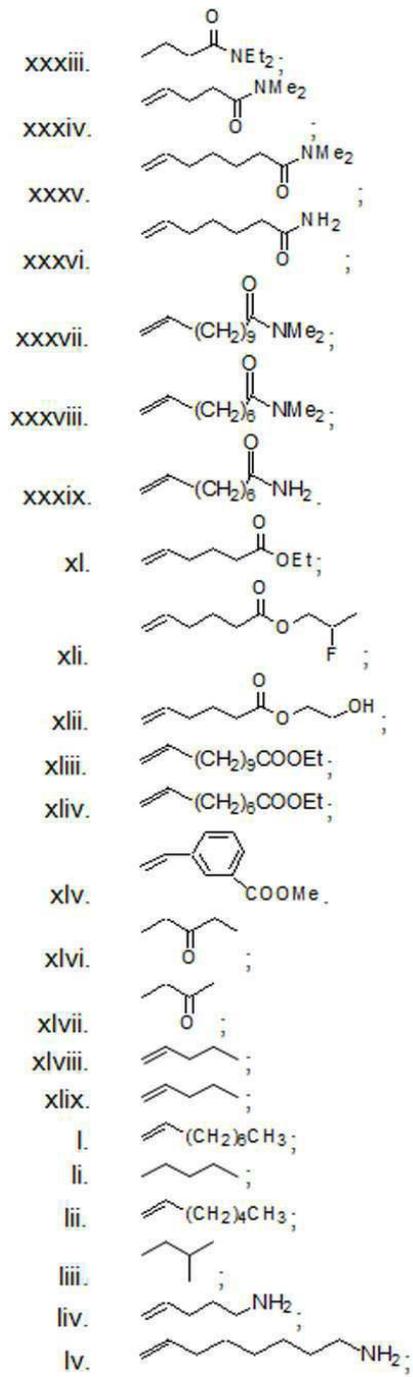
ix. ;

x. ;

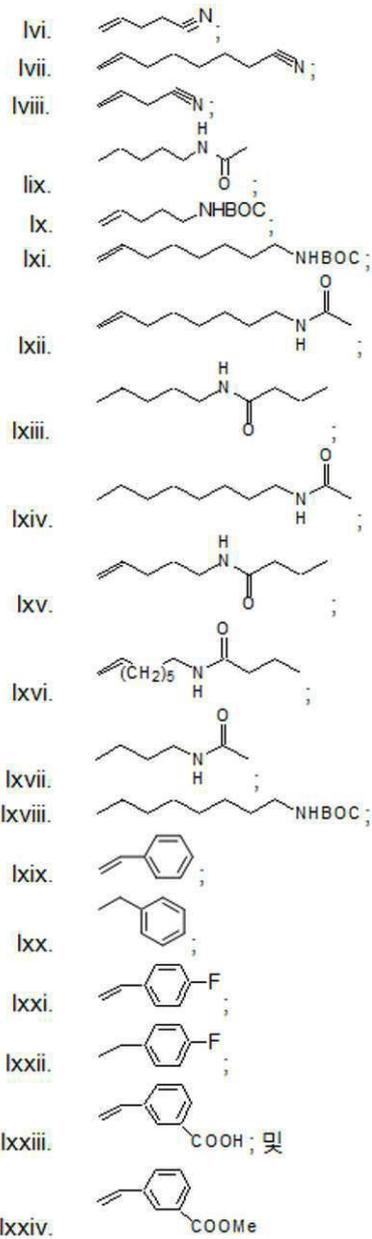
[0093]



[0094]



[0095]



[0096]

[0097]

[0098]

[0099]

[0100]

[0101]

로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

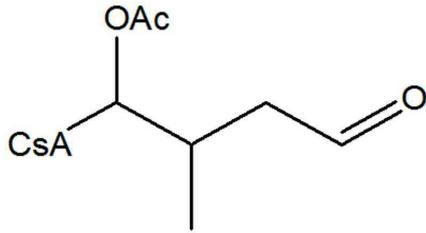
본 발명의 다른 측면에 따라,

a. 화학식 IX의 아미노산 1에서 변성된 아세틸 CsA 알데히드를 염기의 존재에서 화학식 VIII의 포스포늄 염과 반응시켜 화학식 X의 아세틸화 화합물을 생성시키는 단계;

b. 염기를 사용하여 화학식 X의 화합물을 탈아세틸화하는 단계; 및

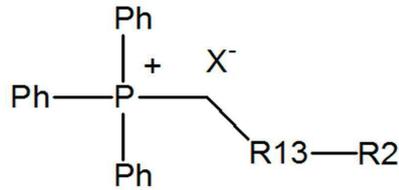
c. R1이 포화된 경우, 상기 화합물을 수소첨가제와 반응시켜 화학식 X의 화합물의 이중결합에 수소첨가하여 화학식 I의 포화된 유사체를 생성시키는 단계를 포함하는, 화학식 I의 화합물의 제조 방법을 제공한다:

[0102] [화학식 IX]



[0103]

[0104] [화학식 VIII]



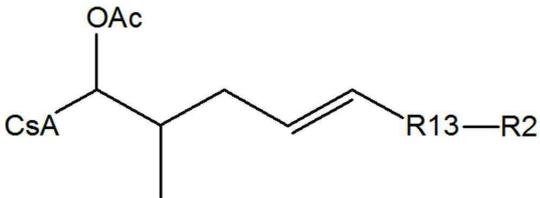
[0105]

[0106] 상기 식에서,

[0107] I. R13은 그 길이가 1 내지 14개의 탄소 원자인, 포화 또는 불포화된, 끝은 사슬 또는 분지된 지방족 탄소 사슬 이고;

[0108] II. R2는 화학식 I에 대해 상기에서 정의된 바와 같고;

[0109] [화학식 X]



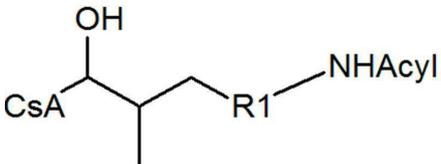
[0110]

[0111] 본 발명의 다른 측면에 따라,

[0112] a. 환원제 및 아실화제의 존재에서 화학식 XV의 화합물을 반응시켜 화학식 XVI의 아세틸화 화합물을 생성시키는 단계: 및

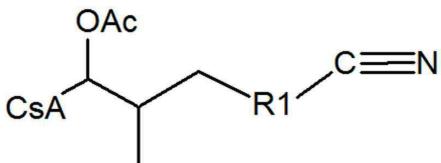
[0113] b. 염기를 사용하여 화학식 XVI의 화합물을 탈아세틸화시키는 단계를 포함하는, 화학식 XIV의 비(non)면역억제 성 화합물의 제조 방법을 제공한다:

[0114] [화학식 XIV]



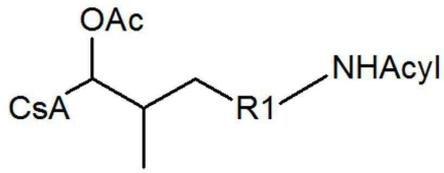
[0115]

[0116] [화학식 XV]



[0117]

[0118] [화학식 XVI]



[0119]

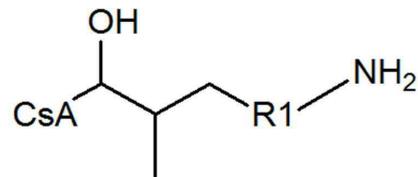
[0120] 상기 식에서, 화학식 XIV, XV 및 XVI의 R1은 그 길이가 2 내지 15개의 탄소 원자인, 포화 또는 불포화된, 곧은 사슬 또는 분지된 지방족 탄소 사슬이다.

[0121] 본 발명의 다른 측면에 따라,

[0122] a. 무수 용매에서 화학식 XX의 화합물을 용해시키는 단계; 및

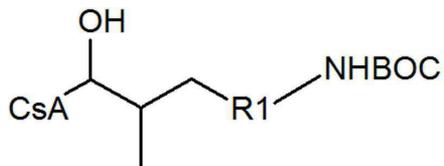
[0123] b. 상기 용액을 트리플루오로아세트산 (TFA)과 반응시키는 단계를 포함하는, 화학식 XXI의 비(non)면역억제성 화합물의 제조 방법을 제공한다:

[0124] [화학식 XXI]



[0125]

[0126] [화학식 XX]



[0127]

[0128] 상기 식에서, 화학식 XX 및 XXI의 R1은 사슬 길이가 2 내지 15개의 탄소인, 포화 또는 불포화된, 곧은 사슬 또는 분지된 지방족 탄소 사슬이다.

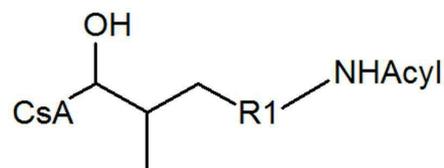
[0129] 본 발명의 다른 측면에 따라,

[0130] a. 무수 피리딘에서 화학식 XXI의 화합물을 용해시키는 단계;

[0131] b. 상기 용액을 아실화제와 반응시키는 단계; 및

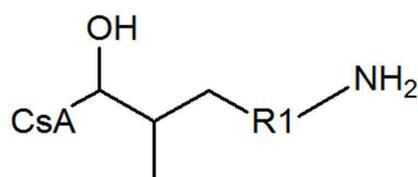
[0132] c. 용매를 제거하여 화학식 XIV의 화합물을 수득하는 단계를 포함하는, 화학식 XIV의 비(non)면역억제성 화합물의 제조 방법을 제공한다:

[0133] [화학식 XIV]



[0134]

[0135] [화학식 XXI]



[0136]

[0137] 상기 식에서, 화학식 XIV 및 XXI의 R1은 그 길이가 2 내지 15개의 탄소 원자인, 포화 또는 불포화된, 끝은 사슬 또는 분지된 지방족 탄소 사슬이다

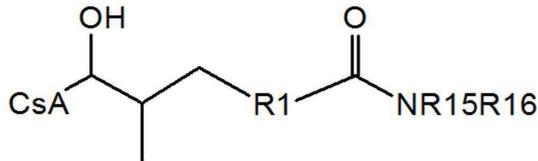
[0138] 본 발명의 다른 측면에 따라,

[0139] a. 화학식 XXV의 화합물을 티오닐클로라이드와 조합시켜 화학식 XXVI의 잔기를 생성시키는 단계;

[0140] b. 상기 잔기를 무수 용매에서 용해시키고 화학식 XXVII의 화합물과 반응시켜 화학식 XXVIII의 화합물을 수득하는 단계; 및

[0141] c. 화학식 XXVIII의 화합물을 염기로 탈아세틸화시키는 단계를 포함하는, 화학식 XXIV의 비(non)면역억제성 화합물의 제조 방법을 제공한다:

[0142] [화학식 XXIV]



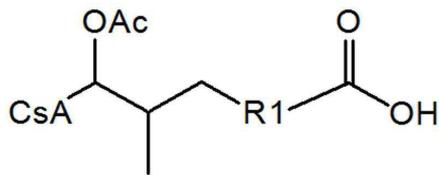
[0143]

[0144] 상기 식에서,

[0145] I. R1은 사슬 길이가 2 내지 15개의 탄소인, 포화 또는 불포화된, 끝은 또는 분지된 지방족 탄소 사슬이고;

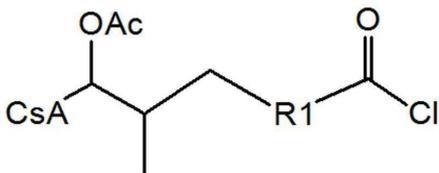
[0146] II. R15 및 R16은 독립적으로 수소 또는 포화 또는 불포화된, 끝은 사슬 또는 분지된 지방족 그룹이고; 또는 NR15R16은 함께 모르폴리닐 잔기를 형성하고;

[0147] [화학식 XXV]



[0148]

[0149] [화학식 XXVI]

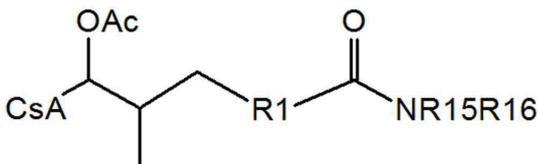


[0150]

[0151] [화학식 XXVII]

[0152] R15R16NH

[0153] [화학식 XXVIII]



[0154]

[0155] 본 발명의 다른 측면에 따라,

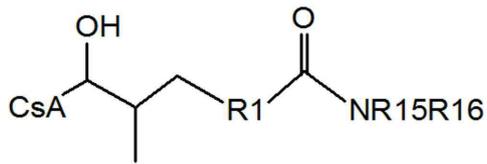
[0156] a. 질소 하 무수 용매에서 화학식 XXV의 화합물을 용해시키는 단계;

[0157] b. 디시클로헥실카보디이미드, 1-히드록시벤조트리아졸 수화물 및 화학식 XXVII의 화합물과 반응시키는 단계; 및

[0158] c. 화학식 XXVIII의 화합물을 염기로 탈아세틸화하는 단계를 포함하는, 화학식 XXIV의 비(non)면역억제성 화합물

의 제조 방법을 제공한다:

[0159] [화학식 XXIV]



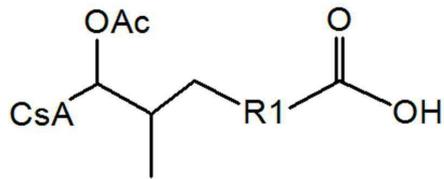
[0160]

[0161] 상기 식에서,

[0162] I. R1은 그 길이가 2 내지 15개의 탄소 원자인, 포화 또는 불포화된, 곧은 사슬 또는 분지된 지방족 탄소 사슬 이고;

[0163] II. R15 및 R16은 독립적으로 수소 또는 포화 또는 불포화된, 곧은 사슬 또는 분지된 지방족 그룹이고; 또는 NR15R16은 함께 모르폴리닐 잔기를 형성하고;

[0164] [화학식 XXV]



[0165]

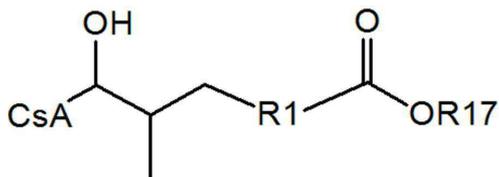
[0166] [화학식 XXVII]

[0167] **R15R16NH**.

[0168] 본 발명의 다른 측면에 따라,

[0169] 산의 존재에서 화학식 XXX의 화합물을 화학식 XXXI의 화합물과 반응시켜서 화학식 XXXII의 비(non)면역억제성 화합물을 제조하는 방법을 제공한다:

[0170] [화학식 XXXII]



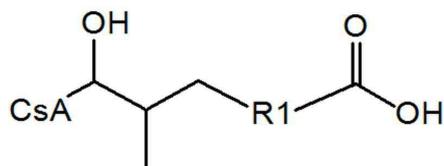
[0171]

[0172] 상기 식에서,

[0173] I. R1은 그 길이가 2 내지 15개의 탄소 원자인, 포화 또는 불포화된, 곧은 사슬 또는 분지된 지방족 탄소 사슬 이고;

[0174] II. R17은 할로겐 또는 히드록실 치환기를 임의로 함유하는, 포화 또는 불포화된, 곧은 사슬 또는 분지된 지방 족 그룹이고;

[0175] [화학식 XXX]



[0176]

[0177] [화학식 XXXI]

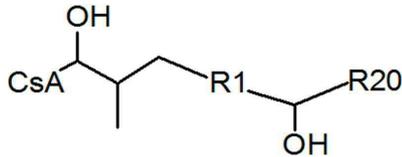
[0178] R17OH .

[0179] 본 발명의 다른 측면에 따라,

[0180] 화학식 XXXV의 화합물을 나트륨 보로히드라이드와 반응시키는 단계; 및

[0181] R'가 아세틸인 경우, 화학식 XXXV의 화합물을 염기로 탈아세틸화시키는 단계를 포함하는, 화학식 XXVI의 비(non)면역억제성 화합물의 제조 방법을 제공한다:

[0182] [화학식 XXVI]



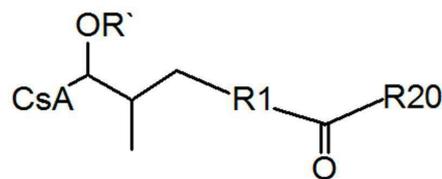
[0183]

[0184] 상기 식에서,

[0185] I. R1은 그 길이가 2 내지 15개의 탄소 원자인, 포화 또는 불포화된, 곧은 사슬 또는 분지된 지방족 탄소 사슬 이고;

[0186] II. R20은 포화 또는 불포화된, 곧은 사슬 또는 분지된 지방족 그룹이고;

[0187] [화학식 XXXV]



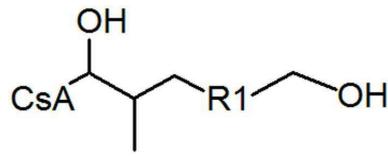
[0188]

[0189] 상기 식에서, R'는 임의로 H 또는 아세틸이다.

[0190] 본 발명의 다른 측면에 따라,

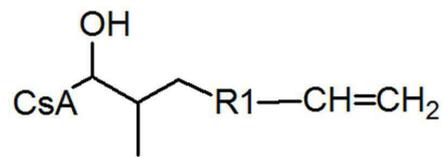
[0191] 화학식 XXVIII의 화합물을 보란-테트라히드로푸란 및 과산화나트륨과 반응시켜서 화학식 XXIX의 비(non)면역억제 성 화합물을 제조하는 방법을 제공한다:

[0192] [화학식 XXIX]



[0193]

[0194] [화학식 XXVIII]



[0195]

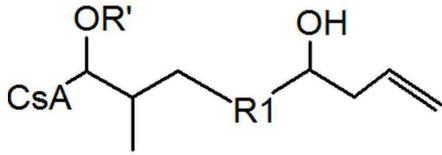
[0196] 상기 식에서, R1은 그 길이가 2 내지 15개의 탄소 원자인, 포화 또는 불포화된, 곧은 사슬 또는 분지된 지방족 탄소 사슬이다.

[0197] 본 발명의 다른 측면에 따라,

[0198] 무수 용매에서 화학식 XLI의 화합물을 화학식 XLII의 화합물과 반응시키는 단계; 및

[0199] XLII의 화합물을 염기로 탈아세틸화시키는 단계를 포함하는, 화학식 XLIII의 비(non)면역억제성 화합물의 제조 방법을 제공한다:

[0200] [화학식 XLIII]



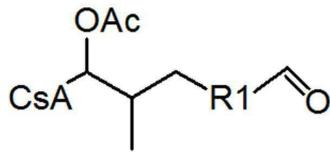
[0201]

[0202] 상기 식에서,

[0203] I. R'는 H 또는 아세틸이고;

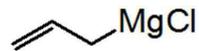
[0204] II. R1은 그 길이가 2 내지 15개의 탄소 원자인, 포화 또는 불포화된, 곧은 또는 분지된 지방족 사슬이고;

[0205] [화학식 XLI]



[0206]

[0207] [화학식 XLII]



[0208]

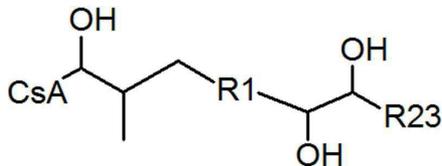
[0209] 본 발명의 다른 측면에 따라,

[0210] a. 화학식 XLV의 화합물을 과산화수소 및 포름산과 반응시키는 단계;

[0211] b. 상기 생성물을 염기와 반응시켜 화학식 XLVI의 화합물을 수득하는 단계; 및

[0212] c. 화학식 XLVI의 화합물을 염기로 탈아세틸화하는 단계를 포함하는, 화학식 XLVI의 비(non)면역억제성 화합물의 제조 방법을 제공한다;

[0213] [화학식 XLVI]



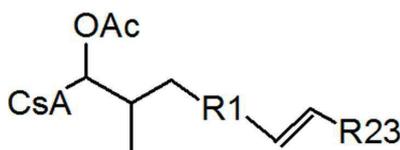
[0214]

[0215] 상기 식에서,

[0216] I. R1은 그 길이가 2 내지 15개의 탄소 원자인, 포화 또는 불포화된, 곧은 사슬 또는 분지된 지방족 탄소 사슬 이고;

[0217] II. R23은 포화 또는 불포화된, 곧은 사슬 또는 분지된 지방족 그룹이고;

[0218] [화학식 XLV]



[0219]

[0220] 본 발명은 비(non)면역억제 시클로스포린 유사체를 개시한다. 그와 같은 화합물은 CyP에 결합하고, CyP 매개된 질환을 치료하는데 잠재적으로 유용하다.

[0221] 일반적으로, 화학식 I 내지 XLVI에 대해:

- [0222] "카르복실산"은, 카르복실산 잔기가 하기 치환기들 중의 하나에 연결되는 그룹을 포함한다:
- [0223] 1. 치환될 수 있는 알킬 (예를 들어, 2 내지 15개의 탄소의 알킬);
- [0224] 2. 치환될 수 있는 알케닐 (예를 들어, 2 내지 15개의 탄소의 알케닐); 및
- [0225] 3. 치환될 수 있는 알킬닐 (예를 들어, 2 내지 15개의 탄소의 알킬닐).
- [0226] 상기의 치환기는 할로젠 (예를 들어, 불소, 염소, 브롬, 요오드 등), 니트로, 시아노, 히드록시, 치환될 수 있는 티올 (예를 들어, 티올, C1-4 알킬티오 등), 치환될 수 있는 아미노 (예를 들어, 아미노, 모노-C1-4 알킬아미노, 디-C1-4 알킬아미노, 5- 내지 6-원 시클릭 아미노, 예컨대 테트라히드로피롤, 피페라진, 피페리딘, 모르폴린, 티오모르폴린, 피롤, 이미다졸 등), 할로겐화될 수 있는 C1-4 알콕시 (예를 들어, 메톡시, 에톡시, 프로폭시, 부톡시, 트리플루오로메톡시, 트리플루오로에톡시 등), C1-4 알콕시-할로겐화될 수 있는 C1-4 알콕시 (예를 들어, 메톡시메톡시, 메톡시에톡시, 에톡시에톡시, 트리플루오로메톡시에톡시, 트리플루오로에톡시에톡시 등), 포르밀, C2-4 알카노일 (예를 들어, 아세틸, 프로피오닐 등), C1-4 알킬설포닐 (예를 들어, 메탄설포닐, 에탄설포닐 등) 등을 포함할 수 있고, 치환기의 수는 바람직하게는 1 내지 3이다.
- [0227] 또한, 상기 "치환될 수 있는 아미노"의 치환기는 서로 결합하여 시클릭 아미노 그룹 (예를 들어, 5- 내지 6-원 고리의 질소원자를 구성하는 고리로부터 수소 원자를 제거하여 형성된 그룹, 예컨대 테트라히드로피롤, 피페라진, 피페리딘, 모르폴린, 티오모르폴린, 피롤, 이미다졸 등, 이로써 치환기는 질소 원자 등에 부착될 수 있다) 을 형성할 수 있다. 시클릭 아미노 그룹은 치환될 수 있고, 치환기의 예는 하기를 포함한다: 할로젠 (예를 들어, 불소, 염소, 브롬, 요오드 등), 니트로, 시아노, 히드록시, 치환될 수 있는 티올 (예를 들어, 티올, C1-4 알킬티오 등), 치환될 수 있는 아미노 (예를 들어, 아미노, 모노-C.sub.1-4 알킬아미노, 디-C1-4 알킬아미노, 5- 내지 6-원 시클릭 아미노, 예컨대 테트라히드로피롤, 피페라진, 피페리딘, 모르폴린, 티오모르폴린, 피롤, 이미다졸 등), 에스테르화 또는 아미드화될 수 있는 카르복실 (예를 들어, 카르복실, C1-4 알콕시-카르보닐, 카르바모일, 모노-C1-4 알킬-카르바모일, 디-C1-4 알킬-카르바모일 등), 할로겐화될 수 있는 C1-4 알콕시 (예를 들어, 메톡시, 에톡시, 프로폭시, 부톡시, 트리플루오로메톡시, 트리플루오로에톡시 등), 할로겐화될 수 있는 C1-4 알콕시-C.sub.1-4 알콕시 (예를 들어, 메톡시메톡시, 메톡시에톡시, 에톡시에톡시, 트리플루오로메톡시에톡시, 트리플루오로에톡시에톡시 등), 포르밀, C2-4 알카노일 (예를 들어, 아세틸, 프로피오닐 등), C1-4 알킬설포닐 (예를 들어, 메탄설포닐, 에탄설포닐) 등. 치환기의 수는 바람직하게는 1 내지 3이다.
- [0228] "아민"은 그룹을 포함하고, 이 그룹은 비치환될 수 있거나, 그 그룹에서 아민 잔기는 하기:
- [0229] 1. 치환될 수 있는 알킬 (예를 들어, 2 내지 15개의 탄소의 알킬);
- [0230] 2. 치환될 수 있는 알케닐 (예를 들어, 2 내지 15개의 탄소의 알케닐);
- [0231] 3. 치환될 수 있는 알킬닐 (예를 들어, 2 내지 15개의 탄소의 알킬닐);
- [0232] 4. 치환될 수 있는 포르밀 또는 아실 (예를 들어, 2 내지 4개의 탄소의 알카노일 (예를 들어, 아세틸, 프로피오닐, 부티릴, 이소부티릴 등), 1 내지 4개의 탄소의 알킬설포닐 (예를 들어, 메탄설포닐, 에탄설포닐 등) 등);
- [0233] 5. 치환될 수 있는 아릴 (예를 들어, 페닐, 나프틸 등) 등으로부터 독립적으로 선택된 하나 또는 2개의 치환기를 갖는 N-치환 또는 N,N-2치환된 그룹이고, 상기 "카르복실산"에 대해 정의된 바와 같은 치환기로부터 독립적으로 선택된 치환기에 연결된다.
- [0234] "아미드"는 화합물을 포함하고, 이 화합물에서, 아미드 잔기의 카르복실 그룹은 상기 "카르복실산"에 대해 정의된 바와 같은 치환기로부터 독립적으로 선택된 치환기에 연결되고, 아미드 잔기의 아미노 그룹은 하기로부터 독립적으로 선택될 수 있는 하나 또는 2개의 치환기를 각각 갖는 N-치환 또는 N,N-2치환된다:
- [0235] 1. 치환될 수 있는 알킬 (예를 들어, 2 내지 15개의 탄소의 알킬);
- [0236] 2. 치환될 수 있는 알케닐 (예를 들어, 2 내지 15개의 탄소의 알케닐);
- [0237] 3. 치환될 수 있는 알킬닐 (예를 들어, 2 내지 15개의 탄소의 알킬닐);
- [0238] 4. 치환될 수 있는 포르밀 또는 아실 (예를 들어, 2 내지 4개의 탄소의 알카노일 (예를 들어, 아세틸, 프로피오닐, 부티릴, 이소부티릴 등), 1 내지 4개의 탄소의 알킬설포닐 (예를 들어, 메탄설포닐, 에탄설포닐 등) 등);
- [0239] 5. 치환될 수 있는 아릴 (예를 들어, 페닐, 나프틸 등) 등.

- [0240] "아릴"은 모노시클릭 또는 융합 폴리시클릭 방향족 탄화수소 그룹에 의해 예시될 수 있고, 예를 들어, C6-14 아릴 그룹, 예컨대 페닐, 나프틸, 안트릴, 펜안트릴 또는 아세나트릴레닐 등이 바람직하고, 페닐이 바람직하다. 상기 아릴은 하기와 같은 하나 이상의 치환기로 치환될 수 있다: 저급 알콕시 (예, C1-6 알콕시, 예컨대 메톡시, 에톡시 또는 프로폭시 등), 할로겐 원자 (예, 불소, 염소, 브롬, 요오드 등), 저급 알킬 (예, C1-6 알킬, 예컨대 메틸, 에틸 또는 프로필 등), 저급 알케닐 (예, C2-6 알케닐, 예컨대 비닐 또는 알릴 등), 저급 알키닐 (예, C2-6 알키닐, 예컨대 에티닐 또는 프로파르길 등), 치환될 수 있는 아미노, 치환될 수 있는 히드록실, 시아노, 치환될 수 있는 아미디노, 카르복실, 저급 알콕시카르보닐 (예, C1-6 알콕시카르보닐, 예컨대 메톡시카르보닐 또는 에톡시카르보닐 등), 치환될 수 있는 카르바모일 (예, 5- 내지 6-원 방향족 모노시클릭 헤테로시클릭 그룹 (예, 피리디닐 등)으로 치환될 수 있는 C1-6 알킬 또는 아실로 치환될 수 있는 카르바모일 (예, 포르밀, C2-6 알카노일, 벤조일, 할로젠화될 수 있는 C1-6 알콕시카르보닐, 할로젠화될 수 있는 C1-6 알킬 설포닐, 벤젠설포닐 등), 1-아제티디닐카르보닐, 1-피롤리디닐카르보닐, 피페리디노카르보닐, 모르폴리노카르보닐, 티오모르폴리노카르보닐 (황 원자는 산화될 수 있다), 1-피페라지닐카르보닐 등) 등. 이들 치환기의 어떤 것은 1 내지 3개의 치환가능 위치에서 독립적으로 치환될 수 있다.
- [0241] "케톤"은, 케톤 잔기의 카르보닐 그룹이 상기 "카르복실산"에 대해 상기에서 정의된 바와 같은 치환기로부터 독립적으로 선택된 하나 또는 2개의 치환기에 연결되는 화합물을 포함한다.
- [0242] "에스테르"는 카르복실 또는 알콜 에스테르를 포함하고, 여기서 상기 에스테르 그룹은 "카르복실산" 또는 "아릴"에 대해 정의된 바와 같은 치환기로부터 독립적으로 선택된 하나 또는 2개의 치환기로 이루어진다.
- [0243] "알킬"은, 달리 정의되지 않으면, 바람직하게는 그 길이가 1 내지 15개의 탄소 단위의 알킬이다.
- [0244] "방향족 그룹"은 상기에서 정의된 아릴, 또는 5- 내지 6-원 방향족 모노시클릭 헤테로시클릭 그룹, 예컨대 푸릴, 티에닐, 피롤릴, 옥사졸릴, 이속사졸릴, 티아졸릴, 이소티아졸릴, 이미다졸릴, 피라졸릴, 1,2,3-옥사디아졸릴, 1,2,4-옥사디아졸릴, 1,3,4-옥사디아졸릴, 푸라자닐, 1,2,3-티아디아졸릴, 1,2,4-티아디아졸릴, 1,3,4-티아디아졸릴, 1,2,3-트리아졸릴, 1,2,4-트리아졸릴, 테트라졸릴, 피리딜, 피리다지닐, 피리미디닐, 피라지닐, 트리아지닐 등; 및 8- 내지 16-원 (바람직하게는, 10- 내지 12-원) 방향족 융합 헤테로시클릭 그룹에 의해 예시될 수 있다.
- [0245] "비(non)면역억제"란, 세포 배양에서 인간 림프구의 증식을 억제하는 화합물 능력에 의해 측정된 바와 같이, 바람직하게는 하기 실시예 19에 기재된 방법으로 측정된 바와 같이, CsA와 비교해서 면역계의 억제의 실질적으로 감소된 수준을 나타내는 화합물의 능력을 의미한다.
- [0246] "유사체"란, 하나 이상의 관능 그룹에서 CsA와 상이한 CsA의 구조적 유사체를 의미한다. 바람직하게는, 그와 같은 유사체는 CyP를 결합하기 위한 CsA의 능력의 적어도 실질적 부분을 보존한다.
- [0247] 화학식 I의 바람직한 종류는, R'는 H이고, R1은 길이가 2 내지 15개의 탄소인, 포화 또는 불포화된 알킬이고, R2는 하기로부터 선택되는 것이다:
- [0248] 1. 카르복실 그룹을 포함하는 카르복실산;
- [0249] 2. N,N-2치환된 아미드의 N-치환, 여기서 치환기는 H, 길이가 1 내지 7개의 탄소인 알킬로부터 독립적으로 선택되고, 또는 상기 치환기는 헤테로사이클이 O, N 또는 S로부터 선택된 헤테로시클릭 고리를 형성한다;
- [0250] 3. 길이가 1 내지 7개인 탄소의 에스테르;
- [0251] 4. 길이가 1 내지 7개의 탄소인 모노히드록실화, 또는 디히드록실화 알킬;
- [0252] 5. 길이가 1 내지 7개의 탄소인 N-치환 또는 비치환된 아실 보호된 아민;
- [0253] 6. 니트릴;
- [0254] 7. 케톤, 여기서 케톤의 카르복실 그룹은 R1, 및 길이가 1 내지 7개의 탄소인, 포화 또는 불포화된 알킬 사슬에 연결된다;
- [0255] 8. 질소 디옥사이드, 불소, 아민, 에스테르 또는 카르복실 그룹으로부터 독립적으로 선택된 하나 이상의 치환기로 임의 치환된 페닐.
- [0256] 본 발명의 화합물은 광학 활성 화합물의 형태로 존재할 수 있다. 본 발명은 개별적으로 및 라세미체의 혼합물 모두로, 상기 화학식의 범위 내의 광학 활성 화합물의 모든 거울상이성질체를 고려한다. 또한, 본 발명은 본 명

세서에 기재된 화합물의 프로드럭(prodrug)을 포함한다.

- [0257] 다른 측면에 따라, 본 발명의 화합물은 포유동물, 바람직하게는 인간의 사이클로필린 매개된 질환을 치료 또는 예방 또는 연구하기 위해 유용할 수 있다. 그와 같은 질환은 통상 사이클로필린의 과발현, 예컨대 사이클로필린의 선천성 과발현에 의해 매개된다.
- [0258] 본 발명의 화합물에 의해 치료될 수 있는 사이클로필린 매개된 질환은 하기를 포함한다:
- [0259] a. 바이러스성 감염;
- [0260] b. 염증성 질환;
- [0261] c. 암;
- [0262] d. 근육 퇴행성 장애;
- [0263] e. 신경퇴행성 장애; 및
- [0264] f. 세포 칼슘 항상성의 손실과 연관된 손상.
- [0265] 상기 바이러스성 감염은 인간 면역결핍 바이러스, A형 간염, B형 간염, C형 간염, D형 간염, 및 E형 간염으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 바이러스에 의해 야기될 수 있다. 상기 염증성 질환은 천식, 자가면역 질환, 만성 염증, 만성 전립선염, 사구체신염, 과민성 질환, 염증성 장질환, 패혈증, 혈관 평활근세포 질환, 동맥류, 골반 염증성 질환, 재관류 손상, 류마티스성 관절염, 이식 거부, 및 맥관염으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 상기 암은 소세포 및 비(non)소세포 폐암, 방광암, 간세포암, 췌장암 및 유방암으로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다. 상기 근육 퇴행성 장애는 심근 재관류 손상, 근이영양증, 및 교원질 VI 근병변으로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다. 상기 신경퇴행성 장애는 알츠하이머병, 파킨슨병, 헌팅턴병, 다발계 위축증, 다발성 경화증, 뇌성마비, 뇌졸중, 당뇨병성 신경병증, 근위축성 측삭경화증 (루이게릭병), 척추 손상, 및 뇌 손상으로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다. 상기 세포 칼슘 항상성의 손실과 연관된 손상은 심근경색, 뇌졸중, 급성 간독성, 담즙정체, 및 이식 장기의 보관/재관류 손상으로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0266] 본 발명의 이들 및 다른 이점은 하기의 상세한 설명을 읽고 하기인 도면을 참조하여 분명해질 것이다:
 도 1은 CsA의 존재 또는 부재에서 칼슘 클로라이드의 첨가 다음의 미토콘드리아 흡수에 의해 측정되는 바와 같이 CyP-D의 억제를 묘사하는 라인 그래프(line graph)이다.

발명의 상세한 설명

본 발명의 화합물은 순수하게 또는 약제학적 담체와 함께 필요한 항은 동물에 투여될 수 있다. 약제학적 담체는 고형 또는 액형일 수 있다. 본 발명의 혼합물은 종래의 비(non)독성 약제학적으로 허용가능한 담체, 보조약 및 비이클(vehicle)을 함유하는 투약 단위 제형으로 흡입 분무 또는 직장으로, 경구, 국소, 비경구로 투여될 수 있다. 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 비경구는, 피하 주사, 정맥내, 근육내, 흉골내 주사 또는 주입 기술을 포함한다.

본 발명의 혼합물을 함유하는 약제학적 조성물은 바람직하게는 예를 들어, 정제, 트로키(troche), (마름모꼴) 알약, 수성 또는 오일성 서스펜션, 분산성 분말 또는 과립, 에멀전, 경질 또는 연질 캡슐, 또는 시럽 또는 엘릭시르(elixir)로서 경구 사용에 적합한 형태일 수 있다. 경구 사용을 위한 조성물은 약제학적 조성물의 제조를 위한 본 기술분야에 공지된 방법에 따라 제조될 수 있고, 그와 같은 조성물은 약제학적으로 고상한 맛 좋은 제제를 제공하기 위해 감미제, 풍미제, 착색제 및 보존제로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 제제를 함유할 수 있다. 비(non)독성 약제학적으로 허용가능한 부형제와 혼합하여 활성 성분을 함유하는 정제는 또한 공지된 방법으로 제조될 수 있다. 사용된 부형제는 예를 들어 하기일 수 있다: (1) 불활성 희석제, 예컨대 칼슘 카보네이트, 락토오스, 칼슘 포스페이트 또는 나트륨 포스페이트; (2) 과립화제 및 봉해제, 예컨대 옥수수 전분, 또는 알긴산; (3) 결합제, 예컨대 전분, 젤라틴 또는 아카시아, 및 (4) 광택제, 예컨대 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산 또는 탈크(talc). 정제는 코팅되지 않을 수 있고, 또는 위장관에서 봉해 및 흡수를 지연시키기 위해 공지된 기술에 의해 코팅될 수 있고, 이로써 장기간 서방 작용을 제공한다. 예를 들어, 시간 지연 물질, 예컨대 글리세릴 모노스테아레이트 또는 글리세릴 디스테아레이트가 사용될 수 있다. 제어된 방출을 위한 삼투성 치료

정제를 형성하기 위해 U.S. 특허 번호 4,256,108; 4,160,452; 및 4,265,874에 기재된 기술에 의해 또한 코팅될 수 있다.

일부 경우에, 경구 사용을 위한 제형은 경질 젤라틴 캡슐의 형태일 수 있고, 여기서, 활성 성분은 불활성 고품 회석제, 예를 들어, 칼슘 카보네이트, 칼슘 포스페이트 또는 카올린과 혼합된다. 상기 성분은 또한 연질 젤라틴 캡슐의 형태일 수 있고, 여기서, 활성 성분은 물 또는 오일 매질, 예를 들어 땅콩 오일, 액체 파라핀, 또는 올리브 오일과 혼합된다.

수성 서스펜션은 보통은 수성 서스펜션의 제조에 적합한 부형제와 혼합하여 활성 물질을 함유한다. 그와 같은 부형제는 하기를 포함할 수 있다: (1) 현탁화제, 예컨대 나트륨 카르복시메틸셀룰로오스, 메틸셀룰로오스, 히드록시프로필메틸셀룰로오스, 나트륨 알기네이트, 폴리비닐피롤리돈, 검(gum) 트라가칸스 및 검(gum) 아카시아; 또는 (2) 자연적 발생인 인지질, 예컨대 레시틴, 지방산에 의한 알킬렌 옥시드의 축합 생성물, 예를 들어, 폴리옥시에틸렌 스테아레이트, 긴 사슬 지방족 알코올에 의한 에틸렌 옥시드의 축합 생성물, 예를 들어, 헵타데카에틸렌옥시세타놀, 지방산 및 헥시톨로부터 유도된 부분 에스테르에 의한 에틸렌 옥시드의 축합 생성물, 예컨대 폴리옥시에틸렌 소르비톨 모노올레에이트, 또는 지방산 및 헥시톨 무수물로부터 유도된 부분 에스테르에 의한 에틸렌 옥시드의 축합 생성물, 예를 들어 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레에이트일 수 있는 분산제 또는 습윤제.

수성 서스펜션은 또한 하나 이상의 보존제, 예를 들어, 에틸 또는 n-프로필 p-히드록시벤조에이트; 하나 이상의 착색제; 하나 이상의 풍미제; 및 하나 이상의 감미제, 예컨대 수크로스, 아스파탐 또는 사카린을 함유할 수 있다.

오일성 서스펜션은 식물성 오일, 예를 들어 아라키스(arachis) 오일, 올리브 오일, 참깨 오일 또는 코코넛 오일, 오메가 3 지방산을 함유하는 물고기(fish) 오일, 또는 미네랄 오일, 예컨대 액체 파라핀에서 활성 성분을 현탁시킴으로써 제형될 수 있다. 오일성 서스펜션은 증점제, 예를 들어 밀랍, 경질 파라핀 또는 세틸 알코올을 함유할 수 있다. 감미제 및 풍미제는 맛있는 경구 제제를 제공하기 위해 첨가될 수 있다. 이들 조성물은 항산화제, 예컨대 아스코르브산의 첨가에 의해 보존될 수 있다.

분산성 분말 및 과립은 수성 서스펜션의 제제를 위해 적합하다. 분산제 또는 습윤제, 현탁화제 및 하나 이상의 보존제와 혼합하여 활성 성분을 제공한다. 적합한 분산제 또는 습윤제 및 현탁화제는 이미 상기에서 언급한 것에 의해 예시된다. 추가적인 부형제, 예를 들어, 상기에 기재된 감미제, 풍미제 및 착색제가 또한 존재할 수 있다.

본 발명의 혼합물을 함유하는 약제학적 조성물은 또한 수중유 에멀전의 형태일 수 있다. 오일상은 식물성 오일, 예컨대 올리브 오일 또는 아라키스(arachis) 오일, 또는 미네랄 오일, 예컨대 액체 파라핀 또는 이들의 혼합물일 수 있다. 적합한 에멀션화제는 하기일 수 있다: (1) 자연적 발생인 검, 예컨대 검 아카시아 및 검 트라가칸스, (2) 자연적 발생인 인지질, 예컨대 대두 및 레시틴, (3) 지방산 및 헥시톨 무수물로부터 유도된 에스테르 또는 부분 에스테르 30, 예를 들어, 소르비탄 모노올레에이트, (4) 에틸렌 옥시드에 의한 상기 부분 에스테르의 축합 생성물, 예를 들어, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레에이트. 에멀전은 또한 감미제 및 풍미제를 함유할 수 있다.

시럽 및 엘릭시르(elixir)는 감미제, 예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 소르비톨, 아스파탐 또는 수크로스 제형될 수 있다. 그와 같은 제형은 또한 완화제, 보존제, 및 풍미제 및 착색제를 함유할 수 있다.

약제학적 조성물은 살균 주사가능 수성 또는 유지성 서스펜션의 형태일 수 있다. 이 서스펜션은 상기에 언급된 적합한 분산제 또는 습윤제 및 현탁화제를 사용하여 공지된 방법에 따라 제형될 수 있다. 살균 주사가능 제제는 또한 예를 들어 1,3-부탄디올 중 용액으로서 비(non)독성 비경구로 허용가능한 회석제 또는 용매 중 살균 주사가능 용액 또는 서스펜션일 수 있다. 허용가능한 비이클(vehicel) 및 용매 중에서 사용될 수 있는 것은 물, 링거액 및 등장 나트륨 클로라이드 용액이다. 또한, 살균 고정 오일은 용매 또는 현탁 매질로서 전통적으로 사용된다. 이 목적을 위해, 합성 모노- 또는 디-글리세라이드를 포함하는 어떤 블랜드(bland) 고정 오일이 사용될 수 있다. 또한, 지방산, 예컨대 올레산은 주사가능물질의 제제에 사용한다.

본 발명의 혼합물은 또한 약물의 직장 투여를 위한 좌약의 형태로 투여될 수 있다. 이들 조성물은 실온에서는 고형이지만 직장 온도에서는 액체인 적합한 비자극성 부형제와 약물을 혼합함으로써 제조될 수 있고, 따라서, 약물을 방출하기 위해 직장에서 녹을 것이다. 그와 같은 물질은 코코아 버터 및 폴리에틸렌 글리콜이다.

국소 사용을 위해, 시클로스포린과 함께 보통 사용되는 것을 함유하는 적합한 크림, 연고, 젤리, 용액 또는 서

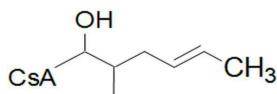
스펜션 등이 사용될 수 있다.

특정 바람직한 구체예에서, 비(non)활성 성분으로서 계면활성제, 에탄올, 친유성 및/또는 양친성 용매를 함유하는 액체 용액이 사용된다. 구체적으로는, 이성질체 유사체 혼합물 및 하기 비(non)의약 성분을 함유하는 경구 다중 에멀전 제형이 사용된다: d-알파 토크페릴(Tocopheryl) 폴리에틸렌 글리콜 1000 석시네이트 (비타민 E TPGS), 매질 사슬 트리글리세라이드 (MCT) 오일, Tween 40, 및 에탄올. 경구 용액으로서 화합물 및 동일한 비(non)의약 성분을 함유하는 연질 젤라틴 캡슐 (젤라틴, 글리세린, 물, 및 소르비톨 포함)이 또한 바람직하게 사용될 수 있다.

그러나, 어떤 특정 환자에 대한 구체적인 투여 레벨은 사용된 특정 화합물의 활성, 연령, 체중, 일반적 건강, 성별, 다이어트, 투여 시간, 투여 경로, 배출 속도, 약물 조합 및 치료 하의 특정 질환 또는 상태의 본질 및 심각도를 포함하는 다양한 인자에 의존할 것이라는 것이 이해될 것이다.

방법론

하기의 반응들 1 내지 18은 하기와 같이 표시되는 CsA의 아미노산 1에서 변성된 목적 화합물을 합성할 수 있는 화학 반응의 일반적인 예이다.



필수 화학적 물성을 갖는 시약을 사용하여, 어떤 반응물의 치환이 이루어질 수 있다는 것을 본 기술분야의 숙련자가 이해할 것이다.

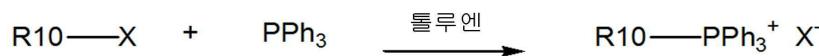
제조된 화합물의 확인 및 순도는 통상 질량분석법, HPLC 및 NMR 분광법을 포함하는 방법에 의해 확정되었다. 질량 스펙트럼 (ESI-MS)은 Hewlett Packard 1100 MSD 시스템 상에서 측정되었다. NMR 스펙트럼은 중수소치환된 용매 (포스포늄 염에 대해서는 DMSO, 모든 다른 화합물에 대해서는 벤젠)에서 Varian MercuryPlus 400 MHz 분광기 상에서 측정되었다. 분석 및 분취 역상 HPLC는 Agilent 1100 Series 시스템 상에서 수행되었다.

포스포늄 염 화합물의 합성

포스포늄 염은 트리페닐포스핀 또는 어떤 다른 적합한 포스핀과 알킬 할라이드 (R-X; X = Cl, Br, 또는 I)의 반응을 통해 제조된다. 적합한 알킬 할라이드는 어떤 사슬 길이 또는 분자량의 어떤 1차 또는 어떤 2차 지방족 할라이드이다. 이들 알킬 할라이드는 분지 또는 미분지, 포화 또는 불포화될 수 있다.

반응이 톨루엔에서 수행되면 (반응 1), 생성물은 반응 용액으로부터 직접 침전한다. 그러나, 미반응 물질은 반응 시간을 짧게 하고 만족스러운 수율을 달성하기 위해 더 많은 용매, 예컨대 디메틸포름아미드 (DMF)를 필요로 한다 (반응 2).

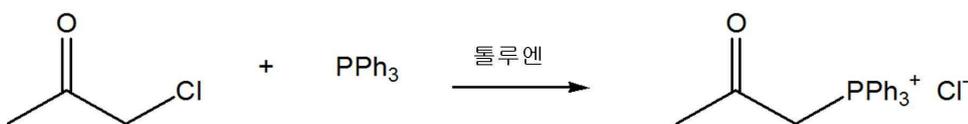
반응 1:



화학식 V

여기서, X는 할라이드 (Cl, Br, 및 I를 비제한적으로 포함)이고, R10은 하기이다: 케톤, 히드록실, 니트릴, 카르복실산, 에스테르 및 1,3-디옥솔란의 그룹으로부터 선택된 치환기를 임의로 함유하는, 포화 또는 불포화된, 곧은 또는 분지된 지방족 사슬; 할라이드, 에스테르 및 니트로의 그룹으로부터 선택된 치환기를 임의로 함유하는 방향족 그룹; 또는 상기 포화 또는 불포화된, 곧은 또는 분지된 지방족 사슬 및 상기 방향족 그룹의 조합.

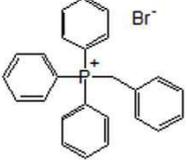
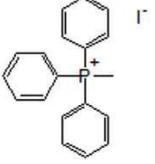
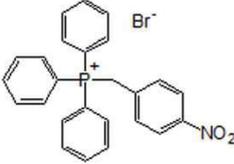
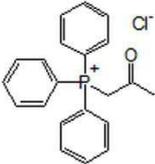
실시예 1: 404-15의 합성

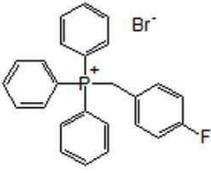
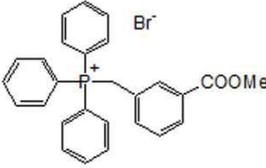
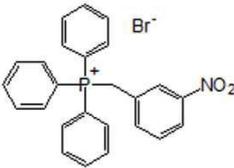
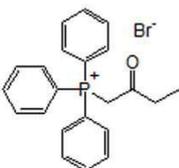
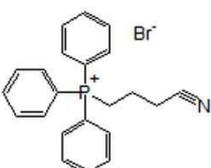


실례로서, 트리페닐포스핀 (13 mmol)을 50 mL 톨루엔에 용해시키고, 클로로아세톤 (10 mmol)을 첨가하여 맑은 용액을 얻는다. 반응물을 밤새 환류하 교반한다. 무색 고형물을 여과 제거하고, 톨루엔 및 헥산으로 세정하고,

진공에서 건조시킨다.

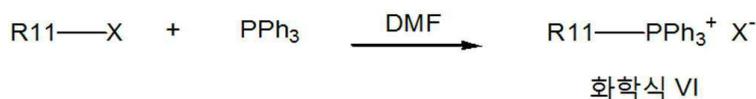
반응 1을 사용하여, 하기 화합물은 합성될 수 있는 화합물의 추가 예이다.

화합물	반응물(R10-X)	조건
404-08 	벤질 브로마이드	4시간 환류
404-09 	요오드화메틸	밤새 실온
404-12 	4-니트로벤질 브로마이드	6시간 환류
404-15 	클로로아세톤	밤새 환류

404-64	4-플루오로벤질 브로마이드	밤새 환류
		
404-77	메틸 3- 브로모메틸벤조에이트	6시간 환류
		
404-87	3-니트로벤질 브로마이드	6시간 환류
		
404-161	1-브로모-2-부타논	밤새 실은
		
404-170	4-브로모부티로니트릴	밤새 환류
		

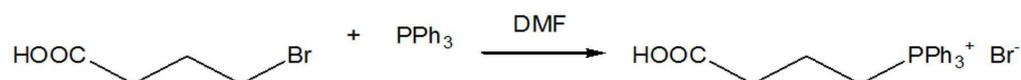
대안적으로, 적합한 포스포늄 염은 하기에 설명된 바와 같이 반응 2를 통해 합성될 수 있다:

반응 2:



여기서, X는 할라이드 (Cl, Br, 및 I를 비제한적으로 포함)이고, R10은 하기이다: 케톤, 히드록실, 니트릴, 카르복실산, 에스테르 및 1,3-디옥솔란의 그룹으로부터 선택된 치환기를 임의로 함유하는, 포화 또는 불포화된, 곧은 또는 분지된 지방족 사슬; 할라이드, 에스테르 및 니트로의 그룹으로부터 선택된 치환기를 임의로 함유하는 방향족 그룹; 또는 상기 포화 또는 불포화된, 곧은 또는 분지된 지방족 사슬 및 상기 방향족 그룹의 조합.

실시예 2: 404-51의 합성

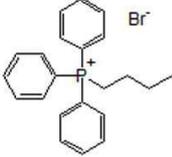
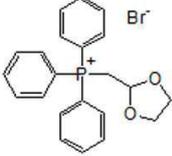
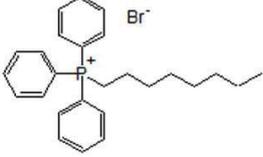
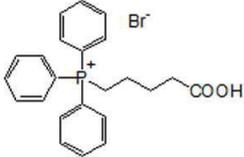


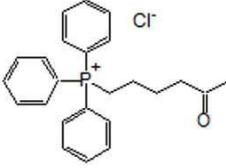
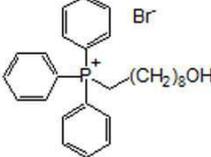
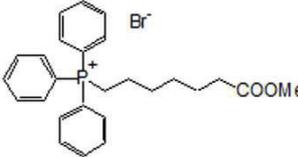
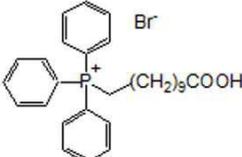
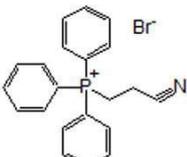
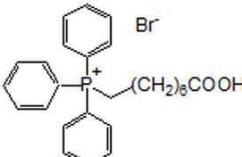
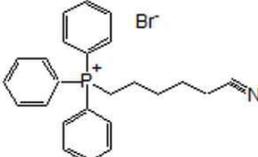
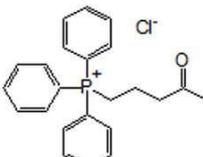
실례로서, 트리페닐포스핀 (11 mmol)을 10 mL DMF에 용해시키고, 4-브로모부티르산 (10 mmol)을 첨가한다. 반응물을 7시간 동안 110°C에서 교반한 다음, 밤새 냉각시킨다. 50 mL 톨루엔을 첨가하고, 결정질의 무색 고형물을 여과로 수집한다. 생성물을 톨루엔 및 헥산으로 세정하고, 밤새 진공에서 건조시킨다.

결정화가 톨루엔에 의한 처리 후에 설정되지 않으면, 생성물을 20 mL MeOH/H₂O (1:1 혼합물)로 추출한다. 수성

상을 톨루엔 및 헥산으로 세정하고, 건조시킨다. 상기 잔류물을 환류 온도에서 20-30분 동안 50 mL 에틸 아세테이트 (EtOAc)와 함께 교반한다. 결정질 고형물을 얻으면, 생성물을 여과로 수집하고, EtOAc 및 헥산으로 세정하고, 건조시킨다. 생성물을 오일 또는 검(gum)으로서 얻는 경우, EtOAc를 데칸트하고, 잔류 생성물을 진공에서 건조시킨다.

반응 2를 사용하여, 하기 화합물은 합성될 수 있는 화합물의 추가 예이다.

화합물	반응물(R11-X)	조건
404-14 	1-브로모부탄	120 °C에서 6.5시간
404-29 	2-브로모메틸-1,3-디옥솔란	밤새 120 °C
404-34 	1-브로모옥탄	밤새 110 °C
404-51 	5-브로모발레르산	120 °C에서 8시간

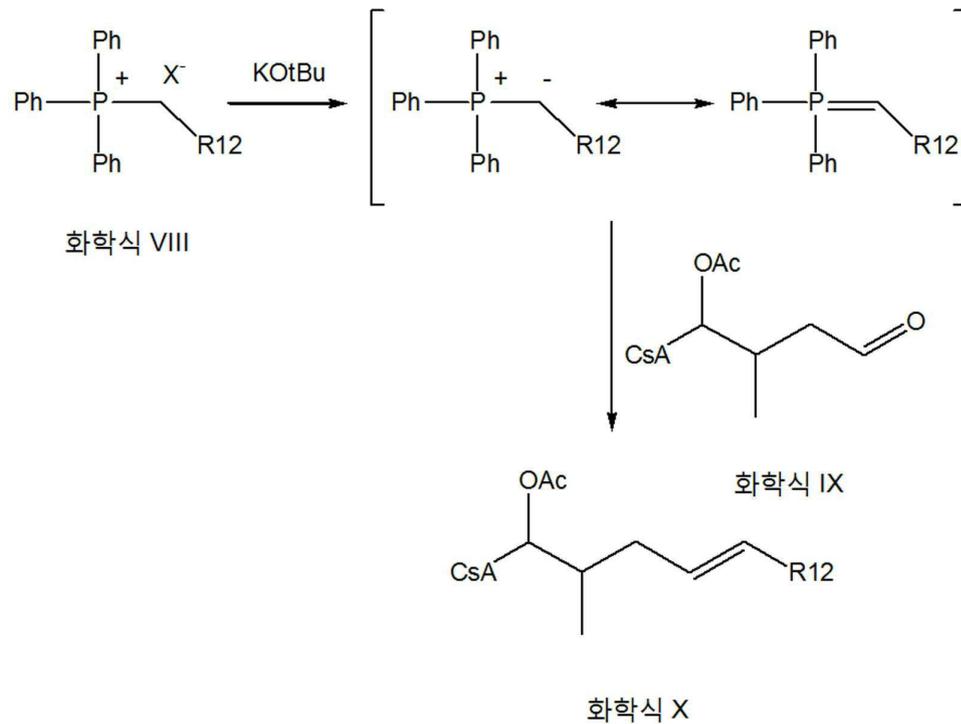
419-134	6-클로로-2-헥사논	밤새 110 °C
		
419-136	9-브로모-1-노나놀	밤새 110 °C
		
420-32	메틸 7-브로모헥사노에이트	밤새 110 °C
		
420-78	11-브로모운데칸산	밤새 110 °C
		
420-80	3-브로모프로피오니트릴	밤새 110 °C
		
420-82	8-브로모옥탄산	밤새 110 °C
		
420-90	6-브로모헥산니트릴	밤새 110 °C
		
420-94	5-클로로-2-펜타논	밤새 110 °C
		

비티히(Wittig) 반응

비티히 반응은 넓은 범위의 기질 및 반응물에 널리 적용가능하다. 반응에서 기질에 도입되는 결사슬은 가변 길이 (R')의 어떤 수의 분지 및 미분지된, 포화 및 불포화된 지방족 화합물을 나타내고, 넓은 범위의 관능 그룹을 함유할 수 있다.

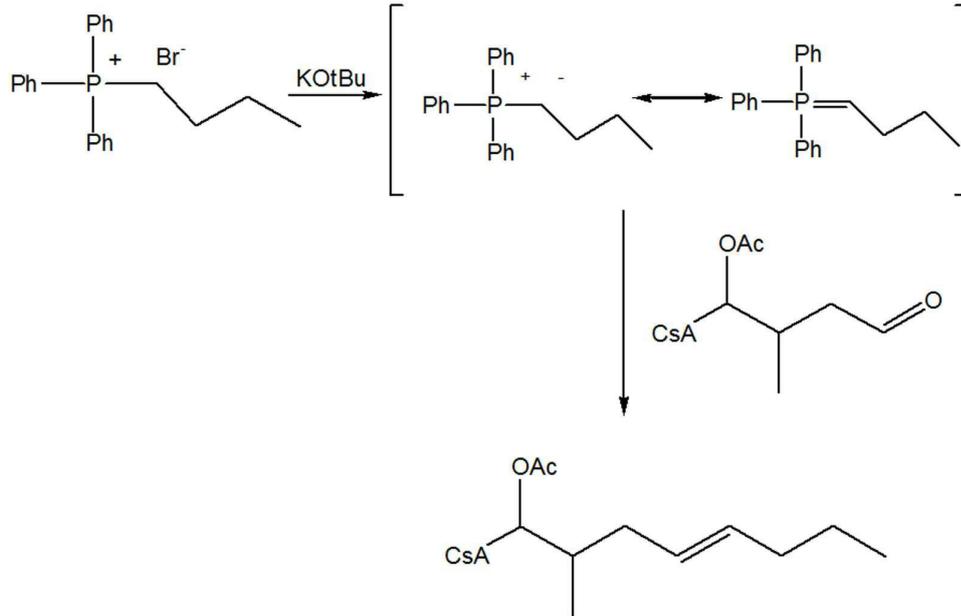
비티히 반응에서, 염기, 예컨대 칼륨 tert-부톡사이드 (KOtBu)를 사용하여 포스포늄 염으로부터 일라이드(ylide)를 생성한다. 일라이드는 기질, CsA-알데히드의 카르보닐 그룹과 반응하여 알켄을 형성한다. 카르복실산 결사슬을 함유하는 포스포늄 염은 적어도 2당량의 염기를 필요로 하여 일라이드를 생성한다.

반응 3: 비티히 반응을 통해 포스포늄 염 화합물을 사용하는 아세틸화 시클로스포린 유사체 중간체의 합성



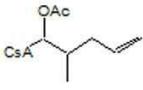
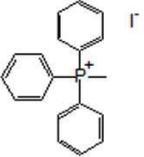
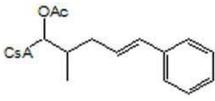
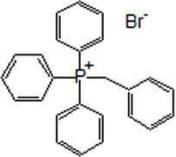
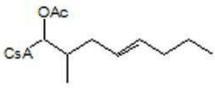
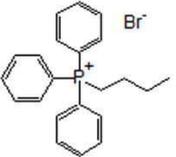
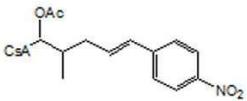
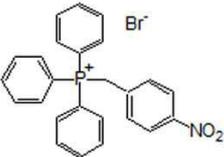
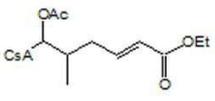
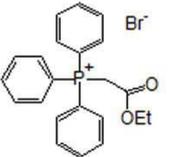
여기서, X는 할라이드 (Cl, Br, 및 I를 비제한적으로 포함)이고, R12는 하기이다: 케톤, 히드록실, 니트릴, 카르복실산, 에스테르 및 1,3-디옥솔란의 그룹으로부터 선택된 치환기를 임의로 함유하는, 포화 또는 불포화된, 곧은 또는 분지된 지방족 사슬; 할라이드, 에스테르 및 니트로의 그룹으로부터 선택된 치환기를 임의로 함유하는 방향족 그룹; 또는 상기 포화 또는 불포화된, 곧은 또는 분지된 지방족 사슬 및 상기 방향족 그룹의 조합.

실시예 3: 비티히 반응을 통해 포스포늄 염 화합물을 사용하는 화합물 404-20의 합성:

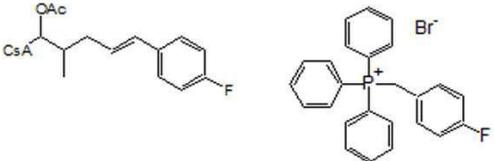
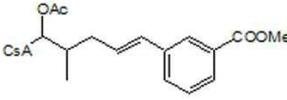
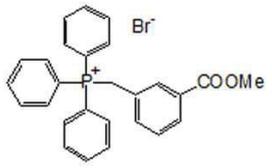
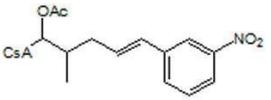
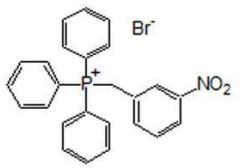
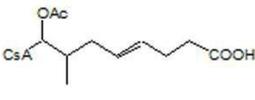
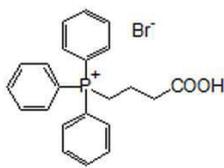
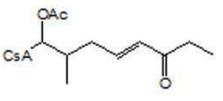
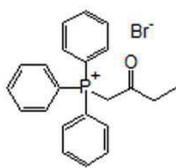


실례로서, 오븐 건조된 250 mL 플라스크에 아르곤 분위기 하에서 트리페닐부틸포스포늄 브로마이드 (6.0 mmol) 및 40 mL 무수 테트라히드로푸란 (THF)를 충전한다. 서스펜션을 0°C로 냉각하고, 칼륨 *tert*-부톡시드 (6.0 mmol)을 첨가하여 오렌지색을 얻는다. 반응물을 주위 온도에서 1-2시간 동안 교반한 다음, CsA-알데히드 (2.0 mmol, 20 mL 무수 THF에 용해됨)를 첨가한다. 교반을 3시간 동안 실온에서 계속했다. 반응물을 10 mL 포화 NH₄Cl 및 20 mL 빙수로 급랭시킨다. 층을 분리하고, 수성 상을 EtOAc로 추출한다. 유기 층을 조합하고, 염수로 세정하고, 황산나트륨 상에서 건조한다. 용매를 제거하고, 조 생성물을 실리카겔 (헥산/아세톤 3:1) 상에서 정제한다.

반응 3을 사용하여, 하기 화합물은 합성될 수 있는 화합물의 추가 예이다.

화합물	개시 물질	MS (Na ⁺)	주의
404-16 	404-09 	1252.9	
404-19 	404-08 	1328.9	
404-20 	404-14 	1294.9	
404-30 	404-12 	1373.9	밤새 60 °C에서 교반
404-31 		1324.9	2일 동안 60 °C에서 교반

404-33	404-29	1325.0	
404-40	404-34	1351.2	
404-43	404-15	1295.1	10일 동안 환류 교반
404-59	404-51	1338.9	2 eq의 KOtBu

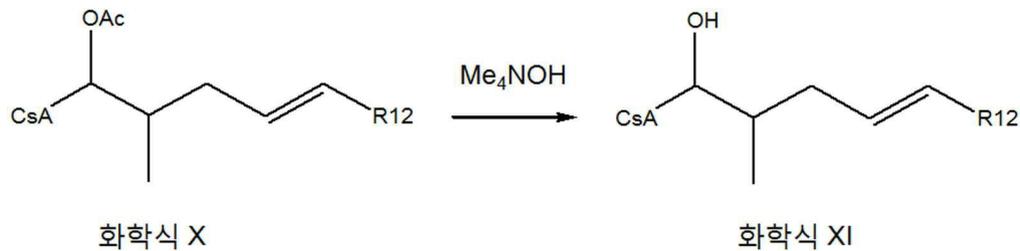
404-65	404-64	1347.1	
			
404-79	404-77	1386.9	밤새 실온에서 교반
			
404-89	404-87	1374.1	2일 동안 실온에서 교반
			
404-134	404-116	1325.0	2 eq의 K ₂ OtBu; 2일 동안 실온에서 교반
			
404-163	404-161	1308.8	15일 동안 환류 교반
			

404-187	404-170	1305.9	밤새 실온에서 교반
416-04	416-02	1353.0	2 eq의 KOtBu
416-09	416-01	1323.1	
420-40	420-32	1381.0	밤새 실온에서 교반
420-85	420-78	1423.1	2 eq의 KOtBu

420-89	420-80	1291.9	
420-92	420-82	1381.1	2 eq의 KOtBu
420-96	404-78	1338.9	
420-101	419-132	1347.9	

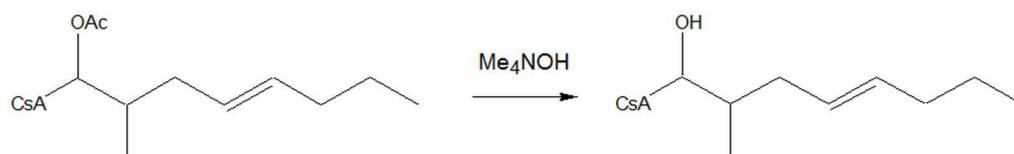
탈아세틸화

반응 4: 아세틸화 시클로스포린 유사체의 탈아세틸화



여기서, R12는 케톤, 히드록실, 니트릴, 카르복실산, 에스테르 및 1,3-디옥솔란의 그룹으로부터 선택된 치환기를 임의로 함유하는, 포화 또는 불포화된, 곧은 또는 분지된 지방족 사슬; 할라이드, 에스테르 및 니트로의 그룹으로부터 선택된 치환기를 임의로 함유하는 방향족 그룹; 또는 상기 포화 또는 불포화된, 곧은 또는 분지된 지방족 사슬 및 상기 방향족 그룹의 조합이다.

실시예 4: 탈아세틸화를 통한 화합물 404-90의 합성

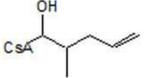
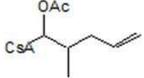
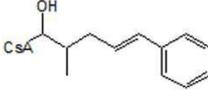
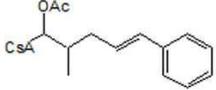
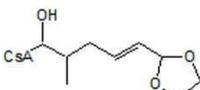
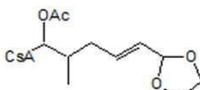
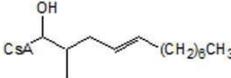
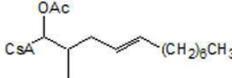
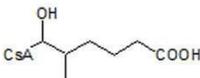
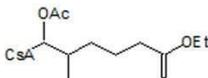
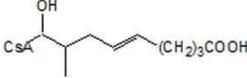
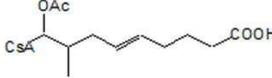
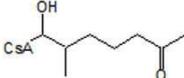
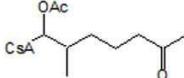


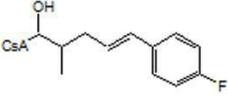
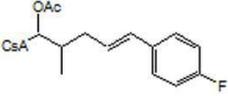
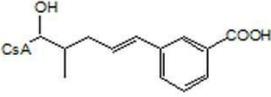
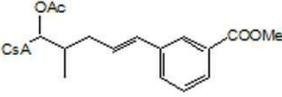
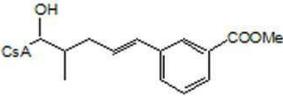
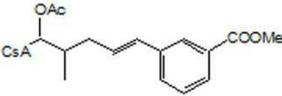
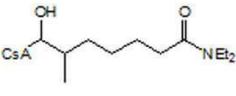
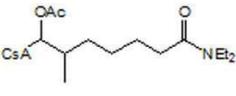
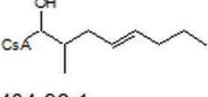
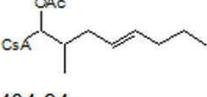
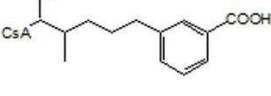
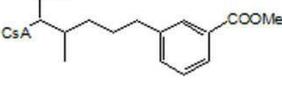
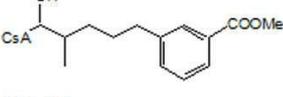
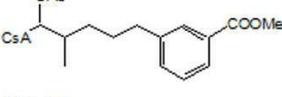
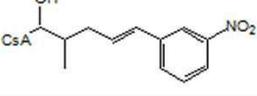
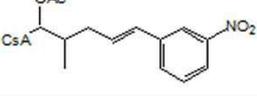
실례로서, 10 mL MeOH 중 404-20 (0.16 mmol)의 용액을 2 mL H₂O 중 테트라메틸암모늄히드록시드 5수화물 (0.47 mmol)의 용액과 조합한다. 혼합물을 실온에서 2일 동안 교반한다. 반응물을 진공에서 농축하고, 5 mL 물을 첨가한다. 반응물을 EtOAc로 추출하고, 추출물을 염수로 세정하고, 황산나트륨 상에서 건조하고, 농축 건조한다. 조

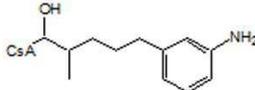
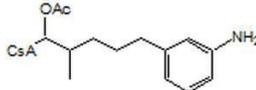
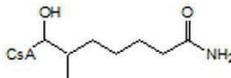
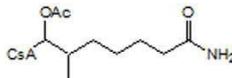
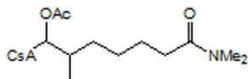
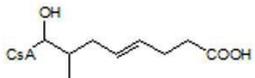
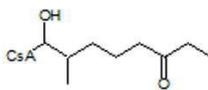
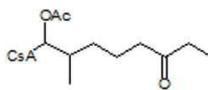
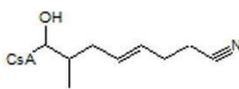
생성물을 역상 분취 HPLC로 정제한다.

탈아세틸화 화합물의 정제는 일반적으로 실리카겔 (헥산/아세톤 2:1) 상에서 또는 분취 HPLC에 의해 수행된다. 화합물 404-60, 404-137, 416-08, 420-98 및 420-100 (카르복실산)의 경우에, 반응물을, 추출 전에, 1 M HCl로 pH 2-3으로 산성화했다.

반응 4를 사용하여, 하기 화합물은 합성될 수 있는 화합물의 추가 예이다.

화합물	개시 물질	MS (Na ⁺)
404-22 	404-16 	1210.9
404-25 	404-19 	1287.0
404-36 	404-33 	1283.0
404-44 	404-40 	1309.1
404-58 	404-57 	1257.1
404-60 	404-59 	1297.1
404-61 	404-56 	1255.1

404-66		404-65		1305.1
404-81-1		404-79-1		1331.1
404-81-2		404-79-1		1345.1
404-85		404-83		1326.2
404-90		404-20		1253.0
404-96-1		404-94		1333.0
404-96-2		404-94		1347.0
404-97		404-89		1331.9

404-125	404-120	1304.0
		
404-130	404-128	1270.1
		
404-132	404-129	1298.0
		
404-137	404-134	1283.0
		
404-154	404-150	1338.1
		
404-157	404-155	1310.0
		
404-173	404-172	1268.9
		
404-194	404-187	1263.9
		

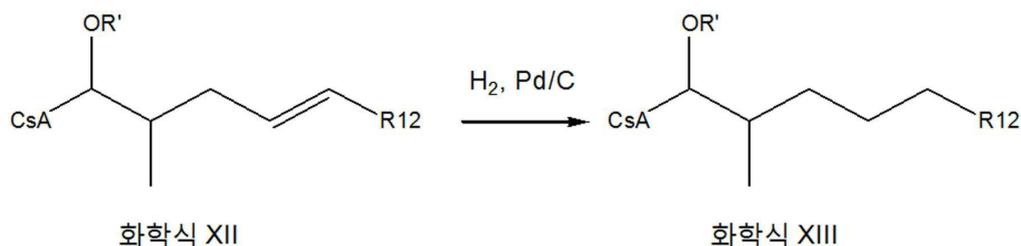
416-08		416-04		1311.0
416-13		416-09		1281.1
420-17		420-08-1		1368.0
420-30-1		420-27		1312.0
420-43		420-40		1324.9
420-47		420-46		1327.0
420-98		420-85		1381.1
420-100		420-92		1339.1

420-102	420-96	1297.0
420-108	420-101	1305.9
420-117	420-109-1	1352.1
420-120	420-110-1	1410.0
420-122	420-107-2	1340.0
420-124	420-109-2	1354.0
420-125	420-110-2	1412.0
420-126	420-107-1	1337.9
420-131	420-130	1297.9
420-132	420-128-1	1380.0

이중결합의 수소첨가

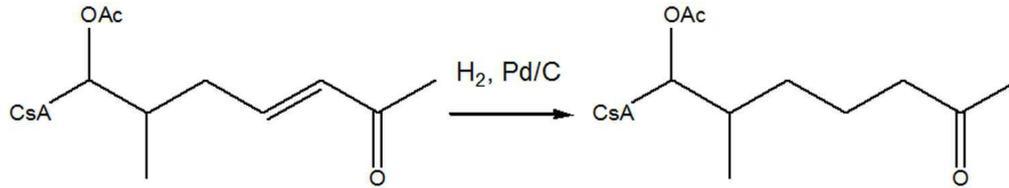
이중결합을 대기압 하에서 수소첨가하여 포화 결사슬을 얻을 수 있다. 관능 그룹, 예컨대 히드록실, 카르보닐 및 카르복실은 이들 조건 하에서 안정하고, 보호를 필요로 하지 않는다. R'는 아세틸 그룹 또는 수소를 나타낸다. α, β -불포화 카르보닐 화합물의 경우에, 이중결합은 활성화된 이중결합에 대한 유리 히드록시 그룹의 친핵 첨가를 통해 고리화를 피하기 위해 탈아세틸화 전에 환원되어야 한다.

반응 5:



여기서, R12는 케톤, 히드록실, 니트릴, 카르복실산, 에스테르 및 1,3-디옥솔란의 그룹으로부터 선택된 치환기를 임의로 함유하는, 포화 또는 불포화된, 곧은 또는 분지된 지방족 사슬; 할라이드, 에스테르 및 니트로의 그룹으로부터 선택된 치환기를 임의로 함유하는 방향족 그룹; 또는 상기 포화 또는 불포화된, 곧은 또는 분지된 지방족 사슬 및 상기 방향족 그룹의 조합이고, R'는 H 또는 아세틸 그룹이다.

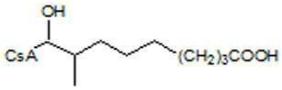
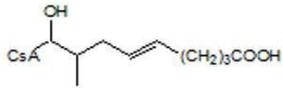
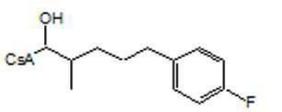
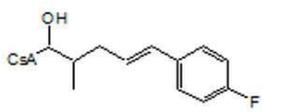
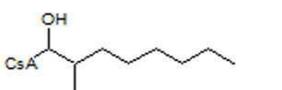
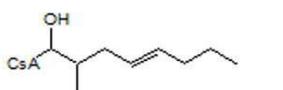
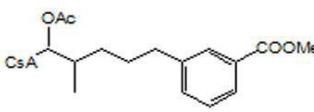
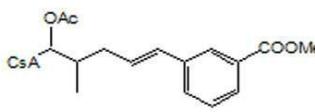
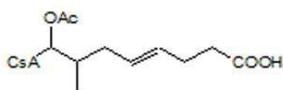
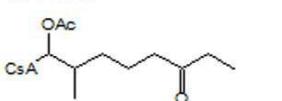
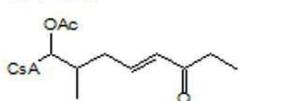
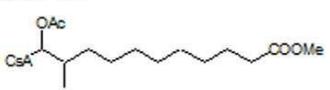
실시예 5: 404-56의 합성:



실례로서, 404-43 (0.34 mmol)을 40 mL 무수 EtOH에 용해시키고 43 mg Pd/C (10 %) 및 0.2 mL 아세트산을 첨가한다. 혼합물을 수소 하에서 대기압에서 2일 동안 교반한다. 반응물을 셀라이트를 통해 여과하고, 진공에서 농축한다. 조 생성물을 분취 HPLC로 정제한다.

반응 5를 사용하여, 하기 화합물은 합성될 수 있는 화합물의 추가 예이다.

화합물	개시 물질	MS (Na ⁺)
404-50 	404-25 	1289.1
404-56 	404-43 	1297.0
404-57	404-31	1327.1

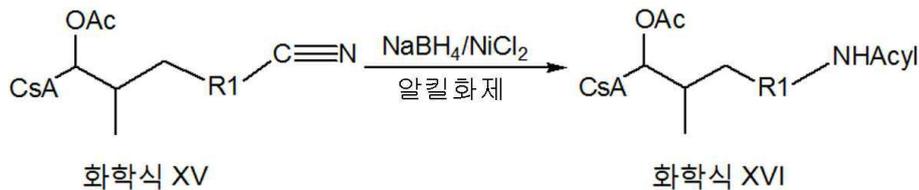
404-63	404-60	1299.1
		
404-74	404-66	1307.1
		
404-92	404-90	1255.1
		
404-94	404-79	1388.9
		
404-168	404-134	1326.8
		
404-172	404-163	1310.9
		
420-19	416-08	1313.0
		
420-46	420-40	1383.1
		

420-68	420-134	1326.9
420-106	420-98	1383.1
420-111	420-100	1341.0
420-112	420-102	1298.9
420-130	420-123	1340.0

니트릴 그룹의 환원

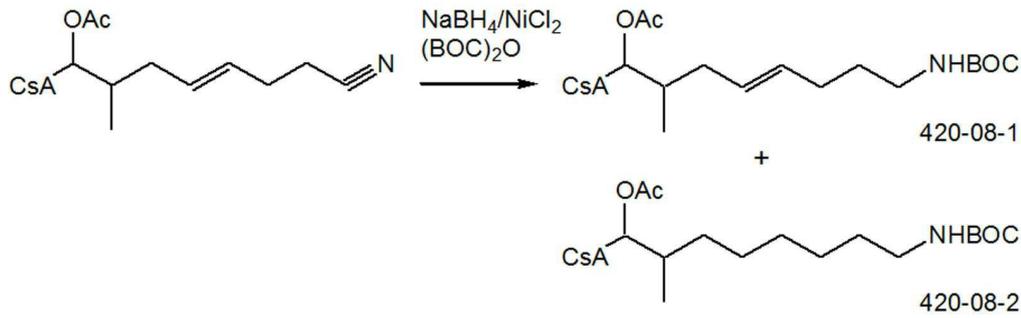
니트릴 그룹의 상응하는 1차 아민으로의 환원은 나트륨 보로하이드라이드 (NaBH₄) 및 니켈(II)클로라이드 (NiCl₂)로부터 원위치에 생성된 니켈 보라이드로 달성될 수 있다. 적합한 포획 시약의 첨가로, 아실 보호된 1차 아민 (카바메이트 또는 아마이드, 각각)로 되고, 원치않는 부반응으로서 2차 아민의 형성을 방지한다. 이중결합을 주어진 조건 하에서 부분적으로 환원시키고 생성물 혼합물을 얻는다. 포화 및 불포화 모두의 보호 아민 화합물을 분리했고, 정제했다. 반응 420-123에 대해, 혼합물을 분리하지 않았다. 대신에, 혼합물에 대해 촉매 수소첨가를 수행하여 완전 포화된 화합물을 생성한다.

반응 6:



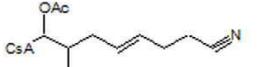
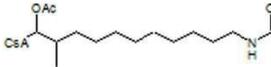
여기서, 아실은 BOC, 아세틸, 또는 부티릴 중 어떤 하나이고, 아실화제는 디-tert-부틸디카보네이트, 아세트산 무수물, 및 부티르산 무수물 중 어떤 하나이고, R1은 포화 또는 불포화된, 끝은 사슬 또는 분지된 지방족 그룹이다. 상기에 기재된 아실화제가 넓은 범위의 아실화제로 치환되어 마찬가지로 넓은 범위의 아실 보호된 아민을 생성한다는 것을 본 기술분야의 숙련자가 이해할 것이다.

실시예 6: 420-08의 합성



실례로서, 404-187 (0.257 mmol)을 15 mL 메탄올에 용해시키고, 0°C로 냉각시킨다. 디-tert-부틸디카보네이트 (0.514 mmol) 및 니켈(II)클로라이드 (0.025 mmol)을 첨가하여 맑은 용액을 얻는다. 나트륨보로히드라이드 (3.85 mmol)을 일부분씩 1시간에 걸쳐 첨가한다. 수득한 혼합물을 주위 온도에서 밤새 교반한다. 추가 나트륨보로히드라이드 (1.95 mmol)을 0°C에서 첨가하고, 교반을 3시간 동안 실온에서 계속했다. HPLC는 420-08-1 (카바메이트 화합물) 및 420-08-2 (환원된 이중결합을 갖는 카바메이트 화합물)의 혼합물을 보여준다. 반응물을 30분 동안 디에틸렌트리아민 (0.257 mmol)과 함께 교반하고, 그 다음, 진공에서 농축했다. 상기 잔류물을 75 mL EtOAc에서 취하고, 20 mL 포화 NaHCO₃ 용액으로 세정하고, 황산나트륨 상에서 건조한다. 용매를 진공에서 제거한다. 조 생성물을 분취 HPLC로 정제한다.

반응 6을 사용하여, 하기 화합물은 합성될 수 있는 화합물의 추가 예이다.

화합물	개시 물질	보호 시약	MS (Na ⁺)
420-08-1	404-197	디-tert-부틸디카보네이트	1410.0
			
420-08-2	404-197	디-tert-부틸디카보네이트	1412.1
			
420-107-1	404-197	부티르산 무수물	1379.9
			
420-107-2	404-197	부티르산 무수물	1382.1
			
420-109-1	420-101	아세트산 무수물	1394.1
			
420-109-2	420-101	아세트산 무수물	1396.1
			

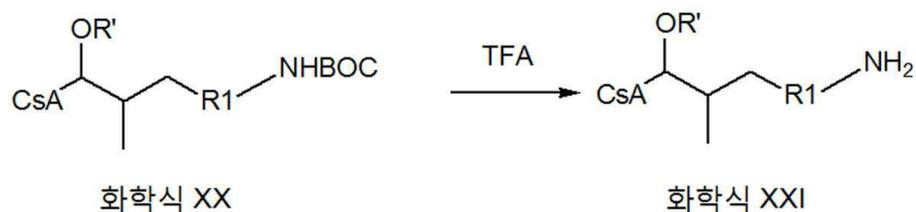
420-110-1	420-101	디-tert-부틸디카보네이트	1452.1
420-110-2	420-101	디-tert-부틸디카보네이트	1454.1
420-123 ¹	420-89	아세트산 무수물	1337.9/ 1339.9
420-128-1	420-101	부티르산 무수물	1422.1
420-128-2	420-101	부티르산 무수물	1424.1

¹ 분리되지 않는 혼합물

아민 탈보호

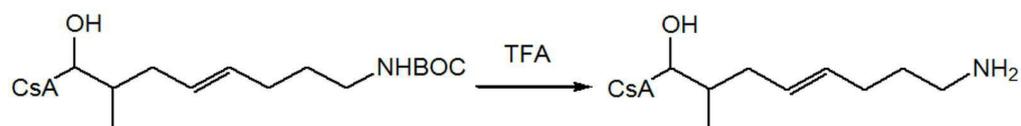
BOC 보호된 아민 (카바메이트)는 트리플루오로아세트산 (TFA)를 사용하여 산성 가수분해에 의해 유리 아민으로 전환될 수 있다.

반응 7:



여기서, R1은 포화 또는 불포화된, 곧은 또는 분지된 지방족 사슬이고, R'는 H 또는 아세틸 그룹이다.

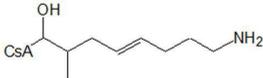
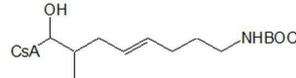
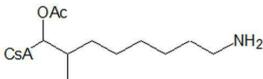
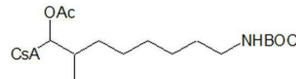
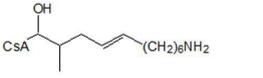
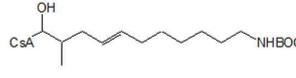
실시예 7: 420-23의 합성



실례로서, 420-17 (0.026 mmol)을 4 mL 무수 DCM에 용해시키고, 2 mL 트리플루오로아세트산을 0°C에서

첨가한다. 반응물을 실온에서 3시간 동안 교반한다. 20 mL 디클로로메탄을 첨가한다. 반응 혼합물을 H₂O 및 포화 NaHCO₃ 용액으로 세정하고, 황산나트륨 상에서 건조한다. 용매를 제거하고, 조 생성물을 분취 HPLC로 정제한다.

반응 7을 사용하여, 하기 화합물은 합성될 수 있는 화합물의 추가 예이다.

화합물	개시 물질	MS (M+1)
420-23	420-17	1246.0
		
420-25	420-13	1290.0
		
420-129	420-120	1288.0
		

아미노 그룹의 보호

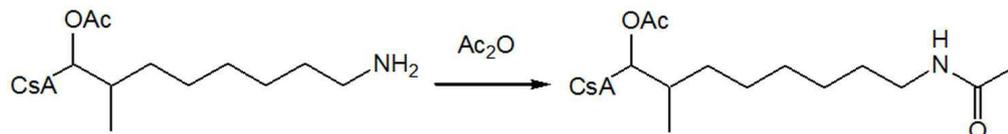
유리 아미노 관능 그룹은 확립된 방법을 사용하여 넓은 범위의 보호 그룹을 사용하여 보호될 수 있다. 넓은 범위의 보호제는 니트릴로부터 개시하는 환원적 도입과 비교하여 이용가능하다. 함께, 반응 7 및 8은 아실 보호된 아미노 화합물의 제조를 위해 반응 6에 대안적인 경로를 제공한다.

반응 8:



여기서, 아실은 BOC, 아세틸, 또는 부틸릴 중 어떤 하나이고, 아실화제는 디-tert-부틸디카보네이트, 아세트산 무수물, 및 부티르산 무수물 중 어떤 하나이다. 디카보네이트, 무수물 및 아실 할라이드를 포함하는 넓은 범위의 아실화제는 넓은 범위의 아실 보호된 아민을 생산하기 위해 이용될 수 있다는 것을 본 기술분야의 숙련자는 이해할 것이고, R1은 포화 또는 불포화된, 곧은 사슬 또는 분지된 지방족 그룹이다.

실시예 8: 420-27의 합성

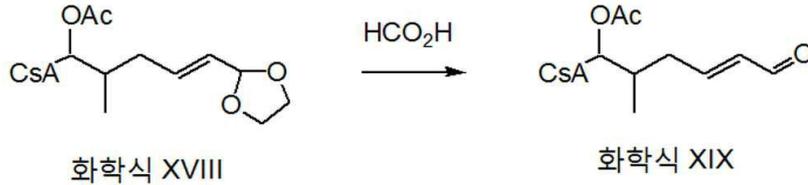


실례로서, 420-25 (0.039 mmol)을 질소 하에서 3 mL 무수 피리딘에서 용해시킨다. 반응물을 0°C로 냉각하고, 아세트산 무수물 (0.59 mmol)을 첨가한다. 혼합물을 주위 온도에서 밤새 교반한다. 용매를 진공에서 제거하고, 상기 잔류물을 25 mL EtOAc에서 취한다. 반응물을 2×10 mL 1 M HCl, 2×10 mL 포화 NaHCO₃ 용액 및 10 mL 염수로 세정하고, 황산나트륨 상에서 건조한다. 용매를 진공에서 제거하여 생성물을 무색 고형물로서 얻는다.

알데히드의 탈보호

1,3-디옥솔란 잔기는 산성 가수분해를 통해 알데히드 관능 그룹으로 전환된다.

반응 9 및 실시예 9: 404-47의 합성

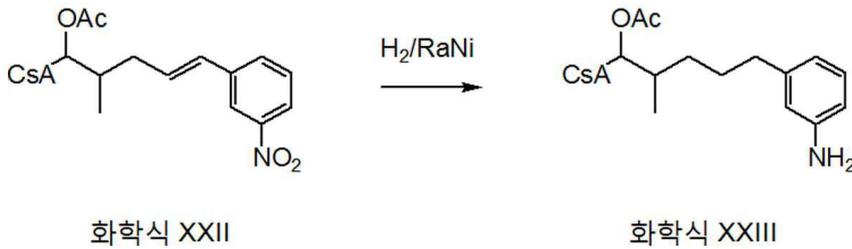


실례로서, 20 mL 포름산 중 404-33 (0.246 mmol)의 용액을 실온에서 45분 동안 교반한다. 100 mL 빙수 및 200 mL 포화 NaHCO₃ 용액을 반응물에 서서히 첨가한다 (강한 거품 발생). 반응물을 2×150 mL EtOAc로 추출한다. 조합된 추출물을 포화 NaHCO₃ 용액, 물 및 염수로 세정하고, 황산나트륨 상에서 건조한다. 용매를 제거하고, 생성물을 진공에서 건조시킨다.

니트로 그룹의 환원

방향족 니트로 화합물은 촉매 수소첨가를 통해 아닐린으로 환원된다. 이 반응으로 이중결합이 환원되게 된다.

반응 10 및 실시예 10: 404-120의 합성

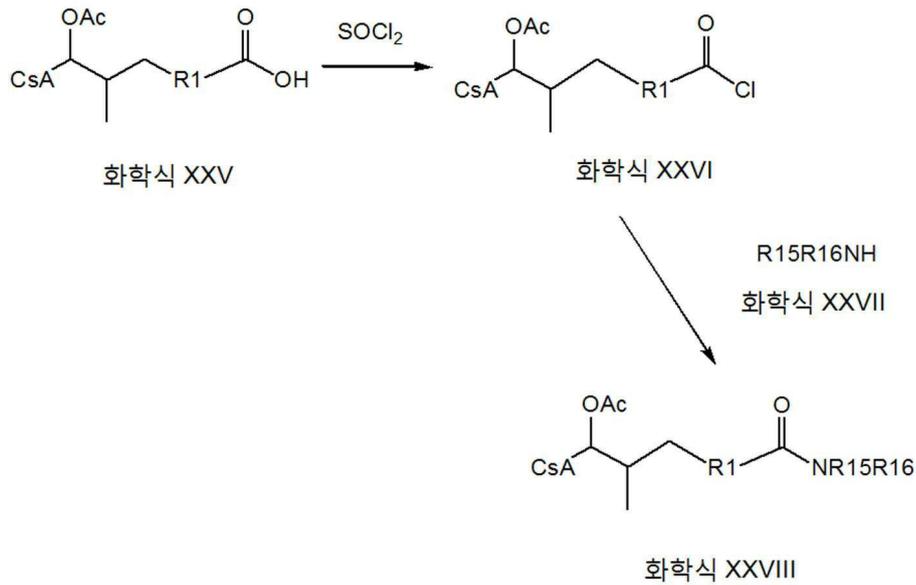


실례로서, 404-89 (0.13 mmol)을 2 mL 에탄올 및 라니(Raney) 니켈 (0.18 g, H₂O 중 50%, 에탄올로 3회 세정하고, 그 다음, 2 mL 에탄올에서 현탁됨)에 용해시키고, 0.1 mL 아세트산을 첨가한다. 반응물을 실온에서 2일 동안 교반한다. 반응물을 셀라이트를 통해 여과하고, 필터 케이크를 메탄올로 세정한다. 여과물을 건조시킨다. 잔류물을 EtOAc에서 취하고, NaHCO₃ 용액 및 염수로 세정하고, 황산나트륨 상에서 건조한다. 용매를 진공에서 제거한다. 조 생성물을 실리카겔 (헥산/아세톤 2:1) 상에서 정제한다.

아미드 합성

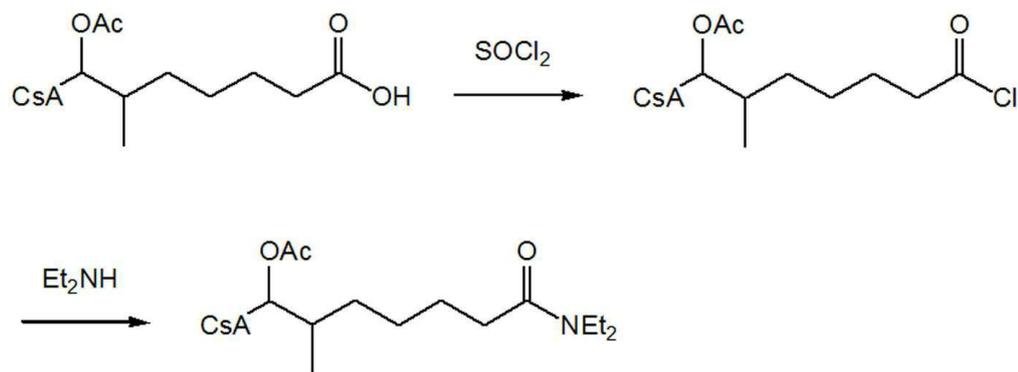
아미드는 아민과 상응하는 산 클로라이드와의 반응으로 카르복실산으로부터 제조된다 (반응 11). 이 합성은 적절한 커플링 시약, 예컨대 DCC 및 HOBt의 사용에 의해 산으로부터 직접 진행될 수 있다 (반응 12).

반응 11:



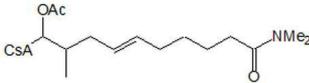
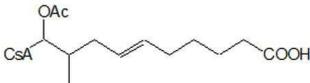
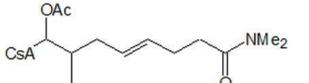
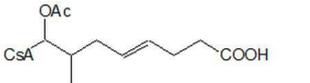
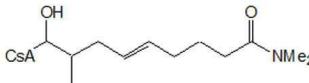
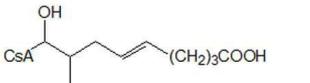
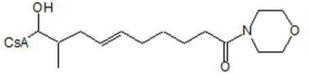
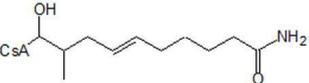
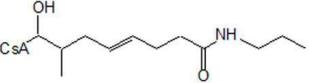
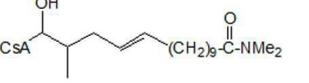
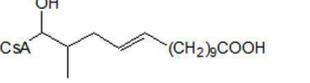
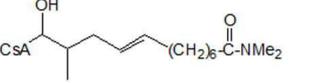
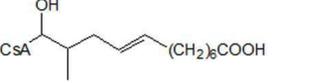
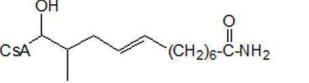
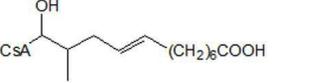
여기서, R1은 포화 또는 불포화된, 곧은 또는 분지된 지방족 사슬이고, R15 및 R16은 독립적으로 수소 또는 포화 또는 불포화된, 곧은 또는 분지된 지방족 사슬이고, 또는 NR15R16은 함께 모르폴리닐 잔기를 형성한다.

실시예 11: 404-85의 합성



실례로서, 365-73 (0.04 mmol) 및 티오닐클로라이드 (68 mmol)을 질소 분위기 하에서 조합하고 2시간 동안 가열 환류한다. 반응물을 냉각시키고, 농축 건조한다. 20 mL 톨루엔을 첨가하고, 반응물을 다시 농축 건조한다 (2회). 상기 잔류물을 5 mL 무수 톨루엔에서 취하고, 디에틸아민 (0.48 mmol)을 첨가한다. 반응물을 실온에서 밤새 교반한다. 5 mL 물을 첨가하고, 혼합물을 20 mL EtOAc로 추출한다. 추출물을 염수로 세정하고, 황산나트륨 상에서 건조한다. 용매를 진공에서 제거하고, 조 생성물을 실리카겔 (헥산/아세톤 3:1) 상에서 정제한다.

반응 12를 사용하여, 하기 화합물은 합성될 수 있는 화합물의 추가 예이다.

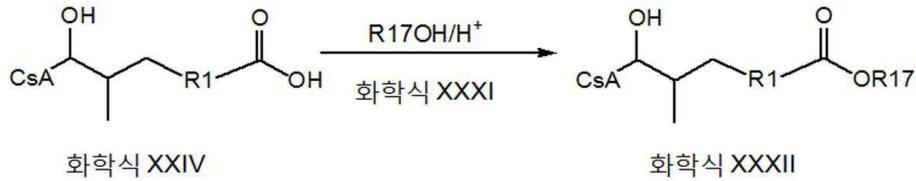
화합물	개시 물질	MS (Na ⁺)	아민
404-150	416-04	1380.1	디메틸-아민 ²
			
404-155	404-134	1352.1	디메틸-아민 ²
			
404-156	404-60	1324.1	디메틸-아민 ²
			
404-162	416-08	1379.9	모르폴린
			
404-164	416-08	1309.8	무수 암모니아 ¹
			
404-178	404-137	1323.9	프로필아민
			
420-104	420-98	1408.1	디메틸-아민 ²
			
420-114	420-100	1366.0	디메틸-아민 ²
			
420-121	420-100	1338.0	무수 암모니아 ¹
			

¹ 0 °C에서 10분 동안 반응물을 통과함; ² THF 중 2 M 용액

에스테르화

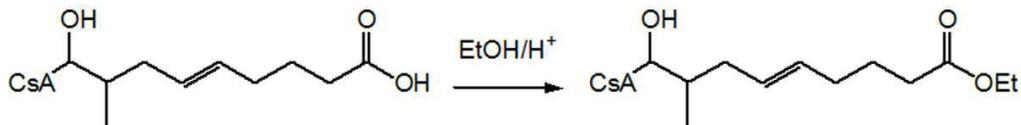
카르복실산 에스테르는 산성 촉매 (반응 13) 또는 커플링 시약 (DCC 및 DMAP, 반응 14)를 사용하여 상응하는 카르복실산 및 알코올로부터 제조된다.

반응 13:



여기서, R1은 포화 또는 불포화된, 곧은 또는 분지된 지방족 사슬이고, R17은 할로젠 또는 히드록실 치환기를 임의로 함유하는, 포화 또는 불포화된, 곧은 또는 분지된 지방족 사슬이다.

실시예 13: 404-171의 합성



실례로서, 404-60 (0.059 mmol), 4 mL EtOH 및 2 μ L 농축 H₂SO₄의 혼합물을 4시간 동안 가열 환류한다. 용매를 증발시키고, 상기 잔류물을 아세트니트릴에서 취한다. 조 생성물을 분취 HPLC로 정제한다.

반응 13를 사용하여, 하기 화합물은 합성될 수 있는 화합물의 추가 예이다.

화합물	개시 물질	MS (Na ⁺)	시약
404-171 	404-60 	1368.2	에탄올
404-182 	404-60 	1311.9	에틸렌 글리콜 ¹
420-103 	420-98 	1409.1	에탄올
420-113 	420-100 	1366.9	에탄올

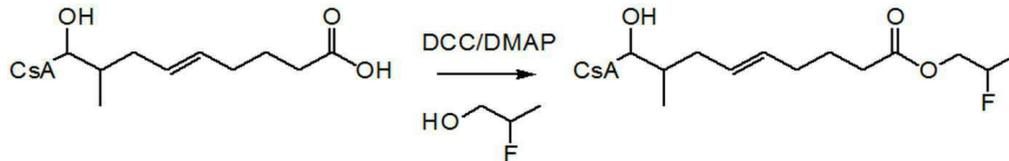
¹ 90 °C에서 3시간; EtOAc로 추출된 생성물

반응 14:



여기서, R1은 포화 또는 불포화된, 곧은 또는 분지된 지방족 사슬이고, R17은 할로젠 또는 히드록실 치환기를 임의로 함유하는, 포화 또는 불포화된, 곧은 또는 분지된 지방족 사슬이다.

실시예 14: 420-24



실례로서, 404-60 (0.053 mmol)을 4 mL 무수 DCM에 용해시키고, 질소 분위기 하에서 0°C로 냉각시킨다. 디메틸 아미노피리딘 (DMAP, 0.005 mmol), 2-플루오로프로판올 (0.27 mmol) 및 디시클로헥실카보다이미드 (DCC, 0.058 mmol)을 첨가하고, 반응물을 15분 동안 0°C에서 교반한다. 냉각 배스를 제거하고, 교반을 밤새 주위 온도에서 계속한다. 20 mL DCM을 첨가하고, 그 다음, 반응물을 H₂O로 세정하고, 증발 건조한다. 상기 잔류물을 10 mL 아세토니트릴에서 취하고, 여과한다. 여과물을 진공에서 농축한다. 조 생성물을 분취 HPLC로 정제한다.

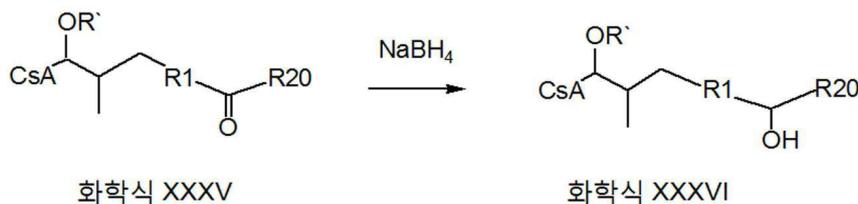
알콜

비티히 반응에서 직접적인 합성 외에, 알코올은 수많은 반응을 통해 얻는다. 카르보닐 그룹의 나트륨 보로히드라이드에 의한 환원으로 1차 (알데히드로부터 개시) 또는 2차 (케톤으로부터 개시) 알코올을 각각 얻는다.

수소화붕소첨가를 통한 이중결합의 산화로 이성질체의 혼합물이 생길 수 있다. 반응은 항-마르코브니코프(anti-Markovnikov) 배향에서 우세하게 진행된다. 최종 올레핀의 경우에, 1차 알코올이 주요 생성물이다.

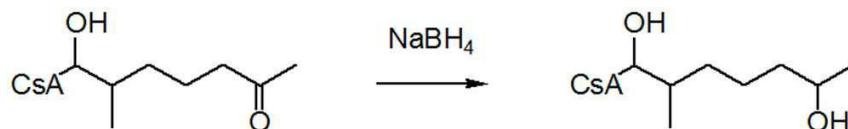
올레핀은 과산화수소에 의한 산화를 통해 디올로 전환될 수 있다. 카르보닐 화합물과 그리냐드(Grignard) 시약과의 반응으로 2차 (알데히드로부터 개시) 및 3차 (케톤으로부터 개시) 알코올이 생긴다. 이 방법으로 탄소 사슬이 연장된다.

반응 15:



여기서, R'는 H 또는 아세틸, R1은 포화 또는 불포화된, 곧은 또는 분지된 지방족 사슬이고, R20은 포화 또는 불포화된, 곧은 또는 분지된 지방족 사슬이다.

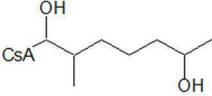
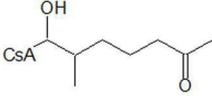
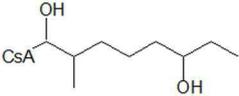
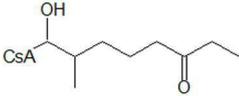
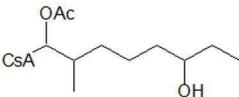
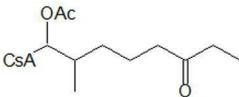
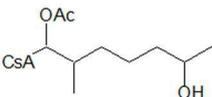
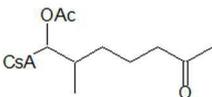
실시예 15: 404-98의 합성



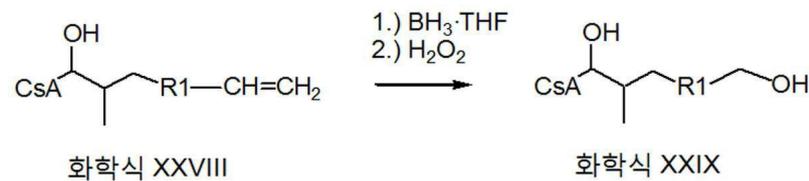
실례로서, 404-61 (0.0365 mmol)을 4.5 mL 무수 EtOH에서 질소 분위기 하에서 용해시킨다. 나트륨 보로히드라이드 (0.15 mmol, 0.5 mL 무수 EtOH에서 현탁됨)를 0°C에서 첨가하고, 수득한 혼합물을 주위 온도에서 밤새 교반한다. 추가 나트륨 보로히드라이드 (0.08 mmol)을 첨가하고, 교반을 밤새 계속한다. 반응물을 5 mL 1 M HCl로

빙욕 냉각 하에서 급랭시키고, EtOAc로 추출한다. 추출물을 염수로 세정하고, 황산나트륨 상에서 건조하고, 농축 건조한다. 조 생성물을 분취 HPLC로 정제한다.

반응 15를 사용하여, 하기 화합물은 합성될 수 있는 화합물의 추가 예이다.

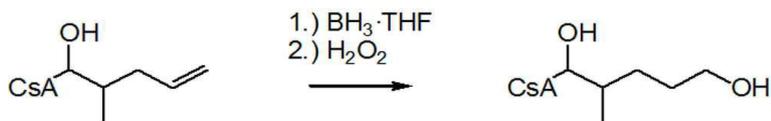
화합물	개시 물질	MS (Na ⁺)
404-98 	404-61 	1256.9
404-195 	404-173 	1271.0
404-198 	404-172 	1313.0
420-09 	404-56 	1298.9

반응 16:



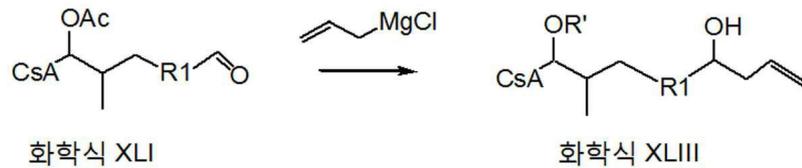
여기서, R1은 포화 또는 불포화된, 곧은 또는 분지된 지방족 사슬이다.

실시예 16: 420-28-1의 합성



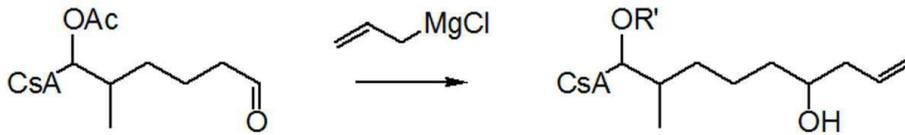
실례로서, 404-16 (0.081 mmol)을 질소 분위기 하에서 4 mL 무수 THF에서 용해시킨다. 반응물을 0℃로 냉각하고, BH₃·THF (1 M sol. In THF, 0.06 mmol)을 첨가한다. 반응물을 실온에서 밤새 교반한다. HPLC는 반응 미완료를 보여준다. 추가 BH₃·THF (0.5 mmol)을 첨가하고, 교반을 4시간 동안 실온에서 계속한다. 반응물을 0℃로 냉각하고, 1.0 mL 1 M NaOH 및 0.30 mL 30 % 과산화수소 용액을 첨가한다. 혼합물을 실온에서 밤새 교반한다. 반응물을 25 mL EtOAc로 추출한다. 추출물을 염수로 세정하고, 황산나트륨 상에서 건조하고, 농축 건조한다. 생성물을 분취 HPLC로 정제한다.

반응 17:



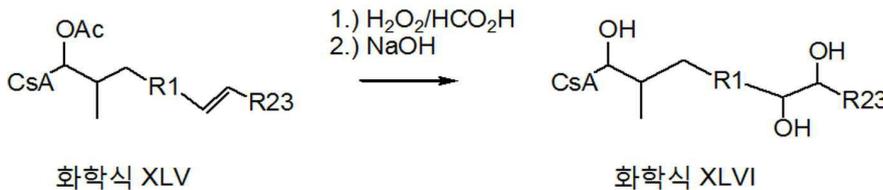
여기서, R1은 포화 또는 불포화된, 곧은 또는 분지된 지방족 사슬이고, R'는 H 또는 아세틸 그룹이다.

실시예 17: 420-49의 합성



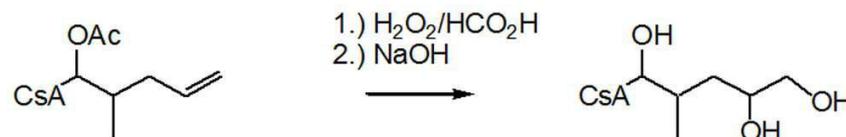
실제로서, 420-49 (0.037 mmol)을 아르곤 분위기 하에서 5 mL 무수 THF에서 용해시킨다. 반응물을 -70°C로 냉각하고, 알릴마그네슘 클로라이드 (1 M sol. THF 중, 0.22 mmol)을 첨가한다. 반응물을 15분 동안 -70°C에서 교반한 다음, 실온이 되게 한다. 90분 후, 반응물을 포화 NH₄Cl 용액으로 급랭시킨다. 반응물을 25 mL EtOAc로 추출한다. 추출물을 염수로 세정하고, 황산나트륨 상에서 건조하고, 농축 건조한다. 생성물을 분취 HPLC로 정제한다. 아세틸화 및 탈아세틸화 화합물의 혼합물을 얻는다.

반응 18:



여기서, R1은 포화 또는 불포화된, 곧은 또는 분지된 지방족 사슬이고, R23은 포화 또는 불포화된, 곧은 또는 분지된 지방족 사슬이다.

실시예 18: 404-126의 합성



실제로서, 404-16 (0.054 mmol)을 1 mL 포름산에서 용해시키고 과산화수소 (30 % 수성 용액, 0.52 mmol)을 첨가한다. 반응물을 실온에서 밤새 교반한 다음, 농축 건조한다. 상기 잔류물을 25mL EtOAc에서 용해시키고, 포화 NaHCO₃ 용액으로 세정하고, 황산나트륨 상에서 건조한다. 용매를 진공에서 제거한다. 반응물을 9 mL THF 및 3 mL 1 M NaOH에서 취하고, 4시간 동안 실온에서 교반한다. 용매를 제거하고, 상기 잔류물을 25 mL EtOAc 및 5 mL H₂O 사이에서 분할했다. 유기 층을 염수로 세정하고, 황산나트륨 상에서 건조한다. 용매를 증발시키고, 조 생성물을 분취 HPLC로 정제한다.

실시예19: 면역억제 및 사이클로필린 이소머라아제 억제

면역억제능

세포 배양에서 인간 림프구의 증식을 억제하는 능력을 측정함으로써 시험 화합물의 면역억제능을 평가하였다. 림프구를 피콜-그라디언트(Ficoll-gradient) 원심분리에 의해 정상 인간 지원자의 혈액으로부터 분리하고 2 μg/mL의 형광 세포분열 추적 분자인 카복시플루오로세인 디아세테이트 숙신이미딜 에스테르 (carboxyfluoroscein diacetate succinimydyl ester, CFSE)로 염색하였다. 세포를 1 μg/mL UCHT-1 항-인간 CD3 항체로 코팅된 96웰의 바닥이 평평한 고결합 플레이트에 300,000/웰로 분주함으로써 CD3/T-세포 수용체를 통해 자극시켰다. 시험

화합물을 우선 디메틸설폭사이드 (DMSO) 중에서 10 mg/mL 모액으로 제조하였다. 상기 DMSO 모액을 500배로 희석한 다음, 세포 배양 배지 (RPMI + 5% FBS + 페니실린-스트렙토마이신) 중에서 3배로 연속 희석함으로써 화합물 당 총 7개의 농도로 준비하였다. 시험 용액을 세포를 함유하는 배양 웰에 동량으로 첨가하여 희석 후 최종 농도가 13.7 ng/mL 내지 10,000 ng/mL이 되도록 하였다. 참조 화합물인 CsA는 1.37-1,000 ng/mL 범위의 농도를 제외하고는 유사하게 제조하였다. CsA를 각 실험에 대한 품질 대조군으로서 그리고 시험 화합물에 대한 참조 비교군으로서 모든 실험에서 분석하였다. 배양 3일 후, 세포를 CD95-APC (림프구 활성화 마커)로 염색하고 Becton Dickinson FACSCalibur를 갖는 유세포분석기에 의해 분석하였다. CFSE 강도의 연속 등분(serial halving)에 의해 결정된 바와 같이 하나 이상의 세포 분열을 겪은 세포의 비율을 측정함으로써 전방/측면 산란된 림프구에서 세포 분열 백분율을 평가하였다. 분열되지 않은 모집단(parent population)은 항-CD3 자극이 없이 배양 중인 시료로부터 결정되었다. 세포 분열 억제에 대한 IC50 값을 비선형 회귀 분석에 의해 결정하였다. 상대적 잠재력을 시험 화합물의 IC50 값을 CsA에 대해 정규화함으로써 산출하였다. 비히클(vehicle) 대조군 대비 세포 표면 CD95 발현의 감소를 측정함으로써 면역억제능을 추가로 분석하였다.

사이클로필린 D 억제 분석

미토콘드리아 팽창 분석을 사용하여 CyP-D와 미토콘드리아 투과성 변이를 차단하는 데 있어서 NICAM의 효능을 측정하였다. 미토콘드리아는 칼슘을 조절하는 능력을 잃어 미토콘드리아 기질 내 과도한 칼슘 축적이 내부 미토콘드리아막에서 커다란 기공이 열리게 한다. 미토콘드리아 투과성 변이라 불리는 과정인, 기공을 통한 1.5 킬로달톤까지의 이온 및 분자의 비선택적 전도(nonselective conductance)는 미토콘드리아의 팽창 및 세포사멸의 귀결되는 다른 사건을 야기한다. 미토콘드리아 투과성 변이공 (MPTP)의 요소 중 하나는 CyP-D이다. CyP-D는 그의 이소머라아제 활성이 MPTP의 열림을 조절하는 이뮤노필린 분자로서, CsA 또는 CsA 유사체에 의한 상기 이소머라아제 활성의 억제가 MPTP의 생성을 억제한다. 일반적으로 시험 화합물이 없거나 존재할 때 랫트 간으로부터 분리된 미토콘드리아가 칼슘에 노출되어 MPTP 열림을 유도하였고, 칼슘 유도된 팽창을 540 nm에서 흡광도의 감소로 측정하였다.

미토콘드리아를 신선한 랫트 간으로부터 분리하였다. 상기 모든 분리 단계 내내 얼음 또는 4°C 조건이 사용되었다. 간을 깨끗히 세척하고 소량의 분리 완충액 (IB; 10 mM Hepes, 70 mM 수크로오스, 210 mM 만니톨, 0.5 mM EDTA)에서 잘게 절단하였다. 잘게 절단된 간의 분취량(aliquot)을 테프론-유리 포터-타입 (potter-Elvehjem) 티슈 그라인더 (tissue grinder)를 이용하여 IB 내에서 균질화시키고 세포 스크린 필터를 통과시켰다. 여과된 균질물을 600g에서 10분 동안 원심분리한 다음, 얻어진 상등액을 7000g에서 10분 동안 원심분리하였다. 상등액을 버리고, 펠렛을 세척 완충액 (10 mM Hepes, 70 mM 수크로오스, 210 mM 만니톨)에서 재현탁하고 마지막으로 7000g에서 10분 동안 원심분리하였다. 상등액을 버리고, 미토콘드리아를 함유하고 있는 펠렛을 2 mL의 호흡 완충액 (RB; 5 mM Hepes, 70 mM 수크로오스, 210 mM 만니톨, 10 mM 나트륨 숙시네이트, 1 mM 나트륨 포스페이트 디베이지)에서 현탁하여 얼음 중에 보관하였다.

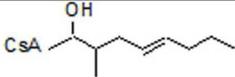
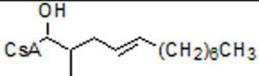
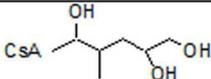
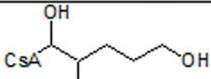
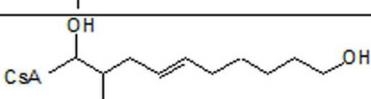
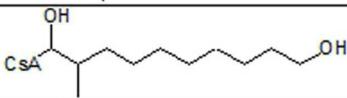
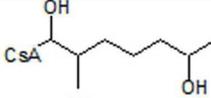
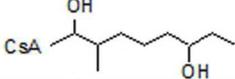
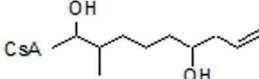
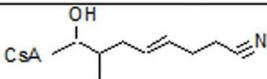
시험 화합물을 우선 1000x로 호흡 완충액 #2 (RB2; 5 mM Hepes, 70 mM 수크로오스, 210 mM 만니톨, 10 mM 나트륨 숙시네이트, 1 mM 나트륨 포스페이트 디베이지, 1% 우태아혈청, 2 μM 로테논 (rotenone))로 희석한 다음, RB2에서 3x-연속 희석하여 10000, 3333, 1111, 370, 123, 41 및 14 ng/mL의 시험 화합물 농도를 얻음으로써, 10 mg/mL 스톱 (디메틸 설폭사이드 비히클)으로부터 시험 화합물 용액을 제조하였다. 모든 제조과정에 폴리스티렌 튜브와 플레이트를 사용하였다.

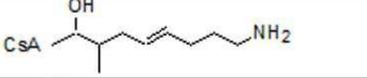
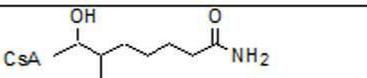
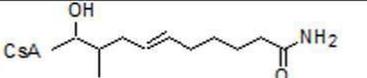
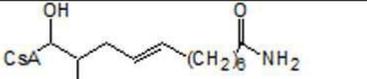
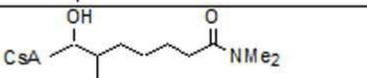
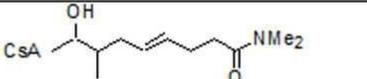
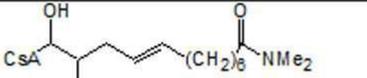
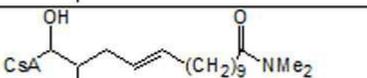
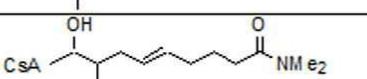
팽창 분석을 96웰의 바닥이 평평한 폴리스티렌 플레이트에서 완료하였다. 각 웰에, 100-200 μg의 총단백질에 해당하는 10 μL의 미토콘드리아 현탁액의 분취물을 90 μL의 시험 화합물과 결합시키고, 10분 동안 배양한 다음, 플레이트 리더 (540 nm 파장; A540) 상에서 기준선(baseline) 흡광도를 측정하였다. 190 μM의 최종 칼슘 농도를 달성하기 위해 4 mM 염화칼슘 5 μL를 첨가하여 팽창을 유도하였다. 미토콘드리아 팽창을 A540에서의 감소로 표시하였다. 칼슘 첨가 후 즉시 그리고 더 이상 A540에서의 감소가 관찰되지 않는 20분까지의 간격을 두고 A540을 측정하였다. 각 시험 화합물 농도에 대해 중복 시료를 분석하였다.

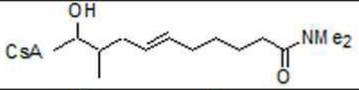
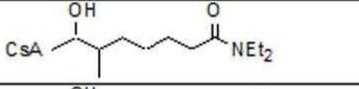
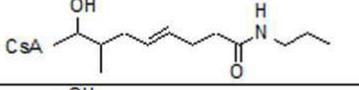
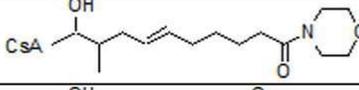
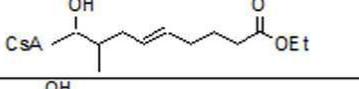
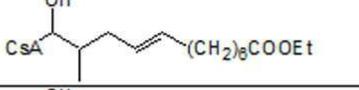
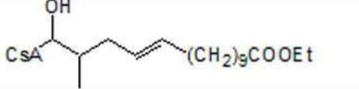
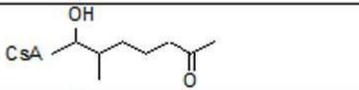
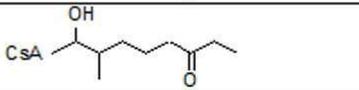
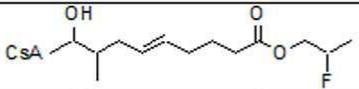
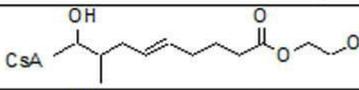
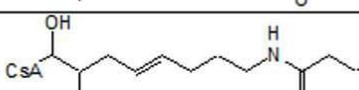
도 1은 CsA의 부재 또는 존재시 염화칼슘의 첨가 후의 미토콘드리아 흡광도의 시간 경과를 나타낸다. A540에서 칼슘-유도된 감소를 차단함으로써 나타낸 바와 같이, CsA는 농도 의존적인 방식으로 미토콘드리아 팽창을 억제하였다. 중복 시료의 평균 및 범위가 나타나 있다.

[표 1]

CsA에 대한 면역억제능 및 CyP 결합에 의해 측정된 NICAM 화합물.

화합물 #	화합물 구조	면역억제율 (CsA에 대한 %)	CYP-D 억제율 (% 효능 대 CsA)
404-26		25	58.4
404-44		1	1.2
404-126		< 1	24.6
420-28		< 1	78.0
420-102		9	77.9
420-112		2	106.7
404-98		3	162.7
404-195		2	143.1
420-49-1		3	143.6
404-194		2	123.2

화합물 #	화합물 구조	면역억제물 (CsA에 대한 %)	CYP-D 억제율 (% 효능 대 CsA)
420-108		1	88.6
420-23		< 1	43.8
420-129		< 1	58
420-17		2	66.2
420-120		3	9.4
420-125		6	42.4
404-130		< 1	114.7
404-164		6	98.9
420-121		6	70.9
404-132		< 1	122.0
404-157		< 1	142.3
420-114		< 1	63.4
420-104		11	55.8
404-156		1	82.2

화합물 #	화합물 구조	면역억제율 (CsA에 대한 %)	CYP-D 억제율 (% 효능 대 CsA)
404-154		2	119.4
404-85		2	128.7
404-178		< 1	71.3
404-162		< 1	91.1
404-171		3	75.5
420-113		< 1	33.2
420-103		10	15.5
404-61		3	118.8
404-173		4	150.6
420-24		< 1	71.9
404-182		1	134.8
420-30-1		2	131.5
420-122		1	91.2
420-126		1	101.9

화합물 #	화합물 구조	면역억제율 (CsA에 대한 %)	CYP-D 억제율 (% 효능 대 CsA)
420-132		4	89.9
420-131		< 1	111.8
420-117		5	79.2
420-124		8	97.4
394-136		< 1	9.2
404-60		< 1	116.7
420-19		< 1	193.6
420-43		1	123.6
420-47		3	118.0
404-81-2		4	104.4
404-95		4	93.4
404-97		6	112.2
404-125		6	135.4
404-93-1		< 1	150.8

화합물 #	화합물 구조	면역억제율 (CsA에 대한 %)	CYP-D 억제율 (% 효능 대 CsA)
404-81-1		7	178.7

표 1은 상기 반응 1-18을 이용하여 합성될 수 있는 대표적인 화합물인, 많은 동정된 NICAM을 나타낸다. NICAM은 CsA의 면역억제능의 <10%를 나타내는 반면, CsA의 CyP 결합의 >5%를 보유하고 있다. 많은 경우에, NICAM의 CyP 결합은 CsA의 >50%를 반면, CsA에 비해 NICAM의 면역억제능을 <5%로 감소시킨다.

본 발명이 다양한 구체예와 실시형태가 기술된 상세한 설명을 통해 설명되었음에도 불구하고, 본 발명의 권리범위가 본원에 제시된 실시예에 한정되지는 않음이 당업자에게 자명할 것이다. 본 발명은 첨부된 청구항에 제시된 것과 동등할 것으로 보여지는 임의의 요소나 형태를 포함하는, 본 특허 명세서의 청구항에 상응하는 권리범위를 갖는다.

도면

도면1

