



등록특허 10-2480429



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년12월21일
(11) 등록번호 10-2480429
(24) 등록일자 2022년12월15일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07H 15/04 (2006.01) *A61K 39/085* (2006.01)
A61K 39/09 (2006.01) *C07K 16/12* (2006.01)
G01N 33/569 (2017.01)
- (52) CPC특허분류
C07H 15/04 (2013.01)
A61K 39/085 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2017-7008075
- (22) 출원일자(국제) 2015년09월28일
심사청구일자 2020년09월01일
- (85) 번역문제출일자 2017년03월23일
- (65) 공개번호 10-2017-0062458
- (43) 공개일자 2017년06월07일
- (86) 국제출원번호 PCT/EP2015/072294
- (87) 국제공개번호 WO 2016/046420
국제공개일자 2016년03월31일
- (30) 우선권주장
14186597.2 2014년09월26일
유럽특허청(EPO)(EP)
15163290.8 2015년04월10일
유럽특허청(EPO)(EP)
- (56) 선행기술조사문헌
J. Am. Chem. Soc., 1957, 79, 2787-2793
WO2013178236 A1
WO1996040225 A1

- (73) 특허권자
막스-플랑크-게젤샤프트 츄어 퍼트더통 데어 비센
샤프텐 에.파우.
독일 뮌헨 데-80539 호프가르텐슈트라쎄 8
- (72) 발명자
제베르거, 페터
독일, 14532 클라인마흐노브, 루돌프-브라이트샤
이트-슈트라쎄 46
페라이라, 클라나이 레베브
독일, 12203 베를린, 호르텐시엔슈트라쎄 66
(뒷면에 계속)

- (74) 대리인
성낙훈

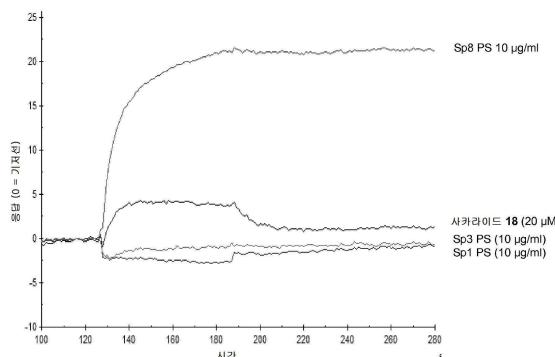
전체 청구항 수 : 총 15 항

심사관 : 방성철

(54) 발명의 명칭 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8에 대한 백신

(57) 요약

본 발명은 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8에 연관되는 일반식 (I)의 합성 사카라이드, 그의 콘쥬게이트 및 인간 및/또는 동물 숙주에서 보호성 면역 반응을 향상시키기 위한 상기 사카라이드 및 콘쥬게이트의 용도에 관한 것이다. 게다가, 일반식 (I)의 합성 사카라이드 구조는 스트렙토코커스 뉴모니에 박테리아에 대한 항체의 검출을 위한 면역학적 분석에서 표지자로서 유용하다.

대 표 도

(52) CPC특허분류

A61K 39/092 (2013.01)

C07K 16/1271 (2013.01)

G01N 33/56944 (2013.01)

G01N 2333/3156 (2013.01)

(72) 발명자

아니쉬, 착콤칼

네덜란드, 엔엘-2592에이알 텐 하그, 블라스캄프 594

슈만, 벤야민

독일, 10405 베를린, 콜비츠슈트라쎄 12

파라메스바라파, 샤라바티 구데할리

독일, 12203 베를린, 호르텐시엔슈트라쎄 66

함, 흥식

미국, 22903 버지니아, 살로츠빌, 454 페리쉬 서클
아파트 비24

고빈담, 수브라마니안

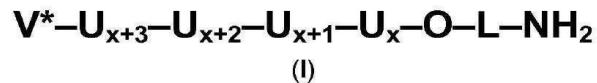
인도, 600100 타밀 나두, 메다바캄 첸나이, 바다쿠
파투 메인 로드, 씨루벤가담 나갈, 뉴 넘버 1/999
4번째 스트리트

명세서

청구범위

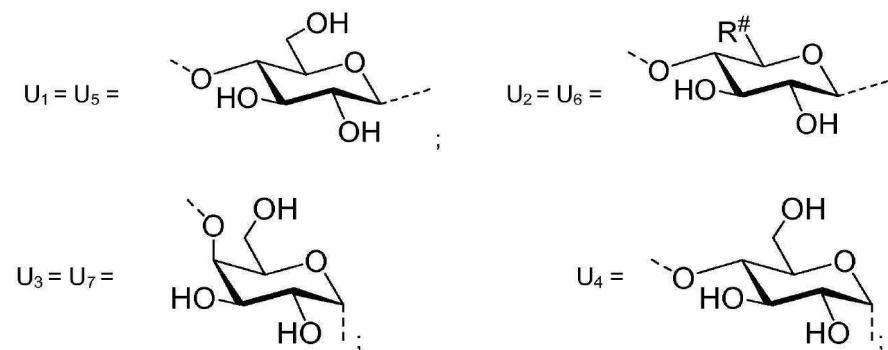
청구항 1

일반식 (I)의 사카라이드 또는 그의 약제학적으로 수용가능한 염:



여기에서

x 는 1, 2, 3 및 4로부터 선택되는 정수이고;



V^* 는 H^- , $H-U_x^-$ 또는 $H-U_{x+1}-U_x^-$ 를 나타내고;

$R^{\#}$ 는 $-COOH$ 또는 $-CH_2OH$ 를 나타내고;

L 은 $-(CH_2)_o-$ 를 나타내고, o 는 1에서 10까지의 정수이다.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 여기에서 $R^{\#}$ 가 $-COOH$ 를 나타내는 사카라이드.

청구항 3

제 1 항에 있어서, 여기에서 V^* -가 $H-U_{x+1}-U_x^-$ 를 나타내는 사카라이드.

청구항 4

제 1 항에 있어서, 여기에서 V^* -가 $H-U_x^-$ 를 나타내는 사카라이드.

청구항 5

제 1 항에 있어서, 여기에서 V^* -가 $H-$ 를 나타내는 사카라이드.

청구항 6

제 1 항에 있어서, 여기에서 x 가 3을 나타내는 사카라이드.

청구항 7

제 1 항에 있어서,

4-아미노부틸 α -D-갈락토피라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토피라노시드 (75);

6-아미노 헥사닐 α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토피라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코피라노시드 (76);

3-아미노프로필 β -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토피라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코피라노시드 (77);

5-아미노 펜타닐 β -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토피라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코피라노시드 (78);

4-아미노부틸 α -D-갈락토피라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코피라노시드 (79);

3-아미노프로필 α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토피라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코피라노시드 (80);

6-아미노 헥사닐 β -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토피라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코피라노시드 (81)

로 이루어지는 군으로부터 선택되는 사카라이드.

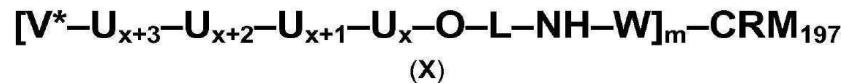
청구항 8

-O-L-NH₂기의 질소원자를 통하여 면역원성 담체에 공유적으로 연결된 제 1 항에 따른 일반식 (I)의 사카라이드를 포함하고, 상기 면역원성 담체는 CRM₁₉₇인 콘쥬게이트.

청구항 9

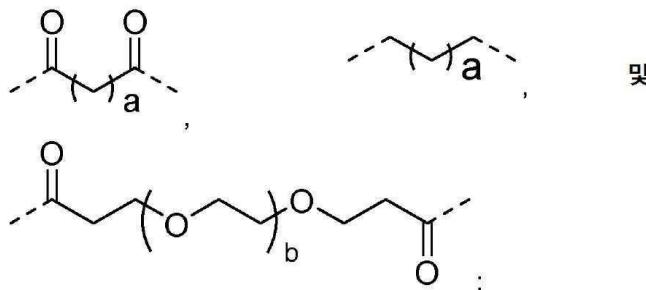
제 8 항에 있어서,

일반식 (X)의 콘쥬게이트:



여기에서 m은 2 내지 18 사이에 포함되고;

-W-는:



로부터 선택되고;

a는 1 내지 10의 정수를 나타내고;

b는 1 내지 4의 정수를 나타내고;

V^{*}, U_{x+3}, U_{x+2}, U_{x+1}, U_x, x 및 L은 제 1 항 내지 제 7 항 중의 어느 한 항에서 정의된 의미를 갖는다.

청구항 10

인간 또는 동물 숙주에서 보호성 면역 반응을 향상시키기 위한 제 1 항에 따른 사카라이드 또는 제 8 항에 따른 콘쥬게이트.

청구항 11

스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8의 협막 폴리사카라이드 내에 하기 사카라이드 단편:

$\alpha-D-GlcP-(1 \rightarrow 4)-\alpha-D-GalP-(1 \rightarrow 4)-\beta-D-GlcAp-(1 \rightarrow 4)-\beta-D-GlcP,$

$\beta-D-GlcP-(1 \rightarrow 4)-\alpha-D-GlcP-(1 \rightarrow 4)-\alpha-D-GalP-(1 \rightarrow 4)-\beta-D-GlcAp,$

$\beta-D-GlcAp-(1 \rightarrow 4)-\beta-D-GlcP-(1 \rightarrow 4)-\alpha-D-GlcP-(1 \rightarrow 4)-\alpha-D-GalP,$

$\alpha-D-GalP-(1 \rightarrow 4)-\beta-D-GlcAp-(1 \rightarrow 4)-\beta-D-GlcP-(1 \rightarrow 4)-\alpha-D-GlcP,$

여기서 $GlcP$ 는 글루코파라노실을 나타내고; $GalP$ 는 갈락토파라노실을 나타내며; $GlcAp$ 는 글루코파라노실 우론산을 나타냄;

중의 하나를 포함하는 박테리아와 연관되는 질환의 예방 또는 치료에 사용하기 위한 제 1 항에 따른 사카라이드 또는 제 8 항에 따른 콘쥬게이트.

청구항 12

제11 항에 있어서, 여기에서 박테리아가 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8인 사카라이드 또는 콘쥬게이트.

청구항 13

제 11 항에 있어서, 여기에서 박테리아와 연관되는 질환이 폐렴, 뇌수막염, 중이염, 균혈증 및 만성 기관지염의 급성 악화, 부비강염, 관절염 및 결막염을 포함하는 군으로부터 선택되는 사카라이드 또는 콘쥬게이트.

청구항 14

적어도 하나의 약제학적으로 수용가능한 보조제, 부형제 또는 희석제와 함께 제 1 항에 따른 사카라이드 또는 제 8 항에 따른 콘쥬게이트를 포함하고,

상기 보조제는 프로인트 보조제, 사포닌, 알루미늄 또는 칼슘염, 비-이온성 블록 폴리머 계면활성제 또는 α -갈락토실세라마이드인 백신.

청구항 15

스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8에 대한 항체의 검출을 위한 면역학적 분석에서의 표지자로서 사용되기 위한 제 1 항에 따른 사카라이드.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 일반식 (I)의 합성 사카라이드, 그의 콘쥬게이트(conjugate) 및 인간 및/또는 동물 숙주에서 보호성 면역 반응을 향상시키기 위한 상기 사카라이드 및 콘쥬게이트의 용도에 관한 것이다. 게다가, 일반식 (I)의 합성 사카라이드 구조는 스트렙토코커스 뉴모니에(*Streptococcus pneumoniae*) 박테리아에 대한 항체의 검출을 위한 면역학적 분석에서 표지자(marker)로서 유용하다.

배경 기술

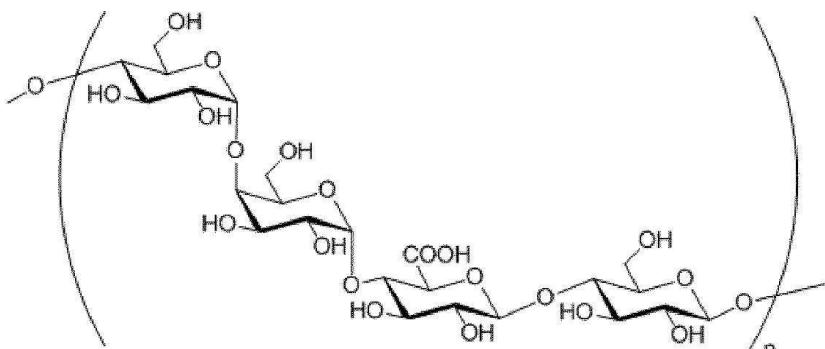
[0002] 스트렙토코커스 뉴모니에는 기도의 감염의 주요 원인이고 중증의 침습성 폐렴구균 질환 (IPD)인 그램-양성의, 캡슐화된 박테리아이다. 현재까지 90종 이상의 서로 다른 폐렴구균 혈청형이 기술되었다. 이들은 각 혈청형에 대하여 독특한 그들의 협막 폴리사카라이드 (CPS: capsular polysaccharide)의 구조로 분류된다. 따라서, CPS에 대해 발생되는 면역 반응은 서로 다른 혈청형들 간에서 변화한다. 이는 래빗에서 각 혈청형의 항원에 대한 특정한 항체를 생성하는 데 사용된다. 서로 다른 혈청형들의 CPS의 구조적 유사성으로 인하여 이러한 특정한 항체들 및 이들에 의해 야기된 것 이외의 다른 혈청형 간의 교차-반응이 종종 관측된다. 그의 면역학적 특성으로 인하여, CPS는 스트렙토코커스 뉴모니에 백신의 주요 구성요소로서 사용된다.

[0003] 4가지 서로 다른 혈청형의 CPS를 포함하는 최초의 효율적인 백신이 1945년에 기술되었다. 계속해서 14가지 혈청형을 커버하는 백신이 도입될 때까지 30년이 소요되었고 직후에 23-가(23-valent)의 백신이 도입되었다. 그러나, 이러한 폴리사카라이드 백신은 여러 단점들을 가졌다. 이들은 장기 보호를 이끌어낼 수 없고 감염에 가장 취약한 개체군(population) 즉 2살 이하의 어린이와 마찬가지로 면역결핍 환자 및 노령 환자에서 효과적이지 않았다. 이러한 단점은 탄수화물의 면역학으로부터 야기되며 탄수화물-단백질 콘쥬게이트 백신의 도입에 의하여 극복되었다. 최초의 폐렴구균 콘쥬게이트 백신은 7-가 (PCV-7) 및 10-가 (PCV-10) 백신이었다. PCV-7은 후에 가장 최근의 백신 (PCV-13)으로 대체되었으며, 이는 13가지 서로 다른 혈청형의 CPS-글리코콘쥬게이트를 포함한다.

[0004] 현재 시판되는 백신은 북미 및 유럽에서 특정한 연령의 개인에 대하여 유효하다. 이러한 백신의 제조 방법은 복잡하고 더 높은 가격이라는 결과를 가져온다. 따라서, 백신은 대부분의 개발도상국들에서는 공급불가능하다. 본 발명의 목적은 개발도상국의 가장 일반적인 혈청형들 중의 하나를 포함하는 공급가능한 합성 사카라이드 백신을 제공하는 것이다.

[0005] 스트렙토코커스 뉴모니아 혈청형 8(*Streptococcus pneumoniae* serotype 8)은 혈청형 치환 및 최근 수십년 동안 점진적으로 증가하는 침습성 폐렴구균 질환의 사례들과 연관된다.

[0006] 스트렙토코커스 뉴모니에 타입 8은 일반적인 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형들 중의 하나이다. 천연 Sp8 협막 폴리사카라이드 반복 단위의 구조는 시퀀스 $\rightarrow 4\text{-Glc}\alpha\text{-(1}\rightarrow 4\text{-Glc}\alpha\text{-(1}\rightarrow 4\text{-GlcA}\beta\text{-(1}\rightarrow 4\text{-Glc}\beta\text{ (1}\rightarrow$ (*J. Am. Chem. Soc.* 1957, 79 (11), 2787)를 수반하는 테트라사카라이드이다:



[0007]

[0008] 흥미롭게도, 천연 혈청형 8 테트라사카라이드 반복 단위는 혈청형 3의 디사카라이드 반복 단위를 품는다. 따라서, 비록 개개 이종 폴리사카라이드에 의한 항체의 침강이 불완전하기는 하나, 혈청형 3 및 8에 대한 혈청 간에서 교차-반응이 발견되었다. 불충분한 에피토프 오버랩(epitope overlap)은 이러한 백신을 제조하기 이전에 교차-반응에 대한 과도한 숙고에도 불구하고 왜 두 혈청형으로부터의 협막 폴리사카라이드 (CPS)가 23-가 폴리사카라이드 백신 중에 포함되었는지의 이유가 될 수 있다.

[0009] WO 9640225 A1은 EDC를 사용하여 파상풍 변독소(tetanus toxoid)에 결합된 2 내지 4개의 반복 단위의 혼합물로 이루어지는 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8 올리고사카라이드 단백질 콘쥬게이트를 제공한다. 2 내지 4개의 반복 단위의 혼합물은 협막 폴리사카라이드의 비-선택적 개열 및 후속하는 크기배제 크로마토그래피(size exclusion chromatography)에 의해 수득된다. 분해 동안 또는 병원체에 의한 면역 회피 전략(immune evasion strategy)의 일부로서 도입된 단리된 불순물 및 신규 에피토프로 인하여 협막 폴리사카라이드의 분해에 의하여 수득되는 올리고사카라이드가 높은 정도의 이질성(heterogeneity)을 제공한다는 것은 잘 알려져 있다. WO 9640225 A1의 경우에 있어서, 이러한 이질성은 비-선택적 개열 (TFA, 100 °C)에 의해 증가되며, 이는 2개의 반복 단위를 포함하는 분획에 대하여 적어도 4개의 사카라이드의 혼합물을 야기한다. 따라서, 협막 폴리사카라이드로부터 단리된 올리고사카라이드는 숙주 면역계에 의한 "비-자기(non-self)"로서 인식되는 구조적 결정요인(structural determinant)에 따라 잠재적 면역원성 에피토프의 세트를 포함한다. 따라서, WO 9640225 A1의 콘쥬게이트 등과 같은 단리된 올리고사카라이드의 콘쥬게이트에 기초하는 면역화의 단점은 그 중 일부가 비-보호성이거나 (즉, 이끌려지는 항체가 스트렙토코커스 뉴모니에 타입 8과 연관된 질환으로부터 보호하지 못하거나) 면역우세(immunodominant)인 다중 면역원성 에피토프 쪽으로 지향되는 폴리클로날 면역 반응의 생성이다. 이러한 폴리클로날 면역 반응은 건강한 (종종 유아) 개체군에 예방학적으로 투여되는 백신에 대해서는 수용가능하지 않은 독성을 야기한다. 이러한 단점은 본 발명의 순수한 사카라이드에 의하여 극복되었으며, 이는 잘-정의된 구

조, 임상적인 응용에 적절한 정도의 순도 및 무 배치-대-배치 변동성을 제공한다.

[0010] 게다가, WO 9640225 A1은 1 반복 단위를 포함하는 올리고사카라이드의 혼합물 즉 테트라사카라이드의 혼합물이 면역원성 에피토프를 포함하지 않는다는 것과 적어도 옥타사카라이드의 혼합물이 스트렙토코커스 뉴모니에 타입 8에 대한 콘쥬게이트를 제조하는 데 요구된다는 것을 기술하고 있다. 놀랍게도, 본 발명자들은 심지어 여기에서 기술된 짧은 사카라이드가 보호성 글리칸 에피토프를 포함하고 인간 및/또는 동물 숙주 내에서 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8 박테리아에 대한 보호성 면역 반응을 유도할 수 있다는 것을 발견하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0011] 따라서, 본 발명의 목적은 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8의 협막 폴리사카라이드에 연관되고 스트렙토코커스 뉴모니에 타입 8에 의해 야기되는 질환에 대하여 보호하는 항체에 의해 이끌어내지고 인식되는 보호성 면역 원성 글리칸 에피토프 즉 글리칸 에피토프를 포함하는 일반식 (I)의 순수한 합성 사카라이드를 제공하는 것이다. 상기 사카라이드는 면역원성 담체에 콘쥬게이트화되어 스트렙토코커스 뉴모니에에 연관된 질환, 그리고 보다 특별하게는 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8에 연관된 질환에 대한 예방 및/또는 치료에 유용한 콘쥬게이트 및 그의 약제학적 조성물을 제공하기에 적절하다. 게다가, 일반식 (I)의 합성 사카라이드는 스트렙토코커스 뉴모니에 박테리아에 대한 항체의 검출을 위한 면역 분석에서 표지자로서 유용하다.

과제의 해결 수단

[0012] 본 발명의 목적은 독립 청구항의 교시에 의해 해결된다. 게다가 본 발명의 이로운 특징, 양태 및 상세는 본원의 종속 청구항, 상세한 설명, 도면 및 실시예들로부터 명백하다.

도면의 간단한 설명

[0013] 도 1: 본 발명에 따른 상용적으로 획득가능한 중간연결 분자.

도 2: 본 발명에 따른 중간연결 분자의 관능기 X의 예.

도 3: (A)는 담체 단백질과 콘쥬게이트된 테트라사카라이드의 예. (B)는 글리코스팡고리피드와 콘쥬게이트된 테트라사카라이드의 예. (C)는 고체 지지체 상에 콘쥬게이트된 테트라사카라이드의 예. 테트라사카라이드는 단지 예로서 기능하고 일반식 (I)의 임의의 사카라이드로 치환될 수 있다.

도 4: (A) 사카라이드 기호. (B) 상용적으로 획득가능한 혈청 007sp를 사용하는 글리칸 어레이 분석: 형광 표지된 항-인간 IgM 이차 항체 (Alexa Fluor 488 고트 항-인간 IgM(goat anti-human IgM), Invitrogen A21215)를 사용하여 검출이 수행되었다 (C) 상용적으로 획득가능한 혈청 007sp를 사용하는 글리칸 어레이 분석: 형광 표지된 항-인간 IgG 이차 항체 (Alexa Fluor 647 고트 항-인간 IgG, Invitrogen A21445)를 사용하여 검출이 수행되었다; (D) SP-8 래빗 타입 혈청을 사용하는 글리칸 어레이 분석: 형광 표지된 항-래빗 IgG 이차 항체 (고트 항-래빗 IgG-FITC, abcam ab6717)를 사용하여 검출이 수행되었다.

도 5: 마우스 1160의 면역 반응: (A) 마이크로어레이 인쇄 패턴(microarray printing pattern); (B) 마우스 1160의 면역 반응 (기간 0일차 내지 35일차): 형광 표지된 항-마우스 IgG 이차 항체 (래빗 항-마우스 IgG-FITC, F9137, Sigma)를 사용하여 검출이 수행되었다.

도 6: 항 SP-8 모노클로날 항체의 생성: 형광 표지된 항-마우스 이차 항체 (Alexa 635 고트 항-마우스 IgG, Invitrogen A31574)를 사용하여 검출이 수행되었다.

도 7: 표면 플라스몬 공명(surface plasmon resonance): 모노클로날 항체 mAb 1H8은 합성 사카라이드 18 및 천연의 Sp8 폴리사카라이드 둘 다를 인식한다.

도 8: 면역형광 염색 결과(immunofluorescence staining results): 콘쥬게이트 59로의 면역화가 천연의 SP-8 폴리사카라이드 및 ST8 박테리아를 인식하는 면역 반응을 유도한다. 박테리아는 FITC로 표지되고 표시된 일차 항체와 함께 배양되었다. Alexa 635-표지 고트 항-마우스 IgG 이차 항체 (A31574, Invitrogen)와 함께 배양한 후 항체 결합을 가시화시켰다. (A) 스트렙토코커스 뉴모니에 ST8, mAb 1H8; (B) 스트렙토코커스 뉴모니에 ST8, mAb 동종 대조(isotype control) (항 에르시니아 페스티스 LPS 코어(anti *E. coli* LPS core)); (C) 스트렙토코커스 뉴모니에 ST1; mAb 1H8.

도 9: 형광 표지된 폐렴구균의 유세포 분석: (A) mAb 1H8 또는 동종 대조로의 표지화(labeling) 이후의 대표적인 유세포 분석 결과; (B) mAbs 1H8 또는 1F1를 사용하는 적어도 3회의 독립적인 표지화 실험의 누적 결과. 막대 그래프는 양성 결합(positive binding)의 평균 ± 표준편차를 나타낸다. ***P<0.001; ****P<0.0001. 두 모노클로날 항체 1H8 및 1F1은 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8에 결합하나, 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 1 또는 3에는 결합하지 않는다. 항체 동종 대조에 의하거나 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 1 또는 3 쪽으로의 결합이 관측될 수 없기 때문에 모노클로날 항체와 스트렙토코커스 뉴모니에 타입 8 폐렴구균 간의 상호작용은 특이적이다.

도 10: mAb 1H8의 존재 중에서의 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8 박테리아의 옵소닌식세포작용 사멸(opsonophagocytotoxic killing): 동종 항체가 아닌 mAb 1H8가 Pneumovax23® 백신화 인간 (007sp, 1:4 희석) 및 래빗 ST8 타입 혈청 (1:4 희석)로부터의 혼합혈청으로서 모든 시험된 투여량(dose)에서 유사한 효능으로 식세포작용에 의한 사멸을 위하여 생 박테리아를 옵소닌화한다.

도 11: (A) 사카라이드 19, 49, 90, 60, 62, 55 및 57에의 mAb 1H8 및 1F1의 결합의 마이크로어레이 분석. 막대 그래프는 4 점의 배경에 대하여 정규화(normalized)시킨 형광 세기의 평균 ± 표준편차를 나타낸다. MFI, 평균 형광 세기: 트리사카라이드 62, 테트라사카라이드 19, 테트라사카라이드 60, 펜타사카라이드 55 및 헥사사카라이드 57, 그러나 보다 작은 구조 49 및 90들은 by mAbs 1H8 및 1F1에 의하여 유사한 세기를 인식하지 못하였다; (B) SP8 CPS로 사전-흡착시킨 ($10\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도) mAb 1H8 및 1F1 ($100\mu\text{g}/\text{mL}$)와의 결합의 저해. 비모수, 웰치 보정(Welch's correction)을 수반하는 단측 t 검정(one-tailed t test): **P<0.01; ***P<0.001: 펜타사카라이드 55 및 헥사사카라이드 57에의 mAbs 1H8 및 1F1의 결합이 천연의 SP8 폴리사카라이드로의 억제에 의하여 폐지되었다; (C) 화합물 90의 구조.

도 12: 사카라이드 19, 20, 21 및 22에의 mAb 28H11 (보호성 뮤린 IgM)의 결합의 마이크로어레이 분석. (A) mAb 28H11의 서로 다른 농도에서의 결합. (B) 천연 스트렙토코커스 뉴모니에 타입 8 CPS ($10\mu\text{g}/\text{mL}$)의 첨가에 의한 화합물 19에의 mAb 28H11의 결합의 억제.

도 13: MALDI-MS에 의한 콘쥬게이트 CRM₁₉₇-18, CRM₁₉₇-60 및 CRM₁₉₇-57의 특징.

도 14: 래빗에서의 콘쥬게이트 CRM₁₉₇-18, CRM₁₉₇-60 및 CRM₁₉₇-57에 대한 면역 반응의 평가. (A)-(D), 스트렙토코커스 뉴모니에 타입 8-연관 글리칸 (1:50 희석)에 대한 면역 반응의 글리칸 마이크로어레이 분석. (A) 21일차에서의 글리칸 마이크로어레이 분석. 콘쥬게이트로 면역화된 모든 래빗이 스트렙토코커스 뉴모니에 타입 8 CPS-연관 올리고사카라이드 및 ST8 CPS에 대하여 뚜렷한 면역 반응을 나타내고 있다. (B) CRM₁₉₇-18 또는 CRM₁₉₇ 단독으로 면역화된 래빗의 테트라사카라이드 19에 대한 면역 반응의 시간 경로. (C) CRM₁₉₇-60 또는 CRM₁₉₇ 단독으로 면역화된 래빗의 헥사사카라이드 60에 대한 면역 반응의 시간 경로. (D) CRM₁₉₇-57 또는 CRM₁₉₇ 단독으로 면역화된 래빗의 헥사사카라이드 57에 대한 면역 반응의 시간 경로. (E) 폴리사카라이드 ELISA (1 : 50 희석)에 의해 평가된 면역화된 래빗의 스트렙토코커스 뉴모니에 CPS에 대한 면역 반응의 시간 경로. 값들은 사전-면역 혈청의 값들에 대하여 비교한 배증량(fold increase)을 묘사한다. (F) 폴리사카라이드 ELISA에 의해 평가된 21일차에서의 스트렙토코커스 뉴모니에 타입 8 CPS에 대한 면역 반응의 비교. 통계학적 분석이 수행되었고 (일원분산분석(one-way ANOVA), Bonferroni correction) 별표는 P 값을 묘사한다: n.s. 무의미(not significant); * P < 0.05; ** P < 0.005. G, 폴리사카라이드 ELISA에 의해 평가된 바와 같은 서로 다른 희석에서 21일차에서의 스트렙토코커스 뉴모니에 타입 8 CPS에 대한 면역 반응의 비교. 래빗-유래 스트렙토코커스 뉴모니에 타입 8 타입 혈청이 대조로서 사용되었다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

정의

[0014] 여기에서 사용된 바와 같은 용어 "링커(linker)"는 선택적으로 적어도 하나의 중간연결 분자에의 결합에 의하여 사카라이드의 환원성-말단 모노사카라이드(reducing-end monosaccharide)를 면역원성 담체 또는 고체 지지체와 연결할 수 있는 분자 단편을 포함한다. 따라서, 그 자체 또는 중간연결 분자와의 조합으로의 링커의 기능은 환원성-말단 모노사카라이드와 면역원성 담체 또는 고체 지지체 간에 특정한 거리를 구축하고, 유지하고/하거나 가교하는 것이다. 특히, 링커의 하나의 극단(extremity)은 환원성-말단 모노사카라이드의 아노머 중심의 환원산소원자에 연결되고 다른 극단은 질소원자를 경유하여 중간연결 분자와 또는 직접적으로 면역원성 담체 또는

고체 지지체와 연결된다.

[0016] 여기에서 사용된 바와 같이, 용어 "중간연결 분자(*interconnecting molecule*)"는 관능기 X 및 관능기 Y를 포함하는 이관능 분자를 의미하며, 여기에서 관능기 X는 링커 L 상의 말단 아미노기와 반응할 수 있고 관능기 Y는 면역원성 담체 상에 또는 고체 지지체 상에 존재하는 관능성(functionality)과 반응할 수 있다. 도 1은 상용적으로 획득가능한 중간연결 분자의 예를 나타내나, 본 발명에 따라 사용될 수 있는 중간연결 분자가 여기에서 나타낸 예로 제한되는 것은 아니다.

[0017] 여기에서 사용되는 바와 같은 용어 "보조제(*adjuvant*)"는 면역 보조제(*immunological adjuvant*), 즉 백신 조성물 내에 사용되어 항원과 관련하여 연관됨이 없이 백신 내에 포함된 주어진 항원에 대한 면역 반응을 증강시키는 것에 의하여 상기 백신의 효능을 변경시키거나 또는 증가시키는 물질을 의미한다. 당해 기술분야에서 숙련된 자들에게 전통적으로 인식된 보조제의 예들에는:

- 칼슘염 및 알루미늄염(또는 이들의 혼합물)을 포함하여 미네랄-함유 조성물. 칼슘염에는 인산칼슘이 포함된다. 알루미늄염에는 임의의 적절한 형태(예를 들면, 젤(gel), 결정(crystalline), 비정질(amorphous) 등)를 취하는 염들과 함께 수산화물, 인산화물, 황산화물이 포함된다. 이를 염들에의 흡착이 바람직하다. 미네랄 함유 조성물은 또한 금속염의 입자로 제형화될 수 있다. 수산화알루미늄 및 인산알루미늄으로 공지된 보조제가 또한 사용될 수 있다. 본 발명은 보조제로서 일반적으로 사용되는 임의의 "수산화물" 또는 "인산화물" 보조제를 사용할 수 있다. "수산화알루미늄"으로 공지된 보조제는 전형적으로는 알루미늄옥시하이드록사이드 염(aluminium oxyhydroxide salt)이며, 이는 대개는 적어도 부분적으로 결정이다. "인산알루미늄"으로 공지된 보조제는 전형적으로는 또한 소량의 황산화물을 포함하는(즉, 알루미늄하이드록시포스페이트설페이트(aluminium hydroxyphosphate sulfate) 알루미늄하이드록시포스페이트이다. 이들은 침강법으로 수득될 수 있고, 침강 동안의 반응 조건 및 농도가 염 중의 하이드록실에 대한 인산의 치환의 정도에 영향을 준다. 알루미늄하이드록사이드 및 알루미늄포스페이트 둘 다의 혼합물들이 본 발명에 따른 제형에서 사용될 수 있다;

- 광범위한 식물종들의 껍질, 잎, 줄기, 뿌리 심지어 꽃에서 발견되는 스테롤 배당체(sterol glycoside) 및 트리테르페노이드 배당체(triterpenoid glycoside)의 이종 군(heterologous group)인 사포닌(saponin). 퀼라야(Quillaia saponaria), 몰리나 나무(Molina tree) 껍질에서 수득된 사포닌이 보조제로서 광범위하게 연구되어 왔다. 사포닌은 또한 스밀락스 오르난타(Smilax ornata)(sarsaparilla), 짐소필라 파니쿨라타(Gypsophilla paniculata)(brides veil) 및 사포나리아 오피시아날리스(Saponaria officianalis)(soap root)로부터 상용적으로 수득될 수 있다. 사포닌 보조제 제형에는 ISCOMs 등과 같은 액체 제형과 마찬가지로 QS21 등과 같은 정제된 제형들이 포함된다. 사포닌 조성물은 고성능 액체크로마토그래피(HPLC) 및 역상-고성능 액체크로마토그래피(RP-HPLC)를 사용하여 정제되었다. 이를 기술들을 사용하는 특정한 정제된 분획들이 QS7, QS 17, QS 18, QS2 1, QH-A, QH-B 및 QH-C를 포함하여 동정되었다. 사포닌 제형들은 또한 콜레스테롤 등과 같은 스테롤을 포함할 수 있다. 사포닌과 콜레스테롤의 조합을 사용하여 면역자극 복합체(ISCOMs: immunostimulating complexes)라 불리우는 독특한 입자를 형성할 수 있다. ISCOMs에는 일반적으로 포스파티딜에탄올아민 또는 포스파티딜콜린 등과 같은 인지질이 포함된다. 임의의 공지된 사포닌이 ISCOMs에서 사용될 수 있다. 바람직하게는, ISCOM에는 Qu1A, QHA 및 QHC 중의 하나 이상이 포함된다;

- 생분해성이고 비-독성인 물질로 형성된 미소구(microparticle)(즉, 직경 100 nm 내지 150 pm, 보다 바람직하게는 직경 200 nm 내지 30 pm 또는 직경 500 nm 내지 10 pm의 입자). 이러한 비-독성 및 생분해성 물질에는 폴리(알파-하이드록시산)(poly(α -hydroxy acid)), 폴리하이드록시부티르산(polyhydroxybutyric acid), 폴리오르토에스테르(polyorthoester), 폴리산 무수물(polyanhydride), 폴리카프로락톤(polycaprolactone) 등이 포함되나, 이들로 제한되는 것은 아니다;

- 알파-글리코실세라마이드(α -glycosylceramide), 피토스핑고신-함유 알파-글리코실세라마이드(phytosphingosine-containing α -glycosylceramides), OCH, KRN7000 [(2S,3S,4R)-1-O-(α -D-갈락토파라노실)-2-(N-헥사코사노일아미노)-1,3,4-옥타데칸트리올](KRN7000 [(2S,3S,4R)-1-O-(α -D-갈락토파라노실)-2-(N-hexacosanoyl아미노)-1,3,4-octadecanetriol]), CRONY-101, 3"-설포-갈락토실세라마이드(3"-sulfogalactosylceramide) 등과 같은 CD1d 리간드;

- CpG 모티프를 함유하는 것들(인산 결합에 의해 구아노신 잔기에 연결된 미메틸화 시토신 잔기(unmethylated cytosine residue)를 포함하는 디뉴클레오티드 시퀀스, 또는 CpI 모티프를 함유하는 것들(이노신에 연결된 시토신을 포함하는 디뉴클레오티드 시퀀스), 또는 이중-가닥 RNA, 또는 팔린드롬 시퀀스(palindromic sequence)를 포함하는 올리고뉴클레오티드, 또는 폴리(dG) 시퀀스를 포함하는 올리고뉴클레오티드 등과 같은 면역자극 올리

고뉴클레오티드, 면역자극, 올리고뉴클레오티드에는 포스포로티오에이트, 변환체(phosphorothioate modifications) 등과 같은 뉴클레오티드 변환체/유사체가 포함될 수 있으며, 이중-가닥 또는 (RNA에 대해서는 제외) 단일-가닥일 수 있다;

[0023] - TLR4 길항 E5564(TLR4 antagonist E5564) 등과 같은 인산-함유 비고리형 골격(phosphate-containing acyclic backbone)에 연결된 지질을 포함하는 화합물;

[0024] - 오일 에멀젼(예를 들면, 프로인트 보조제(Freund's adjuvant))

[0025] 들이 포함된다.

[0026] 이론적으로, 면역학적 사건들의 폭포에서 특정한 상황을 지원하거나 또는 증폭하여 궁극적으로 보다 확연한 면역 반응을 야기할 수 있는 개개 분자 또는 물질이 보조제로서 정의될 수 있다. 특히, 백신 제형에서의 보조제의 사용을 통하여

[0027] - 백신에 대하여 적절하거나 바람직한 면역 반응을 직접적이고 최적화할 수 있고;

[0028] - 백신의 점막 전달(mucosal delivery) 즉, 구강 또는 위 또는 폐의 상피 등과 같은 점막표면 및 연관된 림프양조직(lymphoid tissue)과 백신의 접촉이라는 결과를 가져오는 투여를 가능하게 하고;

[0029] - 세포-매개 면역 반응을 촉진하고;

[0030] - 고도로 정제된 또는 재조합 항원 등과 같이 보다 약한 항원의 면역원성을 향상시키고;

[0031] - 보호성 면역을 제공하기 위하여 요구되는 항원의 양 또는 면역화의 빈도를 감소시키고;

[0032] - 신생아, 노인 및 면역저하된 백신 수령인(vaccine recipient) 등과 같은 감소되거나 약화된 면역 반응을 수반하는 개체들에서의 백신의 효능을 개선할 수 있다. 비록 이들의 작용 모드에 대하여는 거의 알려지지 않았음에도 불구하고, 현재 보조제는 하기 메카니즘들 중의 하나에 의해 면역 반응을 증강시킨다고 여겨지고 있다:

[0033] - 항원의 생물학적 또는 면역학적 반감기를 증가시킴;

[0034] - 예를 들면, 항원제시세포에 의한 항원-보조제 복합체의 섭취 후, 항원이 엔도좀 막(endosomal membranes)을 통해 세포기질(cytosol) 내로 가로지르는 것을 가능하게 하는 것에 의하여 항원제시세포(APC)에 의한 항원 가공 및 제시와 마찬가지로 항원제시세포에의 항원 전달을 개선함;

[0035] - 스트레스를 받거나 또는 손상된 세포로부터의 위험 유도 신호(danger inducing signal)를 모방함, 이는 면역 반응을 개시하도록 작용함;

[0036] - 면역조절 사이토카인(immunomodulatory cytokine)의 생산을 유도함;

[0037] - 면역 반응을 면역계의 특정의 서브셋(subset) 쪽으로 편향시킴; 및

[0038] - 면역 유발(antigen challenge)의 신속한 분산을 차단함.

[0039] 사카라이드는 당해 기술분야에서 숙련된 자에게는 TI-2(T 세포 독립성-2(T cell independent-2)) 항원 및 낮은 면역원으로서 공지되어 있다. 따라서, 사카라이드-기반 백신을 생산하기 위하여는, 상기 사카라이드는 면역원성 담체에 콘쥬게이트화되어 콘쥬게이트를 제공하고, 이는 사카라이드에 비하여 증가된 면역원성을 제공한다. 이 문맥에서 용어 "면역원성 담체(immunogenic carrier)"는 사카라이드에 콘쥬게이트화되어 사카라이드 그 자체에 비하여 증가된 면역력을 제공하는 콘쥬게이트를 형성하는 구조물로 정의된다. 따라서, 면역원성 담체에의 사카라이드의 콘쥬게이트화는 상기 면역원성 담체에 대한 면역 반응을 유도함이 없이 상기 사카라이드에 대한 면역 반응의 자극과 같은 효과를 갖는다.

[0040] 놀랍게도, 본 발명에 따른 일반식 (I)의 순수 사카라이드가 보호성 면역원성 글리칸 에피토프를 포함하고 인간 및/또는 동물 숙주에서 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8 박테리아에 대하여 보호성 면역 반응을 유도할 수 있다는 것이 발견되었다. 일반식 (I)의 사카라이드가 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8 협막 폴리사카라이드와 교차-반응하고, 특히 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8 박테리아를 인식하고 식세포에 의한 사멸을 위하여 이를 읍소닌화하는 항체를 이끌어낸다.

[0041] 본 발명은 일반식 (I)의 사카라이드 또는 그의 약제학적으로 수용가능한 염을 제공한다:

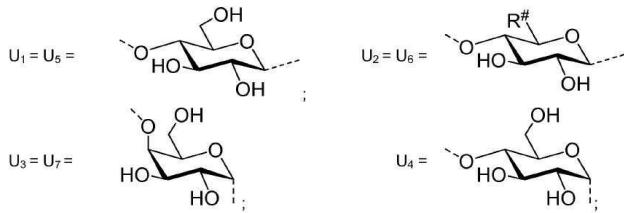
$V^* - U_{x+3} - U_{x+2} - U_{x+1} - U_x - O - L - NH_2 \quad (I)$

[0043]

여기에서

[0044]

x는 1, 2, 3 및 4로부터 선택되는 정수이고;



[0045]

 V^* -는 H^- , $H-U_x^-$ 또는 $H-U_{x+1}-U_x^-$ 를 나타내고;

[0047]

 R^* 는 $-COOH$ 또는 $-CH_2OH$ 를 나타내고;

[0048]

L은 링커를 나타낸다.

[0049]

$-L$ -은 링커로 정의되고 단편 $-O-L-NH_2$ 의 일부이다. 따라서, 링커 $-L-$ 은 NH_2 -기의 산소원자에 그리고 질소원자에 결합된다. 링커의 적어도 2개의 탄소원자가 $-O-C-C-NH_2$ 와 같이 산소원자와 NH_2 -기 사이에 존재하는 것이 바람직하다. 링커 $-L-$ 은 지방족 쇄(aliphatic chain)일 수 있고, 여기에서 지방족 쇄는 선택적으로 그 안에 삽입된 방향족 쇄 또는 0 내지 10에서 왕복하는 다수의 헤테로원자를 포함할 수 있다.

[0050]

링커 L은 바람직하게는 2 내지 40개의 탄소원자(선택적인 측쇄의 탄소원자를 포함), 보다 바람직하게는 2 내지 30개, 보다 바람직하게는 2 내지 20개, 보다 바람직하게는 2 내지 14개, 보다 바람직하게는 2 내지 12개 그리고 보다 더 바람직하게는 2 내지 10개의 탄소원자를 포함한다.

[0051]

산소(즉, $-O-L-NH_2$ 의 산소)와 NH_2 -기 사이의 가장 짧은 탄소쇄는 바람직하게는 2 내지 14개의 원자, 보다 바람직하게는 2 내지 12개의 원자, 보다 바람직하게는 2 내지 10개의 원자, 보다 바람직하게는 2 내지 8개의 원자로 이루어진다. 가장 짧은 쇄(아노머 중심의 산소와 NH_2 -기 사이에서 가능한 가장 짧은 연결)가 2 내지 6개의 원자로 이루어지는 경우, 이들은 바람직하게는 탄소원자이다. 가장 짧은 쇄가 4 내지 8개의 원자로 이루어지는 경우, 쇄는 0, N 및 S로부터 선택되는 1, 2 또는 3개의 헤테로원자를 포함할 수 있다. 가장 짧은 쇄가 9 내지 14개의 원자로 이루어지는 경우, 쇄는 0, N 및 S로부터 선택되는 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 헤�테로원자를 포함할 수 있다.

[0052]

링커 $-L-$ 또는 가장 짧은 쇄가 완전히 또는 부분적으로 불소화되는 것이 또한 바람직하다. 링커 $-L-$ 은 3-원(3-membered) 또는 4-원 또는 5-원 또는 6-원의 포화된 탄소고리 또는 5-원의 부분적으로 불포화된(그리고 방향족이 아닌) 탄소고리 또는 4-원 또는 5-원 또는 6-원의 포화 산소 헤테로고리 또는 4-원 또는 5-원 또는 6-원의 포화 질소 헤테로고리 또는 6-원 방향족 탄소고리를 포함할 수 있다.

[0053]

링커 $-L-$ 은 또한 아미드($-NH-CO-$, $-CO-NH-$) 및/또는 우레아($-NH-CO-NH-$) 잔기, 바람직하게는 단지 하나의 아미드 또는 우레아 잔기를 포함할 수 있다. 링커는 또한 치환기들, 바람직하게는 R^{10} 및 R^{11} 등과 같은 2개의 치환기 또는 R^{10} , R^{11} , R^{15} 및 R^{14} 등과 같은 4개의 치환기들을 포함할 수 있으며, 이들은 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 가지고 바람직하게는 $-F$, $-Cl$, $-CH_3$, $-C_2H_5$, $-C_3H_7$, $-C_5H_9$, $-C_6H_{13}$, $-OCH_3$, $-OC_2H_5$, $-CH_2F$, $-CHF_2$, $-CF_3$, $-C(O)-NH_2$, $-SCH_3$, $-SC_2H_5$, $-NHC(O)CH_3$, $-N(CH_3)_2$ 및 $-N(C_2H_5)_2$ 로부터 선택된다;

[0054]

링커 $-L-\circ$ 불소화된 경우, 2개 이상의 치환기 $-F$ 들이 바람직하다.

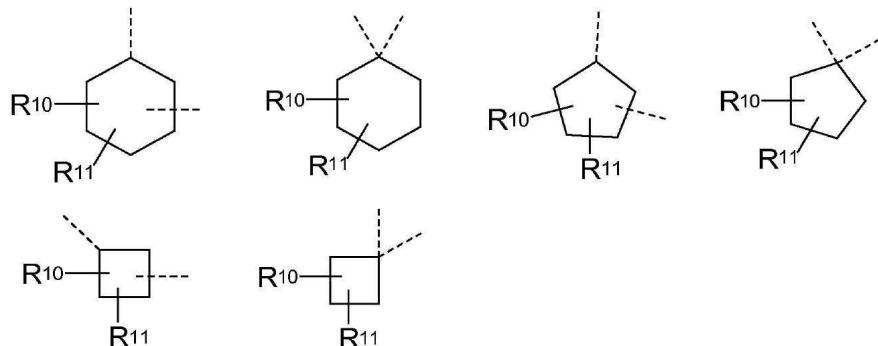
[0055]

바람직하게는 링커 $-L-$ 은: $-CH_2-$, $-(CH_2)_2-$, $-(CH_2)_3-$, $-(CH_2)_4-$, $-(CH_2)_5-$, $-(CH_2)_6-$, $-(CH_2)_7-$, $-(CH_2)_8-$, $-(CH_2)_9-$, $-(CH_2)_{10}-$, $-CF_2-$, $-(CF_2)_2-$, $-(CF_2)_3-$, $-(CF_2)_4-$, $-(CF_2)_5-$, $-(CF_2)_6-$, $-(CF_2)_7-$, $-(CF_2)_8-$, $-(CF_2)_9-$, $-(CF_2)_{10}-$, $-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-$, $-CH_2-O-(CH_2)_3-$, $-(CH_2)_3-O-CH_2-$, $-CH_2-O-(CH_2)_2-$, $-(CH_2)_2-O-CH_2-$, $-(CH_2)_3-O-(CH_2)_2-$, $-(CH_2)_2-O-(CH_2)_3-$, $-(CH_2)_4-O-CH_2-$, $-CH_2-O-(CH_2)_4-$, $-L^a-$, $-L^a-L^e-$, $-L^a-L^b-L^e-$, $-L^a-L^b-L^d-L^c-L^e-$, $-L^a-L^d-L^e-$ 로부터 선택되고;

[0056]

여기에서

[0057]

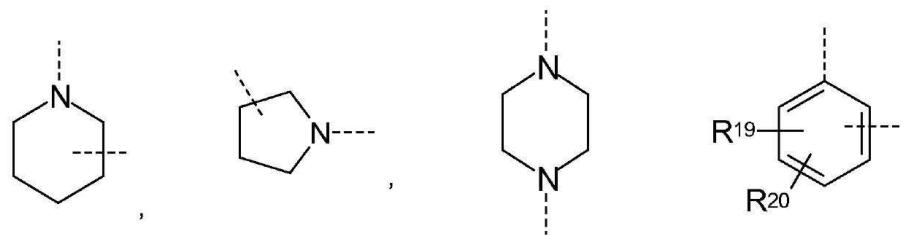
 $-L^a$ -는: $-(CH_2)_o-$, $-(CF_2)_o-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-C_2H_4-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-CH_2-$, $-(CR^{10}R^{11})_o-$,

[0058]

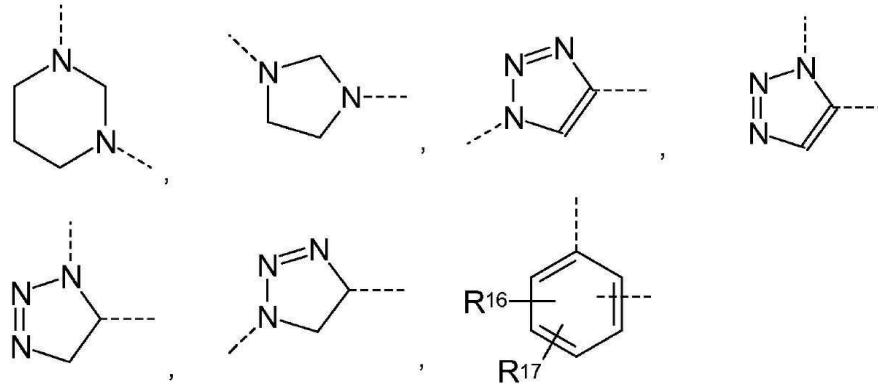
[0059]

로부터 선택되고;

[0060]

 $-L^b$ - 및 $-L^c$ -는 서로 독립적으로: $-O-$, $-NH-C(O)-NH-$, $-NH-C(S)-NH-$, $-NH-C(O)-$, $-C(O)-NH-$, $-NH-C(O)-O-$, $-NR^9-$, $-NR^{18}-$, $-SO_2-$,

[0061]

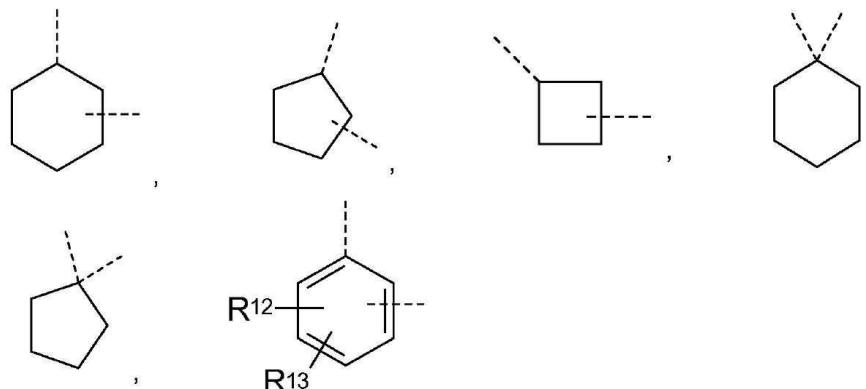


[0062]

[0063]

로부터 선택되고;

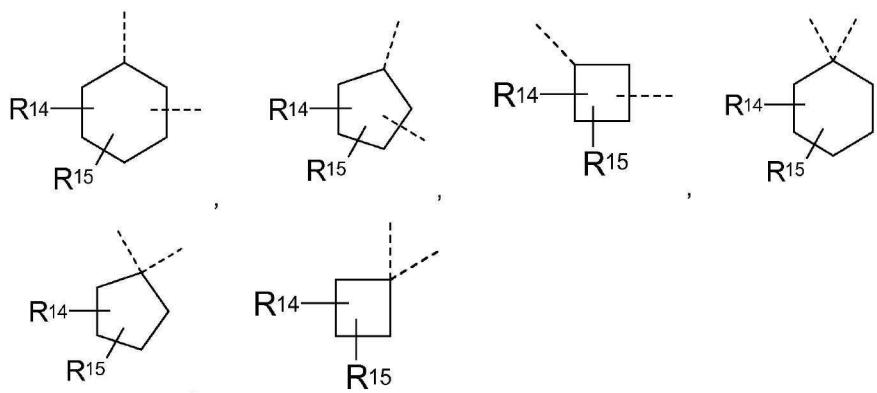
[0064] $-L^d$ 는 $-(CH_2)_q-$, $-(CF_2)_q-$, $-(CR^{12}R^{13})_q-$, $-(CH_2-CH_2-O)_q-C_2H_4-$, $-(CH_2-CH_2-O)_q-CH_2-$,



[0065]

를 나타내고;

[0066] $-L^e$ 는: $-(CH_2)_{p1}-$, $-(CF_2)_{p1}-$, $-C_2H_4-(O-CH_2-CH_2)_{p1}-$, $-CH_2-(O-CH_2-CH_2)_{p1}-$, $-(CH_2)_{p1}O-(CH_2)_{p2}-$, $-(CR^{14}R^{15})_{p1}-$, $-(CR^{14}R^{15})_{p1}O-(CR^{21}R^{22})_{p2}-$,



[0068]

로부터 선택되고;

[0069] R⁹ 및 R¹⁸은 서로 독립적으로: -CH₃, -C₂H₅, -C₃H₇ 및 -C(O)CH₃로부터 선택되고;

[0070] R¹⁰, R¹¹, R¹², R¹³, R¹⁴, R¹⁵, R¹⁶, R¹⁷, R¹⁹, R²⁰, R²¹ 및 R²²는 서로 독립적으로: -H, -F, -Cl, -CH₃, -C₂H₅, -C₃H₇, -C₅H₉, -C₆H₁₃, -OC₂H₅, -CH₂F, -CHF₂, -CF₃, -C(O)-NH₂, -SCH₃, -SC₂H₅, -NHC(O)CH₃, -N(CH₃)₂ 및 -N(C₂H₅)₂로부터 선택되고;

[0071] o, q, p1 및 p2는 서로 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되는 정수이다.

[0072] 본 발명의 사카라이드는 염기성 및/또는 산성 치환기를 포함하고 이들은 유기 또는 무기 산 또는 염기와 염을 형성할 수 있다. 이러한 산부가염 형성을 위하여 적절한 산의 예들은 염산, 브롬화수소산, 황산, 인산, 아세트산, 시트르산, 옥살산, 말론산, 살리실산, 파라-아미노살리실산, 말산, 푸마르산, 숙신산, 아스코르브산, 말레산, 셀론산, 포스폰산, 과염소산, 질산, 포름산, 프로피온산, 글루콘산, 젖산, 타르타르산, 하이드록시말레산, 피루브산, 페닐아세트산, 벤조산, 파라-아미노벤조산, 파라-하이드록시벤조산, 메탄설폰산, 에탄설폰산, 아질산, 하이드록시에탄설폰산, 에틸렌설폰산, 파라-톨루엔설폰산, 나프틸설폰산, 캄포설폰산 (camphorsulfonic acid), 차이나산(china acid), 만델산, 오르토-메틸만델산(o-methylmandelic acid), 하이드로겐-벤젠설폰산(hydrogen-benzenesulfonic acid), 페크르산, 아디프산, d-오르토-톨릴타르타르산(d-o-tolyltartaric acid), 타르트론산, (오르토, 메타, 파라)-톨루산((o, m, p)-toluic acid), 나프틸아민설폰산 (naphthylamine sulfonic acid) 및 당해 기술분야에서 숙련된 자에게 공지된 다른 무기 또는 카르복실산이다.

염은 유리 염기 형태를 충분한 양의 소정의 산과 접촉시켜 통상의 방법으로 염을 형성하도록 하는 것에 의하여 제조된다.

[0074] 적절한 무기 또는 유기 염기의 예들은, 예를 들면, NaOH, KOH, NH₄OH, 테트라알킬암모늄하이드록사이드(tetraalkylammonium hydroxide), 라이신(lysine) 또는 아르기닌 등이다. 염은 당해 기술분야에서 잘 알려진 방법을 사용하는 통상의 방법으로, 예를 들면, 일반식 (I)의 화합물의 용액을 상기 언급된 군에서 선택되는 염기의 용액으로 처리하는 것에 의하여 제조될 수 있다.

[0075] 일반식 (I)의 사카라이드가 이의 아노머 또는 C-1 탄소를 통하여 연결되거나 서로 결합되는 -O-O- 및 또는 당 단편(sugar fragment)(U_x, U_{x+1}, U_{x+2}, U_{x+3})을 포함하지 않는다는 것은 탄수화물 화학의 기술분야에서 숙련된 자에게는 명백하다. 글리코시드 결합의 입체화학이 일반식의 당 단편의 아노머 중심에 대하여 표시되는 입체화학이라는 것은 당해 기술분야에서 숙련된 자에게는 또한 명백하다. 따라서, 당 단편 U₁ 및 U₅에 대한 아노머 중심은 β 이고, 당 단편 U₂ 및 U₆에 대해서는 β 이고 당 단편 U₃ 및 U₇에 대해서는 α 이고 당 단편 U₄에 대해서는 α 이다.

[0076] 일반식 (I)의 사카라이드는 보호성 면역원성 에피토프를 포함하고 인간 및/또는 동물 숙주에서 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8 박테리아에 대한 보호성 면역 반응을 유도할 수 있다. 일반식 (I)의 사카라이드는 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8 협막 폴리사카라이드와 교차-반응하는 항체를 이끌어내고, 특히 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8 박테리아를 인식하고 식세포작용에 의한 사멸을 위하여 이를 읍소닌화한다.

[0077] 일반식 (I)에 따른 본 발명의 화합물은 GMP 규정에 따라 쉽게 제조될 수 있는 순수한 합성 화합물이라는 이점을 갖는 반면, 예를 들어, WO 9640225 A1에서 기술된 바와 같은 사카라이드의 단리된 혼합물은 단리의 공급원에 따라 올리고사카라이드의 변화하는 조성물로 항상 완전히 특정되지 않으며 따라서 이는 GMP 규정에 부합하지 않는 문제가 있다.

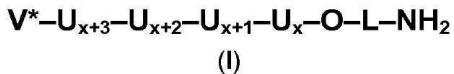
[0078] 따라서, 본 발명의 백신은 가장 바람직하게는 여기에서 기술된 바와 같은 일반식 (I)의 단지 하나 또는 일반식 (I-a) 내지 (I-c), (II), (II-a) 내지 (II-g), (III), (III-a) 내지 (III-g), (IV), (IV-a) 내지 (IV-g), (V), (V-a) 내지 (V-c), (VI), (VI-a) 내지 (VI-c), (VII), (VII-a) 내지 (VII-c), (VIII), (VIII-a) 내지 (VIII-c), (IX) 또는 (IX-a) 내지 (IX-c)의 임의의 다른 단일 화합물 그리고 가장 바람직하게는 면역원상 담체, 바람직하게는 담체 단백질 그리고 보다 바람직하게는 CRM₁₉₇에 결합된 화합물 10, 18 내지 22, 55, 57, 60 및 62 내지 89 중의 단지 하나를 포함한다. 따라서, 일반식 (I) 또는 임의의 다른 일반식 (I-a) 내지 (I-c), (II), (II-a) 내지 (II-g), (III), (III-a) 내지 (III-g), (IV), (IV-a)-(IV-g), (V), (V-a) 내지 (V-c), (VI), (VI-a) 내지 (VI-c), (VII), (VII-a) 내지 (VII-c), (VIII), (VIII-a) 내지 (VIII-c), (IX) 또는 (IX-a)-(IX-c)의 화합물이 바람직하게는 면역원성 담체, 바람직하게는 담체 단백질 그리고 보다 바람직하게는 CRM₁₉₇에 연결된, 단지 하나의 인위적으로 합성되고 잘 특정된 트리사카라이드, 테트라사카라이드, 펜타사카라이드 또는 헥사사카라이드를 포함하는 잘 정의되고, 잘 특정되고 순수한 백신의 제조를 위하여 사용된다. 따라서, 본 발명의 백신은 바람직하게는 면역원성 담체, 바람직하게는 담체 단백질 그리고 보다 바람직하게는 CRM₁₉₇에 연결된 일반식 (I) 또는 임의의 다른 일반식 (I-a) 내지 (I-c), (II), (II-a) 내지 (II-g), (III), (III-a) 내지 (III-g), (IV), (IV-a) 내지 (IV-g), (V), (V-a) 내지 (V-c), (VI), (VI-a) 내지 (VI-c), (VII), (VII-a) 내지 (VII-c), (VIII), (VIII-a) 내지 (VIII-c), (IX) 또는 (IX-a) 내지 (IX-c)의 단지 하나의 인위적으로 합성된 화합물을 포함한다.

[0079] 이러한 백신은 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8의 협막 폴리사카라이드의 비-선택적 개열에 의해 수득되는 사카라이드의 단리된 (또는 합성되지 않은) 혼합물에 비하여 더 적은 부작용 및/또는 비-보호성 면역 반응을 야기한다. 게다가, 본 발명의 백신은 비-선택적으로 개열된 협막 폴리사카라이드의 단리된 혼합물을 포함하는 백신에 비하여 더 용이하게 GMP 규정에 따라 제조될 수 있고 더 용이하게 특정되고, 이는 안정성 및 순도 제어와 마찬가지로 불순물의 종류 및 양의 검출을 더 용이하게 한다.

[0080] 잔기 R[#]가 -COOH를 나타내는 것이 바람직하다.

[0081]

본 발명의 하나의 구체예는 일반식 (I)의 사카라이드에 관한 것이다:

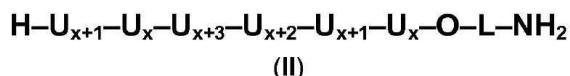


[0082]

여기에서 V^* 는 $H - U_{x+1} - U_x$ 를 나타내고 x , L , U_x , U_{x+1} , U_{x+2} , U_{x+3} 및 $R^{\#}$ 는 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.

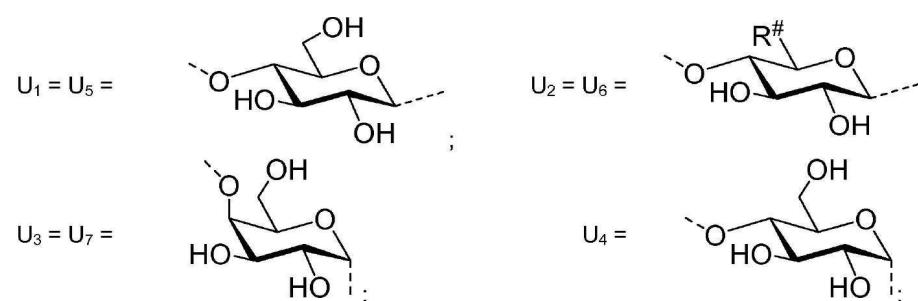
[0084]

따라서, 본 발명의 하나의 구체예는 일반식 (II)의 헥사사카라이드 또는 그의 약제학적으로 수용가능한 염에 관한 것이다:



[0085]

여기에서 x 는 1, 2, 3 및 4로부터 선택되는 정수이고;



[0087]

$R^{\#}$ 는 $-COOH$ 또는 $-CH_2OH$ 를 나타내고;

[0089]

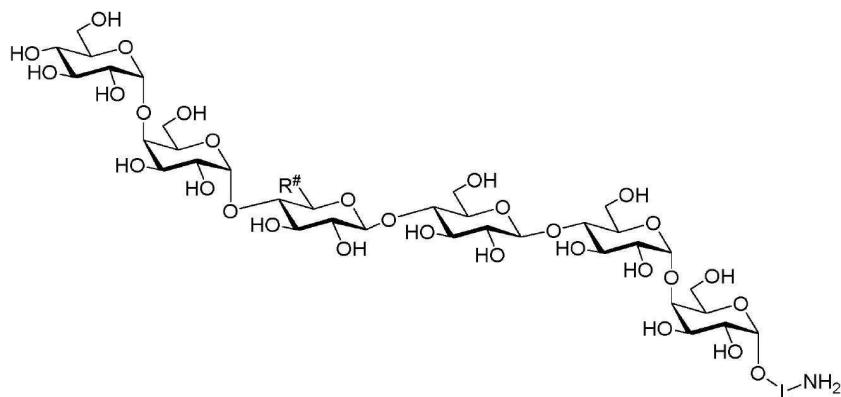
L 은 링커를 나타낸다.

[0090]

$R^{\#}$ 가 $-COOH$ 를 나타내는 일반식 (II)의 헥사사카라이드가 심지어 보다 바람직하다.

[0091]

따라서, 일반식 (II-a)의 헥사사카라이드



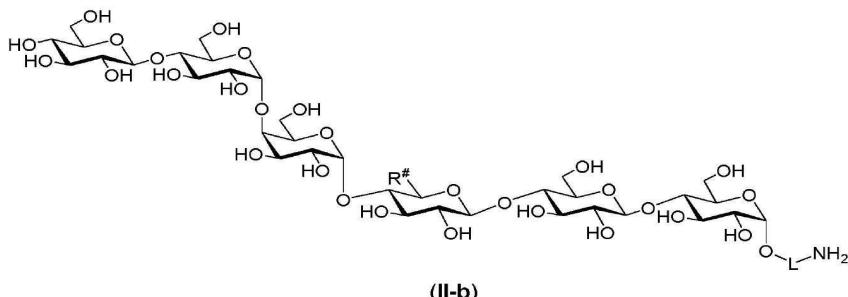
(II-a)

[0092]

여기에서 $R^{\#}$ 및 L 은 여기에서 정의된 의미를 가지고;

[0094]

일반식 (II-b)의 사카라이드



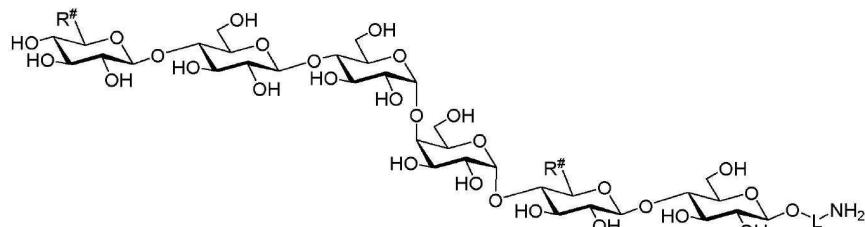
[0095]

[0096]

여기에서 $R^{\#}$ 및 L은 여기에서 정의된 의미를 가지고;

[0097]

일반식 (II-c)의 사카라이드



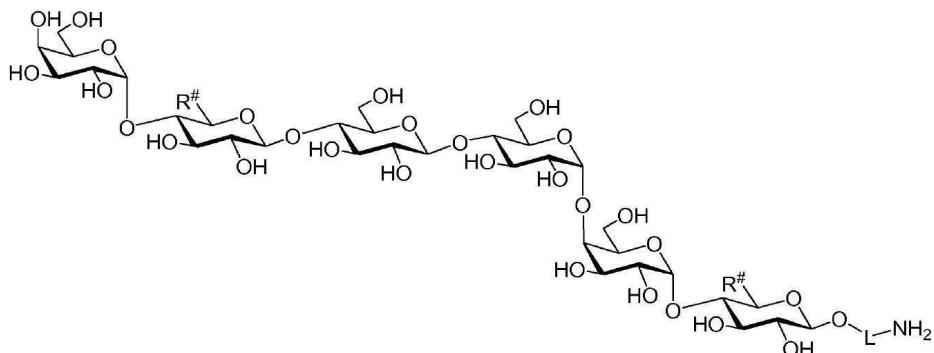
[0098]

[0099]

여기에서 $R^{\#}$ 및 L은 여기에서 정의된 의미를 가지고;

[0100]

일반식 (II-d)의 사카라이드가 또한 바람직하다:



[0101]

[0102]

여기에서 $R^{\#}$ 및 L은 여기에서 정의된 의미를 갖는다.

[0103]

다른 바람직한 구체예는 일반식 (I)의 사카라이드에 관한 것이다:



(I)

[0104]

[0105]

여기에서 V^* 는 $H - U_x -$ 를 나타내고 x, L, U_x , U_{x+1} , U_{x+2} , U_{x+3} 및 $R^{\#}$ 는 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.

[0106]

따라서 다른 바람직한 구체예는 일반식 (III)의 펜타사카라이드 또는 그의 약제학적으로 수용가능한 염에 관한 것이다:

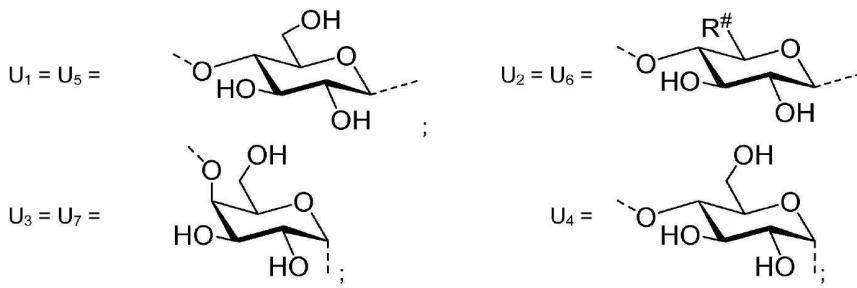


(III)

[0107]

[0108]

여기에서 x는 1, 2, 3 및 4로부터 선택되는 정수이고;



[0109]

$R^\#$ 는 $-COOH$ 또는 $-CH_2OH$ 를 나타내고;

[0111]

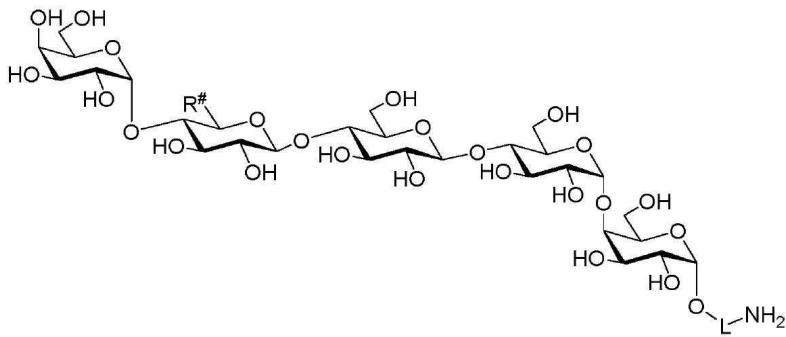
L은 링커를 나타낸다.

[0112]

바람직하게는 일반식 (III)에 있어서 잔기 $R^\#$ 는 $-COOH$ 를 나타낸다.

[0113]

따라서, 일반식 (III-a)의 펜타사카라이드



[0114]

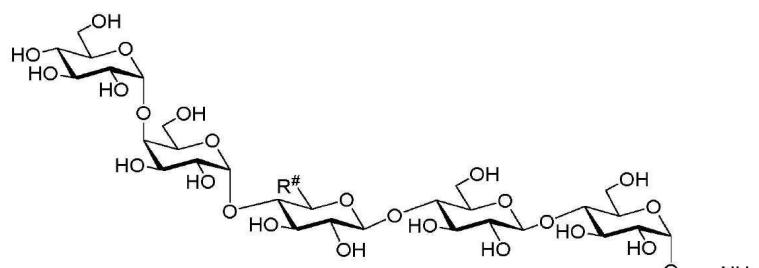
(III-a)

[0115]

여기에서 $R^\#$ 및 L은 여기에서 정의된 의미를 가지고;

[0116]

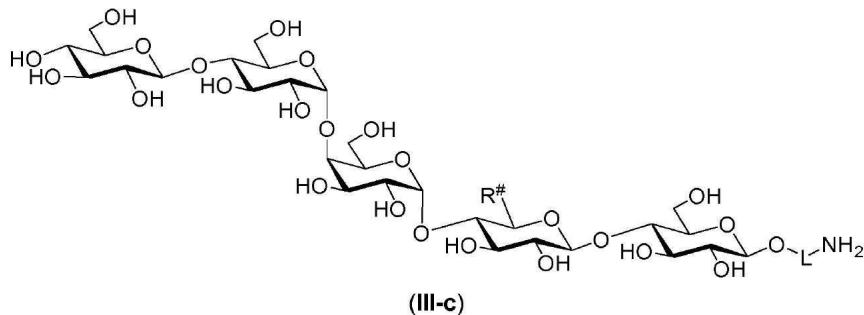
일반식 (III-b)의 사카라이드



[0117]

여기에서 $R^\#$ 및 L은 여기에서 정의된 의미를 가지고;

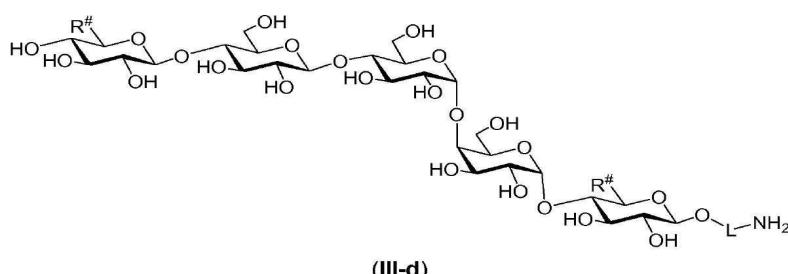
[0119] 일반식 (III-c)의 사카라이드



[0120]

[0121] 여기에서 $R^{\#}$ 및 L은 여기에서 정의된 의미를 가지고;

[0122] 일반식 (III-d)의 사카라이드가 또한 바람직하다:



[0123]

[0124] 여기에서 $R^{\#}$ 및 L은 여기에서 정의된 의미를 갖는다.

[0125] 본 발명에 따른 더욱 바람직한 구체예는 일반식 (I)의 사카라이드에 관한 것이다:



(I)

[0126]

[0127] 여기에서 V^* -는 H-를 나타내고 x, L, U_x , U_{x+1} , U_{x+2} , U_{x+3} 및 $R^{\#}$ 는 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.

[0128]

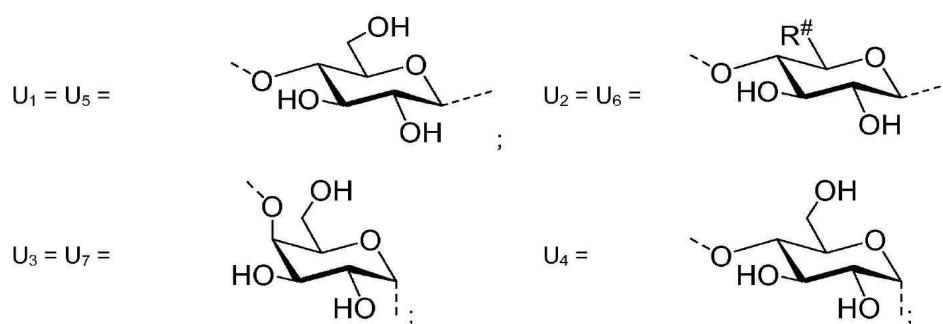
따라서, 본 발명에 따른 더욱 바람직한 구체예는 일반식 (IV)의 테트라사카라이드 또는 그의 약제학적으로 수용 가능한 염에 관한 것이다:



(IV)

[0129]

[0130] 여기에서 x는 1, 2, 3 및 4로부터 선택되는 정수이고;



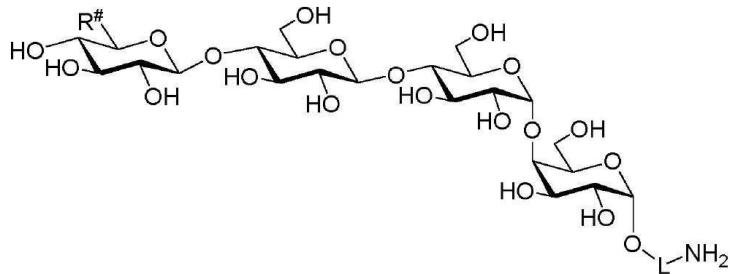
[0131]

[0132] $R^{\#}$ 는 $-COOH$ 또는 $-CH_2OH$ 를 나타내고;

[0133] L은 링커를 나타낸다.

[0134] 바람직하게는, 일반식 (III)에 있어서 잔기 $R^{\#}$ 는 $-COOH$ 를 나타낸다.

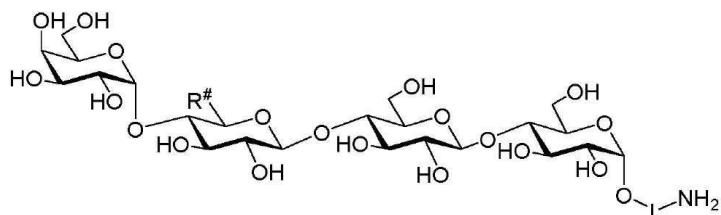
[0135] 따라서, 일반식 (IV-a)의 테트라사카라이드



[0136]

[0137] 여기에서 $R^{\#}$ 및 L은 여기에서 정의된 의미를 가지고;

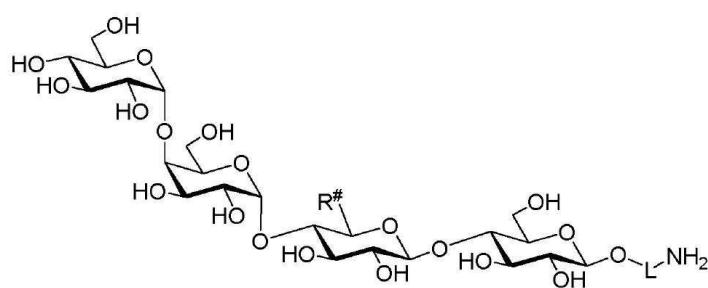
[0138] 일반식 (IV-b)의 사카라이드



[0139]

[0140] 여기에서 $R^{\#}$ 및 L은 여기에서 정의된 의미를 가지고;

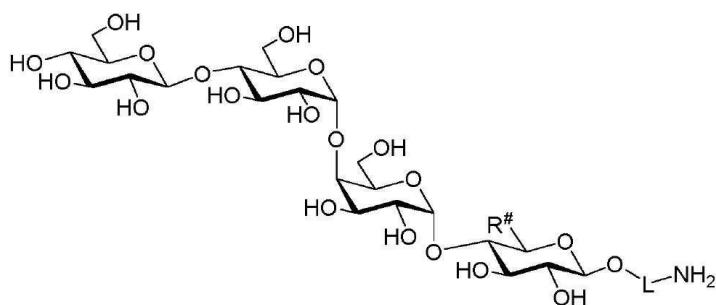
[0141] 일반식 (IV-c)의 사카라이드



[0142]

[0143] 여기에서 $R^{\#}$ 및 L은 여기에서 정의된 의미를 가지고;

[0144] 일반식 (IV-d)의 사카라이드가 또한 바람직하다:

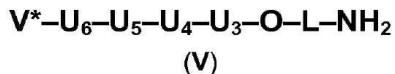


[0145]

[0146] 여기에서 $R^{\#}$ 및 L은 여기에서 정의된 의미를 갖는다.

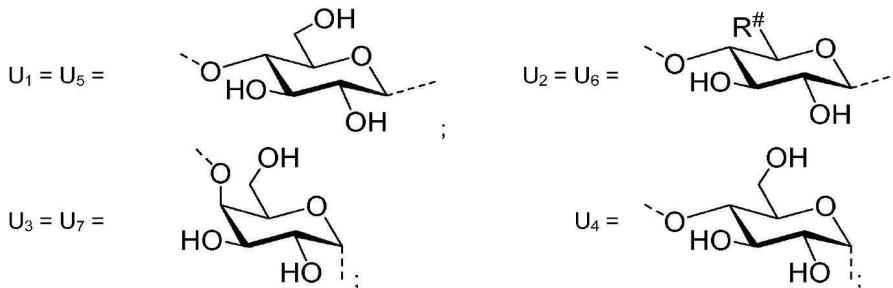
[0147] 보호성 면역원성 에피토프: β -D-Glpc-(1 \rightarrow 4)- α -D-Glcp-(1 \rightarrow 4)- α -D-Galp를 포함하는 일반식 (I)의 사카라이드, 식 (II)의 헥사사카라이드, 식 (III)의 펜타사카라이드 및 식 (IV)의 테트라사카라이드가 특히 바람직하다. 따라서, 헥사사카라이드 (II-a), (II-c), (II-d), 펜타사카라이드 (III-a), (III-c), (III-d) 및 테트라사카라이드 (IV-a), (IV-d)가 특히 바람직하다. 보호성 면역원성 에피토프 β -D-Glpc-(1 \rightarrow 4)- α -D-Glcp-(1 \rightarrow 4)- α -D-Galp를 포함하는 사카라이드가 선택적으로 스트렙토코커스 뉴모니에 타입 8을 인식하고 식세포에 의한 사멸을 위하여 이를 옵소닌화하는 항체의 역할을 높이 상승시킬 수 있다.

[0148] x가 3을 나타내는 일반식 (I)의 사카라이드가 심지어 보다 바람직하다. 따라서, 일반식 (V)의 사카라이드 또는 이의 약제학적으로 수용가능한 염이 특히 바람직하다:



[0149]

여기에서



[0151]

V^* -는 H-, H-U₃- 또는 H-U₄-U₃-을 나타내고;

[0153]

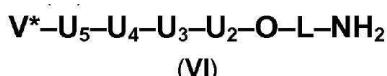
$R^{\#}$ 은 -COOH 또는 -CH₂OH를 나타내고;

[0154]

L은 링커를 나타낸다. 일반식 (V)의 사카라이드는 인간 항혈청 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8 협막 폴리사카라이드 및 마우스를 스트렙토코커스 뉴모니에 타입 8 폐렴구균으로의 감염으로부터 보호하는 것으로 알려진 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8에 대해 야기된 뮤린 항체와 극도의 활발한 상호작용을 나타낸다. 게다가, 일반식 (V)의 사카라이드는 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8 협막 폴리사카라이드와 교차-반응하고, 특히 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8 박테리아를 인식하고 식세포작용에 의한 사멸을 위하여 이를 옵소닌화하는 항체를 이끌어낸다.

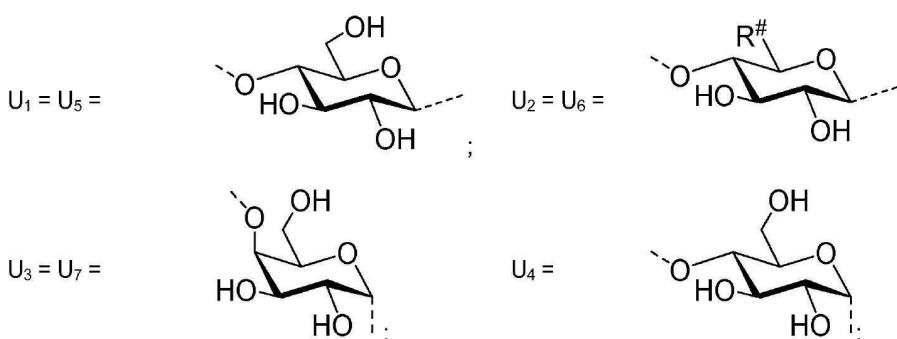
[0155]

x가 2를 나타내는 일반식 (I)의 사카라이드가 또한 바람직하다. 따라서, 일반식 (VI)의 사카라이드 또는 그의 약제학적으로 수용가능한 염이 또한 바람직하다:



[0156]

여기에서



[0158]

[0159] V^* -는 H^- , $H-U_2^-$ 또는 $H-U_3-U_2^-$ 를 나타내고;

[0160] $R^{\#}$ 는 $-COOH$ 또는 $-CH_2OH$ 를 나타내고;

[0161] L 은 링커를 나타낸다.

[0162] 바람직하게는 링커 $-L-$ 은:

[0163] $-L^a$, $-L^a-L^e$, $-L^a-L^b-L^e$, $-L^a-L^d-L^e$ -로부터 선택되고; 여기에서

[0164] $-L^a$ -는: $-(CH_2)_o^-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-C_2H_4^-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-CH_2^-$ -로부터 선택되고;

[0165] $-L^b$ -는 $-O-$ 를 나타내고;

[0166] $-L^d$ -는 $-(CH_2)_q^-$, $-(CF_2)_q^-$, $-(CH_2-CH_2-O)_q-C_2H_4^-$ 및 $-(CH_2-CH_2-O)_q-CH_2^-$ -로부터 선택되고;

[0167] $-L^e$ -는: $-(CH_2)_{p1}^-$, $-(CF_2)_{p1}^-$, $-C_2H_4-(O-CH_2-CH_2)_{p1}^-$, $-CH_2-(O-CH_2-CH_2)_{p1}^-$ 및 $-(CH_2)_{p1}-O-(CH_2)_{p2}^-$ -로부터 선택되고;

[0168] o , q , $p1$ 및 $p2$ 는 서로 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이다.

[0169] 따라서, 일반식 (I), (II), (II-a), (II-b), (II-c), (II-d), (III), (III-a), (III-b), (III-c), (III-d), (IV), (IV-a), (IV-b), (IV-c), (IV-d), (V) 또는 (VI)의 사카라이드가 특히 바람직하다: 여기에서

[0170] $-L-$ 은: $-L^a$, $-L^a-L^e$, $-L^a-L^b-L^e$ 및 $-L^a-L^d-L^e$ -로부터 선택되고;

[0171] $-L^a$ -는: $-(CH_2)_o^-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-C_2H_4^-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-CH_2^-$ -로부터 선택되고;

[0172] $-L^b$ -는 $-O-$ 를 나타내고;

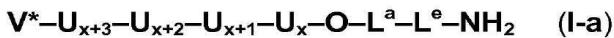
[0173] $-L^d$ -는: $-(CH_2)_q^-$, $-(CF_2)_q^-$, $-(CH_2-CH_2-O)_q-C_2H_4^-$ 및 $-(CH_2-CH_2-O)_q-CH_2^-$ -로부터 선택되고;

[0174] $-L^e$ -는: $-(CH_2)_{p1}^-$, $-(CF_2)_{p1}^-$, $-C_2H_4-(O-CH_2-CH_2)_{p1}^-$, $-CH_2-(O-CH_2-CH_2)_{p1}^-$ 및 $-(CH_2)_{p1}-O-(CH_2)_{p2}^-$ -로부터 선택되고;

[0175] o , q , $p1$ 및 $p2$ 는 서로 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이다.

[0176] $-L-$ 이 $-(CH_2)_o^-$ 를 나타내고 o 가 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 일반식 (I), (II), (II-a), (II-b), (II-c), (II-d), (III), (III-a), (III-b), (III-c), (III-d), (IV), (IV-a), (IV-b), (IV-c), (IV-d), (V) 또는 (VI)의 사카라이드가 보다 바람직하다.

[0177] 일반식 (I-a)의 사카라이드가 여전히 보다 바람직하다:



[0178]

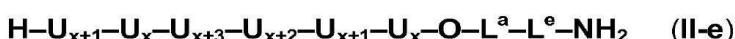
여기에서

[0180] $-L^a$ -는: $-(CH_2)_o^-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-C_2H_4^-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-CH_2^-$ -로부터 선택되고;

[0181] $-L^e$ -는: $-C_2H_4-(O-CH_2-CH_2)_{p1}^-$, $-CH_2-(O-CH_2-CH_2)_{p1}^-$ $-(CH_2)_{p1}^-$ 및 $-(CH_2)_{p1}-O-(CH_2)_{p2}^-$ -로부터 선택되고;

[0182] V^* , x , o , $p1$, $p2$, U_x , U_{x+1} , U_{x+2} 및 U_{x+3} 는 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.

[0183] 일반식 (II-e)의 사카라이드가 또한 보다 바람직하다:



[0184]

[0185] 여기에서

[0186] $-L^a$ 는: $-(CH_2)_o-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-C_2H_4-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-CH_2-$ 로부터 선택되고;

[0187] $-L^e$ 는: $-C_2H_4-(O-CH_2-CH_2)_{p1}-$, $-CH_2-(O-CH_2-CH_2)_{p1}-$, $-(CH_2)_{p1}-$ 및 $-(CH_2)_{p1}-O-(CH_2)_{p2}-$ 로부터 선택되고;

[0188] x, o, p1, p2, U_x , U_{x+1} , U_{x+2} 및 U_{x+3} 는 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.

[0189] 일반식 (III-e)의 사카라이드가 또한 보다 바람직하다:



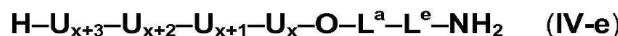
[0190] 여기에서

[0192] $-L^a$ 는: $-(CH_2)_o-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-C_2H_4-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-CH_2-$ 로부터 선택되고;

[0193] $-L^e$ 는: $-C_2H_4-(O-CH_2-CH_2)_{p1}-$, $-CH_2-(O-CH_2-CH_2)_{p1}-$, $-(CH_2)_{p1}-$ 및 $-(CH_2)_{p1}-O-(CH_2)_{p2}-$ 로부터 선택되고;

[0194] x, o, p1, p2, U_x , U_{x+1} , U_{x+2} 및 U_{x+3} 는 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.

[0195] 일반식 (IV-e)의 사카라이드가 또한 보다 바람직하다:



[0196] 여기에서

[0198] $-L^a$ 는: $-(CH_2)_o-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-C_2H_4-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-CH_2-$ 로부터 선택되고;

[0199] $-L^e$ 는: $-C_2H_4-(O-CH_2-CH_2)_{p1}-$, $-CH_2-(O-CH_2-CH_2)_{p1}-$, $-(CH_2)_{p1}-$ 및 $-(CH_2)_{p1}-O-(CH_2)_{p2}-$ 로부터 선택되고;

[0200] x, o, p1, p2, U_x , U_{x+1} , U_{x+2} 및 U_{x+3} 는 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.

[0201] 일반식 (V-a)의 사카라이드가 또한 보다 바람직하다:



[0202] 여기에서

[0204] $-L^a$ 는: $-(CH_2)_o-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-C_2H_4-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-CH_2-$ 로부터 선택되고;

[0205] $-L^e$ 는: $-C_2H_4-(O-CH_2-CH_2)_{p1}-$, $-CH_2-(O-CH_2-CH_2)_{p1}-$, $-(CH_2)_{p1}-$ 및 $-(CH_2)_{p1}-O-(CH_2)_{p2}-$ 로부터 선택되고;

[0206] V^* , o, p1, p2, U_6 , U_5 , U_4 및 U_3 는 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.

[0207] 일반식 (VI-a)의 사카라이드가 또한 보다 바람직하다:



[0208] 여기에서

[0210] $-L^a$ 는: $-(CH_2)_o-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-C_2H_4-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-CH_2-$ 로부터 선택되고;

[0211] $-L^e$ 는: $-C_2H_4-(O-CH_2-CH_2)_{p1}-$, $-CH_2-(O-CH_2-CH_2)_{p1}-$, $-(CH_2)_{p1}-$ 및 $-(CH_2)_{p1}-O-(CH_2)_{p2}-$ 로부터 선택되고;

[0212] V^* , o, p1, p2, U_5 , U_4 , U_3 및 U_2 는 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.

[0213] 일반식 (I-b)의 사카라이드가 여전히 보다 바람직하다:



[0214] 여기에서

[0215] $-L^a$ 는: $-(CH_2)_{o1}-$, $-(CH_2-CH_2-O)_{o2}-C_2H_4-$, $-(CH_2-CH_2-O)_{o2}-CH_2-$ 를 나타내고;

[0216] o1은 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;

[0217] o2는 1, 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;

[0218] V^* , x , U_x , U_{x+1} , U_{x+2} 및 U_{x+3} 은 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.

[0219] 일반식 (II-f)의 사카라이드가 또한 보다 바람직하다:



[0220] 여기에서

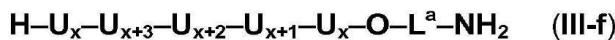
[0221] $-L^a$ 는: $-(CH_2)_{o1}-$, $-(CH_2-CH_2-O)_{o2}-C_2H_4-$, $-(CH_2-CH_2-O)_{o2}-CH_2-$ 를 나타내고;

[0222] o1은 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;

[0223] o2는 1, 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;

[0224] x , U_x , U_{x+1} , U_{x+2} 및 U_{x+3} 은 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.

[0225] 일반식 (III-f)의 사카라이드가 또한 보다 바람직하다:



[0226] 여기에서

[0227] $-L^a$ 는: $-(CH_2)_{o1}-$, $-(CH_2-CH_2-O)_{o2}-C_2H_4-$, $-(CH_2-CH_2-O)_{o2}-CH_2-$ 로부터 선택되고;

[0228] o1은 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;

[0229] o2는 1, 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;

[0230] x , U_x , U_{x+1} , U_{x+2} 및 U_{x+3} 은 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.

[0231] 일반식 (IV-f)의 사카라이드가 또한 보다 바람직하다:



[0232] 여기에서

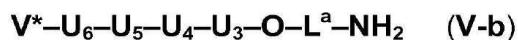
[0233] $-L^a$ 는: $-(CH_2)_{o1}-$, $-(CH_2-CH_2-O)_{o2}-C_2H_4-$, $-(CH_2-CH_2-O)_{o2}-CH_2-$ 를 나타내고;

[0234] o1은 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;

[0235] o2는 1, 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;

[0236] x , U_x , U_{x+1} , U_{x+2} 및 U_{x+3} 은 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.

[0237] 일반식 (V-b)의 사카라이드가 또한 보다 바람직하다:



[0243] 여기에서

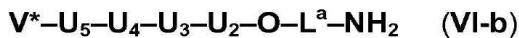
[0244] $-L^a$ 는: $-(CH_2)_{o1}-$, $-(CH_2-CH_2-O)_{o2}-C_2H_4-$, $-(CH_2-CH_2-O)_{o2}-CH_2-$ 를 나타내고;

[0245] o1은 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;

[0246] o2는 1, 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;

[0247] V^* , U_6 , U_5 , U_4 및 U_3 은 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.

[0248] 일반식 (VI-b)의 사카라이드가 또한 보다 바람직하다:



[0249] 여기에서

[0251] $-L^a$ 는: $-(CH_2)_{o1}-$, $-(CH_2-CH_2-O)_{o2}-C_2H_4-$, $-(CH_2-CH_2-O)_{o2}-CH_2-$ 로부터 선택되고;

[0252] o1은 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;

[0253] o2는 1, 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;

[0254] V^* , U_5 , U_4 , U_3 및 U_2 는 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.

[0255] 일반식 (I-c)의 사카라이드가 여전히 보다 바람직하다:



[0256] 여기에서

[0258] o는 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;

[0259] V^* , x , U_x , U_{x+1} , U_{x+2} 및 U_{x+3} 은 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.

[0260] 일반식 (II-g)의 사카라이드가 또한 보다 바람직하다:



[0261] 여기에서

[0263] o는 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;

[0264] x , U_x , U_{x+1} , U_{x+2} 및 U_{x+3} 은 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.

[0265] 일반식 (III-g)의 사카라이드가 또한 보다 바람직하다:



[0266] 여기에서

[0268] o는 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;

[0269] x , U_x , U_{x+1} , U_{x+2} 및 U_{x+3} 은 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.

[0270] 일반식 (IV-g)의 사카라이드가 또한 보다 바람직하다:



[0271] 여기에서

[0273] o는 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;

- [0274] x, U_x, U_{x+1}, U_{x+2} 및 U_{x+3} 은 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.
- [0275] 일반식 (V-c)의 사카라이드가 또한 보다 바람직하다:
- $V^* - U_6 - U_5 - U_4 - U_3 - O - (CH_2)_o - NH_2 \quad (V-c)$**
- [0276] 여기에서
- [0277] o 는 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;
- [0278] V^*, U_6, U_5, U_4 및 U_3 은 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.
- [0279] 일반식 (VI-c)의 사카라이드가 또한 보다 바람직하다:
- $V^* - U_5 - U_4 - U_3 - U_2 - O - (CH_2)_o - NH_2 \quad (VI-c)$**
- [0280] 여기에서
- [0281] o 는 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;
- [0282] V^*, U_5, U_4, U_3 및 U_2 는 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.
- [0283] 여전히 다른 바람직한 구체예에 있어서, 본 발명에 따른 사카라이드는 하기 군으로부터 선택된다:
- [0284] α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실우론산-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→1)-(2-아미노)에탄올 (10),
- [0285] β -D-글루코파라노실우론산-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노실-(1→1)-(2-아미노)에탄올 (18),
- [0286] 5-아미노 펜타닐 β -D-글루코파라노실 우론산-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노시드 (19),
- [0287] 5-아미노 펜타닐 β -D-글루코파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노시드 (60),
- [0288] 5-아미노 펜타닐 α -D-글루코파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-글루코파라노시드 (20),
- [0289] 5-아미노 펜타닐 α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노시드 (21),
- [0290] 5-아미노 펜타닐 β -D-글루코파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실우론산-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-글루코파라노시드 (22),
- [0291] 5-아미노 펜타닐 α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실우론산-(1→4)- β -D-글루코파라노시드 (23),
- [0292] 5-아미노 펜타닐 β -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실 우론산 (24),
- [0293] α -D-갈락토파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실우로네이트-(1→4)- β -D-글루코파라노실- α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노실-(1→1)-(2-아미노)에탄올 (55),
- [0294] α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실우로네이트-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노실-(1→1)-(2-아미노)에탄올 (57);
- [0295] 5-아미노 펜타닐 α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실우론산-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노시드 (63);
- [0296] 5-아미노 펜타닐 갈락토파라노실-(1→4)- α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실우론산-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-글루코파라노시드 (64);
- [0297] 5-아미노 펜타닐 β -D-글루코파라노실우론산-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실우론산-(1→4)- β -D-글루코파라노시드 (65);
- [0298] 5-아미노 펜타닐 α -D-갈락토파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실우론산-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)-

α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실우론산 (66);

[0299] 5-아미노 펜타닐 α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실우론산-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노시드 (67);

[0300] 5-아미노 펜타닐 β -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-글루코파라노시드 (68);

[0301] 5-아미노 펜타닐 β -D-글루코파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노시드 (69);

[0302] 5-아미노 펜타닐 α -D-갈락토파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노시드 (70);

[0303] 3-아미노프로필 α -D-갈락토파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실우론산-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노시드 (71);

[0304] 5-아미노 펜타닐 α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실우론산-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-글루코파라노시드 (72);

[0305] 3-아미노프로필 β -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실우론산-(1→4)- β -D-글루코파라노시드 (73);

[0306] 5-아미노 펜타닐 β -D-글루코파라노실우론산-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실우론산 (74);

[0307] 4-아미노부틸 α -D-갈락토파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노시드 (75);

[0308] 6-아미노 헥사닐 α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-글루코파라노시드 (76);

[0309] 3-아미노프로필 β -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노시드 (77);

[0310] 5-아미노 펜타닐 β -D-글루코파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노시드 (78);

[0311] 4-아미노부틸 α -D-갈락토파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-글루코파라노시드 (79);

[0312] 3-아미노프로필 α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노시드 (80);

[0313] 6-아미노 헥사닐 β -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노시드 (81).

[0314] 놀랍게도, 일반식 (VII)의 순수 사카라이드가 보호성 면역원성 글리칸 에피토프 β -D-GlcP-(1→4)- α -D-GlcP-(1→4)- α -D-GalP를 포함하고 인간 및/또는 동물 숙주에서 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8 박테리아에 대한 보호성 면역 반응을 유발할 수 있다는 것이 추가로 발견되었다. 보호성 면역원성 글리칸 에피토프 β -D-GlcP-(1→4)- α -D-GlcP-(1→4)- α -D-GalP를 포함하는 일반식 (VII)의 사카라이드가 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8 협막 폴리사카라이드와 교차-반응하는 항체를 유발하고, 특히 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8 박테리아를 인식하고 식세포작용에 의한 사멸을 위하여 이를 읍소년화한다.

[0315] 따라서, 본 발명의 다른 양태는 일반식 (VII)의 사카라이드 또는 그의 약제학적으로 수용가능한 염에 관한 것이다:

S*-U₅-U₄-U₃-S-O-L-NH₂

(VII)

[0316] 여기에서

[0318] $-S-$ 가 $-S_a-$ 를 나타내는 경우, S^* -는 S_a^* -를 나타내고;

[0319] $-S-$ 가 $-S_b-$ 를 나타내는 경우, S^* -는 S_b^* -를 나타내고;

[0320] $n_1 = 1$ 인 경우, $n_6 = 0$ 이고;

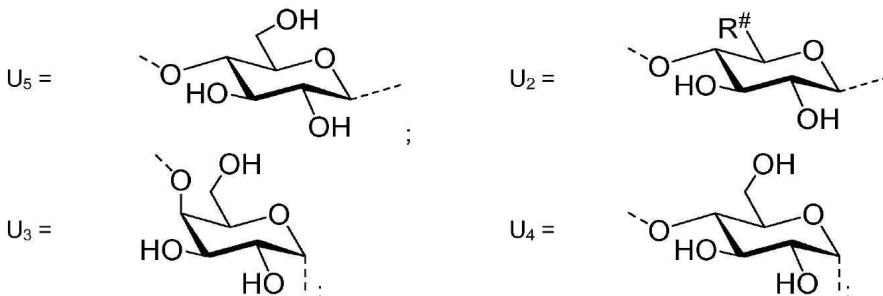
[0321] $n_2 = 1$ 인 경우, $n_5 = n_6 = 0$ 이고;

[0322] $n_3 = 1$ 인 경우, $n_4 = n_5 = n_6 = 0$ 이고;

[0323] $n_4 = 1$ 인 경우, $n_3 = 0$ 이고;

[0324] $n_5 = 1$ 인 경우, $n_2 = n_3 = 0$ 이고;

[0325] $n_6 = 1$ 인 경우, $n_1 = n_2 = n_3 = 0$ 이라고 가정하는 경우,



[0326]

[0327] R^* 은 $-COOH$ 또는 $-CH_2OH$ 를 나타내고;

[0328] $-S-$ 는 $-S_a-$ 또는 $-S_b-$ 를 나타내고;

[0329] $-S_a-$ 는 $-(U_5)_{n_1}-$, $-(U_5-U_4)_{n_2}-$ 또는 $-(U_5-U_4-U_3)_{n_3}-$ 을 나타내고;

[0330] $-S_b-$ 는 $-(U_2)_{n_1}-$, $-(U_2-U_5)_{n_2}-$ 또는 $-(U_2-U_5-U_4)_{n_3}-$ 을 나타내고;

[0331] S^* -는 S_a^* - 또는 S_b^* -를 나타내고;

[0332] S_a^* -는 $H-(U_3)_{n_4}-$ 또는 $H-(U_4-U_3)_{n_5}-$ 를 나타내고;

[0333] S_b^* -는 $H-(U_2)_{n_4}-$, $H-(U_3-U_2)_{n_5}-$ 또는 $H-(U_4-U_3-U_2)_{n_6}-$ 을 나타내고;

[0334] n_1 , n_2 , n_3 , n_4 , n_5 및 n_6 은 0 및 1로부터 선택되고;

[0335] L은 링커이다.

[0336] $-L-$ 은 링커로서 정의되고 단편 $-O-L-NH_2$ 의 일부이다. 따라서, 링커 $-L-$ 은 산소원자와 그리고 NH_2 -기의 질소원자와 결합된다. $-O-C-C-NH_2$ 와 같이 링커의 적어도 2개의 탄소원자가 산소원자와 NH_2 -기 사이에 존재하는 것이 바람직하다. 링커 $-L-$ 은 지방족 쇄일 수 있고, 여기에서 지방족 쇄는 선택적으로 그 안에 삽입된 방향족 쇄 또는 0 내지 10에서 왕복하는 다수의 헤테로원자를 포함할 수 있다.

[0337] 링커 L은 바람직하게는 2 내지 40개의 탄소원자 (선택적인 측쇄의 탄소원자를 포함하여), 보다 바람직하게는 2 내지 30개, 보다 바람직하게는 2 내지 20개, 보다 바람직하게는 2 내지 14개, 보다 바람직하게는 2 내지 12개, 여전히 보다 바람직하게는 2 내지 10개의 탄소원자를 포함한다.

[0338] 산소원자 (즉, $-O-L-NH_2$ 의 산소)와 NH_2 -기 사이의 가장 짧은 원자쇄는 바람직하게는 2 내지 14개의 원자, 보다 바람직하게는 2 내지 12개의 원자, 보다 바람직하게는 2 내지 10개의 원자, 보다 바람직하게는 2 내지 8개의 원자로 이루어진다. 가장 짧은 쇄 (아노미 중심의 산소와 NH_2 -기 사이의 가장 짧은 가능한 연결인)가 2 내지 6개의 원자로 이루어지는 경우, 이는 바람직하게는 탄소원자이다. 가장 짧은 쇄가 4 내지 8개의 원자로 이루어지는

경우, 쇄는 0, N 및 S로부터 선택되는 1, 2 또는 3개의 헤테로원자를 포함할 수 있다. 가장 짧은 쇄가 9 내지 14개의 원자로 이루어지는 경우, 쇄는 0, N 및 S로부터 선택되는 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 헤테로원자를 포함할 수 있다.

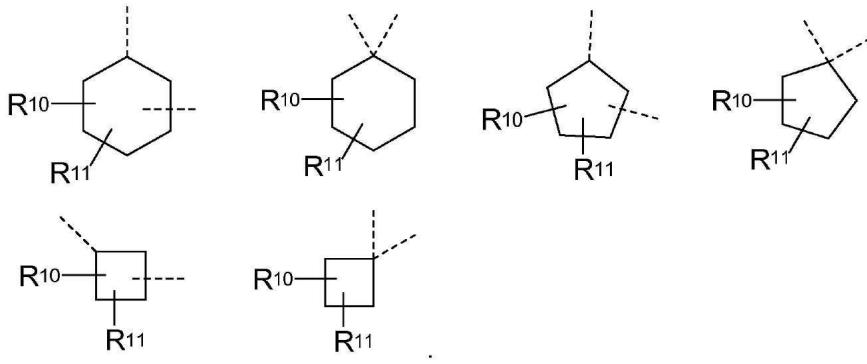
[0339] 링커 $-L-$ 또는 가장 짧은 쇄가 완전히 또는 부분적으로 불소화되는 것이 또한 바람직하다. 링커 $-L-$ 은 3-원 또는 4-원 또는 5-원 또는 6-원의 포화된 탄소고리 또는 5-원의 부분적으로 불포화된 (그리고 방향족이 아닌) 탄소고리 또는 4-원 또는 5-원 또는 6-원의 포화된 산소 헤테로고리 또는 4-원 또는 5-원 또는 6-원의 포화된 질소 헤테로고리 또는 6-원의 방향족 탄소고리를 포함할 수 있다. 링커 $-L-$ 은 또한 아미드 ($-NH-CO-$, $-CO-NH-$) 및 /또는 우레아 ($-NH-CO-NH-$) 잔기 그리고 바람직하게는 단지 하나의 아미드 또는 우레아 잔기를 포함할 수 있다. 링커는 또한 치환기 그리고 바람직하게는 R^{10} 및 R^{11} 등과 같은 2개의 치환기 또는 R^{10} , R^{11} , R^{15} 및 R^{14} 등과 같은 4개의 치환기를 포함할 수 있고, 이는 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖고 바람직하게는: $-F$, $-Cl$, $-CH_3$, $-C_2H_5$, $-C_3H_7$, $-C_5H_9$, $-C_6H_{13}$, $-OCH_3$, $-OC_2H_5$, $-CH_2F$, $-CHF_2$, $-CF_3$, $-C(O)-NH_2$, $-SCH_3$, $-SC_2H_5$, $-NHC(O)CH_3$, $-N(CH_3)_2$ 및 $-N(C_2H_5)_2$ 로부터 선택된다;

[0340] 링커 $-L-$ 이 불소화되는 경우, 2개 이상의 치환기 $-F$ 가 바람직하다.

[0341] 바람직하게는 링커 $-L-$ 은: $-CH_2-$, $-(CH_2)_2-$, $-(CH_2)_3-$, $-(CH_2)_4-$, $-(CH_2)_5-$, $-(CH_2)_6-$, $-(CH_2)_7-$, $-(CH_2)_8-$, $-(CH_2)_9-$, $-(CH_2)_{10}-$, $-CF_2-$, $-(CF_2)_2-$, $-(CF_2)_3-$, $-(CF_2)_4-$, $-(CF_2)_5-$, $-(CF_2)_6-$, $-(CF_2)_7-$, $-(CF_2)_8-$, $-(CF_2)_9-$, $-(CF_2)_{10}-$, $-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-$, $-CH_2-O-(CH_2)_3-$, $-(CH_2)_3-O-CH_2-$, $-CH_2-O-(CH_2)_2-$, $-(CH_2)_2-O-CH_2-$, $-(CH_2)_3-O-(CH_2)_2-$, $-(CH_2)_2-O-(CH_2)_3-$, $-(CH_2)_4-O-CH_2-$, $-CH_2-O-(CH_2)_4-$, $-L^a-$, $-L^a-L^e-$, $-L^a-L^b-L^e-$, $-L^a-L^b-L^d-L^e-$, $-L^a-L^d-L^e-$ 로부터 선택되고;

[0342] 여기에서

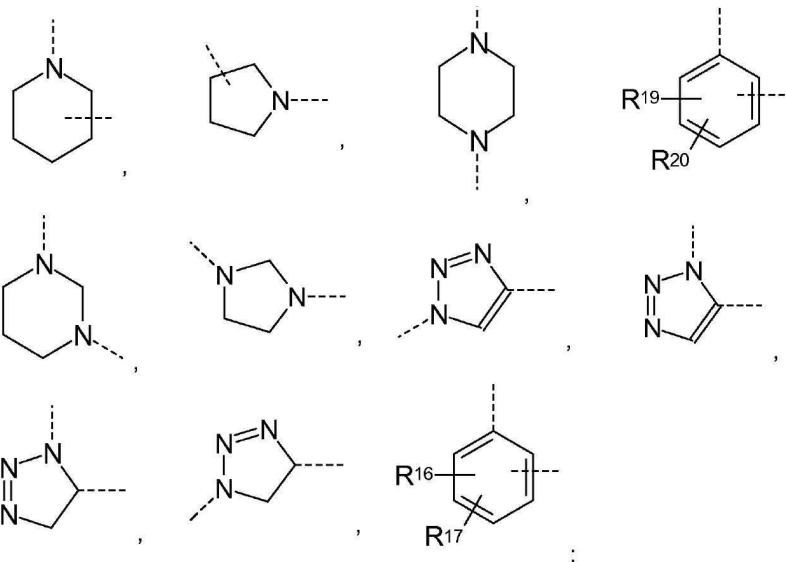
[0343] $-L^a-$ 는: $-(CH_2)_o-$, $-(CF_2)_o-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-C_2H_4-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-CH_2-$, $-(CR^{10}R^{11})_o-$,



[0344]

로부터 선택되고;

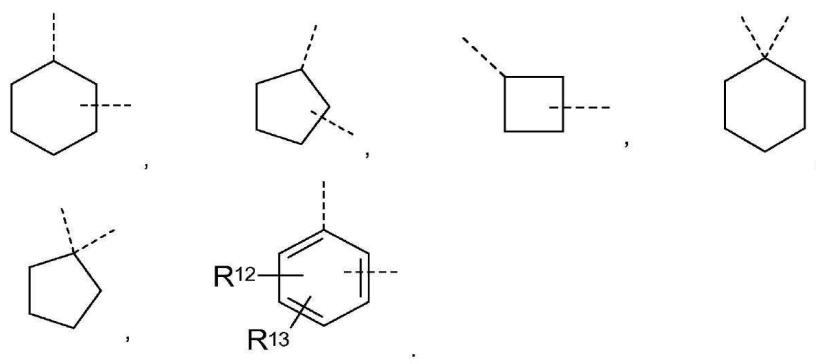
[0345] $-L^b-$ 및 $-L^c-$ 는 서로 독립적으로: $-O-$, $-NH-C(O)-NH-$, $-NH-C(S)-NH-$, $-NH-C(O)-$, $-C(O)-NH-$, $-NH-C(O)-O-$, $-NR^9-$, $-NR^{18}-$, $-SO_2-$,



[0347]

로부터 선택되고;

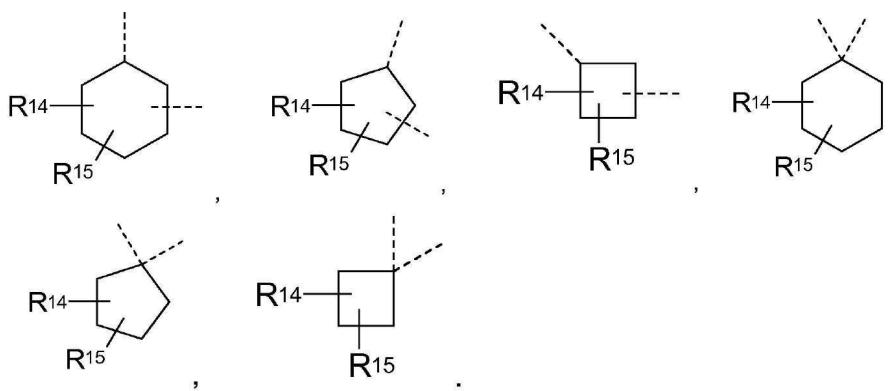
[0348]

[0349] $-L^d$ 는 $-(CH_2)_q-$, $-(CF_2)_q-$, $-(CR^{12}R^{13})_q-$, $-(CH_2-CH_2-O)_q-C_2H_4-$, $-(CH_2-CH_2-O)_q-CH_2-$,

[0350]

를 나타내고;

[0351]

[0352] $-L^e$ 는: $-(CH_2)_{p1}-$, $-(CF_2)_{p1}-$, $-C_2H_4-(O-CH_2-CH_2)_{p1}-$, $-CH_2-(O-CH_2-CH_2)_{p1}-$, $-(CH_2)_{p1}-O-(CH_2)_{p2}-$, $-(CR^{14}R^{15})_{p1}-$, $-(CR^{14}R^{15})_{p1}-O-(CR^{21}R^{22})_{p2}-$,

[0353]

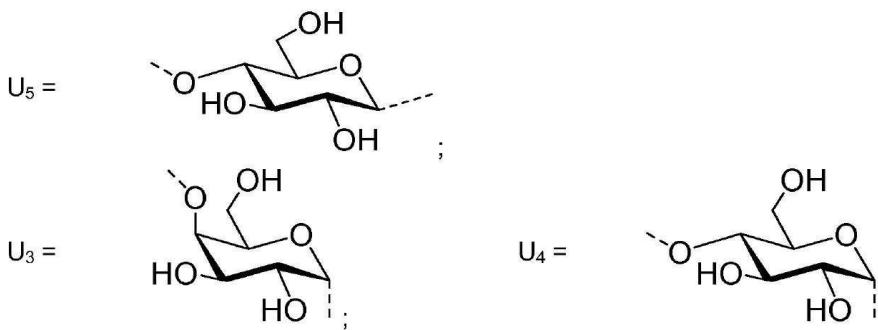
로부터 선택되고;

[0354]

[0355] R^9 및 R^{18} 은 서로 독립적으로: $-CH_3$, $-C_2H_5$, $-C_3H_7$ 및 $-C(O)CH_3$ 로부터 선택되고;

- [0356] R^{10} , R^{11} , R^{12} , R^{13} , R^{14} , R^{15} , R^{16} , R^{17} , R^{19} , R^{20} , R^{21} 및 R^{22} 는 서로 독립적으로: $-H$, $-F$, $-Cl$, $-CH_3$, $-C_2H_5$, $-C_3H_7$, $-C_5H_9$, $-C_6H_{13}$, $-OCH_3$, $-OC_2H_5$, $-CH_2F$, $-CHF_2$, $-CF_3$, $-C(O)-NH_2$, $-SCH_3$, $-SC_2H_5$, $-NHC(O)CH_3$, $-N(CH_3)_2$ 및 $-N(C_2H_5)_2$ 로부터 선택되고;
- [0357] o, q, p1 및 p2는 서로 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10으로부터 선택되는 정수이다.
- [0358] 본 발명의 사카라이드는 염기성 및/또는 산성 치환기를 포함하고 이는 유기 또는 무기 산 또는 염기와 염을 형성할 수 있다.
- [0359] 이러한 산부가염 형성을 위하여 적절한 산의 예들은 염산, 브롬화수소산, 황산, 인산, 아세트산, 시트르산, 옥살산, 말론산, 살리실산, 파라-아미노살리실산, 말산, 푸마르산, 숙신산, 아스코르브산, 말레산, 셀폰산, 포스폰산, 과염소산, 질산, 포름산, 프로피온산, 글루콘산, 젖산, 타르타르산, 하이드록시말레산, 피루브산, 페닐아세트산, 벤조산, 파라-아미노벤조산, 파라-하이드록시벤조산, 메탄설휠산, 에탄설휠산, 아질산, 하이드록시에탄설휠산, 에틸렌설휠산, 파라-톨루엔설휠산, 나프틸설휠산, 설파닐산, 캄포설휠산, 차이나산, 만델산, 오르토-메틸만델산, 하이드로겐-벤젠설휠산, 피크르산, 아디프산, d-오르토-톨릴타르타르산, 타르트론산, (오르토, 메타, 파라)-톨루산, 나프틸아민설휠산 및 당해 기술분야에서 숙련된 자에게 공지된 다른 무기 또는 카르복실산이다. 염은 유리 염기 형태를 충분한 양의 소정의 산과 접촉시켜 통상의 방법으로 염을 형성하도록 하는 것에 의하여 제조된다.
- [0360] 적절한 무기 또는 유기 염기의 예들은, 예를 들면, $NaOH$, KOH , NH_4OH , 테트라알킬암모늄하이드록사이드, 라이신 또는 아르기닌 등이다. 염은 당해 기술분야에서 잘 알려진 방법을 사용하는 통상의 방법으로, 예를 들면, 일반식 (I)의 화합물의 용액을 상기 언급된 군에서 선택되는 염기의 용액으로 처리하는 것에 의하여 제조될 수 있다.
- [0361] 일반식 (VII)의 사카라이드가 이의 아노머 또는 C-1 탄소를 통하여 연결되거나 서로 결합되는 -O-O- 및 또는 당단편(U_2 , U_3 , U_4 , U_5)을 포함하지 않는다는 것은 탄수화물 화학의 기술분야에서 숙련된 자에게는 명백하다. 글리코시드 결합의 입체화학이 일반식의 당 단편의 아노머 중심에 대하여 표시되는 입체화학이라는 것은 당해 기술분야에서 숙련된 자에게는 또한 명백하다. 따라서, 당 단편 U_1 및 U_5 에 대한 아노머 중심은 β 이고, 당 단편 U_2 및 U_6 에 대해서는 β 이고 당 단편 U_3 및 U_7 에 대해서는 α 이고 당 단편 U_4 에 대해서는 α 이다.
- [0362] $-S-$ 가 $-S_a-$ 를 나타내고 S^* -가 S_a^* -를 나타내는 일반식 (VII)의 사카라이드가 바람직하다. 따라서, 일반식 (VII)의 사카라이드 또는 그의 약제학적으로 수용가능한 염이 또한 바람직하다:
- $S_a^* - U_5 - U_4 - U_3 - S_a - O - L - NH_2$
(VIII)
- [0363] 여기에서
- [0364] $n_2 = 1$ 인 경우, $n_5 = 0$ 이고;
- [0365] $n_3 = 1$ 인 경우, $n_4 = n_5 = 0$ 이고;
- [0366] $n_4 = 1$ 인 경우, $n_3 = 0$ 이고;
- [0367] $n_4 = 1$ 인 경우, $n_3 = 0$ 이고;

[0368] $n_5 = 1$ 인 경우, $n_2 = n_3 = 0$ 이라고 가정하는 경우,



[0369]

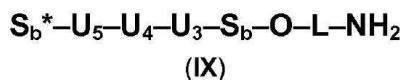
[0370] $-S_a-$ 는 $-(U_5)_{n_1}-$, $-(U_5-U_4)_{n_2}-$ 또는 $-(U_5-U_4-U_3)_{n_3}-$ 을 나타내고;

[0371] S_a^* -는 $H-(U_3)_{n_4}-$ 또는 $H-(U_4-U_3)_{n_5}-$ 를 나타내고;

[0372] n_1, n_2, n_3, n_4 및 n_5 는 0 및 1로부터 선택되고;

[0373] L은 링커이다.

[0374] $-S-$ 가 $-S_b-$ 를 나타내고 S^* -가 S_b^* -를 나타내는 일반식 (VII)의 사카라이드가 특히 바람직하다. 따라서, 일반식 (IX)의 사카라이드 또는 그의 약제학적으로 수용가능한 염이 또한 바람직하다:



[0375]

[0376] 여기에서

[0377] $n_1 = 1$ 인 경우, $n_6 = 0$ 이고;

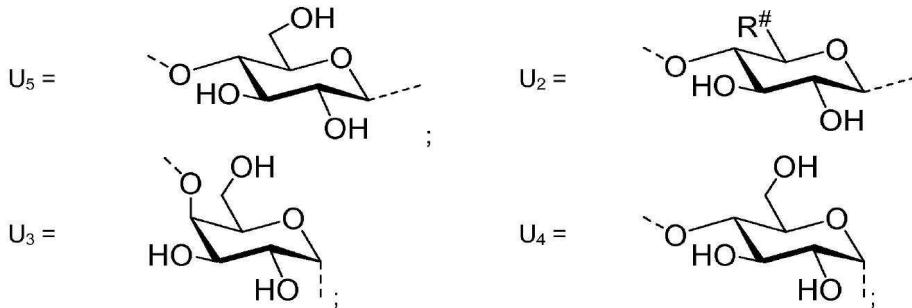
[0378] $n_2 = 1$ 인 경우, $n_5 = n_6 = 0$ 이고;

[0379] $n_3 = 1$ 인 경우, $n_4 = n_5 = n_6 = 0$ 이고;

[0380] $n_4 = 1$ 인 경우, $n_3 = 0$ 이고;

[0381] $n_5 = 1$ 인 경우, $n_2 = n_3 = 0$ 이고;

[0382] $n_6 = 1$ 인 경우, $n_1 = n_2 = n_3 = 0$ 이라고 가정하는 경우;



[0383]

[0384] R^* 은 $-COOH$ 또는 $-CH_2OH$ 를 나타내고;

[0385] $-S_b-$ 은 $-(U_2)_{n_1}-$, $-(U_2-U_5)_{n_2}-$ 또는 $-(U_2-U_5-U_4)_{n_3}-$ 을 나타내고;

[0386] S_b^* -는 $H-(U_2)_{n_4}-$, $H-(U_3-U_2)_{n_5}-$ 또는 $H-(U_4-U_3-U_2)_{n_6}-$ 을 나타내고;

[0387] n_1, n_2, n_3, n_4, n_5 및 n_6 은 0 및 1로부터 선택되고;

[0388] L은 링커이다.

[0389] 바람직하게는 링커 $-L-$ 은: $-L^a-$, $-L^a-L^e-$, $-L^a-L^b-L^e-$, $-L^a-L^d-L^e-$ 로부터 선택되고; 여기에서

[0390] $-L^a-$ 는 $-(CH_2)_o-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-C_2H_4-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-CH_2-$ 로부터 선택되고;

[0391] $-L^b-$ 는 $-O-$ 를 나타내고;

[0392] $-L^d-$ 는 $-(CH_2)_q-$, $-(CF_2)_q-$, $-(CH_2-CH_2-O)_q-C_2H_4-$ 및 $-(CH_2-CH_2-O)_q-CH_2-$ 로부터 선택되고;

[0393] $-L^e-$ 는: $-(CH_2)_{p1}-$, $-(CF_2)_{p1}-$, $-C_2H_4-(O-CH_2-CH_2)_{p1}-$, $-CH_2-(O-CH_2-CH_2)_{p1}-$ 및 $-(CH_2)_{p1}-O-(CH_2)_{p2}-$ 로부터 선택되고;

[0394] o, q, p1 및 p2는 서로 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이다.

[0395] 따라서,

[0396] $-L^a-$: $-L^a-$, $-L^a-L^e-$, $-L^a-L^b-L^e-$ 및 $-L^a-L^d-L^e-$ 로부터 선택되고;

[0397] $-L^b-$: $-(CH_2)_o-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-C_2H_4-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-CH_2-$ 로부터 선택되고;

[0398] $-L^d-$ 가 $-O-$ 를 나타내고;

[0399] $-L^e-$: $-(CH_2)_q-$, $-(CF_2)_q-$, $-(CH_2-CH_2-O)_q-C_2H_4-$ 및 $-(CH_2-CH_2-O)_q-CH_2-$ 로부터 선택되고;

[0400] $-L^e-$: $-(CH_2)_{p1}-$, $-(CF_2)_{p1}-$, $-C_2H_4-(O-CH_2-CH_2)_{p1}-$, $-CH_2-(O-CH_2-CH_2)_{p1}-$ 및 $-(CH_2)_{p1}-O-(CH_2)_{p2}-$ 로부터 선택되고;

[0401] o, q, p1 및 p2가 서로 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 일반식 (VII), (VIII) 또는 (IX)의 사카라이드가 특히 바람직하다.

[0402] $-L^a-$ $-(CH_2)_o-$ 를 나타내고 o가 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수인 일반식 (VII), (VIII) 또는 (IX)의 사카라이드가 심지어 보다 바람직하다.

[0403] 일반식 (VII-a)의 사카라이드가 여전히 보다 바람직하다:

$S^*-U_5-U_4-U_3-S-O-L^a-L^e-NH_2$ (VII-a)

[0404] 여기에서

[0406] $-L^a-$: $-(CH_2)_o-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-C_2H_4-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-CH_2-$ 로부터 선택되고;

[0407] $-L^e-$ 는: $-C_2H_4-(O-CH_2-CH_2)_{p1}-$, $-CH_2-(O-CH_2-CH_2)_{p1}-$ $-(CH_2)_{p1}-$ 및 $-(CH_2)_{p1}-O-(CH_2)_{p2}-$ 로부터 선택되고;

[0408] S^* , S, o, p1, p2, U_5 , U_4 및 U_3 은 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.

[0409] 일반식 (VIII-a)의 사카라이드가 또한 보다 바람직하다:

$S_a^*-U_5-U_4-U_3-S_a-O-L^a-L^e-NH_2$ (VIII-a)

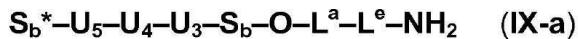
[0411] 여기에서

[0412] $-L^a-$: $-(CH_2)_o-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-C_2H_4-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-CH_2-$ 로부터 선택되고;

[0413] $-L^e-$ 는: $-C_2H_4-(O-CH_2-CH_2)_{p1}-$, $-CH_2-(O-CH_2-CH_2)_{p1}-$ $-(CH_2)_{p1}-$ 및 $-(CH_2)_{p1}-O-(CH_2)_{p2}-$ 로부터 선택되고;

[0414] S_a^* , S_a , o , $p1$, $p2$, U_5 , U_4 및 U_3 은 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.

[0415] 일반식 (IX-a)의 사카라이드가 또한 보다 바람직하다:



[0417] 여기에서

[0418] $-L^a$ 는: $-(CH_2)_o^-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o^-C_2H_4^-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o^-CH_2^-$ 로부터 선택되고;

[0419] $-L^e$ 는: $-C_2H_4^-(O-CH_2-CH_2)_{p1}^-$, $-CH_2^-(O-CH_2-CH_2)_{p1}^-$, $-(CH_2)_{p1}^-$ 및 $-(CH_2)_{p1}^-O-(CH_2)_{p2}^-$ 로부터 선택되고;

[0420] S_b^* , S_b , o , $p1$, $p2$, U_5 , U_4 및 U_3 은 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.

[0421] 일반식 (VII-b)의 사카라이드가 여전히 보다 바람직하다:



[0423] 여기에서

[0424] $-L^a$ 는: $-(CH_2)_{o1}^-$, $-(CH_2-CH_2-O)_{o2}^-C_2H_4^-$, $-(CH_2-CH_2-O)_{o2}^-CH_2^-$ 를 나타내고;

[0425] o1은 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;

[0426] o2는 1, 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;

[0427] S^* , S , U_5 , U_4 및 U_3 은 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.

[0428] 일반식 (VIII-b)의 사카라이드가 또한 보다 바람직하다:



[0430] 여기에서

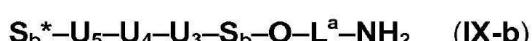
[0431] $-L^a$ 는: $-(CH_2)_{o1}^-$, $-(CH_2-CH_2-O)_{o2}^-C_2H_4^-$, $-(CH_2-CH_2-O)_{o2}^-CH_2^-$ 를 나타내고;

[0432] o1은 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;

[0433] o2는 1, 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;

[0434] S_a^* , S_a , U_5 , U_4 및 U_3 은 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.

[0435] 일반식 (IX-b)의 사카라이드가 또한 보다 바람직하다:



[0437] 여기에서

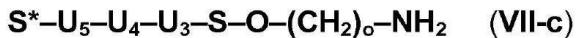
[0438] $-L^a$ 는: $-(CH_2)_{o1}^-$, $-(CH_2-CH_2-O)_{o2}^-C_2H_4^-$, $-(CH_2-CH_2-O)_{o2}^-CH_2^-$ 를 나타내고;

[0439] o1은 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;

[0440] o2는 1, 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;

[0441] S_b^* , S_b , U_5 , U_4 및 U_3 은 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.

[0442] 일반식 (VII-c)의 사카라이드가 여전히 보다 바람직하다:

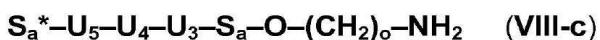


[0443] 여기에서

[0444] o는 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;

[0445] $\mathbf{S^*}$, \mathbf{S} , \mathbf{U}_5 , \mathbf{U}_4 및 \mathbf{U}_3 은 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.

[0446] 일반식 (VIII-c)의 사카라이드가 여전히 보다 바람직하다:



[0447] 여기에서

[0448] o는 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;

[0449] $\mathbf{S_a^*}$, $\mathbf{S_a}$, \mathbf{U}_5 , \mathbf{U}_4 및 \mathbf{U}_3 은 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.

[0450] 일반식 (IX-c)의 사카라이드가 또한 보다 바람직하다:



[0451] 여기에서

[0452] o는 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;

[0453] $\mathbf{S_b^*}$, $\mathbf{S_b}$, \mathbf{U}_5 , \mathbf{U}_4 및 \mathbf{U}_3 은 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.

[0454] 여전히 다른 바람직한 구체예에 있어서, 본 발명에 따른 사카라이드는:

[0455] β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 1)-(2-아미노)에탄올 (60),

[0456] β -D-글루코파라노실우론산-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 1)-(2-아미노)에탄올 (18),

[0457] 5-아미노 웬타닐 β -D-글루코파라노실 우론산-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노시드 (19),

[0458] β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 1)-(2-아미노)에탄올 (62),

[0459] 5-아미노 웬타닐 β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실 우론산 (22),

[0460] α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실우로네이트-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 1)-(2-아미노)에탄올 (55),

[0461] α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 1)-(2-아미노)에탄올 (57),

[0462] 4-아미노 부틸 β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노시드 (82);

[0463] 3-아미노프로필 α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노시드 (83);

[0464] 3-아미노프로필 α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실우로네이트-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)-(2-아미노)에탄올 (57),

[0465] 6-아미노 헥사닐 α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노시드 (84);

[0466] 6-아미노 헥사닐 α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노시드 (85);

락토파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노시드 (85);

[0469] 3-아미노프로필 α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노시드 (86);

[0470] 4-아미노부틸 β -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-글루코파라노시드 (87);

[0471] 4-아미노부틸 β -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노시드 (88);

[0472] 6-아미노헥사닐 α -D-갈락토파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-글루코파라노시드 (89)

[0473]로 이루어지는 군으로부터 선택된다.

화학적 합성

[0475] 본 발명에 따른 사카라이드는 여러 합성 경로를 통하여 합성될 수 있다.

[0476] 예를 들어, 본 발명에 따른 사카라이드는 티오글리코시드 구축 블록(building block) BB2 (당 단편 U₁, U₅, U₂ 및 U₆에 대한 전구체), BB3 (당 단편 U₂ 및 U₆에 대한 전구체), BB4 (당 단편 U₃ 및 U₇에 대한 전구체) 및 BB5 (당 단편 U₄에 대한 전구체) 및 관능화된 고체 지지체 BB1 (*Angew. Chem. Int. Ed.* 2013, 52, 5858.) (개요 1을 참조하시오)으로부터 출발하여 자동화된 고상합성(automated solid phase synthesis)에 의하여 조립될 수 있다. 개요 1에 요약된 합성 방법은:

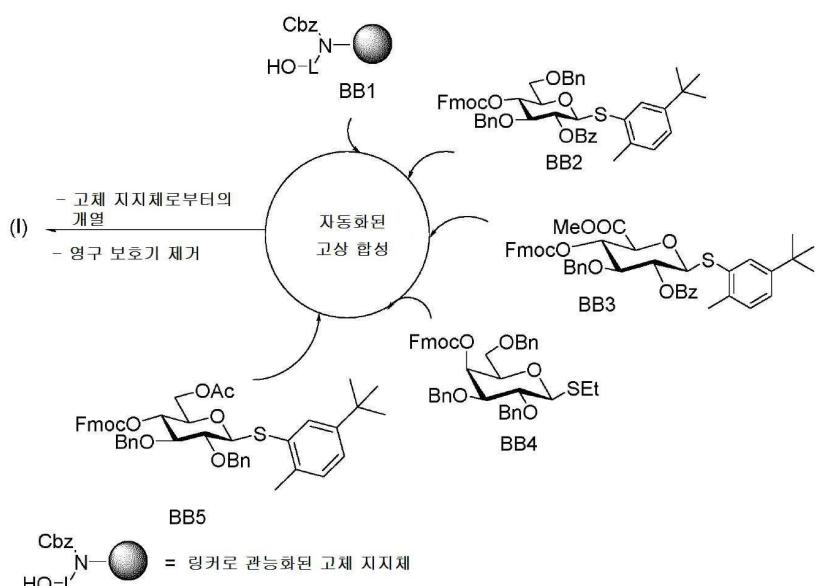
[0477] - NIS/TfOH로의 활성화에 의한 적절한 티오글리코시드 (BB2, BB3, BB4 또는 BB5)로의 글리코실화를 포함하는 소정의 올리고사카라이드의 조립;

[0478] 후속하는 Et₃N로의 처리에 의한 임시 보호기 Fmoc의 제거;

[0479] - 고체 지지체로부터의 개열; 및

[0480] - 영구 보호기의 제거

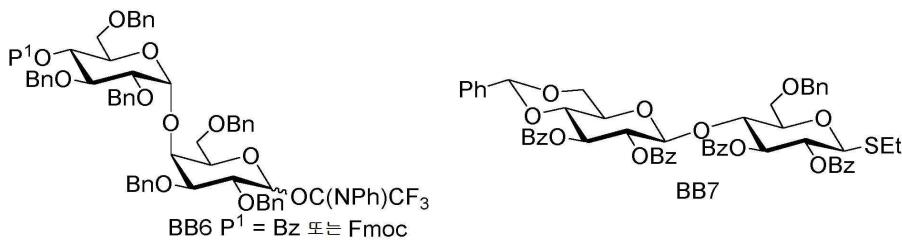
[0481]를 포함한다.



[0482]

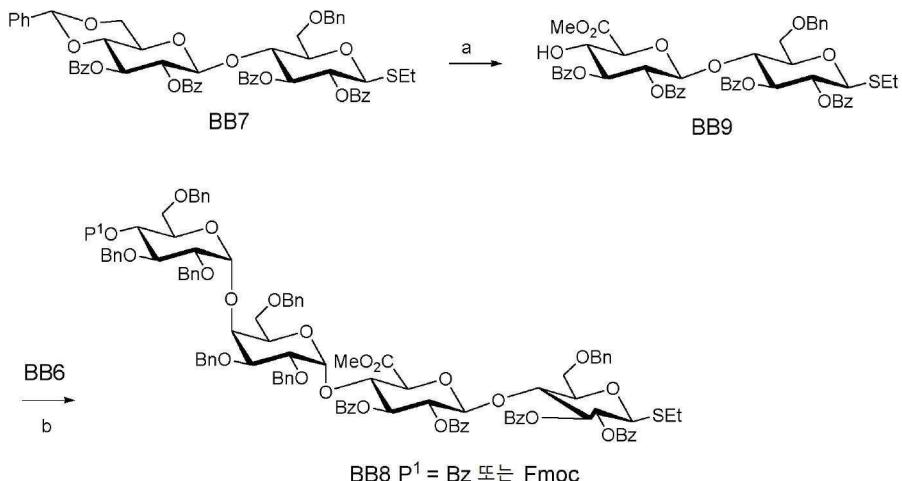
개요 1: 일반식 (I)의 사카라이드의 자동화된 고상 합성.

[0484] 달리, 일반식 (I)의 사카라이드에 접근하기 위하여 올리고사카라이드의 용액-상 합성(solution-phase synthesis)이 사용될 수 있다. 합성 방법을 촉진하기 위하여, 연장 단위(elongating unit)로서 BB6 및 BB7 등과 같은 디사카라이드 구축 블록이 바람직하게 사용된다.



[0485]

숙련된 자는 일반식 (I)의 더 높은 사카라이드에의 접근을 위하여, 개요 2에 따라 디사카라이드 BB6 및 BB7로부터 출발하여 쉽게 수득될 수 있는 테트라사카라이드 BB8 등과 같은 보다 높은 연장 단위를 사용하는 것이 편리하다는 것을 인식할 것이다. 따라서, EtSH, 파라-TsOH로의 처리에 의하여 디사카라이드 BB7 상의 벤질리덴 아세탈이 제거되어 중간체 디올이 수득될 수 있고, 이는 추가로 BAIB 및 Tempo로의 위치선택적 산화(regioselective oxidation) 및 후속하는 신규 형성된 카르복실산의 에스테르화에 적용되어 이차 알코올 BB9를 수득할 수 있다. 알코올 BB9는 추가로 디사카라이드 BB6으로의 글리코실화 반응에 적용되어 테트라사카라이드 BB8가 수득될 수 있고 이는 직접적으로 연장 단위로 사용될 수 있다. 편리하게도, α -글루코사이드 성분의 C-4 위치의 하이드록실기가 추가의 글리코실화 반응의 고려에서 선택적 제거를 가능하게 하는 직교(orthogonal)의 Fmoc 보호기로 보호될 수 있다. 그러나, 비-환원에서 말단 모노사카라이드를 구성하는 경우, 벤조에이트 에스테르로서 C-4 위치의 하이드록실기의 보호가 합성을 촉진시킬 것이다.



[0487]

개요 2: 테트라사카라이드 반복 단위 BB8의 합성. a. i. EtSH, *p*-TsOH; ii. BAIB, Tempo; iii. TMS-CHN₂; b. BB6, TMSOTf, Et₂O/DCM.

마이크로어레이(Microarray)

도 4에 나타난 바와 같이, 식 (I), (I-a) 내지 (I-c), (II), (II-a) 내지 (II-g), (III), (III-a) 내지 (III-g), (IV), (IV-a) 내지 (IV-g), (V), (V-a) 내지 (V-c), (VI), (VI-a) 내지 (VI-c), (VII), (VII-a) 내지 (VII-c), (VIII), (VIII-a) 내지 (VIII-c), (IX), (IX-a) 내지 (IX-c)의 본 발명의 화합물 특히 사카라이드 10, 18, 19, 20, 21, 22, 55, 57, 60 및 62 내지 89는 SP-8 천연 폴리사카라이드와 에피토프를 공유한다. 합성 올리고사카라이드를 *N*-하이드록시숙신이미드-관능화 유리 슬라이드 상에 인쇄하고 천연 Sp8 박테리아에 대한 래빗 항혈청 (타입 8 항혈청, SSI Diagnostics, 도 4 (D)) 또는 Pneumovax23®로 백신화된 결합 혈청 ("007sp", National Institute for Biological Standards and Control, 도 4 (B), (C)) 중의 하나로 배양시켰다. 래빗 항혈청이 모든 인쇄된 테트라사카라이드의 인식을 나타낸 반면 (도 4 (D)), Pneumovax23®로 백신화된 인간으로부터의 항혈청은 단지 화합물 19, 20, 22 및 18 만 인식하였다 (도 4 (B) 및 4 (C)를 참조하시오). 사카라이드 19 및 18 사이에서 Pneumovax23®로 백신화된 인간으로부터의 항혈청 간에 활발한 상호작용이 관측되었다. SP-8 천연 폴리사카라이드와의 배양은 결합이 폐지되었다 (도 4 (B) 및 4 (C)를 참조하시오). 이러한 데이터는 항-SP8 CPS 항체에의 결합에 대한 테트라사카라이드 18, 19 및 20의 특이성 및 교차 반응성을 입증하고 있다.

[0491] 마이크로어레이 분석은 또한 사카라이드 19, 20, 21 및 22에의 mAb 28H11 (보호성 뮤린 IgM)의 결합의 평가를 가능하게 하였다 (도 12를 참조하시오). MAb 28H11은 천연 스트렙토코커스 뉴모니에 타입 8 CPS에 대하여 야기

된 뮤린 IgM이고 여러 설정에서 생 스트렙토코커스 뉴모니에 타입 8 폐렴구균으로의 감염으로부터 마우스를 보호한다 (Yano and Pirofski (2011), *Clin. Vaccine Immunol.*, 18 (1), 59-66). 글리칸 마이크로어레이 분석은 10 μ g/ml까지의 천연 스트렙토코커스 뉴모니에 타입 8 CPS에의 결합의 제거로 나타난 바와 같이, 스트렙토코커스 뉴모니에 타입 8에 대하여 특이적인 사카라이드 19와의 mAb 28H11의 활발한 상호작용을 나타내었다 (도 12를 참조하시오).

[0492] 글리코콘쥬게이트(Glycoconjugates)

본 발명의 다른 양태는 -O-L-NH₂ 기의 질소원자를 통하여 면역원성 담체에 공유적으로 결합되거나 공유적으로 연결된 일반식 (I)의 합성 사카라이드를 포함하는 콘쥬게이트에 관한 것이다. 달리 말하면, 본 발명의 다른 양태는 -O-L-NH₂기의 질소원자를 통하여 면역원성 담체에 콘쥬게이트된 일반식 (I), (I-a) 내지 (I-c), (II), (II-a) 내지 (II-g), (III), (III-a) 내지 (III-g), (IV), (IV-a) 내지 (IV-g), (V), (V-a) 내지 (V-c), (VI), (VI-a) 내지 (VI-c), (VII), (VII-a) 내지 (VII-c), (VIII), (VIII-a) 내지 (VIII-c), (IX) 및 (IX-a) 내지 (IX-c)의 임의의 사카라이드에 관한 것이다. 따라서, -O-L-NH₂기의 질소원자를 통하여 면역원성 담체에 공유적으로 결합되거나 공유적으로 연결된 일반식 (I), (I-a) 내지 (I-c), (II), (II-a) 내지 (II-g), (III), (III-a) 내지 (III-g), (IV), (IV-a) 내지 (IV-g), (V), (V-a) 내지 (V-c), (VI), (VI-a) 내지 (VI-c), (VII), (VII-a) 내지 (VII-c), (VIII), (VIII-a) 내지 (VIII-c), (IX) 또는 (IX-a)-(IX-c)의 합성 사카라이드를 포함하는 콘쥬게이트가 또한 일반식 (I), (I-a) 내지 (I-c), (II), (II-a) 내지 (II-g), (III), (III-a) 내지 (III-g), (IV), (IV-a) 내지 (IV-g), (V), (V-a) 내지 (V-c), (VI), (VI-a) 내지 (VI-c), (VII), (VII-a) 내지 (VII-c), (VIII), (VIII-a) 내지 (VIII-c), (IX) 및 (IX-a) 내지 (IX-c)의 임의의 사카라이드를 면역원성 담체와 반응시키는 것에 의하여 수득되는 콘쥬게이트로서 정의된다. 상기 콘쥬게이트는 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8 박테리아와 연관된 질환에 대한 면역화를 위한 백신으로서 유효한 것으로 입증되었다.

[0494] 사카라이드는 당해 기술분야에서 숙련된 자에게는 일반적으로 TI-2 (T 세포 독립-2) 항원 및 형편없는 면역원으로서 공지되었다. TI-2 항원은 표면 노출 면역글로불린 수용기의 가교 연결을 통하여 단지 성숙 B 세포에 의해 인식되는 항원이다. T 세포 도움 없이, 면역 기억이 생성되지 않고 IgM으로부터 다른 IgG 서브클래스(subclasses)로 전환하는 아이소타입(isotype) 뿐만 아니라 B 세포 친화도 성숙도 일어나지 않는다. 게다가, 인간 당지질 및 당단백질에 대한 구조적 상동성으로 인하여 사카라이드는 인간에서 형편없는 면역원으로 알려져 있다. 이들 형편없는 면역원성의 특성으로 인하여, 사카라이드는 잠재적인 백신의 생산에 필수적인 특징인 B 세포에 의한 항체 생산과 마찬가지로 기억 세포의 형성 둘 다를 생산하기 위한 형편없는 능력을 나타낸다.

[0495] 따라서, 잠재적인 사카라이드-기반 백신을 생산하기 위하여, 일반식 (I), (I-a) 내지 (I-c), (II), (II-a) 내지 (II-g), (III), (III-a) 내지 (III-g), (IV), (IV-a) 내지 (IV-g), (V), (V-a) 내지 (V-c), (VI), (VI-a) 내지 (VI-c), (VII), (VII-a) 내지 (VII-c), (VIII), (VIII-a) 내지 (VIII-c), (IX) 또는 (IX-a) 내지 (IX-c)의 사카라이드가 면역원성 담체에 콘쥬게이트화되어 사카라이드에 비하여 증가된 면역원성을 제공하는 콘쥬게이트를 제공한다.

[0496] 상기 콘쥬게이트는 일반식 (I), (I-a) 내지 (I-c), (II), (II-a) 내지 (II-g), (III), (III-a) 내지 (III-g), (IV), (IV-a) 내지 (IV-g), (V), (V-a) 내지 (V-c), (VI), (VI-a) 내지 (VI-c), (VII), (VII-a) 내지 (VII-c), (VIII), (VIII-a) 내지 (VIII-c), (IX) 또는 (IX-a) 내지 (IX-c)의 적어도 하나의 합성 사카라이드 및 그에 일반식 (I), (I-a) 내지 (I-c), (II), (II-a) 내지 (II-g), (III), (III-a) 내지 (III-g), (IV), (IV-a) 내지 (IV-g), (V), (V-a) 내지 (V-c), (VI), (VI-a) 내지 (VI-c), (VII), (VII-a) 내지 (VII-c), (VIII), (VIII-a) 내지 (VIII-c), (IX) 또는 (IX-a) 내지 (IX-c)의 적어도 하나의 사카라이드가 공유적으로 결합되는 면역원성 담체로 이루어진다.

[0497] 놀랍게도, 본 발명에 따른 콘쥬게이트로의 면역화가 본 발명에 따른 사카라이드의 탄수화물 부분에 대하여 특이적인 항체의 높은 역가의 생산이라는 결과를 가져온다. 상기 항체는 천연 SP-8 폴리사카라이드와 교차-반응하고 옵소닌식세포 및 살균 활성을 제공하고, 따라서 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8 박테리아에 대한 보호를 부여한다. 항체 아이소타입 대조에 의하거나 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 1 또는 3에로의 결합이 관측될 수 없기 때문에, 본 발명의 콘쥬게이트에 의해 이끌어내어지는 모노클로날 항체와 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8 간의 상호작용은 특이적이다 (예를 들어 도 8, 9 및 10을 참조하시오).

[0498] 이 문맥에서 용어 "면역원성 담체"는 사카라이드에 콘쥬게이트화되어 사카라이드 그 자체에 비하여 증가된 면역력을 제공하는 콘쥬게이트를 형성하는 구조물로 정의된다. 따라서, 면역원성 담체에의 일반식 (I), (I-a) 내지

(I-c), (II), (II-a) 내지 (II-g), (III), (III-a) 내지 (III-g), (IV), (IV-a) 내지 (IV-g), (V), (V-a) 내지 (V-c), (VI), (VI-a) 내지 (VI-c), (VII), (VII-a) 내지 (VII-c), (VIII), (VIII-a) 내지 (VIII-c), (IX) 또는 (IX-a) 내지 (IX-c)의 사카라이드의 콘쥬게이트화는 상기 면역원성 담체에 대한 면역 반응을 유도함이 없이 일반식 (I), (I-a) 내지 (I-c), (II), (II-a) 내지 (II-g), (III), (III-a) 내지 (III-g), (IV), (IV-a) 내지 (IV-g), (V), (V-a) 내지 (V-c), (VI), (VI-a) 내지 (VI-c), (VII), (VII-a) 내지 (VII-c), (VIII), (VIII-a) 내지 (VIII-c), (IX) 또는 (IX-a) 내지 (IX-c)의 사카라이드에 대한 면역 반응의 자극과 같은 효과를 갖는다.

[0499]

바람직한 면역원성 담체는 면역조절 특성을 갖는 담체 단백질(carrier protein) 또는 글리코스핑고리피드이다. 당해 기술분야에서 숙련된 자에게는, 담체 단백질은 디프테리아 변독소(diphtheria toxoid), 돌연변이된 디프테리아 변독소, 변성된 디프테리아 변독소, 돌연변이되고 변성된 디프테리아 변독소, 파상풍 변독소(tetanus toxoid), 변성된 파상풍 변독소, 돌연변이된 파상풍 변독소, 외막 단백질(OMP: outer membrane protein), 소혈청 알부민(BSA), 키홀립펫 해모시아닌(KLH: keyhole limpet hemocyanine) 또는 콜레라 변독소(CT: cholera toxoid)를 포함하거나 이들로 이루어지는 군으로부터 선택되는 단백질이다. 여기에서 사용된 바와 같은 용어 "변독소(toxoid)"는 화학적(포르말린) 또는 열 처리에 의하여 그 독성이 비활성화되거나 억제된 반면에 다른 특성들, 전형적으로는 면역원성이 유지된 박테리아 독소(대개는 외독소(exotoxin))를 의미한다. 여기에서 사용된 바와 같은 돌연변이된 변독소는 야생형 아미노산 시퀀스를 변경하는 것에 의해 독성이 덜해지도록 변경되거나 심지어 비-독성이 되도록 한 재조합 박테리아 독소이다. 이러한 돌연변이는 하나 이상의 아미노산의 치환일 수 있다. 이러한 돌연변이된 변독소는 그의 표면에 중간연결 분자의 관능기 Y와 반응하여 변성된 변독소를 제공하는 관능성(functionality)을 제공한다. 상기 관능성은 당해 기술분야에서 숙련된 자에게는 공지되어 있으며, 환원체의 존재 중에서 활성화된 에스테르, 이소시아네이트기 또는 알데하이드와 반응할 수 있는 라이신 잔기의 일차 아미노 관능성, 카르보디이미드에 의해 활성화될 수 있는 글루타메이트 또는 아스파르테이트 잔기의 카르복실레이트 관능성 또는 시스테인 잔기의 티올 관능성이 포함되나 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0500]

활성화된 에스테르에는 N-(γ -말레이미도부티릴옥시) 설포숙신이미드 에스테르(sulfo-GMBS: N-(γ -maleimidobutyryloxy) sulfosuccinimide ester), 숙신이미딜 (4-이오도아세틸) 아미노벤조에이트(sulfo-SIAB: succinimidyl (4-iodoacetyl) aminobenzoate), 숙신이미딜-3-(브로모아세트아미도)프로페오네이트(SBAP: succinimidyl-3-(bromoacetamido)propionate), 디숙신이미딜 글루타레이트(DSG: disuccinimidyl glutarate), 디숙신이미딜 아디페이트(DSA: disuccinimidyl adipate), 2-페리딜디티올-테트라옥사테트라데칸-N-하이드록시숙신이미드(PEG-4-SPDP: 2-pyridyldithiol-tetraoxatetradecane-Nhydroxysuccinimide) 및 비스-(4-나트로페닐) 숙시네이트(bis-(4-nitrophenyl) succinate)가 포함되나 이들로 제한되는 것은 아니다 (도 1을 참조하시오). 디숙신이미딜 아디페이트(DSA), 디숙신이미딜 글루타레이트(DSG), 비스-(4-나트로페닐) 아디페이트 및 비스-(4-나트로페닐) 숙시네이트가 바람직한 활성화된 에스테르이다.

[0501]

담체 단백질 상의 시스테인 잔기는 추가로 적절한 중간연결 분자와 반응하여 그들 표면 상에 중간연결 분자의 관능기 X를 갖는 변성된 담체 단백질을 제공할 수 있는 대응하는 디하이드로알라닌으로 변환될 수 있다.

[0502]

여기에서 기술된 본 발명의 사카라이드가 관능성으로서 라이신 잔기의 일차 아민 관능성을 제공하는 비-독성의 돌연변이된 디프테리아 독소 CRM₁₉₇에 콘쥬게이트화되는 것이 특히 바람직하다.

[0503]

CRM₁₉₇ 같은 야생형 디프테리아 독소는 디설파이드 가교로 연결되고 글루탐산의 글리신으로의 단일 아미노산 치환을 갖는 2개의 서브유닛으로 이루어지는 535개 아미노산(58 kD)의 단일 폴리펩티드쇄이다. 이는 프리베나(Prevnar) 등과 같이 질병에 대한 다수의 승인된 공액화 백신에서 담체 단백질로서 활용된다.

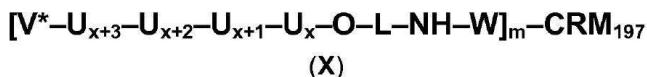
[0504]

따라서, 본 발명의 바람직한 구체예에 있어서 담체 단백질은 그의 표면에 중간연결 분자의 관능기 Y와 반응할 수 있는 라이신 잔기의 일차 아미노 관능성을 제공하여 그의 표면 상에 중간연결 분자의 상기 관능기 X를 갖는 변성된 담체 단백질을 제공하고, 이는 본 발명의 사카라이드를 관능화하는 링커의 말단 아미노기와 반응할 수 있다.

[0505]

중간연결 분자의 상기 관능기 X는 말레이미드; α -이오도아세틸; α -브로모아세틸; N-하이드록시숙신이미드 에스테르(NHS), 알데하이드, 이미도에스테르, 카르복실산, 알킬설포네이트, 설포닐클로라이드, 에폭시드, 무수물(anhydride), 카보네이트를 포함하거나 이들로 이루어지는 군으로부터 선택된다(도 2를 참조하시오).

[0506] 일반식 (X)의 콘쥬게이트가 바람직하다:

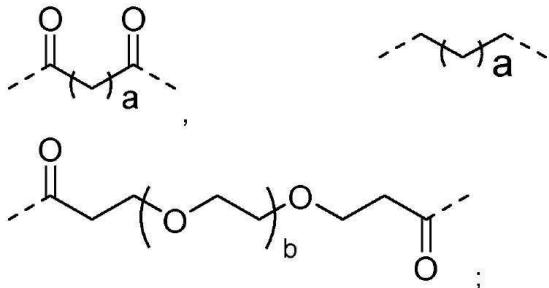


[0507]

여기에서 m 은 2 내지 18 사이에 포함되고;

[0509]

$-W-$ 는:



및

[0510]

로부터 선택되고;

[0512]

a 는 1 내지 10의 정수를 나타내고;

[0513]

b 는 1 내지 4의 정수를 나타내고;

[0514] V^* , U_{x+3} , U_{x+2} , U_{x+1} , U_x , x 및 L 은 여기에서 정의된 의미를 갖는다.

[0515] 바람직하게는, 링커 $-L-$ 은: $-L^a-$, $-L^a-L^e-$, $-L^a-L^b-L^e-$ 및 $-L^a-L^d-L^e-$ 로부터 선택되고;

[0516] $-L^a-$ 는: $-(CH_2)_o-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-C_2H_4-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-CH_2-$ 로부터 선택되고;

[0517]

$-L^b-$ 는 $-O-$ 를 나타내고;

[0518]

$-L^d-$ 는: $-(CH_2)_q-$, $-(CF_2)_q-$, $-(CH_2-CH_2-O)_q-C_2H_4-$ 및 $-(CH_2-CH_2-O)_q-CH_2-$ 로부터 선택되고;

[0519]

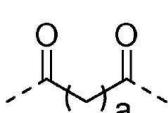
$-L^e-$ 는: $-(CH_2)_{p1}-$, $-(CF_2)_{p1}-$, $-C_2H_4-(O-CH_2-CH_2)_{p1}-$, $-CH_2-(O-CH_2-CH_2)_{p1}-$ 및 $-(CH_2)_{p1}-O-(CH_2)_{p2}-$ 로부터 선택되고;

[0520]

o , q , $p1$ 및 $p2$ 는 서로 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이다.

[0521]

$-W-$ 는



[0522]

를 나타내고 a 는 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수인 것이 또한 바람직하다.

[0524]

따라서, 링커 $-L-$ 은: $-L^a-$, $-L^a-L^e-$, $-L^a-L^b-L^e-$ 및 $-L^a-L^d-L^e-$ 로부터 선택되고;

[0525]

$-L^a-$ 는: $-(CH_2)_o-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-C_2H_4-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-CH_2-$ 로부터 선택되고;

[0526]

$-L^b-$ 는 $-O-$ 를 나타내고;

[0527]

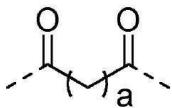
$-L^d-$ 는: $-(CH_2)_q-$, $-(CF_2)_q-$, $-(CH_2-CH_2-O)_q-C_2H_4-$ 및 $-(CH_2-CH_2-O)_q-CH_2-$ 로부터 선택되고;

[0528]

$-L^e-$ 는: $-(CH_2)_{p1}-$, $-(CF_2)_{p1}-$, $-C_2H_4-(O-CH_2-CH_2)_{p1}-$, $-CH_2-(O-CH_2-CH_2)_{p1}-$ 및 $-(CH_2)_{p1}-O-(CH_2)_{p2}-$ 로부터 선택되고;

[0529] o, q, p1 및 p2는 서로 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;

[0530] -W-는

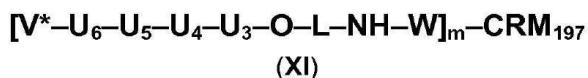


[0531]

[0532] 를 나타내고, a는 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수인 일반식 (X)의 콘쥬게이트가 특히 바람직하다.

[0533]

x가 3을 나타내는 일반식 (X)의 콘쥬게이트가 심지어 보다 바람직하다. 따라서, 일반식 (XI)의 콘쥬게이트가 특히 바람직하다:

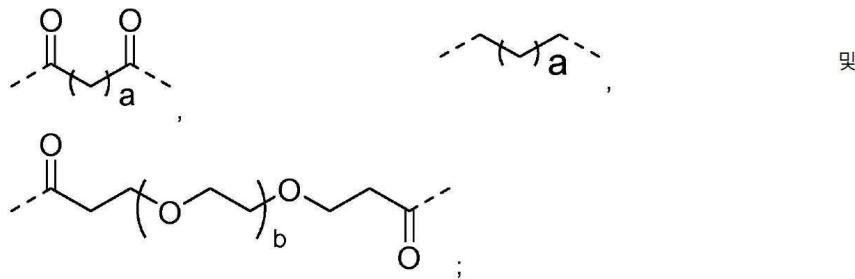


[0534]

[0535] 여기에서 m은 2 내지 18 사이에 포함되고;

[0536]

-W-는:



[0537]

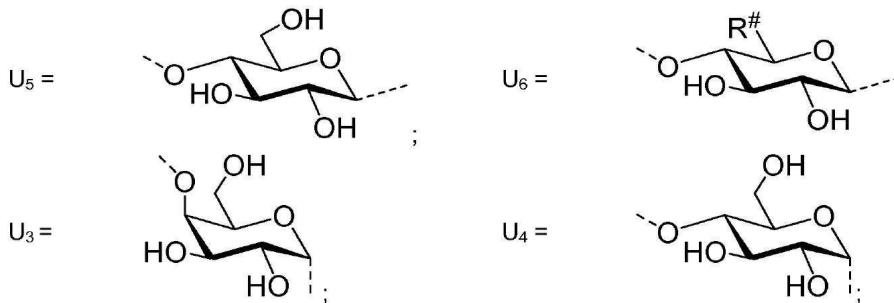
[0538]로부터 선택되고;

[0539]

a는 1 내지 10의 정수를 나타내고;

[0540]

b는 1 내지 4의 정수를 나타내고;



[0541]

[0542] V*-는 H-, H-U3- 또는 H-U4-U3-을 나타내고;

[0543]

R#는 -COOH 또는 -CH2OH를 나타내고;

[0544]

L은 링커를 나타낸다.

[0545]

바람직하게는, 일반식 (XI)에 있어서 링커 -L-은: $-L^a-$, $-L^a-L^e-$, $-L^a-L^b-L^e-$ 및 $-L^a-L^d-L^e-$ 로부터 선택되고;

[0546]

$-L^a-$ 는: $-(CH_2)_o-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-C_2H_4-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-CH_2-$ 로부터 선택되고;

[0547]

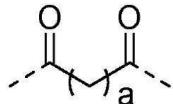
$-L^b-$ 는 -O-를 나타내고;

[0548] $-L^d-$ 는: $-(CH_2)_q-$, $-(CF_2)_q-$, $-(CH_2-CH_2-O)_q-C_2H_4-$ 및 $-(CH_2-CH_2-O)_q-CH_2-$ 로부터 선택되고;

[0549] $-L^e-$ 는: $-(CH_2)_{p1}-$, $-(CF_2)_{p1}-$, $-C_2H_4-(O-CH_2-CH_2)_{p1}-$, $-CH_2-(O-CH_2-CH_2)_{p1}-$ 및 $-(CH_2)_{p1}-O-(CH_2)_{p2}-$ 로부터 선택되고;

[0550] o, q, p1 및 p2는 서로 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되고;

[0551] $-W-$ 는



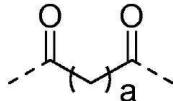
[0552] 를 나타내고 a는 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이다.

[0554] 일반식 (X) 또는 (XI)의 콘쥬게이트가 특히 바람직하다:

[0555] 여기에서 링커 $-L-$ 은 $-(CH_2)_o-$ 를 나타내고,

[0556] o는 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;

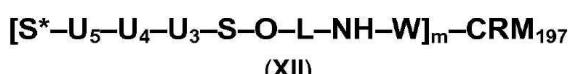
[0557] $-W-$ 는



[0558] 를 나타내고 a는 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이다.

[0560] 바람직하게는 m은 2 내지 18 사이, 보다 바람직하게는 5 내지 15 사이, 심지어 보다 바람직하게는 8 내지 12 사이에 포함된다.

[0561] 본 발명의 다른 양태는 일반식 (XII)의 콘쥬게이트에 관한 것이다:



[0562]

[0563] 여기에서

[0564] $-S-$ 가 $-S_a-$ 를 나타내는 경우, S^* -는 S_a^* -를 나타내고;

[0565] $-S-$ 가 $-S_b-$ 를 나타내는 경우, S^* -는 S_b^* -를 나타내고;

[0566] $n_1 = 1$ 인 경우, $n_6 = 0$ 이고;

[0567] $n_2 = 1$ 인 경우, $n_5 = n_6 = 0$ 이고;

[0568] $n_3 = 1$ 인 경우, $n_4 = n_5 = n_6 = 0$ 이고;

[0569] $n_4 = 1$ 인 경우, $n_3 = 0$ 이고;

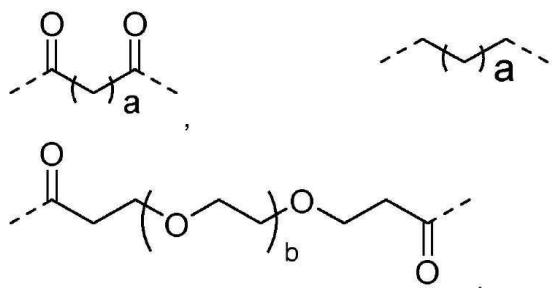
[0570] $n_5 = 1$ 인 경우, $n_2 = n_3 = 0$ 이고;

[0571] $n_6 = 1$ 인 경우, $n_1 = n_2 = n_3 = 0$ 이라고 가정하는 경우,

[0572] m은 2 내지 18 사이에 포함되고;

[0573]

-W-는



및

[0574]

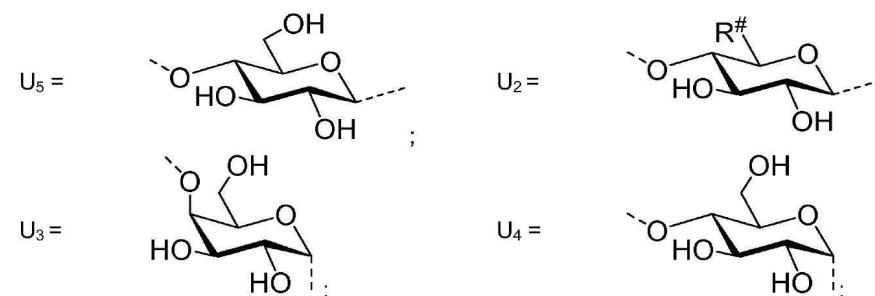
으로부터 선택되고,

[0575]

a는 1 내지 10 사이의 정수를 나타내고;

[0576]

b는 1 내지 4의 정수를 나타내고;



[0578]

R#은 -COOH 또는 -CH2OH를 나타내고;

[0579]

-S-는 -S_a- 또는 -S_b-를 나타내고;

[0580]

-S_a-는 -(U₅)_{n1}- , -(U₅-U₄)_{n2}- 또는 -(U₅-U₄-U₃)_{n3}-를 나타내고;

[0581]

-S_b-는 -(U₂)_{n1}- , -(U₂-U₅)_{n2}- 또는 -(U₂-U₅-U₄)_{n3}-를 나타내고;

[0582]

-S^{*}-는 S^{*}_a- 또는 S^{*}_b-를 나타내고;

[0583]

S^{*}_a-는 H-(U₃)_{n4}- 또는 H-(U₄-U₃)_{n5}-를 나타내고;

[0584]

S^{*}_b-는 H-(U₂)_{n4}- , H-(U₃-U₂)_{n5}- 또는 H-(U₄-U₃-U₂)_{n6}-를 나타내고;

[0585]

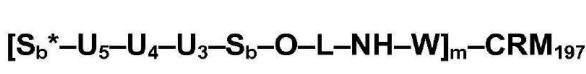
n1, n2, n3, n4, n5 및 n6은 0 및 1로부터 선택되고;

[0586]

L은 링커이다.

[0587]

보다 바람직한 콘쥬게이트는 일반식 (XIII)의 콘쥬게이트이다:



[0588]

여기에서

[0589]

n1 = 1인 경우, n6 = 0이고;

[0590]

n2 = 1인 경우, n5 = n6 = 0이고;

[0591]

n3 = 1인 경우, n4 = n5 = n6 = 0이고;

[0592]

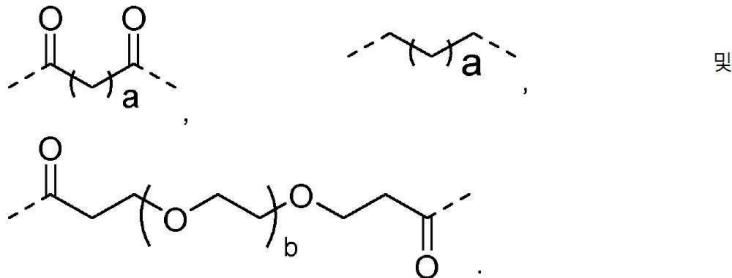
n4 = 1인 경우, n3 = 0이고;

[0595] $n_5 = 1$ 인 경우, $n_2 = n_3 = 0$ 이고;

[0596] $n_6 = 1$ 인 경우, $n_1 = n_2 = n_3 = 0$ 이라고 가정하는 경우,

[0597] m은 2 내지 18 사이에 포함되고;

[0598] -W-는:

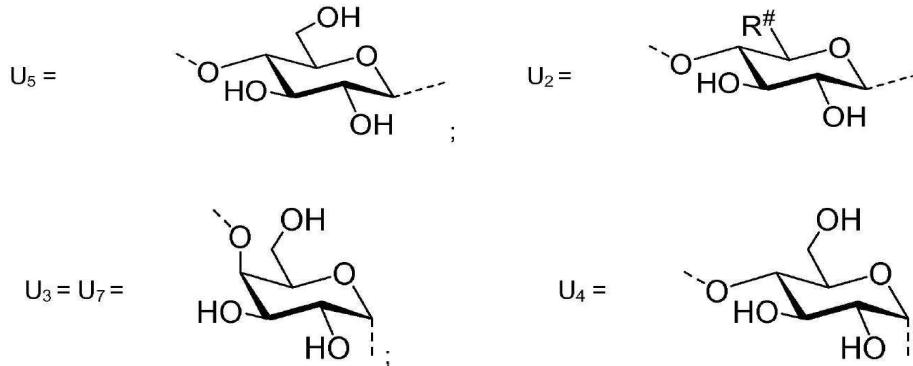


[0599]

로부터 선택되고;

[0601] a는 1 내지 10 사이의 정수를 나타내고;

[0602] b는 1 내지 4 사이의 정수를 나타내고;



[0603]

[0604] $R^\#$ 는 $-COOH$ 또는 $-CH_2OH$ 를 나타내고;

[0606] $-S_b^-$ 는 $-(U_2)_{n1}^-$, $-(U_2-U_5)_{n2}^-$ 또는 $-(U_2-U_5-U_4)_{n3}^-$ 를 나타내고;

[0607] S_b^* 는 $H-(U_2)_{n4}^-$, $H-(U_3-U_2)_{n5}^-$ 또는 $H-(U_4-U_3-U_2)_{n6}^-$ 를 나타내고;

[0608] n1, n2, n3, n4, n5 및 n6은 0 및 1로부터 선택되고;

[0609] L은 링커이다.

[0610] 바람직하게는, 링커 $-L-$ 은: $-L^a-$, $-L^a-L^e-$, $-L^a-L^b-L^e-$ 및 $-L^a-L^d-L^e-$ 로부터 선택되고;

[0611] $-L^a-$ 는: $-(CH_2)_o^-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o^-C_2H_4^-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o^-CH_2^-$ 로부터 선택되고;

[0612] $-L^b-$ 는 $-O-$ 를 나타내고;

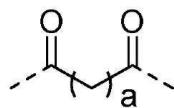
[0613] $-L^d-$ 는: $-(CH_2)_q^-$, $-(CF_2)_q^-$, $-(CH_2-CH_2-O)_q^-C_2H_4^-$ 및 $-(CH_2-CH_2-O)_q^-CH_2^-$ 로부터 선택되고;

[0614] $-L^e-$ 는: $-(CH_2)_{p1}^-$, $-(CF_2)_{p1}^-$, $-C_2H_4-(O-CH_2-CH_2)_{p1}^-$, $-CH_2-(O-CH_2-CH_2)_{p1}^-$ 및 $-(CH_2)_{p1}^-O-(CH_2)_{p2}^-$ 로부터 선택되고;

[0615] o, q, p1 및 p2는 서로 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이다.

[0616]

-W-가



[0617]

나타내고 a가 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수인 것이 또한 바람직하다.

[0619]

따라서, 일반식 (XII) 또는 (XIII)의 콘쥬게이트가 특히 바람직하다:

[0620]

여기에서

[0621]

링커 -L-은: $-L^a-$, $-L^a-L^e-$, $-L^a-L^b-L^e-$ 및 $-L^a-L^d-L^e-$ 로부터 선택되고;

[0622]

 $-L^a-$ 는: $-(CH_2)_o-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-C_2H_4-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-CH_2-$ 로부터 선택되고;

[0623]

 $-L^b-$ 는 $-O-$ 를 나타내고;

[0624]

 $-L^d-$ 는: $-(CH_2)_q-$, $-(CF_2)_q-$, $-(CH_2-CH_2-O)_q-C_2H_4-$ 및 $-(CH_2-CH_2-O)_q-CH_2-$ 로부터 선택되고;

[0625]

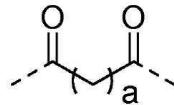
 $-L^e-$ 는: $-(CH_2)_{p1}-$, $-(CF_2)_{p1}-$, $-C_2H_4-(O-CH_2-CH_2)_{p1}-$, $-CH_2-(O-CH_2-CH_2)_{p1}-$ 및 $-(CH_2)_{p1}-O-(CH_2)_{p2}-$ 로부터 선택되고;

[0626]

o, q, p1 및 p2는 서로 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;

[0627]

-W-는



[0628]

를 나타내고 a는 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이다.

[0630]

일반식 (XII) 또는 (XIII)의 콘쥬게이트가 특히 바람직하다:

[0631]

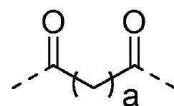
여기에서 링커 -L-은 $-(CH_2)_o-$ 를 나타내고,

[0632]

o는 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;

[0633]

-W-는



[0634]

를 나타내고 a는 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이다.

[0635]

일반식 (X-a)의 콘쥬게이트가 여전히 보다 바람직하다:

[0637]

 $[V^*-U_{x+3}-U_{x+2}-U_x-O-L^a-L^e-NH-W]_m-CRM_{197} \quad (X-a)$

[0638]

여기에서

[0639]

 $-L^a-$ 는: $-(CH_2)_o-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-C_2H_4-$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-CH_2-$ 로부터 선택되고;

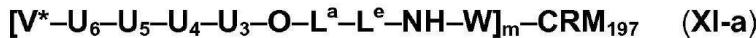
[0640]

 $-L^e-$ 는: $-C_2H_4-(O-CH_2-CH_2)_{p1}-$, $-CH_2-(O-CH_2-CH_2)_{p1}-$, $-(CH_2)_{p1}-$ 및 $-(CH_2)_{p1}-O-(CH_2)_{p2}-$ 로부터 선택되고;

[0641]

V*, x, m, o, p1, p2, U_x, U_{x+1}, U_{x+2}, U_{x+3} 및 CRM₁₉₇은 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.

[0642] 일반식 (XI-a)의 콘쥬게이트가 또한 보다 바람직하다:



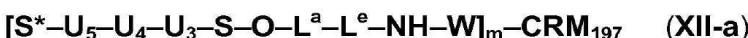
[0643] 여기에서

[0644] $-L^a$ 는: $-(CH_2)_o$, $-(CH_2-CH_2-O)_o$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-CH_2$ 로부터 선택되고;

[0645] $-L^e$ 는: $-C_2H_4$, $(O-CH_2-CH_2)_{p1}$, $-CH_2-(O-CH_2-CH_2)_{p1}$, $-(CH_2)_{p1}$ 및 $-(CH_2)_{p1}-O-(CH_2)_{p2}$ 로부터 선택되고;

[0646] V^* , x , m , o , $p1$, $p2$, U_6 , U_5 , U_4 , U_3 및 CRM_{197} 은 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.

[0647] 일반식 (XII-a)의 콘쥬게이트가 또한 보다 바람직하다:



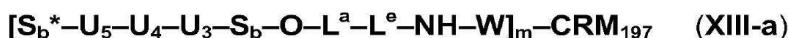
[0648] 여기에서

[0649] $-L^a$ 는: $-(CH_2)_o$, $-(CH_2-CH_2-O)_o$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-CH_2$ 로부터 선택되고;

[0650] $-L^e$ 는: $-C_2H_4$, $(O-CH_2-CH_2)_{p1}$, $-CH_2-(O-CH_2-CH_2)_{p1}$, $-(CH_2)_{p1}$ 및 $-(CH_2)_{p1}-O-(CH_2)_{p2}$ 로부터 선택되고;

[0651] S^* , S , m , o , $p1$, $p2$, U_5 , U_4 , U_3 및 CRM_{197} 은 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.

[0652] 일반식 (XIII-a)의 콘쥬게이트가 또한 보다 바람직하다:



[0653] 여기에서

[0654] $-L^a$ 는: $-(CH_2)_o$, $-(CH_2-CH_2-O)_o$, $-(CH_2-CH_2-O)_o-CH_2$ 로부터 선택되고;

[0655] $-L^e$ 는: $-C_2H_4$, $(O-CH_2-CH_2)_{p1}$, $-CH_2-(O-CH_2-CH_2)_{p1}$, $-(CH_2)_{p1}$ 및 $-(CH_2)_{p1}-O-(CH_2)_{p2}$ 로부터 선택되고;

[0656] S_b^* , S_b , m , o , $p1$, $p2$, U_5 , U_4 , U_3 및 CRM_{197} 은 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.

[0657] 일반식 (X-b)의 콘쥬게이트가 여전히 보다 바람직하다:



[0658] 여기에서

[0659] $-L^a$ 는: $-(CH_2)_{o1}$, $-(CH_2-CH_2-O)_{o2}$, $-(CH_2-CH_2-O)_{o2}-CH_2$ 를 나타내고;

[0660] o1은 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;

[0661] o2는 1, 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;

[0662] V^* , x , m , U_x , U_{x+1} , U_{x+2} , U_{x+3} 및 CRM_{197} 은 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.

[0663] 일반식 (XI-b)의 콘쥬게이트가 또한 보다 바람직하다:



[0664] 여기에서

- [0670] $-L^a$ 는: $-(CH_2)_{o1}-$, $-(CH_2-CH_2-O)_{o2}-C_2H_4-$, $-(CH_2-CH_2-O)_{o2}-CH_2-$ 를 나타내고;
- [0671] o1은 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;
- [0672] o2는 1, 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;
- [0673] V^* , x, m, U₆, U₅, U₄, U₃ 및 CRM₁₉₇은 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.
- [0674] 일반식 (XII-b)의 콘쥬게이트가 또한 보다 바람직하다:
- [0675] **[S^{*}-U₅-U₄-U₃-S-O-L^a-NH-W]_m-CRM₁₉₇ (XII-b)**
- [0676] 여기에서
- [0677] $-L^a$ 는: $-(CH_2)_{o1}-$, $-(CH_2-CH_2-O)_{o2}-C_2H_4-$, $-(CH_2-CH_2-O)_{o2}-CH_2-$ 를 나타내고;
- [0678] o1은 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;
- [0679] o2는 1, 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;
- [0680] S^{*}, S, m, U₅, U₄, U₃ 및 CRM₁₉₇은 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.
- [0681] 일반식 (XIII-b)의 콘쥬게이트가 또한 보다 바람직하다:
- [0682] **[S_b^{*}-U₅-U₄-U₃-S_b-O-L^a-NH-W]_m-CRM₁₉₇ (XIII-b)**
- [0683] 여기에서
- [0684] $-L^a$ 는: $-(CH_2)_{o1}-$, $-(CH_2-CH_2-O)_{o2}-C_2H_4-$, $-(CH_2-CH_2-O)_{o2}-CH_2-$ 를 나타내고;
- [0685] o1은 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;
- [0686] o2는 1, 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;
- [0687] S_b^{*}, S_b, m, U₅, U₄, U₃ 및 CRM₁₉₇은 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.
- [0688] 일반식 (X-c)의 콘쥬게이트가 여전히 보다 바람직하다:
- [0689] **[V^{*}-U_{x+3}-U_{x+2}-U_{x+1}-U_x-O-(CH₂)_o-NH-W]_m-CRM₁₉₇ (X-c)**
- [0690] 여기에서
- [0691] o는 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;
- [0692] V^{*}, x, m, U_x, U_{x+1}, U_{x+2}, U_{x+3} 및 CRM₁₉₇은 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.
- [0693] 일반식 (XI-c)의 콘쥬게이트가 또한 보다 바람직하다:
- [0694] **[V^{*}-U₆-U₅-U₄-U₃-O-(CH₂)_o-NH-W]_m-CRM₁₉₇ (XI-c)**
- [0695] 여기에서
- [0696] o는 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;
- [0697] V^{*}, x, m, U₆, U₅, U₄, U₃ 및 CRM₁₉₇은 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.
- [0698] 일반식 (XII-c)의 콘쥬게이트가 또한 보다 바람직하다:
- [0699] **[S^{*}-U₅-U₄-U₃-S-O-(CH₂)_o-NH-W]_m-CRM₁₉₇ (XII-c)**

- [0700] 여기에서
- [0701] o는 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;
- [0702] S^* , S, m, U_5 , U_4 , U_3 및 CRM_{197} 은 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.
- [0703] 일반식 (XIII-c)의 콘쥬케이트가 또한 보다 바람직하다:
- [0704] $[S_b^* - U_5 - U_4 - U_3 - S_b - O - (CH_2)_o - NH - W]_m - CRM_{197}$ (XIII-c)
- [0705] 여기에서
- [0706] o는 2, 3, 4, 5 및 6으로부터 선택되는 정수이고;
- [0707] S_b^* , S_b , m, U_5 , U_4 , U_3 및 CRM_{197} 은 여기에서 정의된 바와 같은 의미를 갖는다.
- [0708] 다른 구체예에 있어서, 상기 면역원성 담체는 바람직하게는 면역조절 특성을 갖는 글리코스핑고리피드, 보다 바람직하게는 (2S,3S,4R)-1-(α -D-갈락토파라노실)-2-헥사코사노일아미노옥타데칸-3,4-디올이다. 여기에서 사용된 바와 같은 용어 면역조절 특성을 갖는 글리코스핑고리피드는 표적 항원에 대한 면역계의 반응을 조절할 수 있으나, 그 자체로는 상기 정의된 바와 같은 면역력을 부여하지는 않는 적절한 글리코스핑고리피드를 의미한다.
- [0709] 여기에서 사용된 바와 같은 글리코스핑고리피드는 스팅고리피드에 α -연결된 탄수화물 성분을 포함하는 화합물이다. 바람직하게는, 탄수화물 성분은 헥소파라노스이고 가장 바람직하게는 α -D-갈락토파라노스이다. 당해 기술분야에서 숙련된 자에게는, 스팅고리피드는 아미드 결합을 통하여 지방산에 연결된 C18 아미노알코올을 포함하는 지질류이다. C18 아미노알코올은 바람직하게는 하이드록실기로 단치환-, 이치환- 또는 다치환된다. 특히 바람직하게는, C18 아미노알코올은 파이토스핑고신이다. 지방산은 바람직하게는 16 내지 28개 보다 바람직하게는 18 내지 26개의 범위의 탄소수의 포화 알킬쇄를 갖는 모노카르복실산이다. 면역조절 특성을 갖는 글리코스핑고리피드는 (2S,3S,4R)-1-(α -D-갈락토파라노실)-2-헥사코사노일아미노옥타데칸-3,4-디올이나, 이로 제한되는 것은 아니며, 이는 생체 내에서 자연살해 (NK) 활성 및 자연살해 T (NKT) 세포에 의한 사이토카인 생산을 자극하고 잠재적인 항종양 활성을 나타낼 수 있다 (Proc. Natl Acad. Sci. USA, 1998, 95, 5690).
- [0710] 면역조절 특성을 갖는 글리코스핑고리피드와의 본 발명의 사카라이드의 콘쥬케이트는 열에 안정하다는 이점을 갖는다. 면역조절 특성을 갖는 글리코스핑고리피드 상에의 콘쥬케이션에 적절하기 위해서, 판능성이 도입된다. 상기 판능성은 사카라이드의 콘쥬케이트를 제공하기 위하여 본 발명의 링커의 말단 아미노기와 또는 면역조절 특성을 갖는 변성 글리코스핑고리피드를 제공하기 위하여 중간연결 분자의 판능기 Y와 직접적으로 반응하기 쉽다.
- [0711] 바람직하게는, 상기 판능성은 면역조절 특성을 갖는 스팅고리피드의 탄수화물 성분의 C6에 도입된다. 따라서, 면역조절 특성을 갖는 글리코스핑고리피드는 사카라이드의 말단 아미노기와 또는 중간연결 분자의 판능기 Y와 반응하기 쉬운 판능성으로 판능화된다. 아미노기와 반응하기 쉬운 판능성에는 활성화된 에스테르, 이소시아네이트기, 알데히드, 에폭시드, 이미도에스테르, 카르복실산, 알킬설포네이트 및 설포닐클로라이드가 포함되나, 이들로 제한되는 것은 아니다. 중간연결 분자의 판능기 Y와 반응하기 쉬우며 따라서 중간연결 분자의 판능기 X를 제공하는 면역조절 특성을 갖는 변성 글리코스핑고리피드를 제공하는 판능성에는 아민, 알코올, 티올, 활성화된 에스테르, 이소시아네이트기, 알데히드, 에폭시드, 비닐, 이미도에스테르, 카르복실산, 알킬설포네이트, 설포닐클로라이드, 비닐기, 알키닐기 및 아지도기가 포함되나, 이들로 제한되는 것은 아니다.
- [0712] 바람직하게는, 면역조절 특성을 갖는 글리코스핑고리피드의 탄수화물 성분의 C-6 포지션에 도입되는 판능성은 아민, 티올, 알코올, 카르복실산, 비닐, 말레이미드, α -이오도아세틸, α -브로모아세틸, N-하이드록시숙신이미드에스테르 (NHS), 2-페리딜디티올을 포함하거나 이들로 이루어지는 군으로부터 선택된다.
- [0713] 중간연결 분자의 상기 판능기 X는 말레이미드, α -이오도아세틸, α -브로모아세틸, N-하이드록시숙신이미드에스테르 (NHS), 알데히드, 카르복실산, 에폭시드, 알킬설포네이트, 설포닐클로라이드, 무수물, 카보네이트를 포함하거나 이들로 이루어지는 군으로부터 선택된다.
- [0714] 바람직하게는, 디(N-숙신이미딜)아디페이트 또는 비스(4-니트로페닐)아디페이트가 먼저 일차 아미노기를 갖는 합성 사카라이드와 반응된다. 활성화된 사카라이드가 후속하여 콘쥬케이트를 제공하기 위하여 말단 아미노 판능성을 갖는 중간연결 분자에 의하여 C-6 포지션에서 변성된 글리코스핑고리피드와 축합된다(도 3 (B)).

- [0715] 여기에서 사용된 바와 같이, 용어 "중간연결 분자"는 관능기 X 및 관능기 Y를 포함하는 이관능 분자를 의미하며, 여기에서 관능기 X는 링커 L 상의 말단 아미노기와 반응할 수 있고 관능기 Y는 면역원성 담체 상에 또는 고체 지지체 상에 존재하는 관능성과 반응할 수 있다.
- [0716] $-O-L-NH_2$ 기의 질소원자를 통하여 면역원성 담체에 공유적으로 연결되거나 공유적으로 결합된 일반식 (I), (I-a) 내지 (I-c), (II), (II-a) 내지 (II-g), (III), (III-a) 내지 (III-g), (IV), (IV-a) 내지 (IV-g), (V), (V-a) 내지 (V-c), (VI), (VI-a) 내지 (VI-c), (VII), (VII-a) 내지 (VII-c), (VIII), (VIII-a) 내지 (VIII-c), (IX) 또는 (IX-a) 내지 (IX-c)의 사카라이드 또는 달리 말하면 일반식 (I), (I-a) 내지 (I-c), (II), (II-a) 내지 (II-g), (III), (III-a) 내지 (III-g), (IV), (IV-a) 내지 (IV-g), (V), (V-a) 내지 (V-c), (VI), (VI-a) 내지 (VI-c), (VII), (VII-a) 내지 (VII-c), (VIII), (VIII-a) 내지 (VIII-c), (IX) 또는 (IX-a) 내지 (IX-c)의 사카라이드의 면역원성 담체와의 반응에 의하여 수득되는 콘쥬제이트 그리고 특히 일반식 (X), (X-a) 내지 (X-c), (XI), (XI-a) 내지 (XI-c), (XII), (XII-a) 내지 (XII-c), (XIII) 또는 (XIII-a) 내지 (XIII-c)의 콘쥬제이트가 인간 및/또는 동물 숙주에서 면역 반응을 유도할 수 있고, 따라서 그의 협막 폴리사카라이드 내에 하기 사카라이드 단편:
- [0717] $\alpha-D-GlcP-(1\rightarrow4)-\alpha-D-GalP-(1\rightarrow4)-\beta-D-GlcAp-(1\rightarrow4)-\beta-D-GlcP,$
- [0718] $\beta-D-GlcP-(1\rightarrow4)-\alpha-D-GlcP-(1\rightarrow4)-\alpha-D-GalP-(1\rightarrow4)-\beta-D-GlcAp,$
- [0719] $\beta-D-GlcAp-(1\rightarrow4)-\beta-D-GlcP-(1\rightarrow4)-\alpha-D-GlcP-(1\rightarrow4)-\alpha-D-GalP,$
- [0720] $\alpha-D-GalP-(1\rightarrow4)-\beta-D-GlcAp-(1\rightarrow4)-\beta-D-GlcP-(1\rightarrow4)-\alpha-D-GlcP$
- [0721] 중의 하나를 포함하는 박테리아와 연관되는 질환의 예방 및/또는 치료에 유용하다는 것이 밝혀졌다.
- [0722] 바람직하게는, 협막 폴리사카라이드 내에 상기 언급된 사카라이드 단편 중의 하나를 포함하는 박테리아는 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8이다. 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8와 연관되는 질환에는 폐렴, 뇌수막염, 중이염, 균혈증 및 만성 기관지염의 급성 악화, 부비강염, 관절염 및 결막염이 포함된다.
- [0723] **약제학적 조성물**
- [0724] 본 발명의 하나의 양태는 적어도 하나의 약제학적으로 수용가능한 보조제, 동결보호제, 동결건조보호제, 부형제 및/또는 희석제와 함께 본 발명에 따른 적어도 하나의 합성 사카라이드 및/또는 그의 약제학적으로 수용가능한 염 및/또는 $-O-L-NH_2$ 기의 질소원자를 통하여 면역원성 담체에 공유적으로 연결된 본 발명에 따른 사카라이드를 포함하는 콘쥬제이트를 포함하는 약제학적 조성물, 특히 백신에 관한 것이다.
- [0725] 본 발명의 다른 양태에 있어서, 상기 약제학적 조성물 또는 백신은 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F, 바람직하게는 혈청형 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F, 그리고 보다 바람직하게는 혈청형 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 14, 15B, 17F, 18C, 19F, 19A, 20, 22F, 23F 및 33F를 포함하거나 이들로 이루어지는 군으로부터 선택되는 스트렙토코커스 뉴모니에 박테리아의 적어도 하나의 협막 폴리사카라이드 및/또는 협막 폴리사카라이드 단편 및/또는 그의 단백질 콘쥬제이트를 더 포함한다.
- [0726] 백신은 혼탁액의 형태로 제조될 수 있거나 동결건조될 수 있다. 혼탁액 형태는 동결 저장될 수 있다. 동결건조된 형태에 있어서, 하나 이상의 안정화제를 첨가하는 것이 바람직하다. 백신화는 임의의 연령에서 수행될 수 있다. 백신은 피하로, 분무로, 주사로, 경구적으로, 안구 내로(intraocularly), 기도 내로(intratracheally) 또는 경비로(nasally) 투여될 수 있다. 인간 또는 동물에 투여될 본 발명의 백신의 양 및 투여 방법은 특정한 항원, 보조제 (존재하는 경우), 연령, 성별, 체중, 종별 및 특정한 동물 또는 인간 숙주의 상태, 그리고 투여의 경로 등과 같은 인자들을 고려하여 약제학 및 수의학 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 잘 알려진 표준 기술에 따라 결정될 수 있다.
- [0727] 본 발명의 다른 양태는 인간 및/또는 동물 숙주에서 스트렙토코커스 뉴모니에에 대한 면역 반응을 유도하는 방법에 관한 것이며, 상기 방법은 상기 인간 및/또는 동물 숙주에 본 발명에 따른 사카라이드 및/또는 그의 염 및/또는 $-O-L-NH_2$ 기의 질소원자를 통하여 면역원성 담체에 공유적으로 연결된 본 발명에 따른 사카라이드를 포함하는 콘쥬제이트 및/또는 그의 혼합물 또는 그의 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 본 발명에 따른 인간 및/또는 동물 숙주에서 스트렙토코커스 뉴모니에로 인한 질환을 치료하거나 예방하기 위한 방법은 상기 인간 및/또는 동물 숙주에 본 발명에 따른 적어도 하나의 사카라이드 및/또는 그의 염 및/또는 $-O-L-NH_2$ 기의 질소

원자를 통하여 면역원성 담체에 공유적으로 연결된 본 발명에 따른 사카라이드를 포함하는 콘쥬게이트 및/또는 그의 혼합물 또는 그의 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다.

[0728] 정맥내 및 비경구 투여가 바람직하다. 이러한 조성물은 적절한 담체, 희석제 또는 멸균수, 글루코스 등과 같은 부형제와의 혼합물일 수 있다. 예를 들어, 동결건조된 본 발명의 사카라이드는 궁극적으로 액체 성분으로 재구성되어 상기 인간 및/또는 동물 숙주에의 투여를 위하여 적절한 물질을 제공할 수 있다. 전형적으로 사용의 시점에서 재구성이 일어날 수 있다. 따라서, 본 발명의 사카라이드 및 수중유 에멀젼(oil-in-water emulsion) 보조제 또는 보조제의 완충용액이 사용 시에의 최종 제형화를 위하여 준비된 포장되거나 분배된 백신 키트 내에 별개로 보존될 수 있다. 2개의 용기를 포함하는 키트에 있어서, 하나는 재구성을 위한 액체를 포함할 수 있고 제2 용기는 동결건조된 물질을 포함한다. 안정성을 이유로, 본 발명의 동결건조된 성분은 락토오스, 슈크로스 및/또는 만니톨과 마찬가지로 이들의 혼합물 등과 같은 안정화제를 포함할 수 있다. 슈크로스/만니톨 혼합물의 사용이 건조 공정을 촉진할 수 있다. 동결건조된 성분은 또한 염화나트륨을 포함할 수 있다. 동결건조된 물질 중의 가용 성분이 재구성 이후 조성물 중에 잔류될 수 있고, 따라서 최종 액체 백신이 락토오스 및/또는 슈크로스를 포함할 수 있다.

[0729] 본 발명의 백신의 제형화는 당해 기술분야에서 공지된 방법을 사용하여 수행될 수 있다. 명백하게도, 적절한 담체 및 다른 첨가제의 선택은 투여의 정확한 경로 및 특정한 투여량 형태(dosage form)의 속성에 의존적일 수 있다.

[0730] 본 발명의 백신 조성물은 하나 이상의 보조제를 포함할 수 있다. 여기에서 사용된 바와 같은 용어 "보조제"는 면역 보조제, 즉 백신 조성물 내에 사용되어 항원과 관련하여 연관됨이 없이 백신 내에 포함된 주어진 항원에 대한 면역 반응을 증강시키는 것에 의하여 상기 백신의 효능을 변경시키거나 또는 증가시키는 물질을 의미한다. 당해 기술분야에서 숙련된 자에 대하여, 전통적으로 인식된 면역 보조제의 예들에 사포닌, 알루미늄 또는 칼슘 염 (예를 들어, 명반(alum)), 비-이온성 블록 폴리머 계면활성제, α -갈락토실세라마이드 및 많은 다른 것들이 포함되나, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0731] 본 발명의 백신은 투여의 경로 및 소정의 제조에 따라 적심제, 에멀젼화제, pH 완충제, 젤화제, 점도향상첨가제, 보존제, 향미제, 착색제 등과 같은 보조물질을 포함할 수 있다. 본 발명의 조성물은 특히 복수의 투여량 형태로 포장되는 경우 항균제를 포함할 수 있다. 티오메르살(thiomersal) 및 2-페녹시에탄을 등과 같은 항균제가 백신에 통상적으로 발견되나, 무-수은 보존제를 사용하거나 보존제를 전혀 사용하지 않는 것이 바람직하다.

[0732] 게다가, 본 발명의 백신은 온도보호제(temperature protective agent)를 포함할 수 있다. 그 예에는 글리세린, 프로필렌글리콜 및/또는 폴리에틸렌글리콜 (PEG)이 포함된다.

[0733] 본 발명의 약제학적 조성물은 편리하게도 액체 제제, 예를 들어, 선택된 pH로 완충될 수 있는 등장 수성 용액, 혼탁액, 에멀젼 또는 점성 조성물로 제공된다. 액체 제형을 위한 약제학적으로 수용가능한 담체는 수성 또는 비-수성 용액, 혼탁액, 에멀젼 또는 오일일 수 있다. 비-수성 용매의 예로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜 및 에틸올레이트 등과 같은 주사가능한 유기 에스테르가 있다. 수성 담체에는 염수 및 완충된 매질을 포함하여 물, 알코올성 용액, 에멀젼 또는 혼탁액이 포함된다.

[0734] 재구성 후의 조성물의 pH는 바람직하게는 6 내지 8 그리고 보다 바람직하게는 6.5 내지 7.5 (예를 들어, 약 7)이다. 본 발명의 조성물은 완충제, 예를 들어, 트리스 완충제, 아세테이트, 글루타메이트, 락테이트, 말레이트, 타르트레이트, 포스페이트, 시트레이트, 카보네이트, 글리시네이트, 히스티딘, 글리신, 숙시네이트 및 트리에탄올아민 완충제의 사용에 의해 유지될 수 있다. 따라서, 본 발명의 조성물은 바람직하게는 완충제를 포함한다. 등장제(isotonic agent)는 염 등과 같은 이온성 등장제 또는 탄수화물 등과 같은 비-이온성 등장제일 수 있다. 이온성 등장제의 예들에는 NaCl , CaCl_2 , KCl 및 MgCl_2 가 포함되나, 이들로 제한되는 것은 아니다. 비-이온성 등장제의 예들에는 소르비톨 및 글리세롤이 포함되나, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0735] 본 발명의 바람직한 구체예에 있어서, 백신 조성물은 보존제를 수반하거나 수반하지 않는 멸균액, 무-발열원(pyrogene-free), 포스페이트-완충 생리식염수로 제형화된다.

[0736] 약제학적으로 수용가능한 보존제가 사용되어 조성물의 유통 기한을 증가시킬 수 있다. 예를 들어 파라벤, 티메로살, 클로로부탄올 또는 염화벤잘코늄을 포함하여 다양한 보존제가 사용될 수 있기는 하나, 벤질알코올이 적절 할 수 있다. 선택된 약제에 따른 변경이 이해될 수 있기는 하나, 보존제의 적절한 농도는 총 중량을 기준으로

0.02% 내지 2%일 수 있다.

[0737] 본 발명의 약제학적 조성물은 단일 투여량 바이알, 다중 투여량 바이알로 또는 사전-충진된 주사기로 제형화될 수 있다.

[0738] 더욱 바람직하게는, 약제학적 조성물은 동결건조물 또는 액체 완충 용액의 형태로 제형화된다.

[0739] 본 발명의 백신 또는 약제학적 조성물은 공지된 방법으로 통상의 고체 또는 액체 담체 또는 희석제 및 통상의 약제학적으로-제조된 보조제 중에 적절한 투여량 수준으로 제조된다. 바람직한 제제 및 제형은 경구 적용에 적절한 투여가능한 형태이다. 이러한 투여가능한 형태에는, 예를 들어, 알약(pill), 정제(tablet), 필름정, 코팅정, 캡슐, 분말 및 데포(deposit)가 포함된다. 경구 적용가능한 형태 이외의 형태가 또한 가능하다. 본 발명의 백신 또는 약제학적 조성물은 상피 또는 점막피부 라이닝 (구강 점막, 직장 및 질 상피 라이닝, 비인두 점막, 장 점막)을 통한 흡수에 의한 흡입, 주사 (정맥내(intravenous), 복강내로(intraperitoneal), 근육내(intramuscular), 피하(subcutaneous));를 포함하여 임의의 적절한 수단으로 경구로(orally), 직장으로(rectally), 경피로(transdermally), 국소적으로(topically), 피내로(intradermally), 위장내로(intragastrically), 피내로(intracutaneously), 질내로(intravaginally), 맥관내로(intravasally), 비내로(intranasally), 구강내로(intrabuccally), 경피로(percuteaneously), 설하로(sublingually) 또는 약제학 분야 내에서 적절한 임의의 다른 수단에 의하여 투여될 수 있으나, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0740] 활성성분으로서 일반식 (I), (I-a) 내지 (I-c), (II), (II-a) 내지 (II-g), (III), (III-a) 내지 (III-g), (IV), (IV-a) 내지 (IV-g), (V), (V-a) 내지 (V-c), (VI), (VI-a) 내지 (VI-c), (VII), (VII-a) 내지 (VII-c), (VIII), (VIII-a) 내지 (VIII-c), (IX) 및 (IX-a) 내지 (IX-c)의 임의의 적어도 하나의 합성 사카라이드, 바람직하게는 사카라이드 10, 18, 19, 20, 21, 22, 55, 57, 60 및 62 또는 그의 약제학적으로 수용가능한 염 또는 -O-L-NH₂기의 질소원자를 통하여 면역원성 담체에 공유적으로 연결된 일반식 (I), (I-a) 내지 (I-c), (II), (II-a) 내지 (II-g), (III), (III-a) 내지 (III-g), (IV), (IV-a) 내지 (IV-g), (V), (V-a) 내지 (V-c), (VI), (VI-a) 내지 (VI-c), (VII), (VII-a) 내지 (VII-c), (VIII), (VIII-a) 내지 (VIII-c), (IX) 및 (IX-a) 내지 (IX-c)의 사카라이드를 포함하는 본 발명의 백신 또는 약제학적 조성물은 전형적으로 의도된 투여의 형태, 즉 경구용 정제, 캡슐 (고체-충진, 반-고체 충진 또는 액체 충진), 구성을 위한 분말, 경구용 젤, 엘릭서(elixir), 분산형 과립(dispersible granule), 시럽, 혼탁액 등과 관련하여 그리고 통상의 약학적 관례에 일치하게 적절하게 선택되는 적절한 담체 물질과의 혼합물로 투여될 수 있다. 예를 들어, 정제 또는 캡슐의 형태의 경구 투여를 위하여는, 활성성분이 락토오스, 녹말, 슈크로스, 셀룰로오스, 스테아린산마그네슘, 인산이칼슘, 황산이칼슘, 활석, 만니톨, 에틸알코올 (액상형) 등의 임의의 경구 비독성의 약제학적으로 수용가능한 비활성 담체와 결합될 수 있다. 게다가, 희망하거나 필요한 경우, 적절한 결합제, 활제, 봉해제 및 착색제가 또한 혼합물 중에 포함될 수 있다. 분말 및 정제는 본 발명에 따른 사카라이드 약 5 내지 약 95%를 포함할 수 있다.

[0741] 적절한 결합제에는 녹말, 젤라틴, 천연 당, 옥수수 감미제, 아카시아 등과 같은 천연 및 합성 검, 알긴산나트륨, 카르복시메틸-셀룰로오스, 폴리에틸렌글리콜 및 왁스가 포함된다. 이러한 투여량 형태 중에서 사용되기 위한 것으로 언급될 수 있는 활제 중에는 봉산, 벤조산나트륨, 아세트산나트륨, 염화나트륨 등이 있다. 봉해제에는 녹말, 메틸셀룰로오스, 구아검 등이 포함된다. 적절한 경우, 감미제 및 향미제 및 보존제가 또한 포함될 수 있다. 상기 언급된 용어들 중의 일부, 즉, 봉해제, 희석제, 활제, 결합제 등이 이하에서 보다 상세하게 기술된다.

[0742] 게다가, 본 발명의 백신 또는 약제학적 조성물은 지연방출형태로 제형화되어 치료 효과를 최적화하도록 임의의 하나 이상의 성분 또는 활성성분의 속도 조절 방출을 제공할 수 있다. 지연 방출을 위한 적절한 투여량 형태에는 변화하는 봉해 속도 또는 활성성분으로 함침된 조절 방출 중합체 매트릭스의 층들을 포함하고 정제 형태로 성형된 다층정(layered tablet) 또는 이러한 함침되거나 캡슐화된 다공성 중합체 매트릭스를 포함하는 캡슐이 포함된다.

[0743] 액체 형태 제제에는 용액, 혼탁액 및 에멀젼이 포함된다. 실시예로서 비경구 주사용의 또는 경구 용액용의 감미제 및 유백화제(opacifier) 첨가 물 또는 물-프로필렌글리콜 용액, 혼탁액 및 에멀젼이 언급될 수 있다. 액체 형태 제제에는 또한 경비 투여를 위한 용액이 포함될 수 있다.

[0744] 흡입을 위하여 적절한 에어로졸 제제에는 용액 및 분말 형태의 고체가 포함될 수 있으며, 이는 비활성의 압축 가스, 예를 들어, 질소 등과 같은 약제학적으로 수용가능한 담체와 조합될 수 있다.

- [0745] 좌약을 제조하기 위해서는, 코코아버터 등과 같은 지방산 글리세리드의 혼합물과 같은 저용점 왁스를 먼저 용융시키고, 교반 또는 유사한 혼합에 의하여 그 안에 활성성분을 균질하게 분산시킨다. 계속해서 용융된 균질한 혼합물을 통상의 규격의 주형 내로 부어넣고 냉각시켜 고화시킨다.
- [0746] 사용 직전에 경구 또는 비경구 투여를 위한 액체 형태 제제로 전환되도록 의도되는 고체 형태 제제가 또한 포함된다. 이러한 액체 형태에는 용액, 혼탁액 및 에멀젼이 포함된다.
- [0747] 일반식 (I), (I-a) 내지 (I-c), (II), (II-a) 내지 (II-g), (III), (III-a) 내지 (III-g), (IV), (IV-a) 내지 (IV-g), (V), (V-a) 내지 (V-c), (VI), (VI-a) 내지 (VI-c), (VII), (VII-a) 내지 (VII-c), (VIII), (VIII-a) 내지 (VIII-c), (IX) 및 (IX-a) 내지 (IX-c)의 임의의 적어도 하나의 합성 사카라이드, 바람직하게는 사카라이드 10, 18, 19, 20, 21, 22, 55, 57, 60 및 62 내지 89 또는 그의 약제학적으로 수용가능한 염 또는 -O-L-NH₂기의 질소원자를 통하여 면역원성 담체에 공유적으로 연결되거나 공유적으로 결합된 사카라이드를 포함하는 콘쥬게이트를 포함하는 본 발명의 백신 또는 약제학적 조성물은 또한 경피로 전달될 수 있다. 경피 조성물은 크림, 로션, 에어로졸 및/또는 에멀젼의 형태를 취할 수 있고 이러한 목적으로 당해 기술분야에서 통상적인 매트릭스 또는 저장기 형태의 경피 패치(transdermal patch) 내에 포함될 수 있다.
- [0748] 용어 캡슐은 활성성분을 포함하는 조성물을 고정시키거나 내포하기 위하여 메틸셀룰로오스, 폴리비닐알코올 또는 변성된 젤라틴 또는 녹말로 만들어진 특별한 용기 또는 밀봉체(enclosure)를 의미한다. 경질 캡슐(hard shell capsule)은 전형적으로 상대적으로 높은 젤 강도(gel strength)의 뼈 및 돼지껍질 젤라틴의 혼합물로 만들어진다. 캡슐 자체는 소량의 염료, 유백화제(opaquing agent), 가소제 및 보존제를 포함할 수 있다.
- [0749] 정제는 적절한 희석제와 함께 활성성분을 포함하는 압축되거나 주조된 고체 투여량 형태를 의미한다. 정제는 혼합물 또는 습식 과립화, 건식 과립화에 의해 수득되는 과립의 압축(compression)에 의하거나 당해 기술분야에서 숙련된 자에게 공지된 압밀(compaction)에 의해서 제조될 수 있다.
- [0750] 경구용 젤은 친수성 반-고체 매트릭스 내에 분산되거나 또는 가용화된 활성성분을 의미한다.
- [0751] 구성을 위한 분말은 활성성분 및 물 또는 주스 내에 혼탁될 수 있는 적절한 희석제를 포함하는 분말 혼합물을 의미한다.
- [0752] 적절한 희석제는 대개는 조성물 또는 투여량 형태의 대부분을 구성하는 물질이다. 적절한 희석제에는 락토오스, 슈크로스, 만니톨 및 소르비톨 등과 같은 당, 밀, 콘 라이스(corn rice) 및 감자로부터 파생되는 녹말 및 미정질 셀룰로오스 등과 같은 셀룰로오스가 포함된다. 조성물 중의 희석제의 양은 총 조성물의 약 5 내지 약 95중량%, 바람직하게는 약 25 내지 약 75%, 보다 바람직하게는 약 30 내지 약 60중량% 그리고 가장 바람직하게는 약 40 내지 50중량%의 범위가 될 수 있다.
- [0753] 용어 봉해제는 조성물에 첨가되어 이를 와해시키고(봉해) 약물을 방출하는 것을 돋는 물질을 의미한다. 적절한 봉해제에는 녹말, 소듐카르복시메틸 녹말 등과 같은 "냉수 가용성(cold water soluble)" 변성 녹말, 로커스트콩, 카라야, 구아, 트라가칸트 및 아가 등과 같은 천연 및 합성 검, 메틸셀룰로오스 및 소듐카르복시메틸셀룰로오스 등과 같은 셀룰로오스 유도체, 미정질 셀룰로오스 및 소듐크로스카라멜로스(sodium croscarmellose) 등과 같은 가교화된 미정질 셀룰로오스, 알긴산 및 알긴산나트륨 등과 같은 알긴산염, 벤토나이트 등과 같은 클레이 및 발포성 혼합물이 포함된다. 조성물 중의 봉해제의 양은 조성물의 약 1 내지 약 40중량%, 바람직하게는 조성물의 2 내지 약 30중량%, 보다 바람직하게는 조성물의 약 3 내지 20중량%, 가장 바람직하게는 약 5 내지 약 10중량%의 범위가 될 수 있다.
- [0754] 결합제는 분말을 서로 결합 또는 "결착(glue)"하여 과립을 형성하는 것에 의해 이를 응집시켜 제형 내에서 "접착제(adhesive)"로서 기능하는 물질을 특징으로 한다. 결합제는 희석제 또는 중량제 중에서 이미 획득가능한 응집강도를 추가한다. 적절한 결합제에는 슈크로스, 밀, 콘 라이스 및 감자로부터 파생되는 녹말 등과 같은 당; 아카시아, 젤라틴 및 트라가칸트 등과 같은 천연 검; 알긴산, 알긴산나트륨 및 암모늄칼슘알기네이트 등과 같은 해초의 유도체; 메틸셀룰로오스 및 소듐카르복시메틸셀룰로오스 및 하이드록시프로필-메틸셀룰로오스 등과 같은 셀룰로오스 물질; 폴리비닐파리돈; 및 마그네슘알루미늄실리케이트 등과 같은 무기물이 포함된다. 조성물 중의 결합제의 양은 조성물의 약 1 내지 30중량%, 바람직하게는 조성물의 약 2 내지 약 20중량%, 보다 바람직하게는 약 3 내지 약 10중량%, 보다 더 바람직하게는 3 내지 약 6중량%의 범위가 될 수 있다.
- [0755] 활제는 투여량 형태에 첨가되어 마찰 또는 마모를 감소시키는 것에 의해 정제, 과립 등이 압축된 후에 주형 또는 다이(die)로부터 방출되는 것을 가능하게 하는 물질을 의미한다. 적절한 활제에는 스테아린산마그네슘, 스테

아린산칼슘 또는 스테아린산칼륨 등과 같은 스테아린산금속염(metallic stearate); 스테아린산; 고용점 왁스; 및 염화나트륨, 벤조산나트륨, 아세트산나트륨, 올레산나트륨(sodium oleate), 폴리에틸렌글리콜 및 d'l-류신(d'l-leucine)이 포함된다. 활제가 과립의 표면 상에 그리고 과립과 타정기의 부품들 사이에 존재하여야 하기 때문에 활제는 대개 압축 이전의 가장 마지막 단계에서 추가된다. 조성물 중의 활제의 양은 조성물의 약 0.05 내지 약 15중량%, 바람직하게는 조성물의 0.2 내지 약 5중량%, 보다 바람직하게는 약 0.3 내지 약 3%, 가장 바람직하게는 조성물의 약 0.3 내지 약 1.5중량%의 범위가 될 수 있다.

[0756] 활주제는 고결을 방지하고 과립의 흐름 특성을 개선하여 흐름이 완만하고 균일하게 되도록 하는 물질이다. 적절한 활주제에는 이산화규소 및 활석이 포함된다. 조성물 중의 활주제의 양은 조성물의 약 0.01 내지 10중량%, 바람직하게는 총 조성물의 0.1 내지 약 7중량%, 보다 바람직하게는 약 0.2 내지 5중량%, 가장 바람직하게는 약 0.5 내지 약 2중량%의 범위가 될 수 있다.

[0757] 착색제는 조성물 또는 투여량 형태에 발색을 제공하는 부형제이다. 이러한 부형제에는 식품 등급 염료 및 클레이 또는 산화알루미늄 등과 같은 적절한 흡착제 상에 흡수된 식품 등급 염료가 포함될 수 있다. 착색제의 양은 조성물의 약 0.01 내지 10중량%, 바람직하게는 약 0.05 내지 6중량%, 보다 바람직하게는 조성물의 약 0.1 내지 약 4중량%, 가장 바람직하게는 약 0.1 내지 약 1% 내에서 변할 수 있다.

[0758] 본 발명의 백신의 제형화 및 투여를 위한 기술은 문헌 "Remington's Pharmaceutical Sciences" Mack Publishing Co., Easton PA에서 찾을 수 있다. 일반식 (I), (I-a) 내지 (I-c), (II), (II-a) 내지 (II-g), (III), (III-a) 내지 (III-g), (IV), (IV-a) 내지 (IV-g), (V), (V-a) 내지 (V-c), (VI), (VI-a) 내지 (VI-c), (VII), (VII-a) 내지 (VII-c), (VIII), (VIII-a) 내지 (VIII-c), (IX) 및 (IX-a) 내지 -(IX-c)의 임의의 적어도 하나의 사카라이드, 바람직하게는 사카라이드 10, 18, 19, 20, 21, 22, 55, 57, 60 및 62 내지 89 또는 그의 약제학적으로 수용가능한 염 또는 -0-L-NH₂기의 질소원자를 통하여 면역원성 담체에 공유적으로 연결된 사카라이드를 포함하는 콘쥬게이트를 포함하는 적절한 백신 조성물은 적절한 액체 약제학적 담체 중의 이러한 사카라이드(들)의 용액 또는 정제, 알약, 필름정, 코팅정, 드라지(dragee), 캡슐, 분말 및 데포, 젤, 시럽, 슬러리, 혼탁액, 에멀젼 등과 같은 임의의 다른 제형일 수 있다.

[0759] 본 발명에 따른 하나의 콘쥬게이트 또는 본 발명에 따른 사카라이드의 치료학적으로 유효한 투여량(dosage)은 질환에 대한 적어도 부분적인 면역화의 결과를 가져오는 화합물의 양을 의미한다. 이러한 화합물의 유독성 및 치료학적 효능은 세포 배양 또는 동물 실험에서의 표준 약제학적, 약리적 및 독성학적 절차에 의해 결정될 수 있다. 독성과 치료학적 효과 사이의 용량비가 치료지수(therapeutic index)이다. 투여된 조성물의 실제 양은 치료되는 대상체, 대상체의 체중, 질병(affliction)의 중증도, 투여의 방법 및 처방 의사의 판단에 의존적일 수 있다.

항체 및 면역학적 분석

[0761] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 적어도 하나의 합성 사카라이드에 대한 항체에 연관된다. 항체는 모노클로날 하이브리도마(monoclonal hybridoma)에 의해 생성된다. 항체는 폐렴, 뇌수막염, 중이염, 균혈증 및 만성 기관지염의 급성 악화, 부비강염, 관절염 및 결막염의 진단, 예방 및 치료에 유용하다. 본 발명의 다른 구체에는 스트렙토코커스 뉴모니에에 의하여 그리고 바람직하게는 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8에 의하여 야기되는 폐렴, 뇌수막염, 중이염, 균혈증 및 만성 기관지염의 급성 악화, 부비강염, 관절염 및 결막염의 진단, 예방 및 치료를 위한 약물 또는 장치의 제조를 위한 항체의 용도에 연관된다.

[0762] 여기에서 사용된 바와 같은 용어 "항체"에는 폴리클로날 및 모노클로날 항체 제제와 마찬가지로 부모 항체 분자의 면역학적 결합 특성을 나타내는 하이브리드 항체, F(ab')₂ 단편, F(ab) 분자, 단일 도메인 항체 및 그의 관능성 단편을 포함하는 제제가 포함된다.

[0763] 본 발명에 따른 항체는 폴리클로날 또는 모노클로날일 수 있다.

[0764] 일반식 (I), (I-a) 내지 (I-c), (II), (II-a) 내지 (II-g), (III), (III-a) 내지 (III-g), (IV), (IV-a) 내지 (IV-g), (V), (V-a) 내지 (V-c), (VI), (VI-a) 내지 (VI-c), (VII), (VII-a) 내지 (VII-c), (VIII), (VIII-a) 내지 (VIII-c), (IX) 및 (IX-a) 내지 (IX-c)의 임의의 사카라이드, 바람직하게는 사카라이드 10, 18, 19, 20, 21, 22, 55, 57, 60 또는 62 내지 89 또는 -0-L-NH₂기의 질소원자를 통하여 면역원성 담체에 공유적으로 연결된 상기 언급된 사카라이드 중의 하나를 포함하는 콘쥬게이트 또는 그의 항체가 스트렙토코커스 뉴모니에, 바람직하게는 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8에 의하여 야기되는 질환의 치료 또는 예방을 위한 약제학적 조성물,

특히 백신을 제조하는 데 사용될 수 있다. 본 발명의 사카라이드 또는 본 발명에 따른 사카라이드에 대하여 야기되고 인식하는 항체는 스트렙토코커스 뉴모니에, 바람직하게는 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8에 의해 야기되는 질환의 치료 또는 방지를 위하여 사용될 수 있다.

[0765] 게다가 본 발명은 스트렙토코커스 뉴모니에, 바람직하게는 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8에 대하여 야기되는 폐렴, 뇌수막염, 중이염, 균혈증 및 만성 기관지염의 급성 악화, 부비강염, 관절염 및 결막염의 진단을 위한 면역학적 분석에서의 본 발명에 따른 일반식 (I), (I-a) 내지 (I-c), (II), (II-a) 내지 (II-g), (III), (III-a) 내지 (III-g), (IV), (IV-a) 내지 (IV-g), (V), (V-a) 내지 (V-c), (VI), (VI-a) 내지 (VI-c), (VII), (VII-a) 내지 (VII-c), (VIII), (VIII-a) 내지 (VIII-c), (IX) 및 (IX-a) 내지 (IX-c)의 적어도 하나의 사카라이드 또는 본 발명의 적어도 하나의 사카라이드에 대한 적어도 하나의 항체의 용도에 연관된다.

[0766] 이러한 분석에는, 예를 들어, 스트렙토코커스 뉴모니에, 바람직하게는 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8에 대하여 야기되는 질환의 진단에 유용한 마이크로어레이 및 ELISA(효소결합 면역흡수 분석법)가 포함된다. 따라서, 본 발명의 다른 양태는 스트렙토코커스 뉴모니에, 바람직하게는 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8에 대하여 야기되는 질환의 진단을 위한 일반식 (I), (I-a) 내지 (I-c), (II), (II-a) 내지 (II-g), (III), (III-a) 내지 (III-g), (IV), (IV-a) 내지 (IV-g), (V), (V-a) 내지 (V-c), (VI), (VI-a) 내지 (VI-c), (VII), (VII-a) 내지 (VII-c), (VIII), (VIII-a) 내지 (VIII-c), (IX) 및 (IX-a) 내지 (IX-c)의 사카라이드의 임의의 하나의 용도에 연관된다.

[0767] 일반식 (I), (I-a) 내지 (I-c), (II), (II-a) 내지 (II-g), (III), (III-a) 내지 (III-g), (IV), (IV-a) 내지 (IV-g), (V), (V-a) 내지 (V-c), (VI), (VI-a) 내지 (VI-c), (VII), (VII-a) 내지 (VII-c), (VIII), (VIII-a) 내지 (VIII-c), (IX) 및 (IX-a) 내지 (IX-c)의 사카라이드 또는 이러한 사카라이드의 혼합물의 임의의 하나는 마이크로어레이 표면 또는 임의의 다른 표면 상에 부동화되어 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8을 검출하는 시험관 내 방법을 위하여 사용될 수 있다. 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8을 동정하는 방법은 본 발명의 적어도 하나의 사카라이드의 사용을 포함한다. 게다가, 일반식 (I), (I-a) 내지 (I-c), (II), (II-a) 내지 (II-g), (III), (III-a) 내지 (III-g), (IV), (IV-a) 내지 (IV-g), (V), (V-a) 내지 (V-c), (VI), (VI-a) 내지 (VI-c), (VII), (VII-a) 내지 (VII-c), (VIII), (VIII-a) 내지 (VIII-c), (IX) 및 (IX-a) 내지 (IX-c)의 사카라이드의 합성 사카라이드 또는 이러한 사카라이드의 혼합물이 면역분석을 위한 분석 표준물로서 사용될 수 있다.

[0768] 따라서, 일반식 (I), (I-a) 내지 (I-c), (II), (II-a) 내지 (II-g), (III), (III-a) 내지 (III-g), (IV), (IV-a) 내지 (IV-g), (V), (V-a) 내지 (V-c), (VI), (VI-a) 내지 (VI-c), (VII), (VII-a) 내지 (VII-c), (VIII), (VIII-a) 내지 (VIII-c), (IX) 및 (IX-a) 내지 (IX-c)의 사카라이드가 스트렙토코커스 뉴모니에 8형에 대한 항체의 검출을 위한 면역학적 분석에서의 표지자로서 사용될 수 있다.

[0769] 따라서, 본 발명의 다른 양태는 본 발명에 따른 적어도 하나의 사카라이드를 포함하는 고체 지지에 연관된다.

[0770] 이러한 고체 지지체는 바람직하게는 진단 장치의 일부이다. 고체 지지체 및 진단 장치는 스트렙토코커스 뉴모니에, 바람직하게는 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8에 대하여 야기되는 폐렴, 뇌수막염, 중이염, 균혈증 및 만성 기관지염의 급성 악화, 부비강염, 관절염 및 결막염의 진단을 위하여 사용되며, 여기에서 본 발명에 따른 적어도 하나의 사카라이드가 바람직하게는 공유 결합에 의하여 상기 고체 지지체 상에 부동화된다.

[0771] 바람직하게는, 고체 지지체는 유리 슬라이드, 유리판, 미세적정판(microtitre plate), 미소구(microsphere) 또는 비드를 포함하는 군으로부터 선택된다.

[0772] 본 발명의 사카라이드는 바람직하게는 중간연결 분자를 사용하여 고체 지지체에 공유적으로 결합된다.

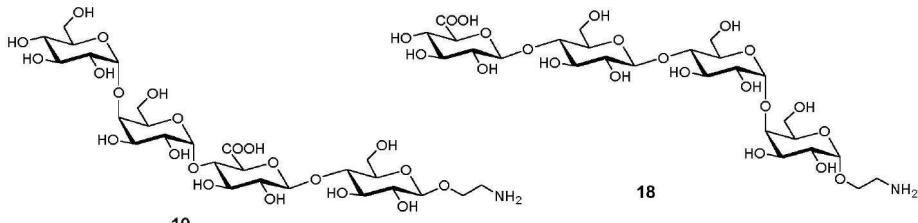
[0773] 게다가, 본 발명은 본 발명의 사카라이드가 스트렙토코커스 뉴모니에, 바람직하게는 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8에 대하여 야기되는 폐렴, 뇌수막염, 중이염, 균혈증 및 만성 기관지염의 급성 악화, 부비강염, 관절염 및 결막염의 검출을 위한 면역학적 분석에 사용될 수 있다는 것을 나타내고 있다. 이러한 분석에는, 예를 들어, 스트렙토코커스 뉴모니에, 바람직하게는 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8에 대하여 야기되는 폐렴, 뇌수막염, 중이염, 균혈증 및 만성 기관지염의 급성 악화, 부비강염, 관절염 및 결막염의 진단에 유용한 마이크로어레이 및 ELISA를 포함한다.

[0774] 따라서 본 발명의 다른 양태는 스트렙토코커스 뉴모니에, 바람직하게는 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8에 대하여 야기되는 폐렴, 뇌수막염, 중이염, 균혈증 및 만성 기관지염의 급성 악화, 부비강염, 관절염 및 결막염의 진단을 위한 본 발명에 따른 사카라이드의 용도에 연관된다.

- [0775] 본 발명에 따른 사카라이드가 스트렙토코커스 뉴모니에, 바람직하게는 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8에 의하여 야기되는 폐렴, 뇌수막염, 중이염, 균혈증 및 만성 기관지염의 급성 악화, 부비강염, 관절염 및 결막염의 진단을 위하여 사용되는 분석 시스템의 분석을 위하여 서로 다른 가능성들이 존재한다. 본 발명에 따른 진단 목적을 위하여 수행되는 분석은 고상 효소 면역분석법(EIA: solid-phase enzyme immunoassay), 효소결합 면역흡수 분석법(ELISA), 특히 "간접" ELISA 또는 방사성면역 분석법(RIA: radioimmune assay) 같은 면역분석일 수 있다.
- [0776] 바람직하게는, 본 발명에 따른 사카라이드가 중간연결 분자를 통하여 고체 지지체 상에 공유적으로 연결된다. 따라서, 본 발명에 따른 사카라이드는 -O-L-NH₂기의 질소원자를 통하여 고체 지지체 상에 직접적으로 또는 간접적으로 공유적으로 연결될 수 있다 (도 3 (C)를 참조하시오).
- [0777] 고체 지지체는 바람직하게는 유리 슬라이드, 미세적정판, 시험판, 미소구, 나노입자 또는 비드를 포함하거나 이들로 이루어지는 군으로부터 선택된다.
- [0778] 고체 지지체가 유리 슬라이드 또는 미세적정판인 것이 특히 바람직하다. 미세적정판 또는 마이크로플레이트 또는 마이크로웰 플레이트는 작은 시험판으로 사용되는 복수의 "웰(well)"을 수반하는 편평한 판이다. 전형적으로, 6, 24, 96, 384 또는 심지어 1536개의 샘플 웰(sample well)을 갖는 미세적정판이 사용될 수 있다. 마이크로플레이트는 PCR을 위하여 사용되는 미세적정판을 위한 폴리카보네이트 같은 많은 서로 다른 재료로 제조된다. 대부분의 광학 검출 마이크로플레이트를 위하여 사용되는 바와 같이 폴리스티렌이 가장 일반적이다. 광흡수 또는 형광 검출을 위한 이산화티탄의 첨가에 의한 백색으로 또는 형광 생물학적 분석을 위한 탄소의 첨가에 의하여 흑색으로 착색될 수 있다.
- [0779] 하기의 실시예들은 본 발명의 바람직한 구체예들을 입증하기 위하여 포함된다. 실시예들에서 개시된 기술들은 본 발명의 실행에서 잘 기능할 것으로 본 발명자에 의해 발견된 현재의 기술들을 따르며, 따라서 그 실행을 위한 최량의 모드를 구성하는 것으로 고려될 수 있음은 당해 기술분야에서 숙련된 자에게는 이해되어야 한다. 그러나, 당해 기술분야에서 숙련된 자에게는, 본 상세한 설명의 고려하여, 개시되고 그리고 여전히 본 발명의 정신 및 관점으로부터 벗어남이 없이 동일하거나 유사한 결과를 얻는 특정한 구체예들 내에서 많은 변화들이 이루어질 수 있음을 이해하여야 한다.
- [0780] 본 발명의 여러 관점들의 추가의 변경들 및 대안의 구체예들이 본 상세한 설명의 시각에서 당해 기술분야에서 숙련된 자에게는 명백할 것이다. 따라서, 본 상세한 설명은 단지 설명으로서 이해되어야 하고 당해 기술분야에서 숙련된 자에게 본 발명을 실행하는 일반적인 방법을 교시하는 목적을 위한 것이다. 여기에서 표시되고 개시된 본 발명의 형태들은 구체예들의 실시예들로서 고려되어야 한다는 것은 이해되어야 한다. 본 발명의 이러한 설명의 이점을 파악한 후 모두 당해 기술분야에서 숙련된 자에게는 명백할 수 있는 바와 같이, 요소들 및 물질들은 여기에서 설명되고 개시된 것들에 대하여 치환될 수 있고, 부품들 및 공정들은 역전될 수 있고, 그리고 본 발명의 특정한 특징들은 독립적으로 활용될 수 있다. 하기 특허청구범위들에서 개시된 바와 같은 본 발명의 정신 및 관점으로부터 벗어남이 없이 여기에서 개시된 구성요소들에서의 변경이 이루어질 수 있다.
- [0781] **실시예**
- [0782] **1. 화학적 합성 실험**
- [0783] **화학적 합성을 위한 일반 정보**
- [0784] 달리 언급되지 않는 한 통상적으로 획득가능한 재료 및 시약들이 사용되었다. 모든 반응들은 아르곤 분위기 하에서 수행되었다. 용매는 건조되었다. 고해상도 질량분광분석 스펙트럼(HRMS: high-resolution mass spectra)은 Freie Universität Berlin에서 Agilent 6210 ESI-TOF 질량분광분석기로 기록되었다.
- [0785] **약어**
- [0786] 하기 도식들에서 나타나는 약어들은 Ac (아세틸), BAIB ([비스(아세톡시)이오도]벤젠), Bn (벤질), t-Bu (3차-부틸), Bz (벤조일), Cbz (카르복시벤질), DCM (디클로로메탄), DDQ (2,3-디클로로-5,6-디시아노-1,4-벤조퀴논), Im (이미다졸), NAP (2-나프틸메틸), NIS (N-이오도숙신이미드), Py/Pyr (파리딘), TEMPO ((2,2,6,6-테트라메틸-1-파페리디닐)옥시), Tf (트리플루오로메탄설포닐), THF (테트라하이드로퓨란), TMS(트리메틸실릴), TMSOTf (트리메틸실릴트리플루오로메탄설포네이트), p-Ts (파라-톨릴설포닐)을 의미한다.

[0787]

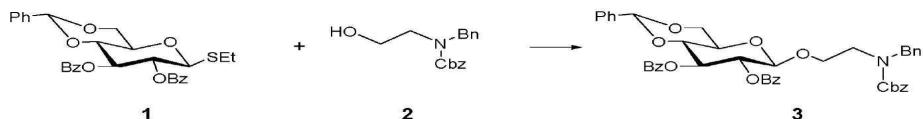
[2+2] 글리코실화 접근법에 의한 사카라이드의 합성



[0788]

[0789]

실시예 1-1: 화합물 3의 합성



[0790]

[0791]

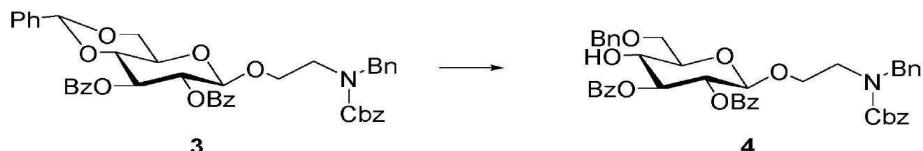
티오글리코시드 주계(donor) 서브스트레이트 **1** (6.0 g, 11.53 mmol) 및 받계(acceptor)를 C-2 링커 **2** (회전 증발기 중에서 톨루엔을 사용하여 공비적으로(azeotropically) 건조된, 3.93 g, 13.83 mmol)와 함께 건조 DCM (100 mL) 중에 취하고 여기에 MW 건조 4 Å MS 5 g을 첨가하고 실온에서 15 분 동안 교반시키고 계속해서 -10 °C까지 냉각시켰다. 계속해서 NIS (3.83 g, 17.29 mmol) 및 TfOH (0.15 mL, 1.73 mmol)를 RM (반응 혼합물)에 첨가하고 -10 °C 내지 -5 °C에서 1 시간 동안 교반시켰다. 반응의 완결을 TLC로 모니터링하였다. 계속해서 RM을 10% 수성 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 용액 (50 mL)으로 퀸칭시키고 계속해서 EtOAc (25 mL X 3)로 추출하였다. 계속해서 결합된 유기층을 염수 (10 mL)로 세척하고, 무수 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고 진공 중에서 농축시켜 짙은 황색의 오일성 화합물을 수득하였다. 조 생성물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피 상에서 헥산 중의 20 내지 30% EtOAc를 사용하여 정제하여 점(spot)을 수득하고 이를 증발시켜 짙은 황색 착색된 투명한 겹질의 액체로서 소정의 생성물 **3** (7.60 g, 89%)을 수득하였다.

[0792]

^1H NMR(양성자 핵자기공명 분광분석: 400 MHz, CDCl_3) δ = 7.97 (dd, J = 8.4, 1.2 Hz, 4H), 7.59 내지 6.90 (m, 21H), 5.91 내지 5.71 (m, 1H), 5.62 내지 5.41 (m, 2H), 5.22 내지 4.95 (m, 2H), 4.80 (d, J = 7.7 Hz, 0.5H), 4.67 (d, J = 7.7 Hz, 0.5H), 4.56 내지 4.22 (m, 3H), 4.10 내지 3.52 (m, 5H), 3.50 내지 3.33 (m, 2H). ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ = 165.7, 165.4, 156.35, 156.2, 137.9, 136.9, 133.4, 133.2, 129.9, 129.5, 129.3, 129.1, 128.7, 128.5, 128.4, 128.3, 128.1, 127.8, 127.4, 127.2, 126.2, 101.9, 101.6, 78.9, 72.6, 72.1, 69.1, 68.7, 67.4, 67.2, 66.7, 51.7, 46.9, 45.8.

[0793]

실시예 1-2: 화합물 4의 합성



[0794]

[0795]

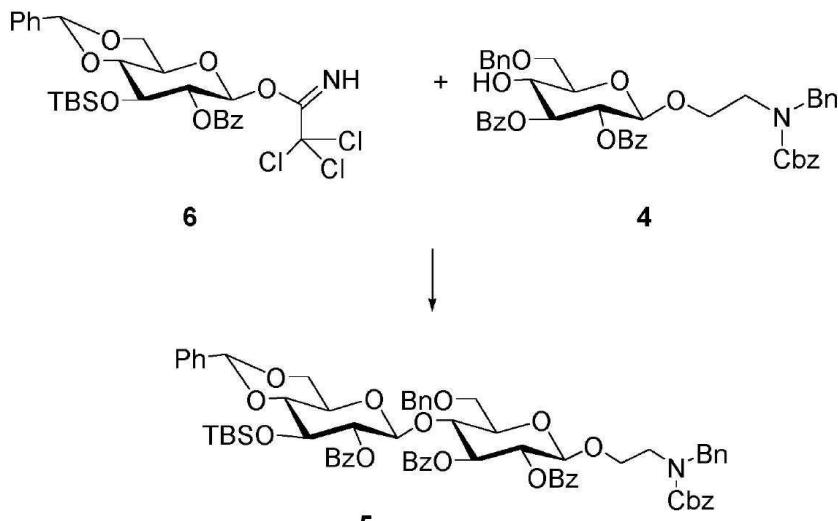
아르곤 하에서 서브스트레이트 **3** (7.50 g, 10.08 mmol)을 DCM (75 mL) 중에 활성화 3 Å MS과 함께 10 분 동안 취하고 후속하여 0 °C까지 냉각시켰다. 트리에틸실란 (12.88 mL, 81.0 mmol)을 첨가하고 후속하여 TFA (4.66 mL, 60.5 mmol)로 적가하고 RM을 실온에서 16 시간 동안 교반시킨 후 물 (100 mL)로 퀸칭시켰다. 수성 성분을 DCM (30 mL X 3)으로 추출하고, 결합된 유기 성분을 철저하게 물 (20 mL X 3), 염수 (20 mL)로 세척하고, 무수 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 중에서 증발시켜 무색의 겹질의 고체를 수득하였다. 조 생성물을 실

리카 컬럼 크로마토그래피로 헥산 중의 30% 내지 100% EtOAc를 사용하여 정제하여 생성물 **4**를 수득하고 진공 중에서 증발시켜 무색 오일 (6.1 g, 81%)을 수득하였다.

[0796] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ = 8.04 내지 7.84 (m, 4H), 7.60 내지 6.87 (m, 21H), 5.55 내지 5.36 (m, 2H), 5.22 내지 4.90 (m, 2H), 4.77 내지 4.53 (m, 3H), 4.51 내지 4.30 (m, 2H), 4.06 내지 3.93 (m, 2H), 3.87 내지 3.53 (m, 4H), 3.46 내지 3.20 (m, 3H). ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ = 167.3, 165.5, 138.0, 137.7, 133.6, 130.1, 129.9, 128.6, 128.5, 128.1, 127.9, 127.8, 127.4, 101.3, 101.2, 76.7, 74.7, 73.9, 71.6, 71.5, 71.2, 70.0, 69.0, 67.4, 67.2, 51.7, 46.8, 45.8.

[0797]

실시예 1-3: 화합물 **5**의 합성



[0798]

[0799]

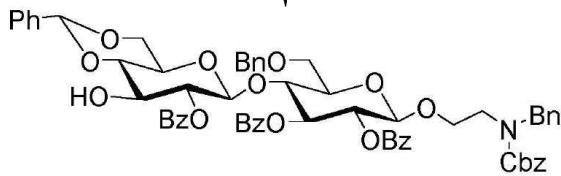
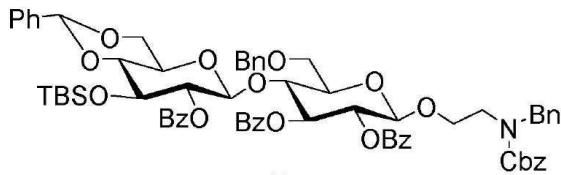
받게 **4** (2.0 g, 2.68 mmol)를 활성화 4Å AWMS와 함께 DCM (30 mL) 중에 취하고 실온에서 30 분 동안 교반시킨 후, 0 °C까지 냉각시켰다. 계속해서 TMSOTf (0.49 μl , 0.27 mmol) 후속하여 DCM (5 mL) 중의 이미다이트 주제 **6** (Carbohydrate Res 2008, 344, 439-447.) (2.20 g, 3.89 mmol) 5 분에 걸쳐 첨가하고 반응 혼합물을 30 분 동안 0 °C에서 교반시켰다. RM을 Et_3N (1mL)으로 퀸칭시키고, 여과하고 용매를 진공 하에서 제거하였다. 조 생성물을 플래시 크로마토그래피로 헥산 중의 EtOAc를 사용하여 정제하여 생성물 **5** (3.2 g, 98%)를 수득하였다.

[0800]

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ = 8.13 내지 6.88 (m, 35H), 5.67 내지 5.52 (m, 1H), 5.46 내지 5.31 (m, 1H), 5.20 (s, 1H), 5.16 내지 4.89 (m, 3H), 4.68 (t, J = 11.2 Hz, 1H), 4.55 (d, J = 8.1 Hz, 1.5H), 4.47 내지 4.24 (m, 3.5H), 4.20 내지 3.89 (m, 1.5H), 3.89 내지 3.19 (m, 9.5H), 3.13 (td, J = 9.7, 4.9 Hz, 1H), 2.63 (t, J = 10.2 Hz, 1H), 0.63 (s, 9H), -0.12 (s, 3H), -0.19 (s, 3H). ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ = 165.4, 165.36, 164.7, 138.2, 137.1, 133.4, 133.2, 129.94, 129.9, 129.2, 128.7, 128.6, 128.5, 128.4, 128.2, 128.0, 127.8, 127.3, 126.4, 101.7, 101.2, 101.1, 81.2, 75.5, 75.1, 74.6, 73.7, 73.4, 73.0, 68.9, 68.0, 67.3, 66.1, 51.7, 46.9, 25.6, 18.0, -4.1, -4.8.

[0801]

실시예 1-4: 화합물 7의 합성



[0802]

[0803]

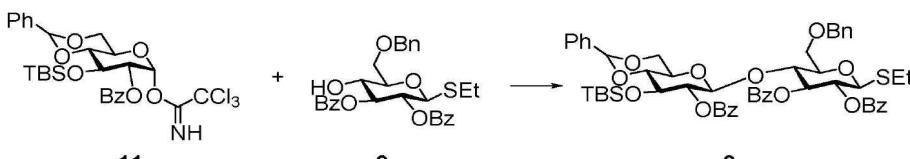
서브스트레이트 5 (1.6 g, 1.317 mmol)를 0 °C에서 피리딘 (10 mL) 중에 취하고 여기에 HF-피리딘 (3.56 mL, 39.5 mmol)을 첨가하고 실온에서 24 시간 동안 교반시켰다. RM을 물로 세척하고 DCM (20 mL X 3)으로 추출하였다. 계속해서 결합된 유기 성분을 끓은 HCl (50 mL X 2), NaHCO₃ 용액 (50 mL), 염수 (10 mL)으로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고 진공 중에서 농축시켜 조 생성물을 수득하고 이를 실리카 컬럼 크로마토그래프를 사용하여 헥산 중의 35 내지 40% EtOAc를 사용하여 정제하여 백색 착색된 거품 7 (1.3 g, 90%)을 수득하였다.

[0804]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 8.15 내지 6.92 (m, 1H), 5.65 내지 5.51 (m, 1H), 5.44 내지 5.30 (m, 1H), 5.23 (s, 1H), 5.11 내지 5.04 (m, 3H), 4.77 내지 4.49 (m, 3H), 4.49 내지 4.24 (m, 4H), 4.25 내지 3.91 (m, 2H), 3.91 내지 3.59 (m, 4H), 3.57 내지 3.00 (m, 7H), 2.68 (t, *J* = 10.3 Hz, 1H). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ = 165.4, 165.3, 156.4, 156.2, 138.2, 136.9, 133.6, 133.2, 130.3, 130.0, 129.9, 129.4, 128.7, 128.7, 128.5, 128.5, 128.4, 128.1, 128.1, 127.8, 127.4, 126.4, 101.8, 101.2, 101.1, 80.6, 75.9, 74.9, 74.7, 73.7, 73.5, 72.6, 72.0, 71.9, 68.9, 67.9, 67.4, 67.2, 66.0, 51.7, 46.9, 45.9.

[0805]

실시예 1-5: 화합물 8의 합성



[0806]

[0807]

DCM (140 mL) 중의 (2S,3R,4S,5R,6R)-6-((벤질옥시)메틸)-2-(에틸티오)-5-하이드록시테트라하이드로-2H-피란-3,4-디일 디벤조에이트 9 (*J Carbohydrate Chemistry* 1993, 12, 309) (4.00 g, 7.654 mmol, 1.0 당량) 및 (4aR,6R,7R,8aR)-8-((3차-부틸디메틸실릴)옥시)-2-페닐-6-(2,2,2-트리클로로-1-이미노에톡시)헥사하이드로피란 [3,2-d][1,3]디옥신-7-일 벤조에이트 11 (*Carbohydrate Res.*, 2008, 344, 439.) (6.28 g, 9.95 mmol, 1.3 당량)의 혼합물을 아르곤의 분위기 하에서 30 분 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 냉각시키고(-20 °C) TMSOTf (0.16 mL, 0.880 mmol, 0.115 당량)를 첨가하였다. 45 분 동안 교반시킨 후, Et₃N (1.0 mL)의 첨가에 의하여 반응 혼합물을 퀸칭시켰다. 유기 용액을 진공 하에서 농축시켰다.

[0808]

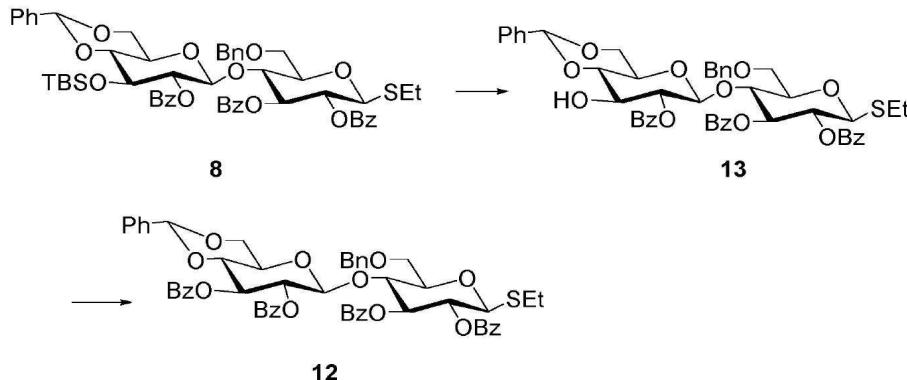
그 결과의 암황색 오일을 실리카겔 상에서의 플래시 크로마토그래피 (EtOAc/헥산, 1/3, 용적/용적)에 의해 무색 고체로서 (2S,3R,5R,6R)-5-(((4aR,6S,7R,8S,8aR)-7-(벤조일옥시)-8-((3차-부틸디메틸실릴)옥시)-2-페닐헥사하이드로피란페닐헥사하이드로피란[3,2-d][1,3]디옥신-6-일)옥시)-6-((벤질옥시)메틸)-2-(에틸티오)테트라하이드로-2H-피란-3,4-디일 디벤조에이트 8 (6 g, 79%)을 수득하였다: R_f = 0.5 (EtOAc/헥산, 3/7, 용적/용적).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = -0.19 (s, 3H), -0.11 (s, 3H), 0.63 (s, 9H), 1.20 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H), 2.67

(m, 2H), 3.15 (td, $J = 9.7$ Hz, 4.9 Hz, 2H), 3.28 (t, $J = 9.2$ Hz, 1H), 3.53 내지 3.37 (m, 1H), 3.74 내지 3.55 (m, 1H), 3.79 (t, $J = 9.0$ Hz, 1H), 4.19 (t, $J = 9.5$ Hz, 1H), 4.37 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 4.57 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 4.59 (dd, $J = 15.1, 9.0$ Hz, 2H), 4.67 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 5.12 (dd, $J = 8.9, 8.2$ Hz, 1H), 5.21 (s, 1H), 5.41 (t, $J = 9.8$ Hz, 1H), 5.63 (t, $J = 9.3$ Hz, 1H), 7.29 내지 7.72 (m, 19H), 7.88 내지 8.03 (m, 6H). ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ = 165.27, 165.07, 164.45, 138.16, 137.00, 133.14, 133.10, 132.97, 130.21, 129.79, 129.77, 129.75, 129.34, 128.99, 128.51, 128.38, 128.28, 128.22, 128.05, 128.02, 127.99, 126.21, 101.57, 101.06, 83.39, 81.05, 78.70, 77.43, 77.11, 76.80, 75.41, 74.93, 74.52, 73.49, 72.90, 70.59, 67.86, 67.45, 65.97, 25.43, 24.08, 17.80, 14.85, -4.20, -4.97.

[0809]

실시예 1-6: 화합물 12의 합성



[0810]

[0811]

TBS 서브스트레이트 8 (2.0g, 2.018 mmol, 1 당량)을 0 °C에서 피리딘 (10 mL) 중에 취하고 여기에 70% HF-피리딘 (5.45 mL, 60.5 mmol, 30 당량)을 첨가하고 실온에서 36 시간 동안 교반시켰다. RM을 물 (50 mL)로 세척하고 DCM (50 mL X 3)으로 추출하였다. 계속해서 결합된 유기 성분을 포화 NaHCO_3 용액 (50 mL), 염수 (20 mL)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고 진공 중에서 농축시켜 조 생성물을 수득하고 이를 실리카 컬럼 크로마토그래피를 사용하여 35 내지 40% EtOAc/헥산을 사용하여 정제하여 백색 착색된 거품 13 (1.7g, 96%)을 수득하였다.

[0812]

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ = 8.08 내지 7.85 (m, 6H), 7.69 내지 7.28 (m, 19H), 5.62 (t, $J = 9.3$ Hz, 1H), 5.41 (t, $J = 9.8$ Hz, 1H), 5.22 (s, 1H), 5.08 (dd, $J = 9.2, 7.9$ Hz, 1H), 4.70 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 4.63 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H), 4.58 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 4.40 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H), 4.19 (t, $J = 9.5$ Hz, 1H), 3.82 (td, $J = 9.2, 3.6$ Hz, 1H), 3.70 (dd, $J = 11.2, 3.4$ Hz, 1H), 3.63 (dd, $J = 10.6, 5.0$ Hz, 1H), 3.59 내지 3.55 (m, 1H), 3.54 내지 3.48 (m, 1H), 3.32 (t, $J = 9.3$ Hz, 1H), 3.15 (td, $J = 9.7, 5.0$ Hz, 1H), 2.78 내지 2.60 (m, 3H), 2.50 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 1.22 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ = 165.38, 165.29, 165.13, 138.02, 136.70, 133.43, 133.14, 133.09, 130.08, 129.87, 129.81, 129.71, 129.30, 129.28, 129.23, 128.50, 128.48, 128.29, 127.95, 127.86, 126.19, 101.59, 100.88, 83.42, 80.42, 78.71, 75.71, 74.67, 74.51, 73.46, 72.42, 70.48, 67.70, 67.51, 65.76, 24.11, 14.85.

[0813]

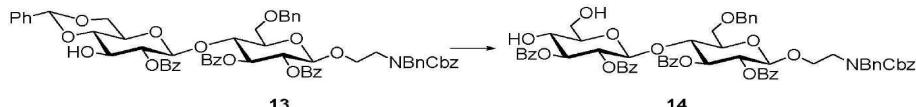
서브스트레이트 13 (1.6g, 1.824 mmol, 1 당량)을 0 °C에서 무수 DCM (10 mL) 중에 취하고 여기에 피리딘 (10mL), BzCl (0.635 mL, 5.47 mmol, 3 당량)을 적가하고 RM을 16 시간 동안 교반시켰다. 계속해서 RM을 진공 중에서 증발시켜 용매를 제거하고 계속해서 다시 DCM (25 mL) 중에 취하고 수성 NaHCO_3 용액(5mL X 2)으로 세척하였다. 계속해서 유기층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과하고 진공 중에서 증발시키고 계속해서 이를 메탄올을 사용하여 습식 분쇄하여 옅은 황백색(off-white) 고체 (12)를 수득하고, 여과하고, 진공 중에서 건조시켰다 (1.5g, 84%).

[0814]

^1H NMR (400 MHz, CDCl_{33}) δ 7.95 (ddd, $J = 16.9, 12.1, 7.3$ Hz, 8H), 7.60 내지 7.12 (m, 22H), 5.66 (t, $J = 9.3$ Hz, 1H), 5.58 (t, $J = 9.6$ Hz, 1H), 5.43 (t, $J = 9.8$ Hz, 1H), 5.36 (dd, $J = 9.5, 7.9$ Hz, 1H), 5.20 (s, 1H), 4.77 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 4.60 (t, $J = 10.3$ Hz, 2H), 4.39 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H), 4.23 (t,

$J = 9.5$ Hz, 1H), 3.74 내지 3.43 (m, 5H), 3.29 (td, $J = 9.7$, 4.9 Hz, 1H), 2.83 내지 2.55 (m, 3H), 1.22 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 165.46, 165.25, 165.16, 164.72, 137.82, 136.62, 133.31, 133.12, 133.02, 130.05, 129.80, 129.73, 129.70, 129.27, 129.24, 128.99, 128.97, 128.63, 128.43, 128.29, 128.22, 128.17, 128.10, 127.98, 126.03, 101.12, 83.39, 78.65, 78.29, 75.85, 74.44, 73.44, 72.43, 71.96, 70.47, 67.71, 67.31, 66.16, 24.04, 14.84.

[0815] 실시예 1-7: 2,3-디- O -벤조일- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3-디- O -벤조일-6- O -벤질- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 1)-(2-*N*-벤질-*N*-벤질옥시카르보닐아미노)에탄올 (14)의 합성

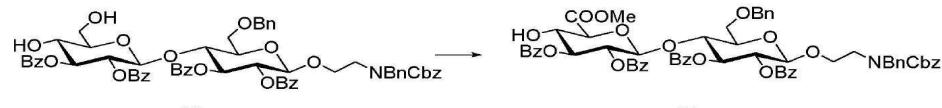


[0816]

[0817] 피리딘 (5.0 mL) 중의 알코올 13 (400 mg, 0.36 mmol)의 교반된 용액에 염화벤조일 (63 μl , 0.55 mmol)을 0 °C에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 천천히 실온까지 가온시키고 그 온도에서 16 시간 동안 교반시켰다. 별도의 0.5 당량의 BzCl 을 첨가하여 반응을 가속시켜 완결시켰다. 혼합물을 2 시간 동안 실온에서 교반시키고 물 (30 mL)로 퀸칭시키고 EtOAc (50 mL)로 희석시켰다. 분리 후, 유기 분획을 0.1 M HCl (20 mL)로 세척하고 수성 분획을 EtOAc (30 mL)로 재-추출하였다. 결합된 유기 분획을 포화 수성 NaHCO_3 (20 mL) 및 염수 (10 mL)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고 농축시켜 황색 오일로서 중간체 테트라벤조에이트를 수득하였다. 실온에서 CH_2Cl_2 (6.5 mL) 중의 중간체 테트라벤조에이트의 교반된 용액에 에탄티올 (0.36 mL, 4.9 mmol) 및 파라-톨루엔 셀폰산 (12 mg, 0.06 mmol)을 첨가하였다. 그 온도에서 혼합물을 2 시간 동안 교반시키고, Et_3N (50 μl)로 퀸칭시키고 농축시켰다. 잔사를 플래시 크로마토그래피 ($\text{EtOAc}/\text{헥산} 0 : 1$ 내지 $1 : 10$ 내지 $1 : 8$)로 정제하여 백색 거품으로서 디올 14 (389 mg 0.349 mmol)를 수득하였다. HRMS (ESI) $\text{C}_{64}\text{H}_{61}\text{NO}_{17}$ ($\text{M}+\text{Na}$)⁺에 대한 이론값 1138.3837 실험값 1138.3850 m/z .

[0818]

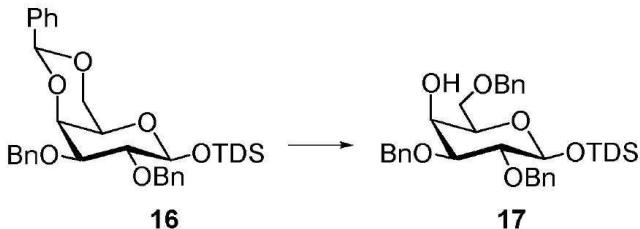
[0818] 실시예 1-8: 메틸(2,3-디- O -벤조일- β -D-글루코파라노실)우로네이트-(1 \rightarrow 4)-2,3-디- O -벤조일-6- O -벤질- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 1)-(2-*N*-벤질-*N*-벤질옥시카르보닐아미노)에탄올 (15)의 합성



[0819]

[0820] CH_2Cl_2 (2.0 mL) 및 물 (0.8 mL) 중의 알코올 14 (90 mg, 0.081 mmol)의 교반된 용액에 TEMPO (2.5 mg, 0.016 mmol) 및 BAIB (55 mg, 0.170 mmol)를 0 °C에서 첨가하였다. 그 온도에서 반응 혼합물을 20 분 동안 교반시키고 실온까지 가온시켰다. 그 온도에서 혼합물을 2 시간 동안 교반시키고 EtOAc (20 mL) 및 물 (10 mL)로 희석시켰다. 분리 후, 수성 분획을 EtOAc (2x 10 mL)로 추출하고, 결합된 유기 분획을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고 농축시켰다. 잔사를 플래시 크로마토그래피 ($\text{EtOAc}/\text{헥산} 1 : 2$ 내지 $1 : 1$, 계속해서 $1 : 1 + 5\%$ AcOH)로 정제하여 백색 거품으로서 중간체 카르복실산을 수득하였다. 실온에서 톨루엔 (1.6 mL) 및 MeOH (0.8 mL) 중의 중간체 카르복실산의 교반된 용액에 TMS-디아조메탄 (0.04 mL, 0.081 mmol)을 첨가하였다. 그 온도에서 반응 혼합물을 2 시간 동안 교반시켰다. 별도의 0.25 당량의 TMS-디아조메탄을 첨가하여 반응을 가속시켜 완결시켰다. 그 온도에서 혼합물을 1 시간 동안 교반시키고, AcOH (0.1 mL)로 퀸칭시키고 농축시켰다. 잔사를 플래시 크로마토그래피 ($\text{EtOAc}/\text{헥산} 0 : 1$ 내지 $1 : 1$)로 정제하여 투명한 오일로서 메틸 에스테르 15 (73 mg, 0.064 mmol, 2 단계에 걸쳐 79%)를 수득하였다. HRMS (ESI) $\text{C}_{65}\text{H}_{61}\text{NO}_{18}$ ($\text{M}+\text{Na}$)⁺에 대한 이론값 1166.3786 실험값 1166.3762 m/z .

[0821]

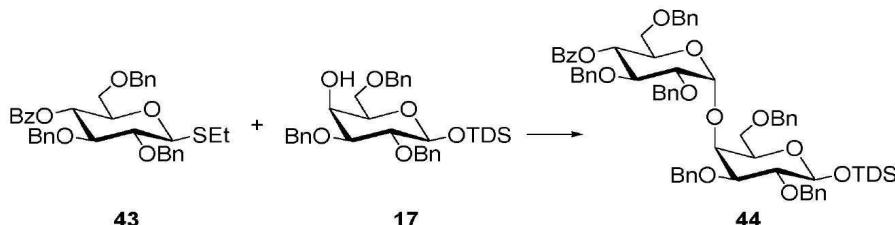
실시예 1-9: 3차-헥실 2,3,6-트리-O-벤질- β -D-갈락토파라노시드 (17)의 합성

[0822]

[0823]

활성화 MS (3 Å-AW) 상에서 CH_2Cl_2 (60 mL) 중의 벤질리텐 아세탈 16 (*J Carbohydr Chem* 1996, 15 (2), 241) (1.68 g, 2.84 mmol)의 교반된 용액에 트리에틸실란 (2.72 mL, 17.06 mmol) 및 트리플루오로아세트산 (1.81 mL, 17.06 mmol)을 0 °C에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온까지 천천히 가온시키고 그 온도에서 16 시간 동안 교반시켰다. 반응을 Et_3N (2 mL)으로 퀸칭시키고, Celite를 통하여 여과하고 농축시켰다. 잔사를 플래시 크로마토그래피 ($\text{EtOAc}/\text{헥산}$ 1 : 20 내지 1 : 7)로 정제하여 투명한 오일로서 알코올 17 (1.46 g, 2.46 mmol, 87%)을 수득하였다. HRMS (ESI) $\text{C}_{35}\text{H}_{48}\text{O}_6\text{Si}$ ($\text{M}+\text{Na}$)⁺에 대한 이론값 615.3117 실험값 615.3104 m/z .

[0824]

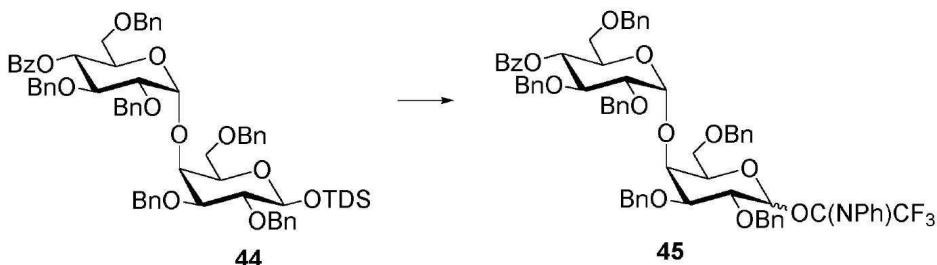
실시예 1-10: 3차 헥실 4-O-벤조일-2,3,6-트리-O-벤질- α -D-글루코파라노실-(1→4)-2,3,6-트리-O-벤질- β -D-갈락토파라노시드 (44)의 합성

[0825]

[0826]

티오글리코시드 43 (*J. Org. Chem.* 2012, 77 (1), 291). (667 mg, 1.11 mmol) 및 알코올 17 (550 mg, 0.93 mmol)을 건조 톨루엔 (3×10 mL)과 함께 공-증발시키고 고진공 하에서 30 분 동안 유지시켰다. 혼합물을 Et_2O (14 mL) 및 CH_2Cl_2 (2.8 mL) 중에 용해시키고 활성화 분자체 (3 Å-AW) 상에서 30 분 동안 실온에서 교반시켰다. 용액을 -20 °C까지 냉각시키고 NIS (250 mg, 1.11 mmol) 및 삼플루오르화메테인슬론산(triflic acid) (16 μ L, 0.19 mmol)으로 처리하였다. 혼합물을 1 시간 동안 교반시키고 -10 °C까지 천천히 가온시켰다. 반응을 Et_3N (0.05 mL)로 퀸칭시키고, CH_2Cl_2 (20 mL)로 희석시키고, Celite를 통하여 여과하고 농축시켰다. 잔사를 플래시 크로마토그래피 ($\text{EtOAc}/\text{헥산}$ 0 : 1 내지 1 : 8 내지 1 : 6)로 정제하여 대응하는 β -아노mer (231 mg, 0.205 mmol, 22%)와 함께 디사카라이드 44 (553 mg, 0.490 mmol, 53%)를 수득하였다. 7에 대한 분석 데이터: 투명한 오일. HRMS (ESI) $\text{C}_{69}\text{H}_{80}\text{O}_{12}\text{Si}$ ($\text{M}+\text{Na}$)⁺에 대한 이론값 1151.5316 실험값 1151.5293 m/z .

[0827]

실시예 1-11: 4-O-벤조일-2,3,6-트리-O-벤질- α -D-글루코파라노실-(1→4)-2,3,6-트리-O-벤질- α β -D-갈락토파라노실 트리플루오로-(*N*-페닐)아세트이미데이트 (45)의 합성

[0828]

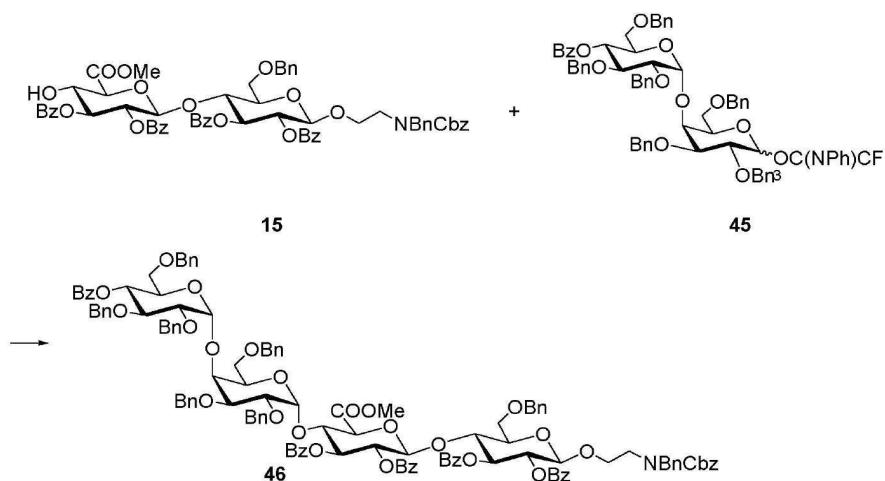
[0829]

THF (8.3 mL) 중의 실릴에테르 44 (470 mg, 0.416 mmol)의 교반된 용액에 아세트산 (0.24 mL, 4.19 mmol) 및 TBAF (THF 중의 1M 용액, 4.2 mL, 4.20 mmol)를 0 °C에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온까지 천천히 가온시키고 그 온도에서 2 시간 동안 교반시켰다. 아세트산 (0.24 mL, 4.19 mmol) 및 TBAF (THF 중의 1M 용액, 4.2 mL, 4.20 mmol)를 첨가하고 실온에서 반응 혼합물을 16 시간 동안 교반시켰다. 혼합물을 Et_2O (50 mL)로 희석하고,

물 (3x30 mL)로 세척하고 수성상을 Et_2O (2x20 mL)로 재-추출하였다. 결합된 유기 분획을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고 농축시켰다. 잔사를 실리카겔의 쇼트 플러그(short plug) ($\text{EtOAc}/\text{헥산 } 1 : 3$ 내지 $1 : 1$)를 통하여 여과하여 투명한 오일로서 중간체 락톨 혼합물을 수득하였다.

[0830] 실온에서 CH_2Cl_2 (7.8 mL) 중의 락톨 혼합물의 교반된 용액에 탄산세슘 (318 mg, 0.975 mmol) 및 $\text{F}_3\text{CC}(\text{NPh})\text{Cl}$ (202 mg, 0.975 mmol)을 첨가하였다. 그 온도에서 혼합물을 2.5 시간 동안 교반시키고, 헥산 (0.5% (용적/용적) Et_3N , (10 mL)로 희석시키고 Celite를 통하여 여과하였다. 잔사를 플래시 크로마토그래피 ($\text{EtOAc}/\text{헥산 } 0 : 1 + 0.5\% \text{Et}_3\text{N}$ 내지 $1 : 3 + 0.5\% \text{Et}_3\text{N}$)로 정제하여 투명한 오일로서 이미데이트 혼합물 **45** (404 mg, 0.349 mmol, 2 단계에 걸쳐 84%)를 수득하였다. HRMS (ESI) $\text{C}_{69}\text{H}_{66}\text{F}_3\text{NO}_{12}$ ($\text{M}+\text{Na}$)⁺에 대한 이론값 1180.4434 실험값 1180.4458 m/z .

[0831] 실시예 1-12: 4- O -벤조일-2,3,6-트리- O -벤질- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트리- O -벤질- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)-메틸 [2,3-디- O -벤조일- β -D-글루코파라노실]우로네이트-(1 \rightarrow 4)-2,3-디- O -벤조일-6- O -벤질- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 1)-(2- N -벤질- N -벤질옥시카르보닐아미노)에탄올 (46)의 합성

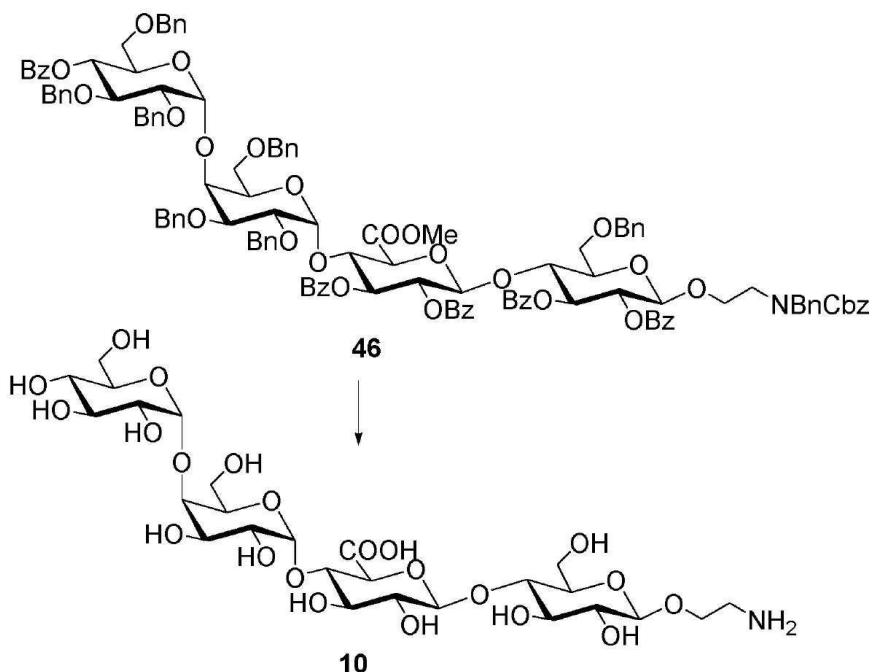


[0832]

알코올 **15** (100 mg, 87 μmol) 및 이미데이트 **45** (121 mg, 105 μmol)를 건조 틀루엔 (3x10 mL)과 함께 공-증발시키고 고진공 하에서 30 분 동안 유지시켰다. 혼합물을 Et_2O (3.3 mL) 및 CH_2Cl_2 (1.1 mL) 중에 용해시키고 실온에서 활성화 분자체 (3 Å-AW) 상에서 30 분 동안 교반시켰다. 용액을 -20 °C까지 냉각시키고 TMSOTf (3.2 μl , 17 μmol)로 처리하였다. 혼합물을 1 시간 동안 교반시키고 0 °C까지 천천히 가온시켰다. 반응을 포화 수성 NaHCO_3 (10 mL)로 퀸칭시키고, CH_2Cl_2 (3x20 mL)로 추출하고 결합된 유기 분획을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고 농축시켰다. 잔사를 플래시 크로마토그래피 ($\text{EtOAc}/\text{헥산}/\text{톨루엔 } 1 : 3 : 3$ 내지 $1 : 2 : 2$)로 정제하여 투명한 오일로서 테트라사카라이드 **46** (130 mg, 62 μmol , 71%)을 수득하였다. HRMS (ESI) $\text{C}_{126}\text{H}_{121}\text{NO}_{29}$ ($\text{M}+\text{Na}$)⁺에 대한 이론값 2134.7921 실험값 2134.7879 m/z .

[0834]

실시예 1-13: α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실우론산-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 1)-(2-아미노)에탄올 (10)의 합성



[0835]

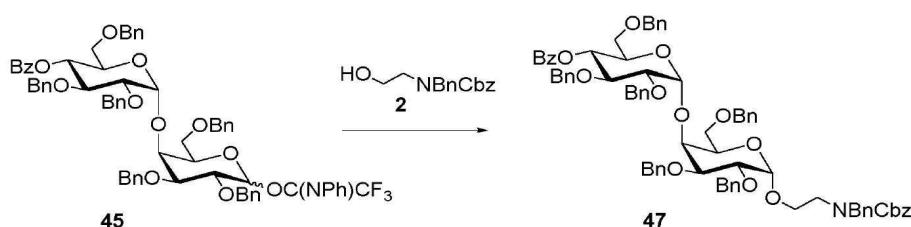
[0836] THF (5 mL) 및 MeOH (1 mL) 중의 에스테르 **46** (56 mg, 26 μ mol)의 교반된 용액에 과산화수소 (6% 수성 용액, 265 μ L, 530 μ mol) 및 LiOH (1 M 수성 용액, 265 μ L, 132 mol)를 0 °C에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 1 시간 동안 교반시키고 실온까지 가온시켰다. 그 온도에서 반응을 유지시키고 2 시간 후 과산화수소 (6% 수성 용액, 265 μ L, 530 μ mol) 및 LiOH (1 M 수성 용액, 265 μ L, 132 mol)로 처리하였다. 2 시간 후, NaOH (15% 수성 용액, 1 mL)를 첨가하고 혼합물을 72 시간 동안 실온에서 교반시켰다. 용매를 감압 하에서 증발시키고, 잔사를 톨루엔 (2x5 mL)과 함께 공-증발시키고 MeOH (5 mL) 중에 용해시켰다. 용액을 실온에서 소듐메톡사이드 (143 mg, 2.65 mmol)로 처리하고 그 온도에서 96 시간 동안 교반시켰다. 용매를 증발시키고 잔사를 물 (5 mL) 중에 용해시켰다. 용액을 0 °C에서 0.5 M 수성 NaHSO₄로 중화시키고 EtOAc (5x5 mL)로 추출하였다. 결합된 유기 분획을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고 농축시켜 백색 거품으로서 중간체 산을 수득하였다.

[0837]

실온에서 MeOH (2 mL) 중의 중간체 산을 MeOH (1 mL), 물 (0.1 mL) 및 AcOH (5 방울) 중의 Pd/C (50 mg)의 혼탁액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 H₂의 분위기 하에서 48 시간 동안 교반시키고 여과하고 농축시켰다. 잔사를 고상 추출 (Chromabond C18, Macherey-Nagel)에 의하여 정제하고 동결건조시켜 백색 고체로서 테트라사카라이드 **10** (아세트산염, 13.6 mg, 18 μ mol, 3 단계에 걸쳐 69%)을 수득하였다. HRMS (MALDI) C₂₆H₄₅NO₂₂ (M+Na)⁺에 대한 이론값 746.2330 실험값 746.2323 *m/z*.

[0838]

실시예 1-14: 4-*O*-벤조일-2,3,6-트리-*O*-벤질- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트리-*O*-벤질- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 1)-(2-*N*-벤질-*N*-벤질옥시카르보닐아미노)에탄올 (**47**)의 합성



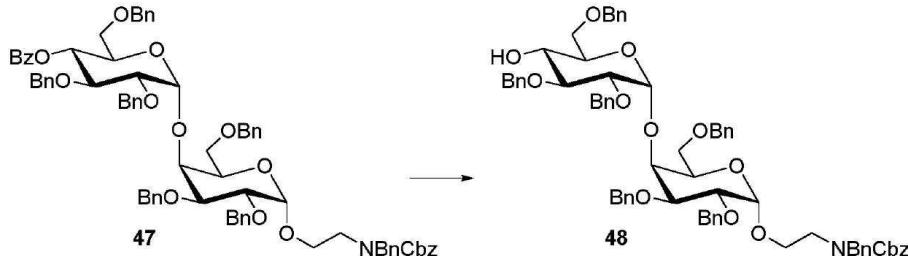
[0839]

[0840]

이미데이트 **45** (200 mg, 0.173 mmol) 및 알코올 **2** (74 mg, 0.259 mmol)를 건조 톨루엔 (2x5 mL)과 함께 공-증발시키고 고진공 하에서 30 분 동안 유지시켰다. 혼합물을 Et₂O (2.8 mL) 및 CH₂Cl₂ (0.7 mL) 중에 용해시키고 활성화 분자체 (3 Å-AW) 상에서 30 분 동안 실온에서 교반시켰다. 용액을 -40 °C까지 냉각시키고 TMSOTf (6.2 μ L, 35 μ mol)로 처리하였다. 그 온도에서 혼합물을 10 분 동안 교반시키고 계속해서 천천히 -10 °C까지 가온시켰다. 반응을 포화 수성 NaHCO₃ (5 mL)로 퀸칭시키고, CH₂Cl₂ (3x20 mL)로 추출하고 결합된 유기 분획을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고 농축시켰다. 잔사를 플래시 크로마토그래피 (EtOAc/헥산 0 : 1 내지 1 : 6 내지 1 : 4)로 정

제하여 대응하는 β -아노머 (32 mg, 0.026 mmol, 15%)와 함께 카바메이트 47 (160 mg, 0.128 mmol, 74%)을 수득하였다. 47에 대한 분석 데이터: 투명한 오일. HRMS (ESI) $C_{78}H_{79}NO_{14}$ ($M+Na$)⁺에 대한 이론값 1276.5398 실험값 1276.5405 m/z .

[0841] 실시예 1-15: 2,3,6-트리-O-벤질- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트리-O-벤질- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 1)-(2-N-벤질-N-벤질옥시카르보닐아미노)에탄올 (48)의 합성

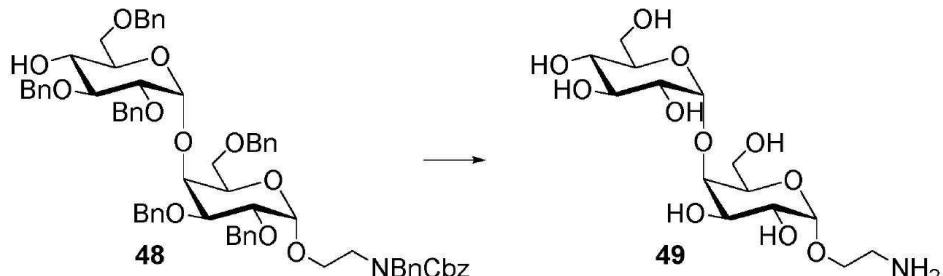


[0842]

[0843] THF (5 mL) 및 MeOH (5 mL) 중의 에스테르 47 (126 mg, 0.100 mmol)의 교반된 용액에 소듐메톡사이드 (MeOH 중의 0.5 M, 1 mL, 0.500 mmol)를 0 °C에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온까지 천천히 가온시키고 그 온도에서 24 시간 동안 유지시켰다. 소듐메톡사이드 (MeOH 중의 0.5 M, 1 mL, 0.500 mmol)를 첨가하고 반응 혼합물을 37 °C까지 가온시켰다. 혼합물을 7 시간 동안 그 온도에서 교반시키고, Amberlite IR120 (H^+ 형태)로 중화시키고, 여과하고 농축시켰다. 잔사를 플래시 크로마토그래피 (EtOAc/헥산 0 : 1 내지 1 : 6 내지 1 : 4)로 정제하여 투명한 오일로서 알코올 48 (98 mg, 85 μ mol, 85%)을 수득하였다. HRMS (ESI) $C_{71}H_{75}NO_{13}$ ($M+Na$)⁺에 대한 이론값 1172.5136 실험값 1172.5103 m/z .

[0844]

실시예 1-16: α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 1)-(2-아미노)에탄올 (49)의 합성

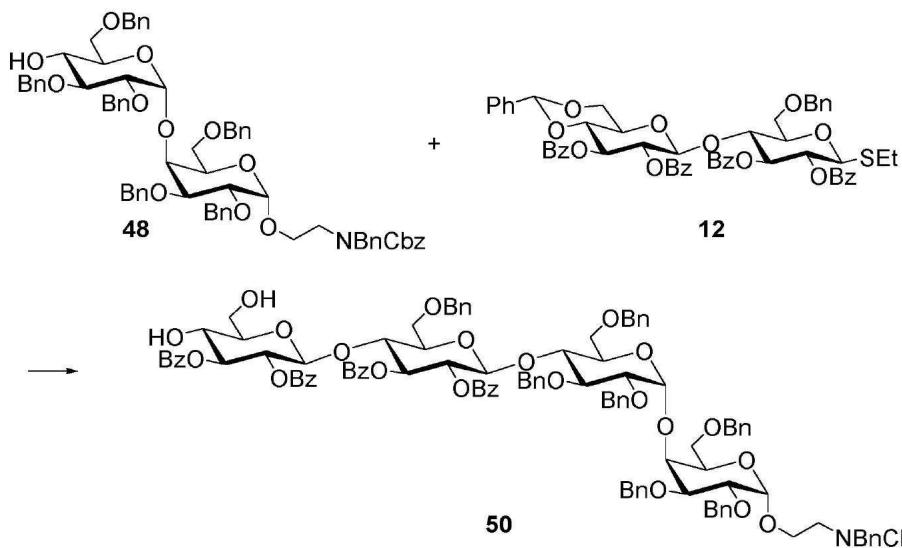


[0845]

[0846] EtOAc (1 mL) 중의 벤질에테르 48을 실온에서 MeOH (3 mL), 물 (0.5 mL) 및 AcOH (3 방울) 중의 Pd/C (30 mg)의 혼탁액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 H_2 의 분위기 하에서 24 시간 동안 교반시키고, 여과하고 농축시켜 백색 고체로서 디사카라이드 49 (2.9 mg, 18 μ mol, 87%)를 수득하였다. HRMS (ESI) $C_{14}H_{27}NO_{11}$ ($M+Na$)⁺에 대한 이론값 408.1481 실험값 408.1499 m/z .

[0847]

실시예 1-17: 2,3-디-O-벤조일- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3-디-O-벤조일-6-O-벤질- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트리-O-벤질- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트리-O-벤질- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 1)-(2-N-벤질-N-벤질옥시카르보닐아미노)에탄올 (50)의 합성



[0848]

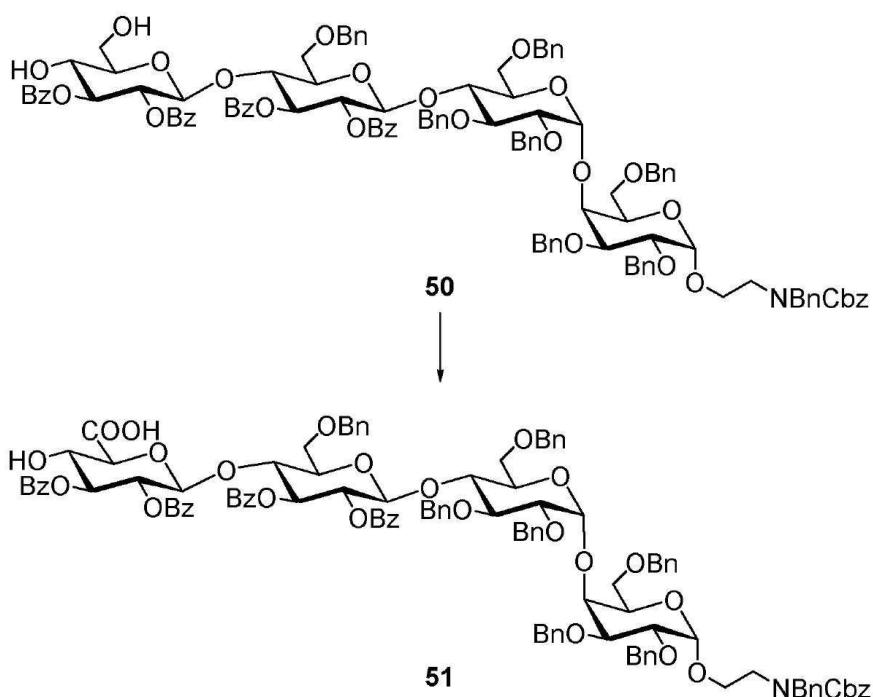
[0849] 알코올 48 (47 mg, 41 μ mol) 및 티오글리코시드 12 (60 mg, 61 μ mol)를 건조 틀루엔 (2x5 mL)과 함께 공-증발시키고 고진공 하에서 30 분 동안 유지시켰다. 혼합물을 CH_2Cl_2 (2 mL) 중에 용해시키고 활성화 분자체 (3 Å-AW) 상에서 30 분 동안 실온에서 교반시켰다. 용액을 -10°C 까지 냉각시키고 NIS (13.8 mg, 61 μ mol) 및 삼플루오르화메테인슬론산 (1 μ L, 11 μ mol)으로 처리하였다. 혼합물을 1 시간 동안 실온에서 유지시키고 0°C 까지 천천히 가온시켰다. 반응을 Et_3N (50 μ L)으로 퀸칭시키고, 여과하고 농축시켜 황색 오일로서 중간체 벤질리덴아세탈을 수득하였다.

[0850]

CH_2Cl_2 (2 mL) 중의 중간체 벤질리덴아세탈의 교반된 용액에 실온에서 에탄티올 (0.3 mL, 4.06 mmol) 및 파라-톨루엔슬론산 (10 mg, 0.053 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 1 시간 동안 그 온도에서 교반시켰고, Et_3N (20 μ L)으로 퀸칭시키고 농축시켰다. 잔사를 플래시 크로마토그래피 ($\text{EtOAc}/\text{헥산}$ 0 : 1 내지 1 : 3 내지 1 : 2)로 정제하여 투명한 오일로서 디올 50 (78 mg, 39 μ mol, 96%)을 수득하였다. HRMS (ESI) $\text{C}_{118}\text{H}_{117}\text{NO}_{27}$ ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$ 에 대한 이론값 2002.7710 실험값 2002.7731 m/z .

[0851]

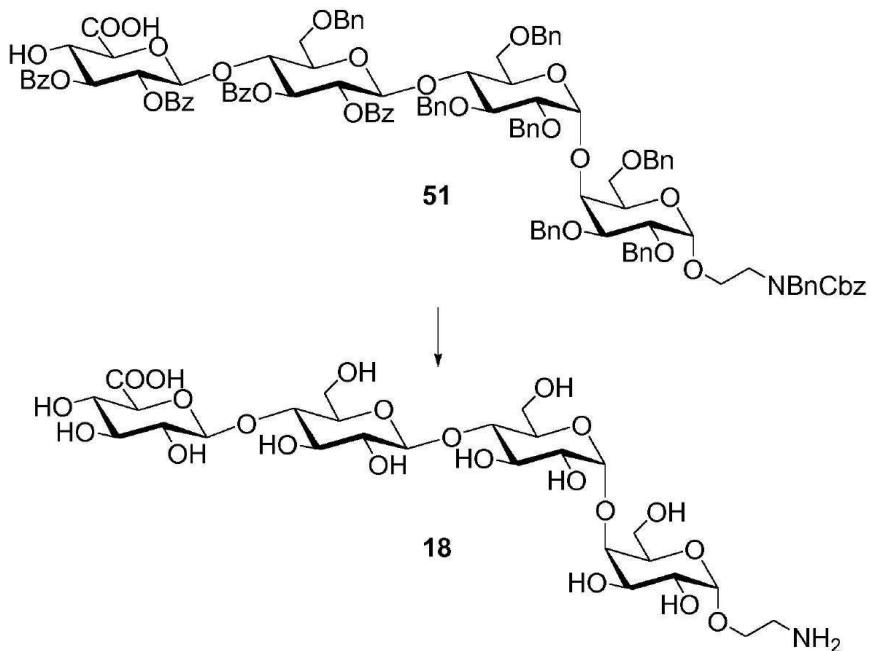
실시예 1-18: 2,3- α -벤조일- β -D-글루코파라노실우로네이트-(1 \rightarrow 4)-2,3- α -벤조일-6- α -벤질- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트리- α -벤질- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트리- α -벤질- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 1)-(2- N -벤질- N -벤질옥시카르보닐아미노)에탄올 (51)의 합성



[0852]

[0853] CH_2Cl_2 (2 mL) 및 물 (0.8 mL) 중의 알코올 **50** (45 mg, 23 μmol , 73%)의 격렬하게 교반된 용액에 0 °C에서 TEMPO (3개의 결정) 및 BAIB (15.4 mg, 48 μmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 30 분 동안 그 온도에서 교반시키고 실온까지 천천히 가온시켰다. 1 시간 후, TEMPO (2개의 결정) 및 BAIB (10 mg, 31 μmol)를 첨가하고 혼합물을 2 시간 동안 실온에서 교반시켰다. 반응 혼합물을 CH_2Cl_2 (5 mL)로 희석시키고 반응을 10% 수성 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (5 mL)로 퀸칭시켰다. 분리 후, 수성상을 EtOAc (2x10 mL)로 추출하고, 결합된 유기 분획을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고 농축시켰다. 잔사를 플래시 크로마토그래피로 2회 ($\text{EtOAc}/\text{헥산}$ 0 : 1 내지 1 : 2 내지 8 : 1, 계속해서 $\text{EtOAc}/\text{헥산}$ 1 : 1+1% AcOH) 정제하고, 헵탄으로 반복해서 공-증발시켜 투명한 오일로서 산 **51** (33 mg, 17 μmol , 74%)을 수득하였다. HRMS (ESI) $\text{C}_{118}\text{H}_{115}\text{NO}_{28}$ ($\text{M}+\text{Na}$)⁺에 대한 이론값 2016.7503 실험값 2016.7558 m/z .

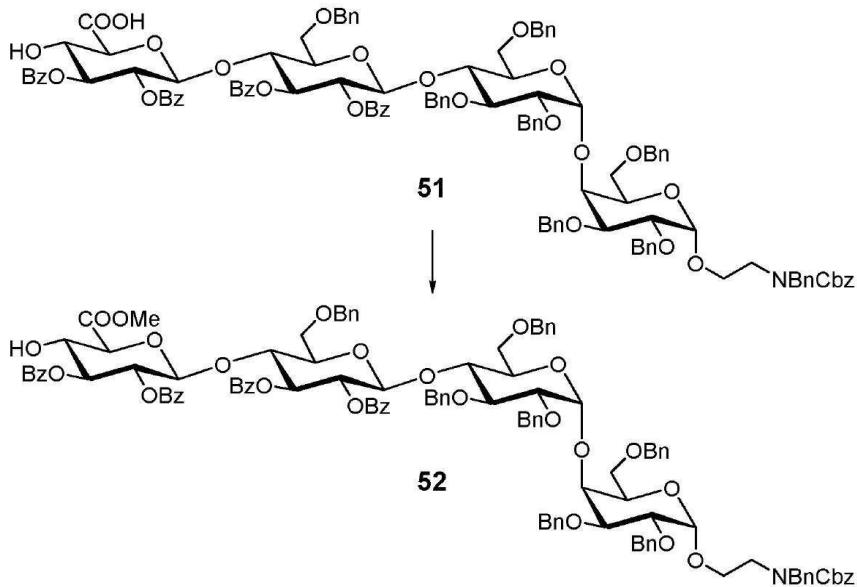
[0854] 실시예 1-19: β -D-글루코파라노실우론산-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노실-(1→1)-(2-아미노)에탄올 (18)의 합성



[0855]

[0856] THF (4 mL) 및 MeOH (0.5 mL) 중의 에스테르 **51** (45 mg, 23 μmol)의 교반된 용액에 0 °C NaOH (1 M 수성 용액, 1 mL)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온까지 천천히 가온시키고 16 시간 동안 그 온도에서 교반시켰다. 용액을 0 °C에서 0.5 M 수성 NaHSO_4 로 중화시키고 EtOAc (5x5 mL)로 추출하였다. 결합된 유기 분획을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고 농축시켜 백색 거품으로서 중간체 알코올을 수득하였다. MeOH (3 mL) 중의 중간체 알코올을 실온에서 MeOH (6 mL), 물 (6 방울) 및 AcOH (3 방울) 중의 Pd/C (20 mg)의 혼탁액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 H_2 의 분위기 하에서 96 시간 동안 교반시키고, 여과하고 농축시켰다. 반응이 완결까지 진행하지 않기 때문에, 잔사를 동일한 조건에 다시 적용시키고 72 시간 동안 실온에서 교반시켰다. 반응 혼합물을 여과하고 농축시키고, 잔사를 고상 추출 (Chromabond C18, Macherey-Nagel)로 정제하고 동결건조시켜 백색 고체로서 테트라사카라이드 **18** (11.3 mg, 16 μmol , 2 단계에 걸쳐 68%)을 수득하였다. HRMS (MALDI) $\text{C}_{26}\text{H}_{45}\text{NO}_{22}$ ($\text{M}+\text{Na}$)⁺에 대한 이론값 746.2330 실험값 746.2416 m/z .

[0857] 실시예 1-20: 메틸[2,3-디-0-벤조일- β -D-글루코파라노실]우로네이트-(1→4)-2,3-디-0-벤조일-6-0-벤질- β -D-글루코파라노실-(1→4)-2,3,6-트리-0-벤질- α -D-글루코파라노실-(1→4)-2,3,6-트리-0-벤질- α -D-갈락토파라노실-(1→1)-(2-N-벤질-N-벤질옥시카르보닐아미노)에탄올 (52)의 합성

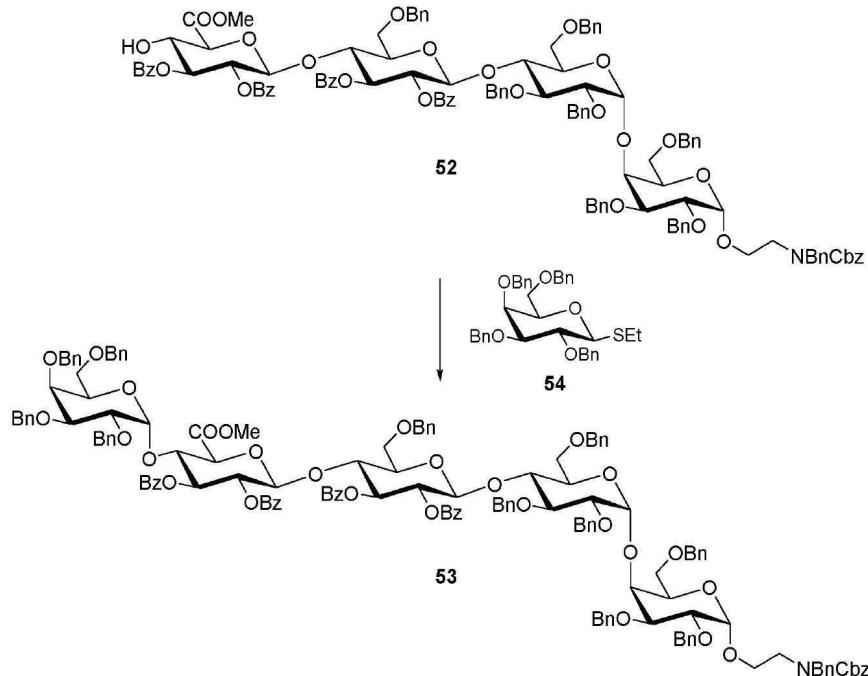


[0858]

[0859] DMF (2.5 mL) 중의 카르복실산 51 (100 mg, 50 μ mol)의 교반된 용액에 실온에서 Cs_2CO_3 (24.5 mg, 75 μ mol) 및 요오드화메틸 (10.7 mg, 75 μ mol)을 첨가하고 반응 혼합물을 그 온도에서 교반시켰다. 2 시간 후, 요오드화메틸 (10.7 mg, 75 μ mol)을 첨가하고 혼합물을 별도의 2 시간 동안 실온에서 교반시켰다. 반응을 포화 수성 NH_4Cl (5 mL)로 퀸칭시키고, EtOAc (4x10 mL)로 추출하고, 결합된 유기 분획을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고 농축시켰다. 잔사를 플래시 크로마토그래피 ($\text{EtOAc}/\text{헥산} 0 : 1$ 내지 2 : 3)로 정제하여 백색 거품으로서 메틸에스테르 52 (81 mg, 40 μ mol, 80%)를 수득하였다. HRMS (MALDI) $\text{C}_{119}\text{H}_{117}\text{NO}_{28}$ ($\text{M}+\text{Na}$)⁺에 대한 이론값 2030.7659 실험값 2030.7660 m/z.

[0860]

실시예 1-21: 2,3,4,6-테트라- α -벤질- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)-메틸[2,3-디- α -벤조일- β -D-글루코파라노실]우로네이트-(1 \rightarrow 4)-2,3-디- α -벤조일-6- α -벤질- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트리- α -벤질- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트리- α -벤질- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 1)-(2-N-벤질-N-벤질옥시카르보닐아미노)에탄올 (53)의 합성



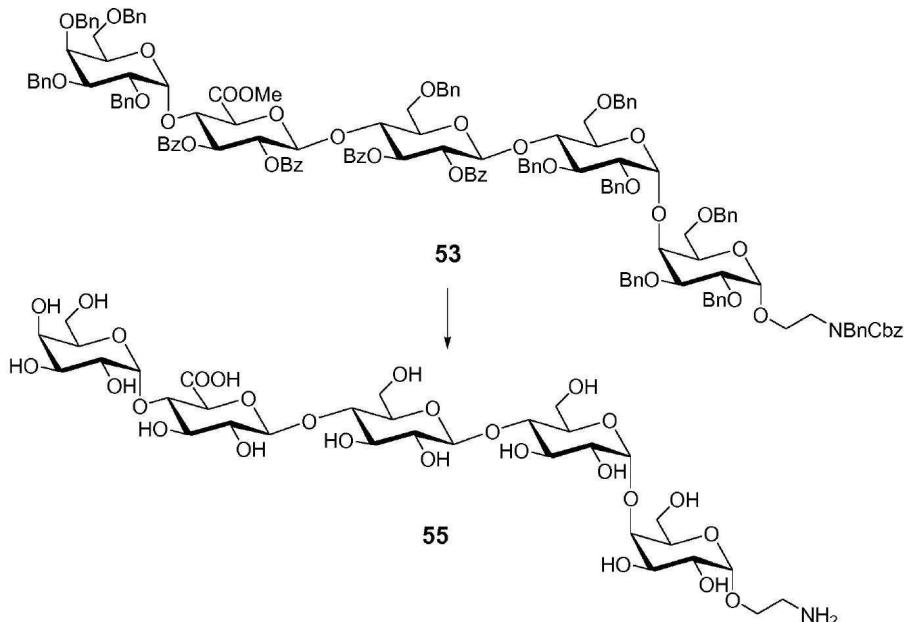
[0861]

[0862] 알코올 52 (14 mg, 7 μ mol) 및 티오글리코시드 54 (*J Org Chem* 1990, 55, 2860.) (16.3 mg, 28 μ mol)를 건조 톨루엔 (3x10 mL)과 함께 공-증발시키고 고진공 하에서 30 분 동안 유지시켰다. 혼합물을 Et_2O (1.05 mL) 및

CH_2Cl_2 (0.35 mL) 중에 용해시키고 활성화 분자체 (3 Å-AW) 상에서 30 분 동안 실온에서 교반시켰다. 용액을 -20°C 까지 냉각시키고 NIS (6.3 mg, 28 μmol) 및 TMSOTf (1 μl , 5.5 μmol)로 처리하였다. 혼합물을 1 시간 동안 교반시키고 0 $^\circ\text{C}$ 까지 천천히 가온시켰다. 반응을 포화 수성 NaHCO_3 (10 mL) 및 10% (중량/용적) Na_2SO_3 (5 mL)의 1 : 1 (용적/용적) 혼합물로 퀸칭시키고 CH_2Cl_2 (4x10 mL)로 추출하였다. 결합된 유기 분획을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고 농축시켰다. 잔사를 플래시 크로마토그래피 ($\text{EtOAc}/\text{헥산} 0 : 1$ 내지 $1 : 4$ 내지 $1 : 3$)로 정제하여 투명한 오일로서 펜타사카라이드 53 (12.5 mg, 4.9 μmol , 71%)를 수득하였다. HRMS (MALDI) $\text{C}_{126}\text{H}_{121}\text{NO}_{29}$ ($\text{M}+\text{Na}$)⁺에 대한 이론값 2553.0066 실험값 2553.0066 m/z .

[0863]

실시예 1-22: α -D-갈락토피라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코피라노실우로네이트-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코피라노실- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토피라노실-(1 \rightarrow 1)-(2-아미노)에탄올 (55)의 합성



[0864]

[0865]

THF (1 mL) 및 MeOH (1 mL) 중의 에스테르 53 (26 mg, 10.3 μmol)의 교반된 용액에 0 $^\circ\text{C}$ 에서 과산화수소 (6% (용적/용적) 수성 용액, 397 μmol) 및 LiOH (0.5 M 수성 용액, 113 μmol)의 1 : 1 (용적/용적) 혼합물을 (450 μl)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온까지 가온시키고 1 시간 동안 그 온도에서 교반시켰다. 반응 혼합물을 NaOH (0.5 M 수성 용액, 1 mL)로 처리하고 16 시간 동안 실온에서 교반시켰다. 용매를 감압 하에서 중발시키고, 잔사를 톨루엔 (2x5 mL)과 함께 공-중발시키고 MeOH (1 mL) 중에 용해시켰다. 용액을 실온에서 NaOMe (MeOH 중의 0.5 M, 1 mL)로 처리하고 16 시간 동안 그 온도에서 교반시켰다. 반응 혼합물을 물 (0.5 mL) 및 CH_2Cl_2 (0.5 mL)로 희석시키고, 0 $^\circ\text{C}$ 에서 Amberlite IR-120 (H^+ 형태)로 중화시키고, 여과하고 농축시켰다. 잔사를 플래시 크로마토그래피 ($\text{EtOAc}/\text{헥산} 0 : 1$ 내지 $1 : 4$ 내지 $1 : 2$ 내지 $1 : 2 + 1\%$ (용적/용적) AcOH 내지 $1 : 1 + 1\%$ (용적/용적) AcOH)로 정제하여 투명한 오일로서 중간체 카르복실산을 수득하였다.

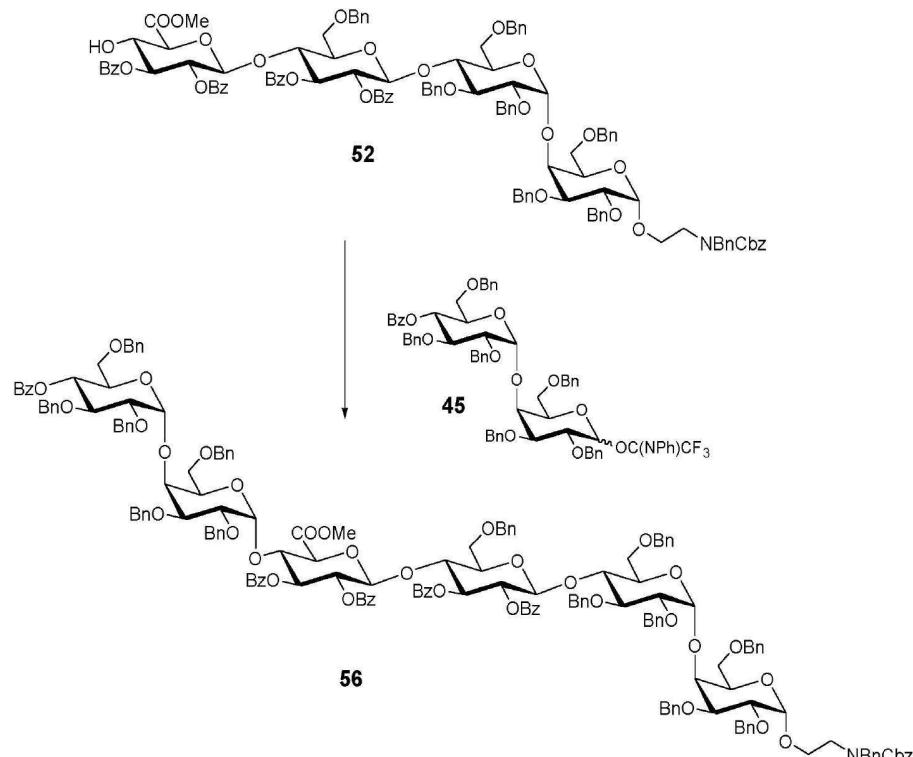
[0866]

$\text{CH}_2\text{Cl}_2/3\text{차}-\text{BuOH}/\text{물} (1 : 16 : 8, 1 \text{ mL})$ 중의 중간체 카르복실산을 아르곤으로 펴지시키고 0 $^\circ\text{C}$ 에서 동일한 용매 혼합물 (0.5 mL) 중의 탄소 상의 $\text{Pd}(\text{OH})_2$ (20% (중량/중량) 적하, 20 mg)의 혼탁액으로 처리하였다. 혼탁액을 수소로 펴지시키고 수소 분위기 하에서 16 시간 동안 교반시키고, 여과하고 농축시켰다. 반응이 완결까지 진행하지 않기 때문에, 잔사를 동일한 조건에 다시 적용시키고 24 시간 동안 실온에서 교반시켰다. 혼합물을 여과하고 농축시키고, 잔사를 고상 추출 (Chromabond C18, Macherey-Nagel)로 정제하고 동결건조시켜 백색 고체로서 펜타사카라이드 55 (8.1 mg, 9.1 μmol , 2 단계에 걸쳐 88%)를 수득하였다. HRMS (MALDI) $\text{C}_{32}\text{H}_{55}\text{NO}_{27}$ ($\text{M}+\text{Na}$)⁺에 대한 이론값 884.2883 실험값 884.2942 m/z . ^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 5.48 (d, $J = 3.5 \text{ Hz}$, 1H), 5.02 (d, $J = 3.2 \text{ Hz}$, 1H), 4.88 (d, $J = 3.9 \text{ Hz}$, 1H), 4.51 (m, 2H), 4.20 (d, $J = 9.9 \text{ Hz}$, 1H), 4.04 (m, 1H), 4.02 (m, 26H), 3.43 (m, 4H).

[0867]

실시예 1-23: 4-O-벤조일-2,3,6-트리-O-벤질- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트리-O-벤질- α -D-갈락토피라노

실-(1→4)-메틸[2,3-디-O-벤조일- β -D-글루코파라노실]우로네이트-(1→4)-2,3-디-O-벤조일-6-O-벤질- β -D-글루코파라노실-(1→4)-2,3,6-트리-O-벤질- α -D-글루코파라노실-(1→4)-2,3,6-트리-O-벤질- α -D-갈락토파라노실-(1→1)-(2-N-벤질-N-벤질옥시카르보닐아미노)에탄올 (56)의 합성

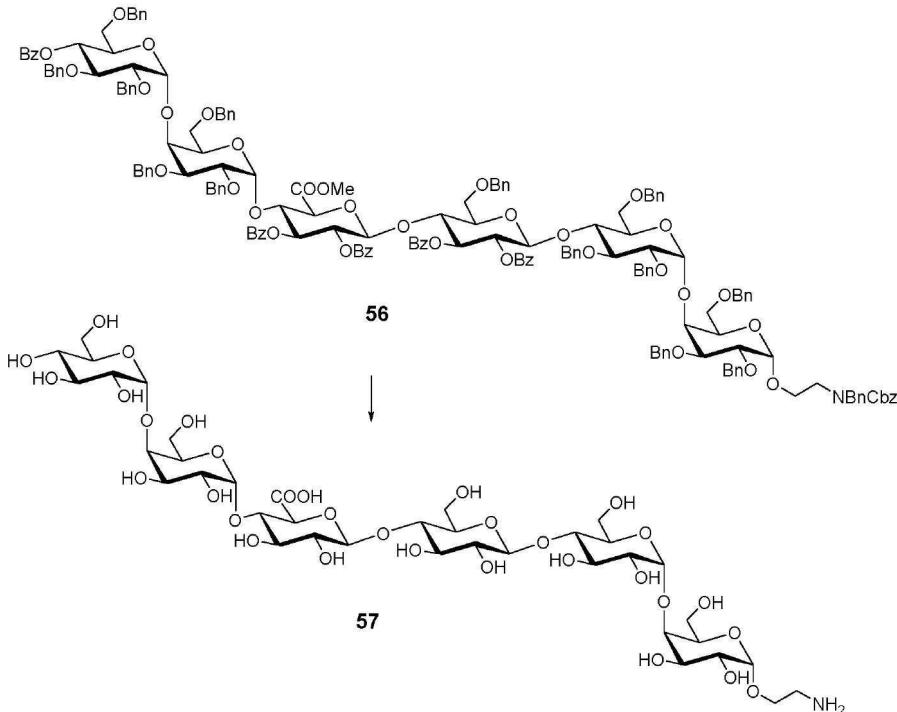


[0868]

[0869] 알코올 52 (50 mg, 25 μ mol) 및 이미테이트 45 (72.1 mg, 62 μ mol)를 건조 톨루엔 (3x10 mL)과 함께 공-증발시키고 고진공 하에서 30 분 동안 유지시켰다. 혼합물을 Et_2O (2 mL) 및 CH_2Cl_2 (0.67 mL) 중에 용해시키고 활성화 분자체 (3 Å-AW) 상에서 30 분 동안 실온에서 교반시켰다. 용액을 -20 °C까지 냉각시키고 TMSOTf (2 μ L, 11 μ mol)로 처리하였다. 혼합물을 1 시간 동안 교반시키고 0 °C까지 천천히 가온시켰다. 반응을 포화 수성 NaHCO_3 (10 mL)로 퀸칭시키고 CH_2Cl_2 (4x10 mL)로 추출하였다. 결합된 유기 분획을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고 농축시켰다. 잔사를 플래시 크로마토그래피 ($\text{EtOAc}/\text{헥산} 0 : 1$ 내지 $1 : 3$ 내지 $3 : 7$ 내지 $1 : 2$)로 정제하여 투명한 오일로서 헥사사카라이드 56 (51 mg, 17 μ mol, 69%)를 수득하였다. HRMS (MALDI) $\text{C}_{180}\text{H}_{177}\text{NO}_{39}$ ($\text{M}+2\text{Na}$)²⁺에 대한 이론값 1511.0847 실험값 1511.0576 m/z .

[0870]

실시예 1-24: α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실우로네이트-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노실-(1→1)-(2-아미노)에탄올 (57)의 합성



[0871]

[0872]

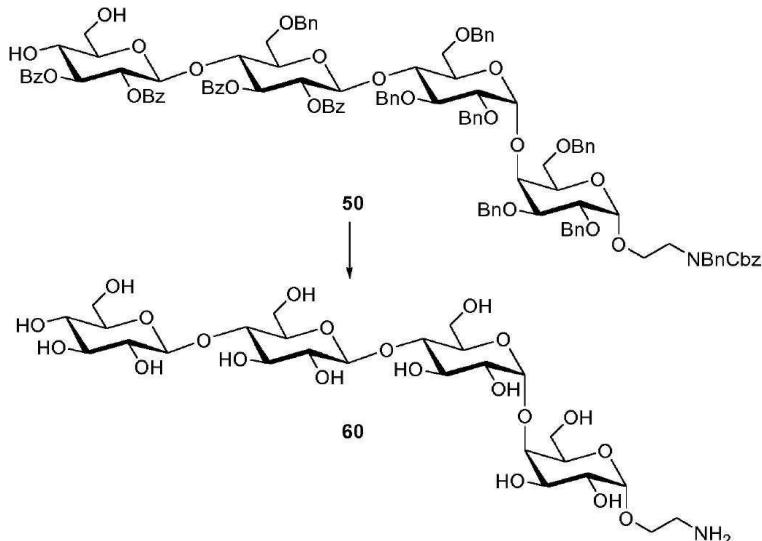
THF (1 mL) 및 MeOH (1 mL) 중의 에스테르 56 (22 mg, 7.4 μ mol)의 교반된 용액에 0 °C에서 과산화수소 (6% (용적/용적) 수성 용액, 295 μ mol) 및 LiOH (0.5 M 수성 용액, 74 μ mol)의 1 : 1 (용적/용적) 혼합물 (296 μ L)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온까지 가온시키고 2 시간 후 그리고 4 시간 후 각각 동일한 LiOH 용액의 별도의 294 μ L로 처리하였다. 혼합물을 16 시간 동안 실온에서 교반시키고 NaOH (1 M 수성 용액, 0.5 mL) 및 MeOH (0.5 mL)로 처리하였다. 반응 혼합물을 20 시간 동안 그 온도에서 교반시키고, 10% 수성 Na_2SO_3 (0.8 mL)로 퀸칭시키고, 침입 하에서 농축시켰다. 잔사를 물 (4 mL) 중에 용해시키고, NaHSO_4 (0.5 M 수성 용액)로 중화시키고 EtOAc (4x10 mL)로 추출하였다. 결합된 유기 분획을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고 농축시켰다. 잔사를 NaOMe (MeOH 중의 0.5 M 용액, 1 mL)로 처리하고, 40 °C까지 가온시키고 5 시간 동안 그 온도에서 교반시켰다. 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 별도로 16 시간 동안 그 온도에서 교반시키고 물 (0.5 mL)로 처리하였다. 혼합물을 Amberlite IR-120 (H^+ 형태)로 중화시키고, 여과하고 농축시켰다. 잔사를 플래시 크로마토그래피 ($\text{EtOAc}/\text{헥산} 0 : 1 : 0$ 내지 1 : 4 + 2% (용적/용적) AcOH 내지 1 : 1 + 2% (용적/용적) AcOH)로 정제하여 투명한 오일로서 중간체 카르복실산을 수득하였다.

[0873]

$\text{CH}_2\text{Cl}_2/3\text{차}-\text{BuOH}/\text{물} (1.5 : 16 : 8, 3 mL)$ 중의 중간체 카르복실산을 아르곤으로 퍼지시키고 0 °C에서 동일한 용매 혼합물 (1 mL) 중의 탄소 상의 $\text{Pd}(\text{OH})_2$ (20% (중량/중량) 적하, 30 mg)의 혼탁액으로 처리하였다. 혼탁액을 수소로 퍼지시키고, 수소 분위기 하에서 18 시간 동안 교반시키고, 여과하고 농축시켰다. 잔사를 고상 추출 (Chromabond C18, Macherey-Nagel)로 정제하고 동결건조시켜 백색 고체로서 헥사사카라이드 57 (7 mg, 6.7 μ mol, 3 단계에 걸쳐 86%)를 수득하였다. HRMS (ESI) $\text{C}_{38}\text{H}_{65}\text{NO}_{32}$ ($\text{M}+\text{Na}$)⁺에 대한 이론값 1070.3387 실험값 1070.3391 m/z .

[0874]

실시예 1-25: β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 1)-(2-아미노)에탄올 (60)의 합성



[0875]

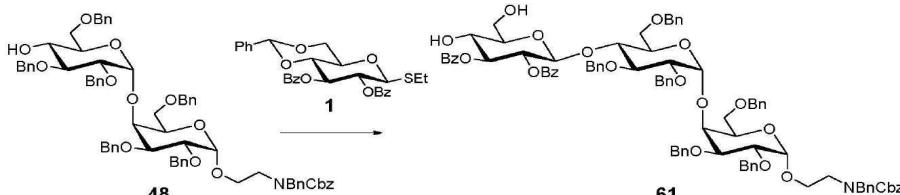
[0876] THF (1 mL) 및 MeOH (0.33 mL) 중의 에스테르 **50** (20 mg, 10.1 μ mol)의 교반된 용액에 실온에서 NaOMe (MeOH 중의 0.5 M 용액, 0.5 mL)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 40 °C까지 가온시키고 5 시간 동안 그 온도에서 교반시켰다. 혼합물을 실온까지 냉각시키고 16 시간 동안 그 온도에서 교반시켰다. 반응 혼합물을 Amberlite IR-120 (H^+ 형태)로 중화시키고, 여과하고 농축시켰다. 잔사를 크기배제 크로마토그래피 (Sephadex LH-20, $CH_2Cl_2/MeOH$ 2 : 1)로 정제하여 백색 거품으로서 중간체 혼산물을 수득하였다.

[0877]

[0877] $CH_2Cl_2/3차\text{-}BuOH/물$ (1 : 16 : 8, 1 mL) 중의 중간체 혼산물을 아르곤으로 펴지시키고 0 °C에서 동일한 용매 혼합물 (1 mL) 중의 탄소 상의 Pd(OH)₂ (20% (중량/중량) 적하, 20 mg) 혼탁액으로 처리하였다. 혼탁액을 수소로 펴지시키고, 수소 분위기 하에서 18 시간 동안 교반시켰다. 잔사를 고상 추출 (Chromabond C18, Macherey-Nagel)로 정제하고 동결건조시켜 백색 고체로서 테트라사카라이드 **60** (6.8 mg, 9.0 μ mol, 2 단계에 걸쳐 89%)을 수득하였다. HRMS (ESI) $C_{26}H_{47}NO_{21}$ ($M+Na$)⁺에 대한 이론값 732.2538 실험값 732.2504 m/z .

[0878]

실시예 1-26: 2,3-디- α -벤조일- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트리- α -벤질- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트리- α -벤질- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 1)-(2-N-벤질-N-벤질옥시카르보닐아미노)에탄올 (**61**)의 합성



[0879]

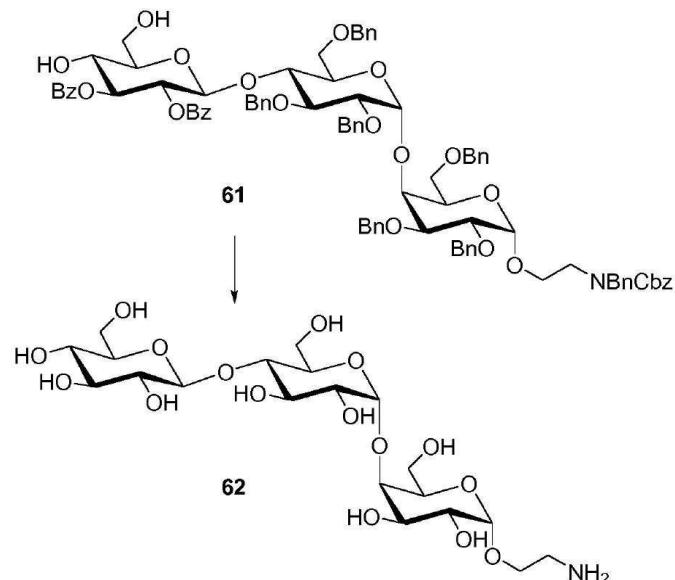
[0880] 알코올 **48** (15 mg, 13 μ mol) 및 티오글리코시드 **1** (20.4 mg, 39 μ mol)를 건조 톨루엔 (2x5 mL)과 함께 공-증발시키고 고진공 하에서 10 분 동안 유지시켰다. 혼합물을 CH_2Cl_2 (1.3 mL) 중에 용해시키고 활성화 분자체 (3 Å-AW) 상에서 30 분 동안 실온에서 교반시켰다. 용액을 -20 °C까지 냉각시키고 NIS (8.8 mg, 39 μ mol) 및 TfOH (1 μ L, 11 μ mol)로 처리하였다. 혼합물을 1 시간 동안 그 온도에서 교반시키고 0 °C까지 천천히 가온시켰다. 반응을 포화 수성 $NaHCO_3$ (10 mL) 및 10% (용적/중량) Na_2SO_3 (5 mL)의 1:1 (용적/용적) 혼합물로 퀸칭시키고 CH_2Cl_2 (4x10 mL)로 추출하였다. 결합된 유기 추출물을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고 농축시켰다. 잔사를 플래시 크로마토그래피 (EtOAc/헥산 1 : 5 내지 1 : 4 내지 1 : 3)로 정제하여 황색 오일로서 중간체 벤질리덴아세탈을 수득하였다.

[0881]

[0881] CH_2Cl_2 (2 mL) 중의 중간체 벤질리덴아세탈의 교반된 용액에 실온에서 에탄티올 (0.2 mL, 2.8 mmol) 및 파라-톨루엔설�onium (6 mg, 32 μ mol)을 첨가하였다. 혼합물을 1 시간 동안 그 온도에서 교반시키고, Et_3N (100 μ L)으로 퀸칭시키고 농축시켰다. 잔사를 플래시 크로마토그래피 (EtOAc/헥산 0 : 1 내지 1 : 3 내지 2 : 3)로 정제하여

투명한 오일로서 디올 **61** (14.7 mg, 9.7 μ mol, 75%)을 수득하였다. HRMS (MALDI) $C_{26}H_{47}NO_{21}$ ($M+Na$)⁺에 대한 이론값 1542.6188 실험값 1542.6145 m/z .

[0882] 실시예 1-27: β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 1)-(2-아미노)에탄올 (**62**)의 합성



[0883]

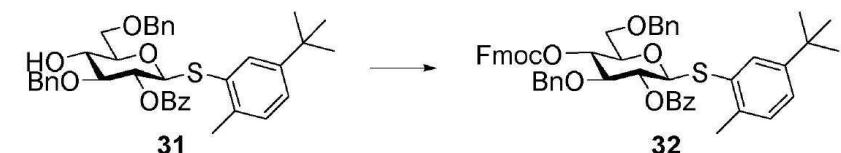
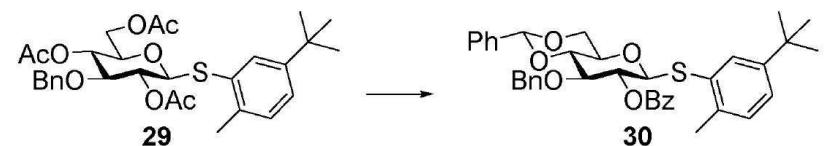
[0884] CH_2Cl_2 (1 mL) 및 MeOH (1 mL) 중의 에스테르 **61** (26 mg, 17 μ mol)의 교반된 용액에 실온에서 NaOMe (MeOH 중의 0.5 M 용액, 0.5 mL)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 2 시간 동안 그 온도에서 교반시키고, 0 °C에서 Amberlite IR-120 (H^+ 형태)로 중화시키고, 여과하고 농축시켰다. 잔사를 플래시 크로마토그래피 (EtOAc/헥산 1 : 3 대비 2 : 1)로 정제하여 백색 거품으로서 중간체 테트라올을 수득하였다. $CH_2Cl_2/3차-BuOH/물$ (1:6:2, 5 mL) 중의 중간체 테트라올을 아르곤으로 퍼지시키고 0 °C에서 동일한 용매 혼합물 (1 mL) 중의 탄소 상의 $Pd(OH)_2$ (20% (중량/중량) 적하, 30 mg)의 혼탁액으로 처리하였다. 혼탁액을 수소로 퍼지시키고, 수소 분위기 하에서 24 시간 동안 교반시키고, 여과하고 농축시켰다. 반응이 완결까지 진행하지 않기 때문에, 잔사를 동일한 조건에 다시 적용시키고 48 시간 동안 실온에서 교반시켰다. 혼합물을 여과하고 농축시키고, 잔사를 고상 추출 (Chromabond C18, Macherey-Nagel)로 정제하고 동결건조시켜 백색 고체로서 트리사카라이드 **62** (7.3 mg, 13 μ mol, 2 단계에 걸쳐 79%)를 수득하였다. HRMS (ESI) $C_{26}H_{47}NO_{21}$ ($M+Na$)⁺에 대한 이론값 570.2010 실험값 570.2000 m/z .

[0885]

단계적 자동화 글리코실화에 의한 사카라이드의 합성

[0886]

실시예 1-28: 글루코스 구축 블록 **32**의 합성



[0887]

(2-메틸-5-3차-부틸페닐) 2-O-벤조일-3-O-벤질-4,6-O-벤질리텐-1-티오- β -D-글루코파라노스 (**30**)

[0889] (2-메틸-5-3차-부틸페닐) 2,4,6-트리-0-아세틸-3-0-벤질-1-티오- β -D 글루코파라노스 (29)를 MeOH 중에 용해시 키고, NaOMe (1.0 당량)를 첨가하고 반응 혼합물을 밤새도록 교반시켰다. 혼합물을 IR-120-H⁺ amberlite 수지로 중화시키고, 여과해내고, 농축시키고 톨루엔과 함께 공-증발시켰다. 조 트리올(crude triol)을 DMF 중에 용해시켰다. 벤즈알데히드디메틸아세탈 (2.0 당량) 및 촉매량의 파라-톨루엔설휠산을 첨가하고 혼합물을 80 °C에서 2 시간 동안 교반시켰다. 혼합물을 실온까지 냉각시킨 후, 포화 수성 NaHCO₃를 첨가하였다. 상 분리 후, 유기상을 에틸아세테이트로 3회 추출하였다. 결합된 유기층을 염수로 세척하고, MgSO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고 농축시켰다. 조 생성물을 DCM 중에 용해시키고, 0 °C까지 냉각시키고 Bz₂O (2.0 당량), DMAP (0.5 당량) 및 트리에틸아민 (4.0 당량)을 첨가하였다. 완전 전환 이후, 반응을 포화 수성 NaHCO₃으로 퀸칭시키고 결합된 유기층을 염수로 세척하고, MgSO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고 농축시켰다. 잔사를 실리카겔 상에서 플래시 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 화합물 (3 단계에 걸쳐 88%)을 수득하였다. Rf: 0.25 (헥산 : EtOAc = 9 : 1). [α]_D = 68.96 (c = 3.18, CHCl₃); IR (박막, 클로로포름): ν = 2962, 1729, 1265, 1093 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 8.01 (ddd, J = 5.8, 5.3, 0.8 Hz, 2H, H Ar), 7.60 (ddd, J = 7.1, 2.6, 1.3 Hz, 1H, H Ar), 7.51 (ddd, J = 6.0, 5.6, 2.3 Hz, 3H, H Ar), 7.49 내지 7.43 (m, 2H, H Ar), 7.43 내지 7.35 (m, 3H, H Ar), 7.19 (dt, J = 6.3, 3.1 Hz, 1H, H Ar), 7.13 (dd, J = 6.7, 4.0 Hz, 3H, H Ar), 7.10 내지 7.04 (m, 3H, H Ar), 5.63 (s, 1H CHO₂Ph), 5.42 내지 5.32 (m, 1H, H-2), 4.82 (d, J = 11.9 Hz, 1H, CHHPh), 4.81 (d, J = 10.2 Hz, 1H, H-1), 4.69 (d, J = 12.0 Hz, 1H, CHHPh), 4.39 (dd, J = 10.5, 5.0 Hz, 1H, H-6'), 3.94 내지 3.86 (m, 3H, H-3, H-4, H-6), 3.56 (dt, J = 14.6, 4.9 Hz, 1H, H-5), 2.19 (s, 3H), 1.27 (s, 9H). ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 165.23 (C=O), 149.66, 137.84, 137.28, 137.03, 133.34, 132.37, 130.07, 130.04, 129.93, 129.90, 129.19, 128.51, 128.43, 128.29, 128.22, 127.71, 126.13, 125.38 (Ar), 101.44 (CHO₂Ph), 88.03 (C-1), 81.64 (C-3), 79.43 (C-4), 74.36 (CH₂Ph), 72.25 (C-2), 70.66 (C-5), 68.81 (C-6), 34.56 (Cq 3차-Bu 티오), 31.36 (3차-Bu), 20.36 (CH₃ 티오); MS ESI+-HRMS m/z [M+Na]⁺ C₃₈H₄₀O₆SnNa에 대한 이론값 647.2462, 실험값 647.

[0890] (2-메틸-5-3차-부틸페닐) 2-O-벤조일-3,6-디-O-벤질-1-티오- β -D-글루코파라노스 (31)

[0891] 화합물 1의 용액을 톨루엔과 함께 공-증발시키고, 아르곤 분위기 하에서 DCM (6.5 mL) 중에 용해시켰다. 트리에틸실란 (0.62 mL, 3.88 mmol) 및 트리플루오로아세트산 무수물 (0.27 mL, 1.94 mmol)을 첨가하고 용액을 0 °C 까지 냉각시켰다. 트리플루오로아세트산 (0.30 mL, 3.88 mmol)을 적가하고, 반응 혼합물을 교반시키고 실온까지 가온되도록 허용하였다. 출발 물질의 완전한 전환 이후, 용액을 DCM으로 희석시키고, 포화 수성 NaHCO₃로 퀸칭시켰다. 결합된 유기층을 MgSO₄ 상에서 건조시키고 용매를 진공 중에서 제거하였다. 잔사를 실리카겔 상에서 컬럼 크로마토그래피 (헥산/에틸아세테이트, 9 : 1 내지 7 : 3)로 정제하여 백색 거품 (92%)을 수득하였다. MS ESI+-HRMS m/z [M+Na]⁺ C₃₈H₄₂O₆SnNa에 대한 이론값 649.2600 실험값 649.2585.

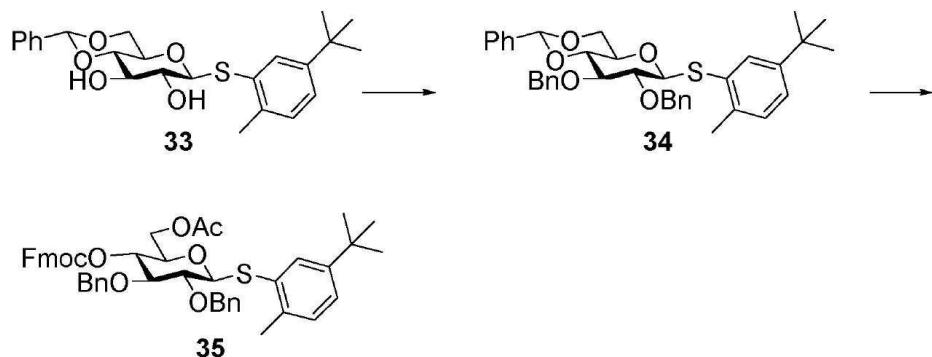
[0892] (2-메틸-5-3차-부틸페닐) 2-O-벤조일-3,6-디-O-벤질-4-O-플루오레닐메톡시카르보닐-1-티오- β -D-글루코파라노시드 (32)

[0893] 화합물 31을 아르곤 분위기 하에서 DCM (6.5 mL) 중에 용해시켰다. 9-플루오레닐메틸클로로포르메이트 (8.3 g, 31.9 mmol) 및 피리딘 (3.44 mL, 42.5 mmol)을 0 °C에서 용액 내로 첨가하였다. 출발 물질의 완전한 전환 이후, 용액을 DCM으로 희석시키고, 1 M 수성 HCl 및 포화 수성 NaHCO₃로 추출하였다. 결합된 유기상을 MgSO₄ 상에서 건조시키고 용매를 진공 중에서 제거하였다. 조 생성물을 실리카겔 플래시 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물을 수득하였다.

[0894] MS ESI+-HRMS m/z [M+Na]⁺ C₅₃H₅₂O₈SnNa에 대한 이론값 871.3281 실험값 871.3311.

[0895]

실시예 1-29: 글루코스 구축 블록 35의 합성



[0896]

(2-메틸-5-3차-부틸페닐) 2,3-디-0-벤질-4,6-0-벤질리덴-1-티오- β -D-글루코파라노시드 (34)

[0898]

(2-메틸-5-3차-부틸페닐) 4,6-0-벤질리덴-1-티오- β -D-글루코파라노시드 (33)를 아르곤 분위기 하에서 DCM (6.5 mL) 중에 용해시켰다. 벤질브로마이드 및 NaH를 용액 내로 0 °C에서 첨가하였다. 출발 물질의 완전한 전환 이후, 반응 혼합물을 메탄올로 퀸칭시키고, 에테르로 회석시키고, 포화 NH₄Cl로 추출하였다. 결합된 유기상을 MgSO₄ 상에서 건조시키고 용매를 진공 중에서 제거하였다. 조 생성물을 실리카겔 플래시 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물을 수득하였다.

[0899]

MS ESI+-HRMS m/z [M+Na]⁺ C₃₈H₄₂O₅SNa에 대한 이론값 633.2651 실험값 633.2644.

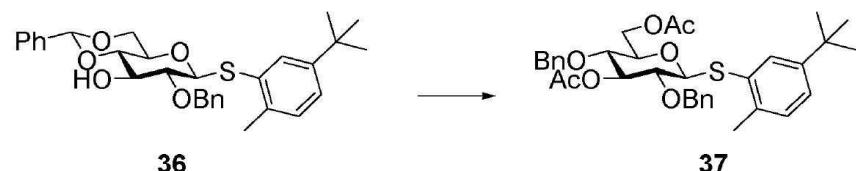
[0900]

(2-메틸-5-3차-부틸페닐) 6-0-아세틸-2,3-디-0-벤질-4-0-플루오레닐메톡시카르보닐-1-티오- β -D-갈락토파라노시드 (35)

[0901]

DCM (6.5 mL) 중의 (2-메틸-5-3차-부틸페닐) 2,3-디-0-벤질-4,6-0-벤질리덴-1-티오- β -D-글루코파라노시드 (34)의 용액에 TFA 및 물을 첨가하였다. 완결 후, 조 생성물을 혼산으로 따라내어 부산물을 제거하였다. 조 생성물은 다음 반응에 사용되었다. 조 생성물의 용액에 아세트산, 2-클로로-1-메틸파리디움이오다이드 및 DABCO를 -15 °C에서 첨가하였다. 출발 물질의 완전한 전환 이후, 용액을 DCM으로 회석시키고, 1 M 수성 HCl 및 포화 수성 NaHCO₃로 추출하였다. 결합된 유기상을 MgSO₄ 상에서 건조시키고 용매를 진공 중에서 제거하였다. 조 생성물을 실리카겔 플래시 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물을 수득하였다. 조 생성물을 아르곤 분위기 하에서 DCM (6.5 mL) 중에 용해시켰다. 9-플루오레닐메틸클로로포르메이트 (8.3 g, 31.9 mmol) 및 피리дин (3.44 mL, 42.5 mmol)을 용액 내로 0 °C에서 첨가하였다. 출발 물질의 완전한 전환 이후, 용액을 DCM으로 회석시키고, 1 M 수성 HCl 및 포화 수성 NaHCO₃로 추출하였다. 결합된 유기상을 MgSO₄ 상에서 건조시키고 용매를 진공 중에서 제거하였다. 조 생성물을 실리카겔 플래시 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물을 수득하였다. MS ESI+-HRMS m/z [M+Na]⁺ C₄₈H₅₀O₈SNa에 대한 이론값 809.3124 실험값 809.3137.

[0902]

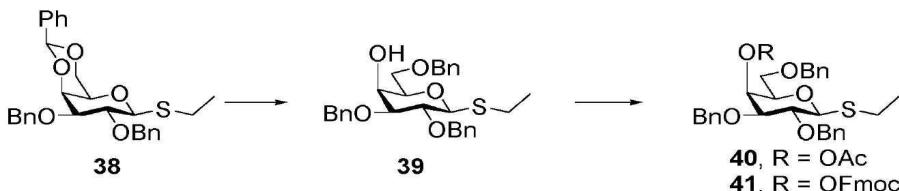
실시예 1-30: (2-메틸-5-3차-부틸페닐) 3,6-디-0-아세틸-2,4-디-0-벤질-1-티오- β -D-갈락토파라노시드 (37)의 합성

[0903]

(2-메틸-5-3차-부틸페닐) 4,6-0-벤질리덴-2-0-벤질-1-티오- β -D-글루코파라노시드 (36) (*Tetrahedron Letter*, 1999, 40, 6523)을 툴루엔 공-증발시키고 Ar 분위기 하에서 DCM (170 mL) 중에 용해시켰다. THF (108 mL, 108 mmol) 중의 BH₃의 1 M 용액을 첨가하고 용액을 0 °C까지 냉각시켰다. 10 분 후, 트리메틸실릴트리플레이트 (1.66 mL, 9.2 mmol)를 첨가하고 반응 혼합물을 교반시켰다. 완결 후, 용액을 DCM으로 회석시키고, 포화 수성 NaHCO₃을 적가하여 퀸칭시켰다. 유기상을 MgSO₄ 상에서 건조시키고 용매를 진공 중에서 제거하였다. 조 생성물은 추가의 정제 없이 다음 단계에 사용되었다.

[0905] DCM 중의 조 생성물의 용액에 아세트산 무수물 (8.3 g, 31.9 mmol) 및 피리딘 (3.44 mL, 42.5 mmol)을 첨가하였다. 출발 물질의 완전한 전환 이후, 용액을 DCM으로 희석시키고 포화 수성 NaHCO_3 로 추출하였다. 결합된 유기상을 MgSO_4 상에서 건조시키고 용매를 진공 중에서 제거하였다. 조 생성물을 실리카겔 플래시 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물 (**37**)을 수득하였다. MS ESI+-HRMS m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ $\text{C}_{35}\text{H}_{42}\text{O}_7\text{SNa}$ 에 대한 이론값 629.2546 실험값 629.2522.

[0906] 실시예 1-31: 보호된 갈락토스 구축 블록의 합성



[0907]

[0908] 에틸 2,3-디-*O*-벤질-4,6-*O*-벤질리텐-1-티오- β -D-갈락토피라노시드 (**38**)를 툴루엔과 함께 공-증발시키고, Ar 분위기 하에서 DCM (6.5 mL) 중에 용해시켰다. 트리에틸실란 (0.62 mL, 3.88 mmol) 및 트리플루오로아세트산 무수물 (0.27 mL, 1.94 mmol)을 첨가하고 용액을 0 °C 까지 냉각시켰다. 트리플루오로아세트산 (0.30 mL, 3.88 mmol)을 적가하고, 반응 혼합물을 교반시키고 실온까지 가온되도록 허용하였다. 출발 물질의 완전한 전환 이후, 용액을 DCM으로 희석시키고, 포화 수성 NaHCO_3 로 퀸칭시켰다. 결합된 유기층을 MgSO_4 상에서 건조시키고 용매를 진공 중에서 제거하였다. 잔사를 실리카겔 상에서의 컬럼 크로마토그래피 (헥산/에틸아세테이트, 9 : 1 대비 7 : 3)로 정제하여 백색 거품 (94%)을 수득하였다. [Christopher E. Martin, Markus W. Weishaupt, and Peter H. Seeberger, *Chem. Commun.*, 2011, 47, 10260-10262.]

[0909]

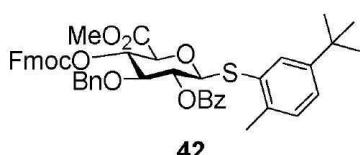
[0909] 에틸 2,3,6-트리-*O*-벤질-1-티오- β -D-갈락토피라노시드를 아르곤 분위기 하에서 DCM (6.5 mL) 중에 용해시켰다. 아세트산 무수물 (8.3 g, 31.9 mmol) 및 피리딘 (3.44 mL, 42.5 mmol)을 용액 내로 0 °C에서 첨가하였다. 출발 물질의 완전한 전환 이후, 용액을 DCM으로 희석시키고, 1 M 수성 HCl 및 포화 수성 NaHCO_3 로 추출하였다. 결합된 유기상을 MgSO_4 상에서 건조시키고 용매를 진공 중에서 제거하였다. 조 생성물을 실리카겔 플래시 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물 (**40**)을 수득하였다. (*Chem. Commun.*, 2011, 47, 10260)

[0910] 에틸 2,3,6-트리-*O*-벤질-4-*O*-플루오레닐메톡시카르보닐-1-티오- β -D-갈락토피라노시드 (**41**)

[0911] 화합물 **39**의 용액에 9-플루오레닐메틸 클로로포르메이트 (8.3 g, 31.9 mmol) 및 피리딘 (3.44 mL, 42.5 mmol)을 0 °C에서 첨가하였다. 출발 물질의 완전한 전환 이후, 용액을 DCM으로 희석시키고, 1 M 수성 HCl 및 포화 수성 NaHCO_3 로 추출하였다. 결합된 유기상을 MgSO_4 상에서 건조시키고 용매를 진공 중에서 제거하였다. 조 생성물을 실리카겔 플래시 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물을 수득하였다. MS ESI+-HRMS m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ $\text{C}_{44}\text{H}_{44}\text{O}_7\text{SNa}$ 에 대한 이론값 739.2705 실험값 739.2673.

[0912]

실시예 1-32: 글루쿠론산 구축 블록 **42**의 제조



[0913]

[0914] 메틸 (2-메틸-5-3차-부틸-페닐)-2-O-벤조일-3-O-벤질-4-O-플루오레닐메톡시카르보닐-1-티오- β -D-글루코피라노실우로네이트 (**42**)를 *Angew. Chem. Int. Ed.* 2013, 52, 5858에 기술된 절차에 따라 합성하였다.

[0915] 실시예 1-33: 관능화된 고체 지지체의 합성

[0916] 관능화된 수지를 *Angew. Chem. Int. Ed.* 2013, 52, 5858에 기술된 절차에 따라 합성하였다.



[0917]

[0918] 실시예 1-34: 일반 절차 1: 자동화 모듈

[0919] 스펙 용액의 제조

[0920] 활성화제 용액: N-이오도숙신이미드 (1.48 g, 6.66 mmol) 및 TfOH (60 μ l, 0.66 mmol)를 DCM (20 mL) 및 디옥산 (20 mL)의 혼합물 중에 용해시켰다.

[0921] Fmoc 탈보호 용액: DMF 중의 20% 트리에틸아민 (용적/용적)을 제조하였다.

[0922] 티오글리코시드 구축 블록 용액: 0.25 mmol의 구축 블록을 DCM 2 mL 중에 용해시켰다.

[0923] 모듈 1: 글리코실화: 수지를 2 mL DCM 중에서 팽윤시키고 반응 용기의 온도를 T1으로 조정하였다. 글리코실화 반응을 위하여, DCM을 배수하고 구축 블록의 용액 (1.0 mL DCM 중의 5 당량)을 반응 용기로 전달하였다. 설정 온도에 도달된 후, 활성화제 (용액 1.0 mL 중의 5 당량)의 첨가에 의하여 반응을 개시시켰다. 글리코실화를 T1의 온도에서 5 분 동안 그리고 T2의 온도에서 45 분 동안 수행하였다. 이 절차를 2회 반복하였다.

[0924] 반응이 완결된 후, 용액을 배수시키고 수지를 DCM으로 세척 (각각 2 mL로 25 초 동안 6회)하였다. 이 절차를 2회 더 반복하였다.

[0925] 모듈 2: Fmoc 탈보호: 수지를 DMF로 세척하고 (6회), swollen in 2 mL DMF 중에서 팽윤시키고 반응 용기의 온도를 25 °C로 조정하였다. Fmoc의 탈보호를 위하여 DMF를 배수시키고 DMF 중의 20% 트리에틸아민의 용액 2 mL를 반응 용기에 전달하였다. 5 분 후 올리고사카라이드 합성기의 분획 수집기 중에서 반응 용액을 수집하고 DMF 중의 20% 트리에틸아민의 용액 2 mL를 수지로 전달하였다. 이 절차를 3회 반복하였다. 다음 글리코실화를 위하여 수지를 DMF, THF, DCM로 세척하였다 (각 6회). Fmoc 정량을 위하여 반응 용액을 결합시키고 100 μ L 분획을 취하였다. 이 분획을 DMF 중의 20% 트리에틸아민의 용액으로 5 mL로 희석시키고 $\lambda = 294$ nm에서 UV 흡수를 결정하였다.

[0926] 고체 지지체로부터의 개열 (*Angew. Chem. Int. Ed.* 2013, 52, 5858-5861):

[0927] 연속 광개열 유동식 반응기 - 일반 절차: 유동식 반응기 구성은 25 °C의 반응 온도를 유지하도록 냉각기에 연결된 석영 유리 냉각 시스템 내에 UV 필터 (Pyrex, 305 nm에서 50% 투광)로 둘러싸여진 27.9 cm의 길이 및 450 W의 출력을 갖는 중압 Hg 램프 (Hanovia)로 이루어진다. 불소화 에틸렌프로필렌 (FEP)튜브 (내경 0.03 인치; 용적: 12 mL)를 냉각 시스템 주위에 감쌌다. 주사기 펌프(syringe pump)를 FEP 튜브에 연결하고 반응기를 통하여 입구를 경유하여 용매 및 수지를 풀러싱하는 데 사용하였다. 프릿(frit)으로 고체 지지체를 여과해 내고 생성물 용액을 모으고 용매를 진공 중에서 제거하였다. UV 램프를 별도로 팬으로 냉각되는 상자 내에 위치시켰다.

[0928] 자동화 합성 공정을 마감하기 위하여, 수지를 DCM으로 세척하고 (6회), 2 mL DCM 중에서 팽윤시키고 1회용 주사기 (20 mL) 내로 전달하였다. 광반응기를 준비하기 위하여, FEP 튜브를 15 mL MeOH로, 계속해서 후속하여 4 mL \cdot min⁻¹의 유속을 사용하여 15 mL DCM으로 세척하였다. 개열을 위하여, 수지를 천천히 1회용 주사기 (20 mL)로부터 반응기 내로 주입하고 15 mL DCM (유속: 500 μ L \cdot min⁻¹)로 튜브를 통과시켰다. 잔류 수지를 세척해내기 위하여, 튜브를 20 mL DCM (유속: 500 μ L \cdot min⁻¹)으로 세척하였다. 반응기에 잔류하는 혼탁액을 필터 내로 지향시켜 여기에서 수지를 여과해내고 DCM으로 세척하였다. 4 mL \cdot min⁻¹의 유속을 사용하여 15 mL DCM으로 튜브를 재-평형화시켰다. 전체 절차를 2회 수행하였다. 그 결과의 용액을 진공 중에서 증발시키고 조 생성물을 HPLC (컬럼: Luna silica; 유속: 5 mL \cdot min⁻¹)로 정제하였다.

[0929] 일반 절차 2: 전반적인 탈보호

[0930] THF 및 MeOH의 혼합물 (1.2 mL, 용적/용적 = 4 : 1) 중의 정제된 사카라이드의 용액에 1 M LiOH-35% H₂O₂ (150

$\mu\ell$, 용적/용적 = 2 : 1)를 0 °C에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온까지 가온시키고, 유지시켰다. 4 시간 후, 1M KOH (0.5 $\mu\ell$)를 첨가하고 혼합물을 교반시켰다. 완결 후, 혼합물을 IR-120-H⁺ amberlite 수지로 중화시키고, 여과해내고, 농축시켰다. 조 생성물을 MeOH, 에틸아세테이트 및 초산 (5 $\mu\ell$: 0.75 $\mu\ell$: 0.25 $\mu\ell$) 중에 용해시키고, 후속하여 Pd/C (20mg)를 첨가하였다. 혼합물을 아르곤의 분위기 하에서 30 분 동안, 계속해서 H₂의 분위기에서 12 시간 동안 버블링시키고, 여과하고 농축시켰다. 잔사를 HPLC (Hyper-carbon)로 정제하고 동결건조시켜 백색 고체로서 사카라이드 (포름산염)를 수득하였다.

[0931] 자동화 운전에 대한 전반적인 절차:

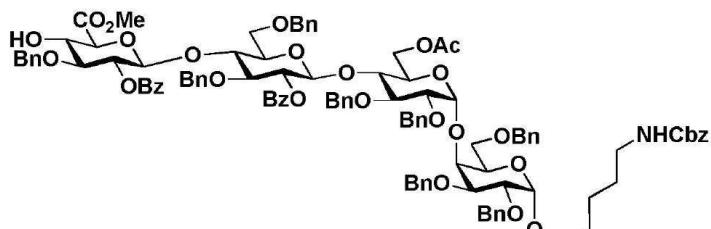
[0932] 실시예 1-33 (65 mg; 적하 0.385 mmol/g; 0.025 mmol)의 관능화 수지를 합성기의 반응 용기 내로 적하시켰고 2 $\mu\ell$ DCM 중에서 팽윤시켰다. 합성 시퀀스를 개시하기 위하여, 수지를 DMF, THF, 계속해서 DCM으로 연속적으로 세척하였다 (각각 2 $\mu\ell$ 로 25 초 동안 3회). 각 구축 블록에 대한 모듈 1 및 Fmoc 탈보호를 위한 모듈 2를 수행하여 각 사카라이드 구조를 생산하였다.

[0933] HPLC 상에서의 정제

[0934] 소정의 화합물의 합성 후, 수지를 고체 지지체로부터 개열시켰다. 조 생성물을 반-제조 HPLC(semi-preparative HPLC) (컬럼: Luna-Silica (21X250 mm; 5 μm); 유속: 5 $\mu\ell/\text{분}$; 용리액: 헥산/에틸아세테이트; 경사: 20% (5 분) → 60% (45 분 이내) → 100% (5 분 이내); 검출: 210 및 280 nm)로 정제하여 표적 올리고사카라이드를 수득하였다.

[0935] 소정의 화합물의 전반적인 탈보호 이후, 조 생성물을 반-제조 HPLC (컬럼: Luna-Hyper-Carbon (21X250 mm; 5 μm); 유속: 5 $\mu\ell/\text{분}$; 용리액: 물 중의 0.1 % 포름산 / 아세토니트릴 중의 0.1 % 포름산; 경사: 10% (5 분) → 40% (30 분 이내) → 100% (5 분 이내); 검출: ELSD)로 정제하여 표적 올리고사카라이드를 수득하였다.

[0936] 실시예 1-34: N-벤질옥시카르보닐-5-아미노-펜타닐 메틸 2-O-벤조일-3-O-벤질- β -D-글루코파라노실우로네이트-(1→4)-2-O-벤조일-3,6-디-O-벤질- β -D-글루코파라노실-(1→4)-6-O-아세틸-2,3-디-O-벤질- α -D-글루코파라노실-(1→4)-2,3,6-트리-O-벤질- α -D-갈락토파라노시드 (19a)의 합성



[0937]

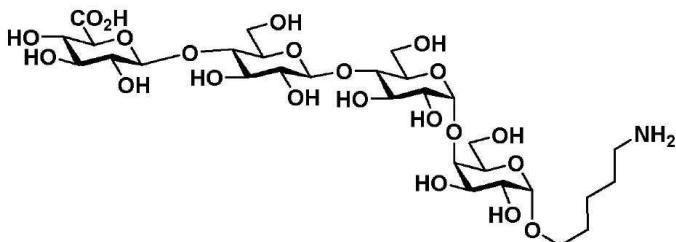
[0938] 반응 시퀀스에 따라 테트라사카라이드 21a를 제조하였다:

시퀀스	모듈	상세	조건
I	1	구축 블록 41	T1 = - 30 °C, T2 = - 10 °C
	2	Fmoc 제거	실온, 5분 동안
II	1	구축 블록 35	T1 = - 30 °C, T2 = 0 °C
	2	Fmoc 제거	실온, 5분 동안
III	1	구축 블록 32	T1 = - 40 °C, T2 = - 20 °C
	2	Fmoc 제거	실온, 5분 동안
IV	1	구축 블록 42	T1 = - 30 °C, T2 = 0 °C
	2	Fmoc 제거	실온, 5분 동안

[0939]

[0940] 수지로부터 8 %, MS ESI+-HRMS m/z $[M+Na]^+$ $C_{110}H_{117}NO_{27}Na$ 에 대한 이론값 1906.7711, 실험값 1906.7590.

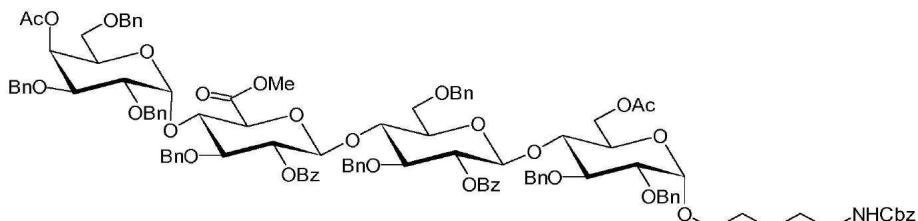
[0941] 실시예 1-35: 5-아미노 펜타닐 β -D-글루코파라노실 우론산-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-갈락토파라노시드 (19)의 제조



[0942]

[0943] 테트라사카라이드 19a를 일반 탈보호 절차에 적용시켜 테트라사카라이드 19를 수득하였다: 36%; MS ESI+-HRMS m/z $[M+H]^+$ $C_{29}H_{52}NO_{22}$ 에 대한 이론값 766.2975, 실험값 766.2988.

[0944] 실시예 1-36: N-벤질옥시카르보닐-5-아미노-펜타닐 4-O-아세틸-2,3,6-트리-O-벤질- α -D-갈락토파라노실-(1→4)-메틸 2-O-벤조일-3-O-벤질- β -D-글루코파라노실우로네이트-(1→4)-2-O-벤조일-3,6-디-O-벤질- β -D-글루코파라노실-(1→4)-6-O-아세틸-2,3-디-O-벤질- α -D-글루코파라노시드 (20a)의 합성



[0945]

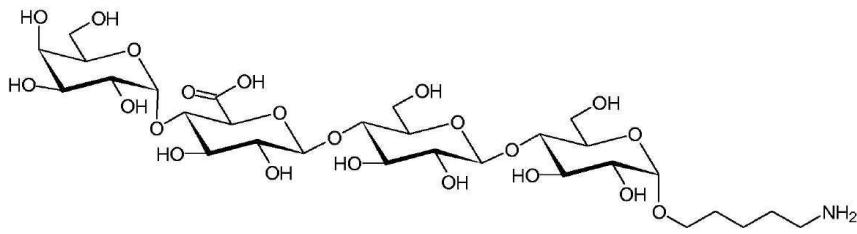
[0946] 하기 반응 시퀀스에 따라 테트라사카라이드 20a를 제조하였다:

시퀀스	모듈	상세	조건
I	1	구축 블록 35	$T1 = -30^{\circ}C$, $T2 = 0^{\circ}C$
	2	Fmoc 제거	실온, 5분 동안
II	1	구축 블록 32	$T1 = -30^{\circ}C$, $T2 = -10^{\circ}C$
	2	Fmoc 제거	실온, 5분 동안
III	1	구축 블록 42	$T1 = -30^{\circ}C$, $T2 = 0^{\circ}C$
	2	Fmoc 제거	실온, 5분 동안
IV	1	구축 블록 40	$T1 = -40^{\circ}C$, $T2 = -20^{\circ}C$
	2	Fmoc 제거	실온, 5분 동안

[0947]

[0948] 수지로부터 16%, MS ESI+-HRMS m/z $[M+Na]^+$ $C_{112}H_{119}NO_{28}Na$ 에 대한 이론값 1948.7816, 실험값 1948.7796.

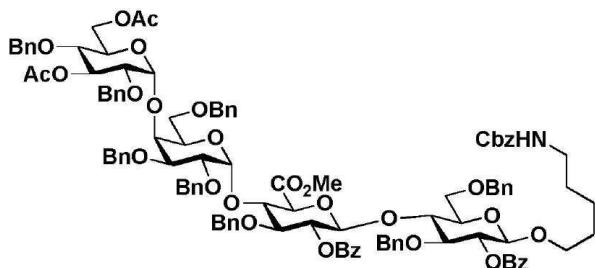
[0949] 실시예 1-37: 5-아미노 펜타닐 α -D-갈락토파라노실-(1→4)- β -D-글루코파라노실우론산-(1→4)- β -D-글루코파라노실-(1→4)- α -D-글루코파라노시드 (20)의 제조



[0950]

[0951] 테트라사카라이드 20a를 일반 탈보호 절차에 적용시켜 테트라사카라이드 20을 수득하였다: 40% MS ESI+-HRMS m/z $[M+H]^+$ $C_{29}H_{52}NO_{22}$ 에 대한 이론값 766.2975, 실험값 766.2964.

[0952] 실시예 1-38: N-벤질옥시카르보닐-5-아미노-펜타닐 3,6-디- α -아세틸-2,4-디- α -벤질- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트리- α -벤질- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)-메틸 2- α -벤조일-3- α -벤질- β -D-글루코파라노실우로네이트-(1 \rightarrow 4)-2- α -벤조일-3,6-디- α -벤질- β -D-글루코파라노시드 (21a)의 제조:



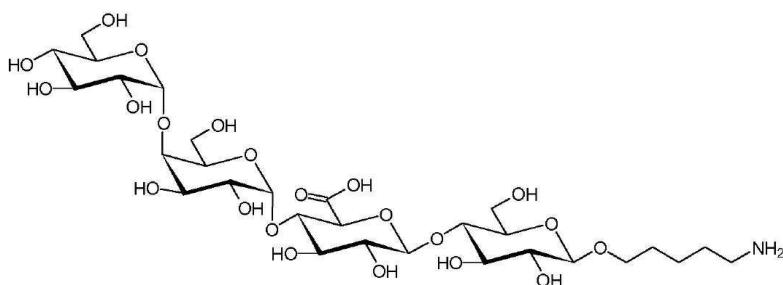
[0953]

시퀀스	모듈	상세	조건
I	1	구축 블록 32	$T1 = -30^{\circ}\text{C}$, $T2 = -10^{\circ}\text{C}$
	2	Fmoc 제거	실온, 5분 동안
II	1	구축 블록 42	$T1 = -30^{\circ}\text{C}$, $T2 = 0^{\circ}\text{C}$
	2	Fmoc 제거	실온, 5분 동안
III	1	구축 블록 41	$T1 = -40^{\circ}\text{C}$, $T2 = -20^{\circ}\text{C}$
	2	Fmoc 제거	실온, 5분 동안
IV	1	구축 블록 37	$T1 = -30^{\circ}\text{C}$, $T2 = 0^{\circ}\text{C}$
	2	Fmoc 제거	실온, 5분 동안

[0954]

[0955] 수지로부터 20%, MS ESI+-HRMS m/z $[M+Na]^+$ $C_{112}H_{119}NO_{28}Na$ 에 대한 이론값 1948.7816, 실험값 1950.7906

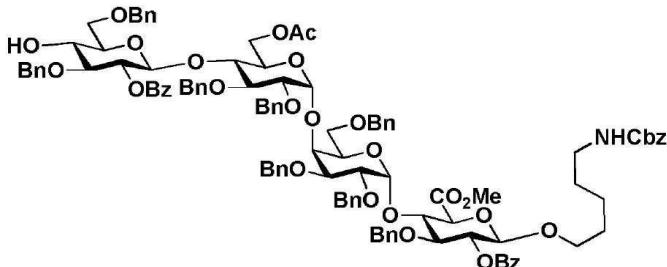
[0956] 실시예 1-39: 5-아미노 펜타닐 α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실우론산-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노시드 (21)의 제조



[0957]

[0958] 테트라사카라이드 **21a**를 일반 탈보호 절차에 적용시켜 테트라사카라이드 **21**을 수득하였다: 42% MS ESI+-HRMS m/z $[M+H]^+$ $C_{29}H_{52}NO_{22}$ 에 대한 이론값 766.2975, 실험값 766.2977.

[0959] 실시예 1-40: N-벤질옥시카르보닐-5-아미노-펜타닐 2-O-벤조일-3,6-디-O-벤질- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)-6-O-아세틸-3,4-디-O-벤질- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-트리-O-벤질- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)-메틸 2-O-벤조일-3-O-벤질- β -D-글루코파라노실 우로네이트 (**22a**)의 합성



[0960]

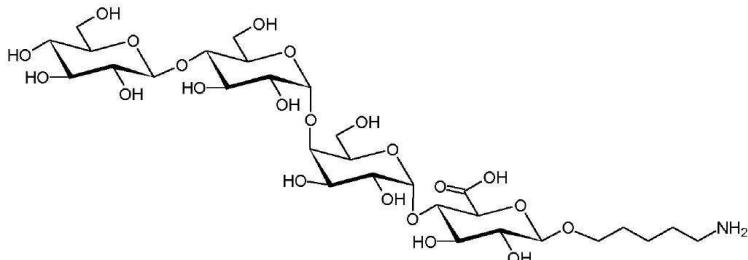
[0961] 하기 반응 시퀀스에 따라 테트라사카라이드 **22a**를 합성하였다:

시퀀스	모듈	상세	조건
I	1	구축 블록 42	$T1 = -30^{\circ}\text{C}$, $T2 = 0^{\circ}\text{C}$
	2	Fmoc 제거	실온, 5분 동안
II	1	구축 블록 41	$T1 = -40^{\circ}\text{C}$, $T2 = -20^{\circ}\text{C}$
	2	Fmoc 제거	실온, 5분 동안
III	1	구축 블록 35	$T1 = -30^{\circ}\text{C}$, $T2 = 0^{\circ}\text{C}$
	2	Fmoc 제거	실온, 5분 동안
IV	1	구축 블록 32	$T1 = -30^{\circ}\text{C}$, $T2 = -10^{\circ}\text{C}$
	2	Fmoc 제거	실온, 5분 동안

[0962]

[0963] 수지로부터 21%, MS ESI+-HRMS m/z $[M+Na]^+$ $C_{110}H_{117}NO_{27}Na$ 에 대한 이론값 1906.7711, 실험값 1906.7624.

[0964] 실시예 1-41: 5-아미노 펜타닐 β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실 우론산 (**22**)의 합성

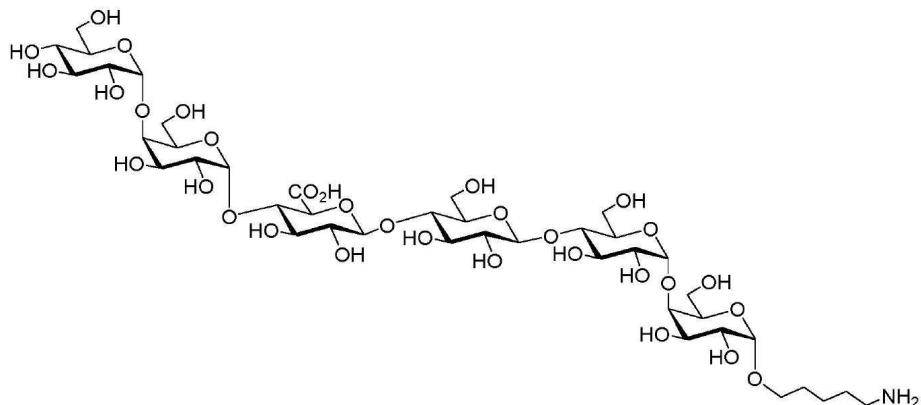


[0965]

[0966] 테트라사카라이드 **22a**를 일반 탈보호 절차에 적용시켜 테트라사카라이드 **22**을 수득하였다: 52% MS ESI+-HRMS m/z $[M+H]^+$ $C_{29}H_{52}NO_{22}$ 에 대한 이론값 766.2975, 실험값 766.2988.

[0967]

실시예 1-28 내지 1-34에서 기술된 절차에 따른 본 발명의 사카라이드의 추가의 실시예들:

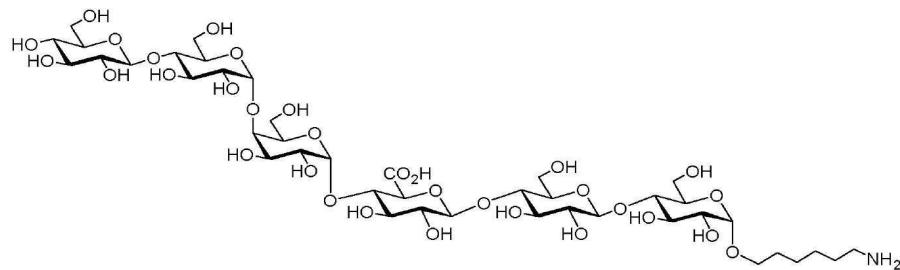


[0968]

MS ESI+-HRMS m/z $[M+H]^+$ $C_{41}H_{71}NO_{32}$ 에 대한 이론값: 1090.3959;

[0969]

5-아미노 펜타닐 α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실우론산-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노시드;

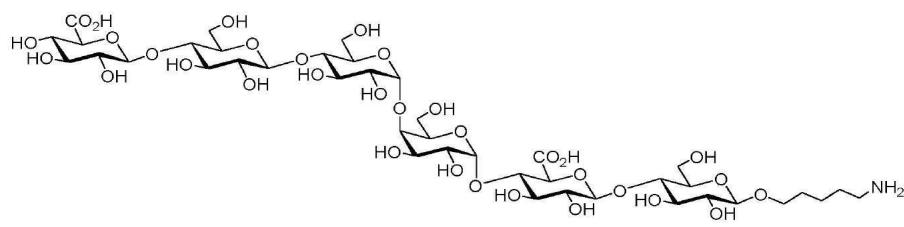


[0970]

MS ESI+-HRMS m/z $[M+H]^+$ $C_{42}H_{73}NO_{32}$ 에 대한 이론값: 1104.4116;

[0971]

5-아미노 펜타닐 갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실우론산-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노시드;

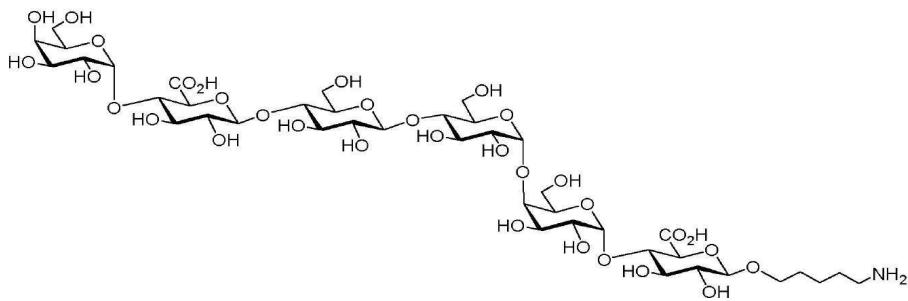


[0972]

MS ESI+-HRMS m/z $[M+H]^+$ $C_{41}H_{69}NO_{33}$ 에 대한 이론값: 1104.3752;

[0973]

5-아미노 펜타닐 β -D-글루코파라노실우론산-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실우론산-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노시드;



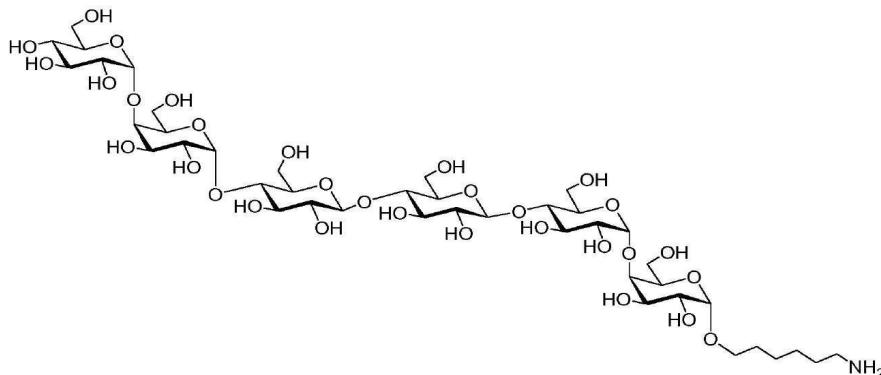
[0977]

66

MS ESI+-HRMS m/z $[M+H]^+$ C₄₁H₆₉NO₃₃에 대한 이론값: 1104.3752;

[0979]

5-아미노 펜타닐 α -D-갈락토피라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코피라노실우론산-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코피라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토피라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코피라노실우론산;



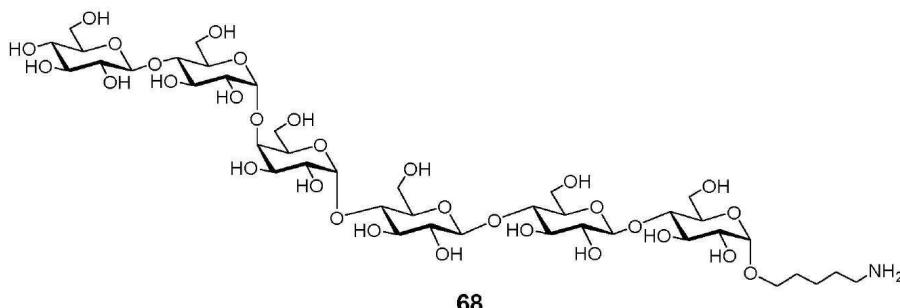
[0980]

67

MS ESI+-HRMS m/z [M+H]⁺ C₄₂H₇₅NO₃₁에 대한 이론값: 1090.4323;

[0982]

5-아미노 펜타닐 α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실우론산-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노시드;



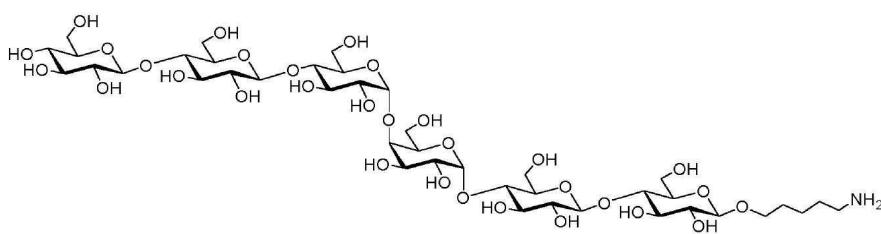
[0983]

68

MS ESI $^{+}$ -HRMS m/z [M $+\text{H}$] $^{+}$ C₄₁H₇₂NO₂₁O] $^{+}$ 대학 이론값: 1076.4167

[0985]

5-아미노 펜타닐 β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노식-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노식-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노식

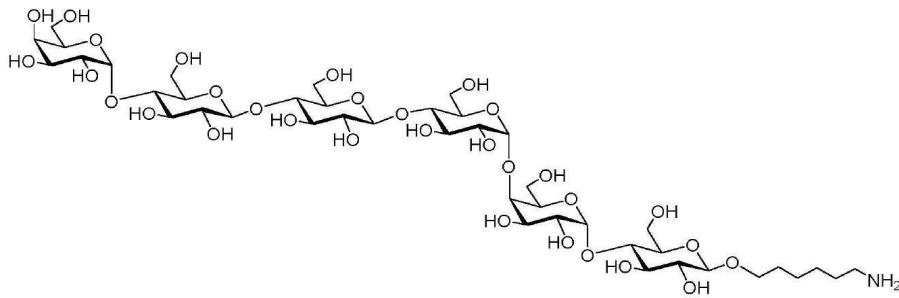


[0986]

69

[0987] MS ESI+-HRMS m/z $[M+H]^+$ $C_{41}H_{73}NO_{31}$ 에 대한 이론값: 1076.4167.

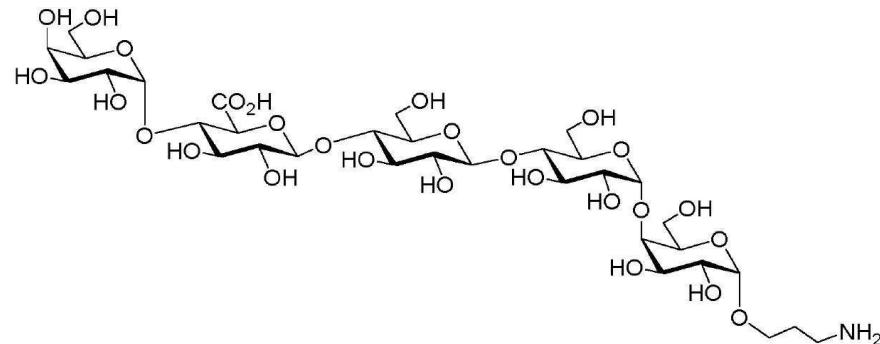
[0988] 5-아미노 펜타닐 β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노시드;



[0989]

[0990] MS ESI+-HRMS m/z $[M+H]^+$ $C_{42}H_{75}NO_{31}$ 에 대한 이론값: 1090.4323;

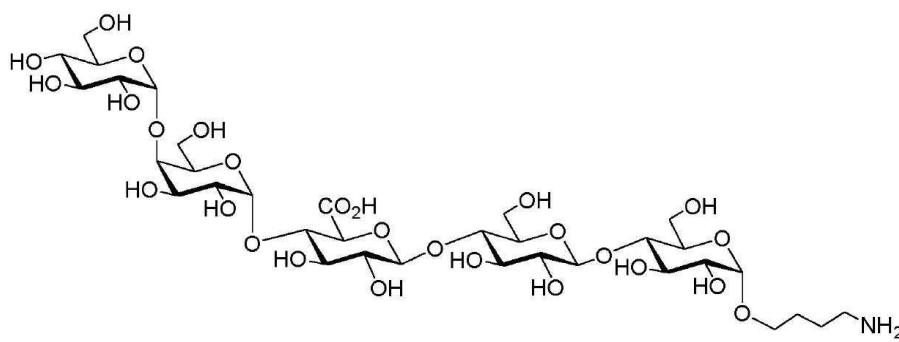
[0991] 5-아미노 펜타닐 α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노시드 (70);



[0992]

[0993] MS ESI+-HRMS m/z $[M+H]^+$ $C_{33}H_{57}NO_{27}$ 에 대한 이론값: 890.3118;

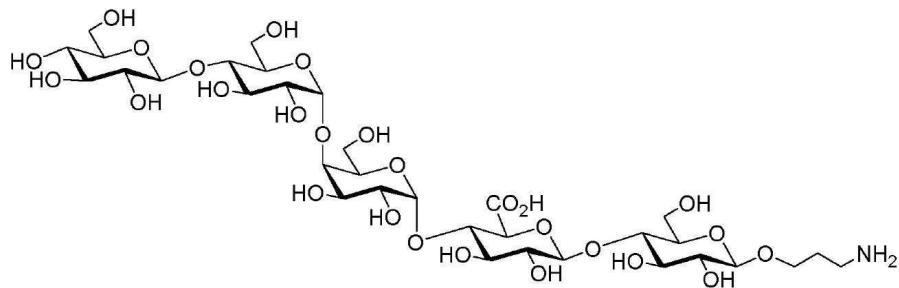
[0994] 3-아미노프로필 α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실우론산-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노시드;



[0995]

[0996] MS ESI+-HRMS m/z $[M+H]^+$ $C_{34}H_{59}NO_{27}$ 에 대한 이론값: 914.3274;

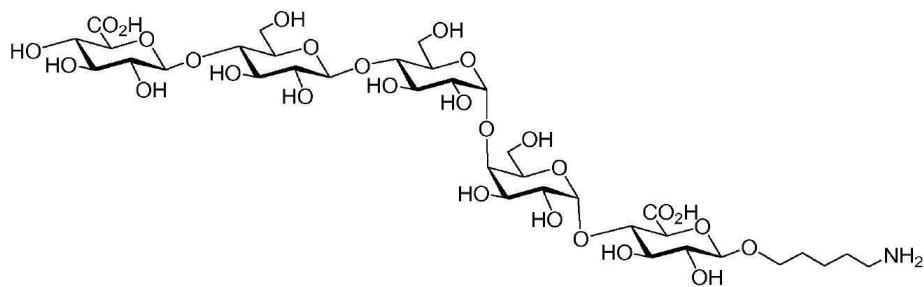
[0997] 5-아미노 펜타닐 α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실우론산-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노시드;



[0998]

[0999] MS ESI+-HRMS m/z $[M+H]^+$ $C_{33}H_{57}NO_{27}$ 에 대한 이론값: 890.3118;

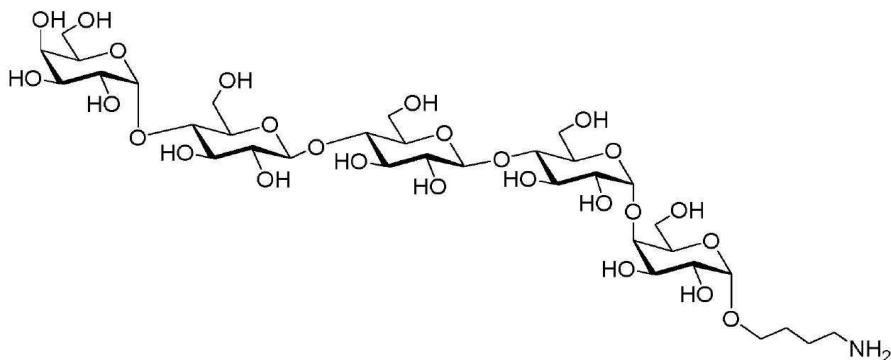
[1000]

3-아미노프로필 β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실우론산-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노시드;

[1001]

[1002] MS ESI+-HRMS m/z $[M+H]^+$ $C_{35}H_{59}NO_{28}$ 에 대한 이론값: 942.3224;

[1003]

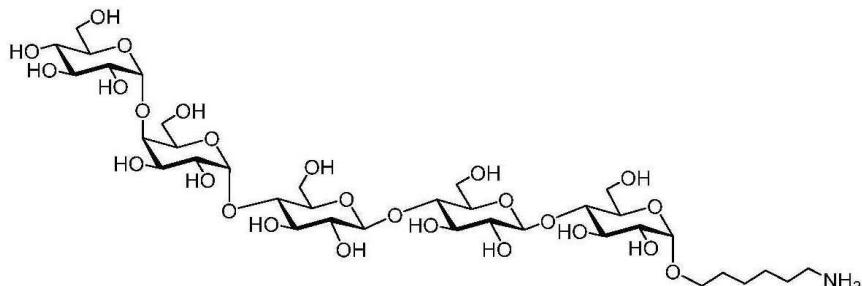
5-아미노 펜타닐 β -D-글루코파라노실우론산-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실우론산;

[1004]

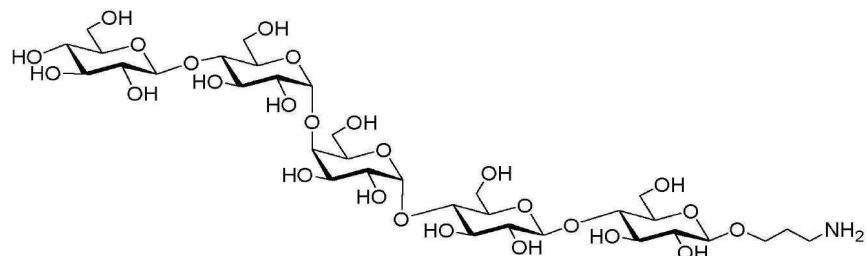
[1005] MS ESI+-HRMS m/z $[M+H]^+$ $C_{34}H_{61}NO_{26}$ 에 대한 이론값: 890.3482;

[1006]

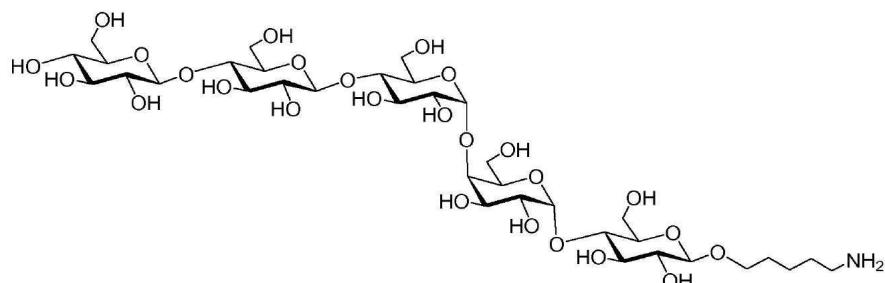
4-아미노부틸 α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노시드;



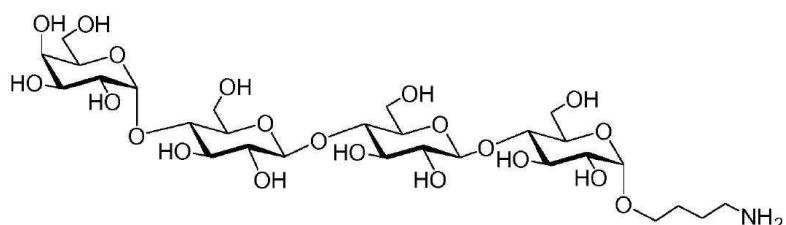
[1007]

[1008] MS ESI+-HRMS m/z $[M+H]^+$ $C_{36}H_{65}NO_{26}$ 에 대한 이론값: 928.3795;[1009] 6-아미노 헥사닐 α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노시드;

[1010]

[1011] MS ESI+-HRMS m/z $[M+H]^+$ $C_{33}H_{59}NO_{26}$ 에 대한 이론값: 886.3325;[1012] 3-아미노프로필 β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노시드;

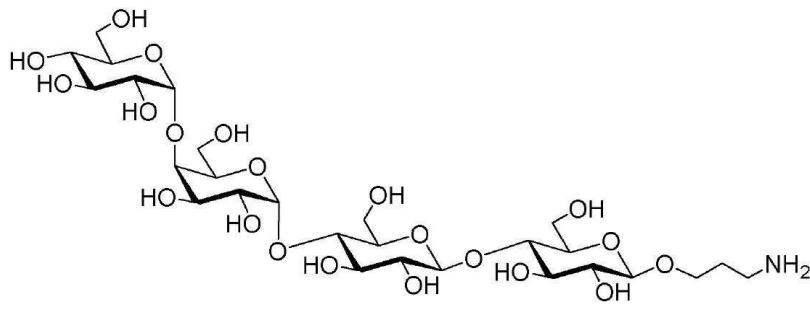
[1013]

[1014] MS ESI+-HRMS m/z $[M+H]^+$ $C_{35}H_{63}NO_{26}$ 에 대한 이론값: 914.3638;[1015] 5-아미노 펜타닐 β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노시드;

[1016]

[1017] MS ESI+-HRMS m/z $[M+H]^+$ $C_{28}H_{51}NO_{21}$ 에 대한 이론값: 738.2954;

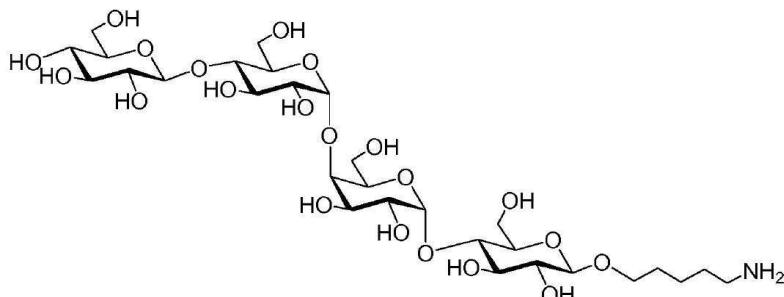
[1018] 4-아미노부틸 α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노시드;



[1019]

[1020] MS ESI+-HRMS m/z [M+H]⁺ C₂₇H₄₉NO₂₁에 대한 이론값: 724.2797;

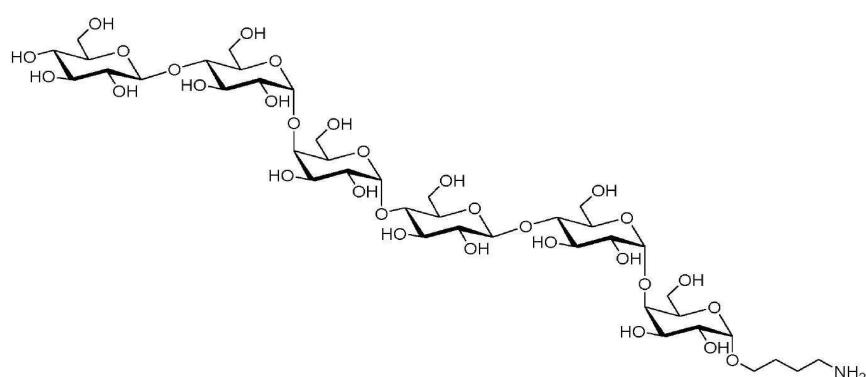
[1021] 3-아미노프로필 α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노시드;



[1022]

[1023] MS ESI+-HRMS m/z [M+H]⁺ C₂₉H₅₃NO₂₁에 대한 이론값: 752.3110;

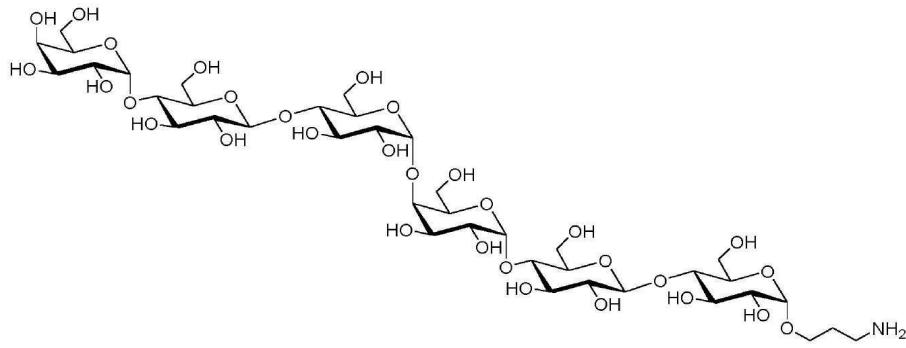
[1024] 6-아미노 헥사닐 β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노시드;



[1025]

[1026] MS ESI+-HRMS m/z [M+H]⁺ C₄₀H₇₁NO₃₁에 대한 이론값: 1062.4010;

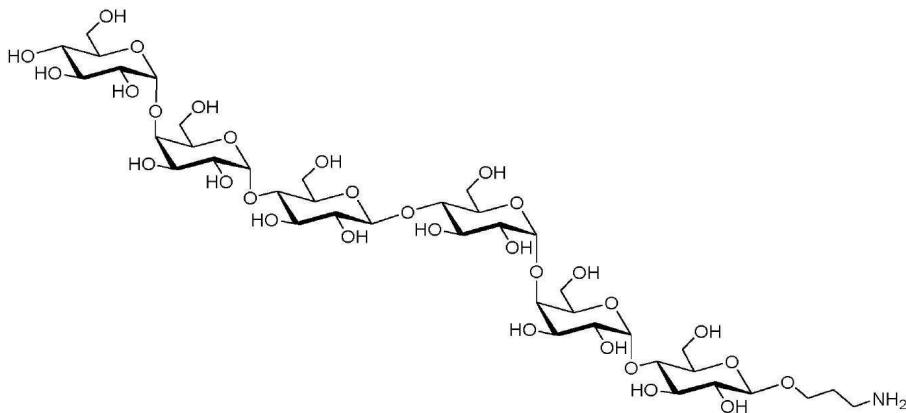
[1027] 4-아미노 부틸 β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노시드;



[1028]

[1029] MS ESI+-HRMS m/z $[M+H]^+$ $C_{39}H_{69}NO_{31}$ 에 대한 이론값: 1048.3854;

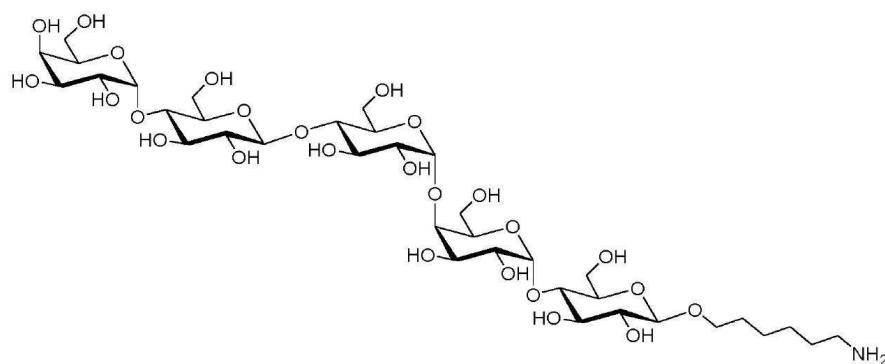
[1030]

3-아미노프로필 α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노시드;

[1031]

[1032] MS ESI+-HRMS m/z $[M+H]^+$ $C_{39}H_{69}NO_{31}$ 에 대한 이론값: 1048.3854;

[1033]

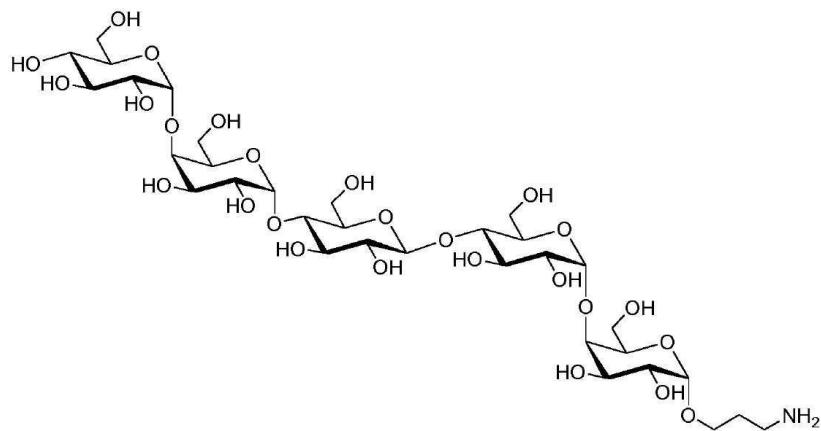
3-아미노프로필 α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노시드;

[1034]

[1035] MS ESI+-HRMS m/z $[M+H]^+$ $C_{36}H_{65}NO_{26}$ 에 대한 이론값: 928.3795;

[1036]

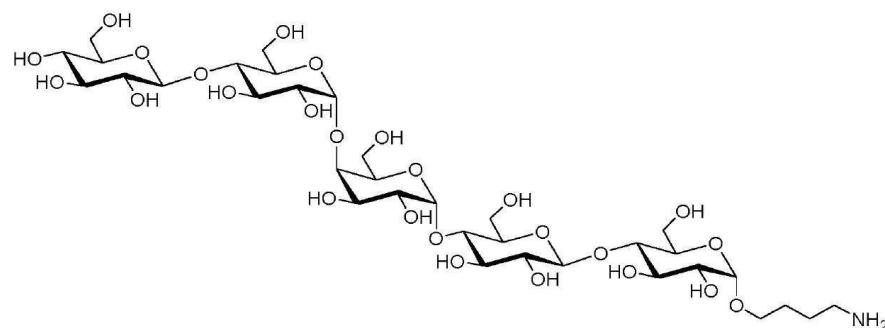
6-아미노 헥사닐 α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노시드;



[1037]

[1038] MS ESI+-HRMS m/z $[M+H]^+$ $C_{33}H_{59}NO_{26}$ 에 대한 이론값: 886.3325;

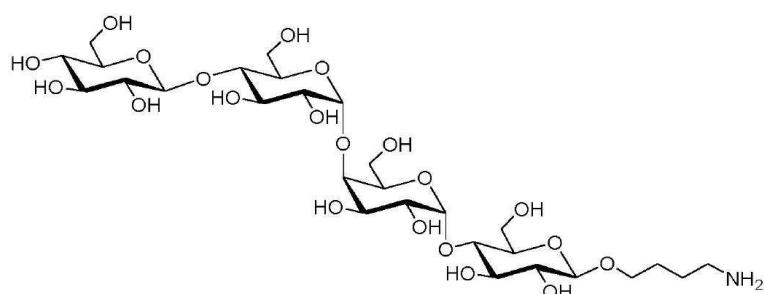
[1039]

3-아미노프로필 α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노시드;

[1040]

[1041] MS ESI+-HRMS m/z $[M+H]^+$ $C_{34}H_{61}NO_{26}$ 에 대한 이론값: 900.3482;

[1042]

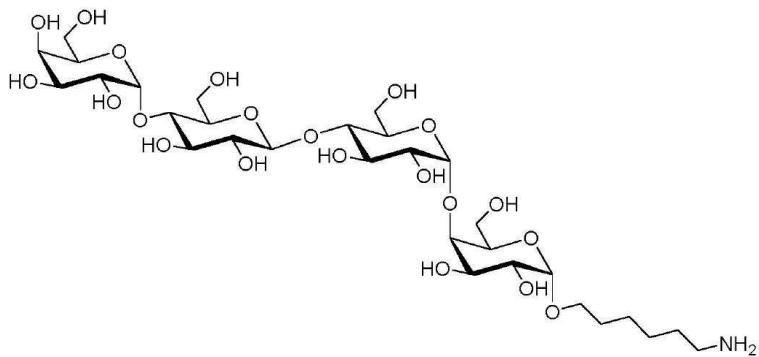
4-아미노부틸 β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노시드;

[1043]

[1044] MS ESI+-HRMS m/z $[M+H]^+$ $C_{28}H_{51}NO_{21}$ 에 대한 이론값: 738.2954;

[1045]

4-아미노부틸 β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노시드;



[1046]

[1047] MS ESI+-HRMS m/z $[M+H]^+$ $C_{30}H_{55}NO_{21}$ 에 대한 이론값: 766.3267;[1048] 6-아미노헥사닐 α -D-갈락토파라노실-(1 \rightarrow 4)- β -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노실-(1 \rightarrow 4)- α -D-글루코파라노시드.

[1049] 생물학적 실험

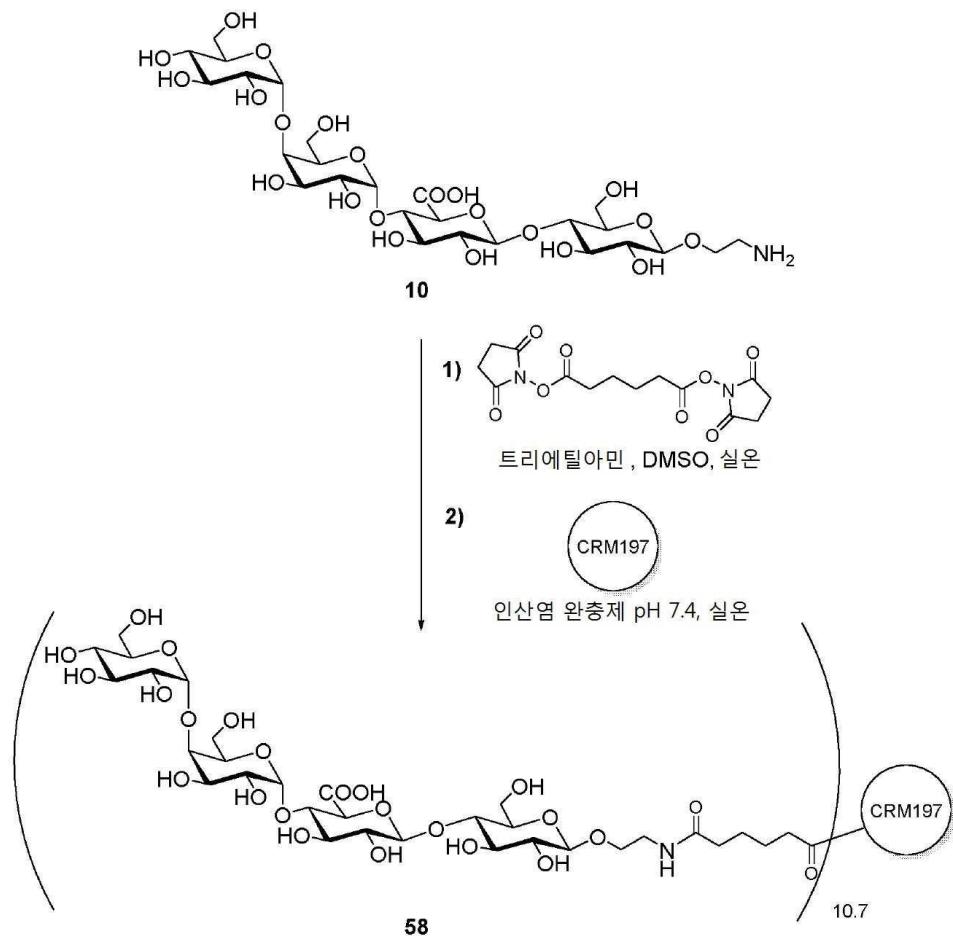
[1050] 실시예 2-1: CodeLink NHS 슬라이드를 사용하는 마이크로어레이의 합성

[1051] 표시된 글리칸을 자동화 압전 배열 로봇(automatic piezoelectric arraying robot: Scienion, Berlin, Germany)을 사용하여 CodeLink NHS 슬라이드 상으로 점적하고 24 시간 동안 (PBS 중의 1% 중량/용적) 실온에서 배양시켰다. 슬라이드를 차단 완충제 (50 mM NaPi pH > 9 중의 100 mM 에탄올아민) 중에서 30 분 동안 실온에서 배양시키고, 각 회 물 및 에탄올로 3회 세척하고, 건조시켰다. 계속해서 슬라이드를 인산염 완충 염수 중에서 1% (중량/용적) 소 혈청 알부민으로 1 시간 동안 37 °C에서 차단하고, 물로 3회 세척하고 건조시켰다.

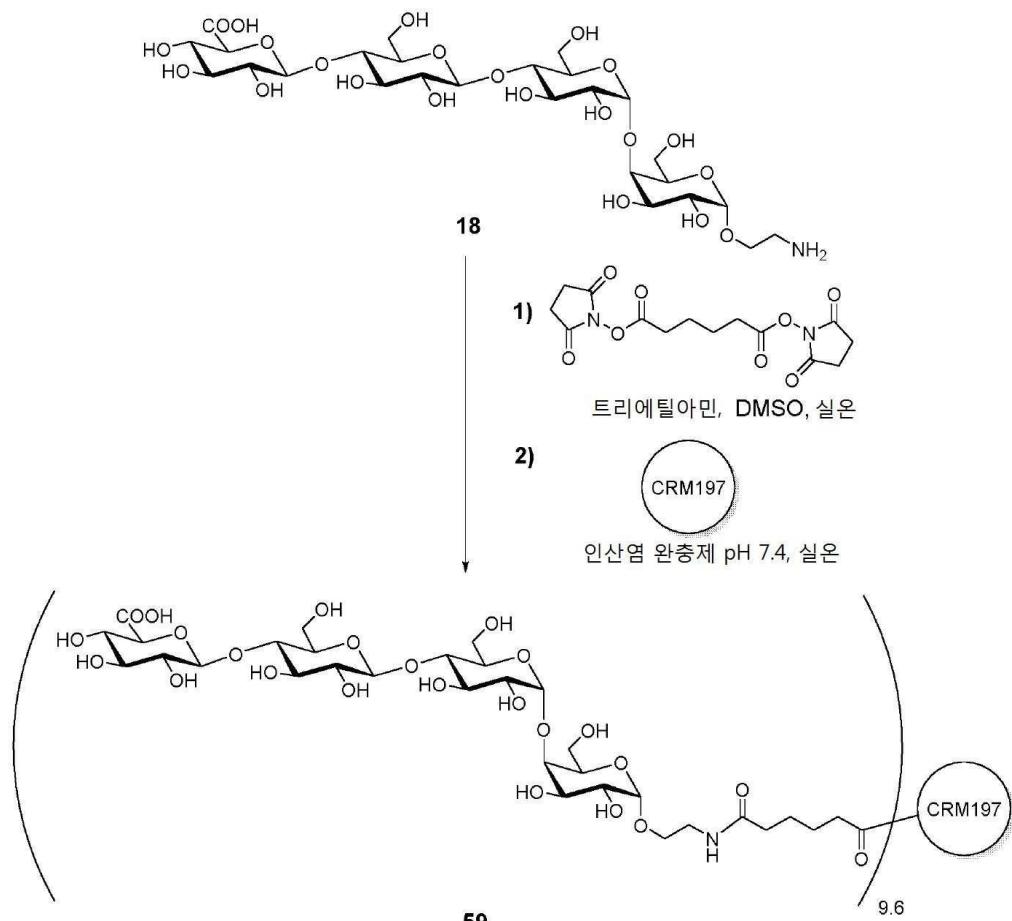
[1052] 실시예 2-2: 실시예 2.1에서 기술된 절차에 따라 합성된 마이크로어레이를 사용한 결합 실험

[1053] 일반식 (I)의 사카라이드로 코팅된 마이크로어레이 슬라이드를 래빗 항-SP8 형태 혈청 또는 인간 폐렴구균 기준 혈청 007sp (National Institute for Biological Standards and Control로부터 구입한 Pneumovax® 백신으로 면역화된 287개체의 인간의 수집된 혈청)과 함께 표시된 희석으로 천연 SP8 폴리사카라이드의 존재 또는 부재 중에서 배양시키고, 형광 표지된 항-래빗 (고트 항-래빗 IgG-FITC, abcam ab6717) 또는 항-인간 이차 항체 (Alexa Fluor 488 고트 항-인간 IgM, Invitrogen A21215; Alexa Fluor 647 고트 항-인간 IgG, Invitrogen A21445)를 사용하는 것에 의하여 결합 실험을 수행하였다.

[1054]

실시예 2-3: 디숙신이미딜 아디페이트를 사용하는 CRM₁₉₇에의 합성 테트라사카라이드 10 및 18의 콘쥬게이션:

[1055]



[1056]

[1057] 무수 DMSO ($150 \mu\text{l}$) 중의 디숙신이미딜 아디페이트 (10 mg , $29 \mu\text{mol}$) 및 트리에틸아민 ($10 \mu\text{l}$, $72 \mu\text{mol}$)의 교반된 용액에 실온에서 무수 DMSO ($150 \mu\text{l}$) 중의 테트라사카라이드 **10** 또는 **18** (대략 2 mg , $2.8 \mu\text{mol}$)의 혼탁액을 적가하였다. 반응 혼합물을 2 시간 동안 그 온도에서 아르곤 분위기 하에서 교반시키고 100 mM 인산나트륨 완충제 pH 7.4 (NaPi, $200 \mu\text{l}$)로 처리하였다. 혼합물을 클로로포름 (10 ml)으로 추출하고 원심분리 (2 분, 1800 g , 실온)에 의하여 상을 분리시켰다. 유기상을 폐기하고 추출 단계를 2회 반복하였다. 수성층을 1.5 ml 반응 시험관 중에서 원심분리 (1 분, 14500 g , 실온)에 의하여 청정화시키고 (clarified) NaPi (1 ml) 중의 CRM₁₉₇ (1 mg , 17.3 nmol)의 교반 중인 용액에 첨가하였다. 혼합물을 16 시간 동안 실온에서 교반시키고 원심여과기 (centrifugal filter ; 10 kDa MWCO, Millipore, Darmstadt, Germany)를 사용하여 투석하였다. 콘쥬게이트를 MALDI-MS로 특정하였다:

[1058]

콘쥬게이트 **58**: 약 67000 m/z (평균 10.7 테트라사카라이드 분자의 내포)

[1059]

콘쥬게이트 **59**: 약 66000 m/z (평균 9.6 테트라사카라이드 분자의 내포)

[1060]

실시예 2-4: 면역화 절차:

[1061]

프로인드 보조제 (Sigma-Aldrich, St. Louis, US), 명반 (Alhydrogel, Brenntag)과 함께 또는 보조제 없이 $100 \mu\text{l}$ 의 총 용적으로 제형화된 실시예 **2.3** ($4 \mu\text{g}$ 합성 글리칸에 대응)에서 수득된 CRM-Sp8 콘쥬게이트로 0, 14 및 28일차에서 마우스 (6 내지 8 주령 암컷 Balb/c 마우스, Charles River)를 피하(s. c.) 면역화시켰다. 글리칸 어레이로 면역 반응을 모니터링하였다. 콘쥬게이트 **59**는 프로인드 보조제와 함께 제형화된 상기 콘쥬게이트를 수령하는 마우스 #1160에서 올리고사카라이드-특이적 면역 반응을 유발하였다. 중요하게도, 천연 Sp8 폴리사카라이드에 대한 마우스 #1160으로부터의 면역 혈청에서 활발한 면역 반응이 관찰되었다 (도 5를 참조하시오).

[1062]

실시예 2-5: 모노클로날 항체의 일반:

[1063]

BM-Condimed H1 (Roche, Penzberg, Germany)를 제조업자의 지시에 따라 사용하여 모노클로날 항체를 제조하였다. 융합에 후속하여, 제한된 회석 및 2가지 후속하는 서브클로닝(subcloning)의 라운드를 사용하여 단일 클론을 생성하였다. 글리칸 어레이 및 ELISA에 의하여 항체 생산을 모니터링하였다. 테트라사카라이드 **19** 및 Sp8 천

연 폴리사카라이드를 인식하는 mAbs를 생산하는 33 클론을 종국적으로 단리시켰다.

[1064] 클론 1H8 및 1F1을 무-혈청 배지 중에서 확대시켰다. Protein G Antibody Purification 키트 (Pro-Chem, Littleton, USA)를 사용하여 세포 배양물 상청액으로부터 MAb 1H8를 정제하였다 (도 6을 참조하시오). 완충제로서 PBS와 함께 HiLoad 16/60 Superdex 컬럼 (GE Healthcare, Little Chalfont, UK)을 사용하는 젤여과 크로마토그래피로 MAb 1F1을 정제하였다.

[1065] 실시예 2-6: 효소-연결 면역흡수 분석 (ELISA):

[1066] 고-결합 폴리스티렌 96-웰 플레이트 (high-binding polystyrene 96-well plates ; Corning, Corning, US)를 사용하여 ELISA를 수행하였다. PBS 중의 $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 20 시간 동안 4°C 에서 천연 Sp8 폴리사카라이드 (SSI Diagnostica, Kopenhagen)를 사용하여 플레이트를 코팅시켰다. PBS 중의 10% (용적/용적) 우태 혈청 (fetal calve serum)으로 1 시간 동안 37°C 에서 플레이트를 차단시키고 0.1% (용적/용적) Tween 20 (PBS-T)을 포함하는 PBS로 1회 세척하였다. 항-Sp8 mAbs 세포 배양물 상청액 ($50 \mu\text{L}$)이 적용되었다. 플레이트를 1 시간 동안 37°C 에서 배양시키고, PBS-T로 3회 세척하고 고추냉이 과산화효소 (HRP: horseradish peroxidase)-표지 이차 항체 (고트 항-마우스 IgG HRP 콘쥬게이트, dianova, Hamburg, Germany)로 처리하였다. 플레이트를 PBS-T로 3회 세척하고 HRP 활성을 제조업자의 지시에 따라 TMB 서브스트레이트 (BD Biosciences, San Jose, US)로 측정하였다. ELISA로 평가된 바와 같이, #1160으로부터 생성된 모노클로날 항체가 합성 사카라이드 19 및 천연 Sp8 폴리사카라이드 둘 다를 특이적으로 인식하였다.

[1067] 실시예 2-7: 표면 플라스몬 공명 (Surface Plasmon Resonance):

[1068] Biacore T100 instrument (GE Healthcare) 상에서 표면 플라스몬 공명이 수행되었다. 면역화를 위한 Mouse Antibody Capture 키트 및 Amine Coupling 키트 (GE Healthcare)를 사용하여 분석이 수행되었다. 포획 항체의 약 10000 반응 단위 (RU: response unit)가 부동화되었다. 상용의 마우스 IgG (cat. no. 026502, Invitrogen, Carlsbad, US)가 대조 세포 중에서 더미 (dummy)로 부동화되었다 (약 10000 RU). 매 분리 (run)에 앞서 $50 \mu\text{g}/\text{mL}$ 의 mAb 농도를 사용하여 mAb 1H8 약 800 RU를 포획하였다. 분리용 완충제로서 PBS 그리고 각각 60 초의 결합 (association) 및 120 초의 해리 (dissociation) 주기로 $30 \mu\text{L}/\text{분}$ 의 유속을 사용하여 분리를 수행하였다. PBS 중에서 폴리사카라이드를 $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 그리고 사카라이드 18을 $20 \mu\text{M}$ 의 농도로 사용하였다. 모노클로날 항체 mAb 1H8은 합성 사카라이드 18 및 천연 Sp8 폴리사카라이드 둘 다를 특이적으로 인식하였다 (도 7을 참조하시오).

[1069] 실시예 2-8: UV-비활성화 스트렙토코커스 뉴모니에의 면역형광:

[1070] 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8 (ATCC 6308) 또는 혈청형 1 (ATCC 6301) (약 $4 \times 10^8 \text{ cfu}/\text{mL}$)을 PBS 중에서 실온에서 254 nm 로 10 분 동안의 조사에 의하여 비활성화시켰다. 원심분리에 의하여 세포를 수확하고, PBS로 1회 세척하고 0.5% (중량/용적) 효모 추출물 및 20% (용적/용적) 글리세롤을 포함하는 Todd Hewitt Broth 중에서 동결시켰다. 면역형광을 위하여, 박테리아 ($8 \times 10^8 \text{ cfu ST8}$ 또는 $4 \times 10^8 \text{ cfu ST1}$)를 해동하고, 원심분리 (16800 g, 15 분, 실온)에 의하여 수확하고 완충제 A (50 mM NaHCO_3 , 100 mM NaCl , pH 7.5)로 1회 세척하였다. 세포를 완충제 A (1 mL) 중에 재현탁시키고 $0.1 \text{ mg}/\text{mL}$ 의 농도로 플루오레세인 이소티오시아네이트 (fluorescein isothiocyanate ; FITC, Sigma-Aldrich) 용액 (DMSO 중의 $10 \text{ mg}/\text{mL}$)으로 처리하였다. 박테리아를 어둠 속에서 1 시간 동안 37°C 에서 표지시키고 (labeled), 원심분리에 의하여 수확하고 PBS (1 mL) 중의 0.25% (중량/용적) BSA로 2회 세척하였다. LSM 700 공초점 레이저 스캐닝 현미경 (confocal laser scanning microscope ; Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena, Germany)이 장착된 Axio Imager.M2 시스템을 사용하는 형광 현미경검사로 표지화를 모니터링 하였다. 세포를 PBS (ST8에 대해서는 1 mL , ST1에 대해서는 0.5 mL) 중의 1% (w/v) BSA 중에 혼탁시키고 혼탁액을 2개의 분획으로 분배시켰다. $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ 의 최종 mAb 농도로 동형 대조로서 페스트균 (*Yersinia pestis*) 리포폴리사카라이드 코어 트리사카라이드에 대한 mAb 1H8 또는 mAb 1E12 (IgG1)로 혼탁액을 처리하였다. 박테리아를 어둠 속에서 16 시간 동안 4°C 에서 교반 하에서 배양시키고 PBS (0.5 mL) 중의 1% (중량/용적) BSA로 세척하였다. 세포를 고트 항-마우스 IgG-Alexa635 콘쥬게이트 (PBS 중의 1% (w/v) BSA $200 \mu\text{L}$ 중에의 1:100 회석, Invitrogen)의 용액 중에 혼탁시키고, 어둠 속에서 1.5 시간 동안 실온에서 배양시키고 PBS (0.5 mL) 중의 1% (중량/용적) BSA 및 PBS (0.5 mL)로 세척하였다. 형광표지된 박테리아를 형광 현미경으로 가시화시키고 영상을 Zen 2011 소프트웨어 (Carl Zeiss Microscopy GmbH)를 사용하여 처리하였다. 도 8에 나타난 바와 같이, 콘쥬게이트 59로의 면역화가 천연 SP-8 폴리사카라이드 및 ST8 박테리아를 인식하는 항체의 형성을 유도한다.

[1071] 실시예 2-9: 유세포 분석에 의한 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8에의 mAbs 1H8 및 1F1의 결합의 평가

[1072] 앞서 기술된 바와 같이 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8 (ATCC 6308), 혈청형 1 (ATCC 6301) 또는 혈청형 3 (PN36, NCTC7978)을 UV-비활성화시키고, FITC-표지시키고 형광 이차 항체 (항-마우스 IgG-Alexa635 콘쥬게이트 또는 항-마우스 IgM-Alexa680 콘쥬게이트, Invitrogen)로 처리하였다 (실시예 2.8을 참조하시오). FACSCanto II 유세포 분석기 (BD Pharmingen, Heidelberg, Germany)을 사용하여 유세포 분석을 수행하고 FlowJo 소프트웨어 (Tree Star Inc., Ashland, OR, USA)를 사용하여 분석하였다. 두 모노클로날 항체 1H8 및 1F1가 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8에 결합하나, 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 1 또는 3에는 결합하지 않는다 (도 9를 참조하시오). 항체 동형 대조 또는 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 1 또는 3에의 결합이 관측될 수 없기 때문에 모노클로날 항체와 ST8 폐렴구균 간의 상호작용은 특이적이다.

[1073] 실시예 2-10: 옵소닌식세포작용 사멸 분석

[1074] Romero-Steiner et al., *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 1997, 4에서 기술된 바와 같이 옵소닌식세포작용 사멸 분석이 채용되었다. 요약하면, 보고된 바와 같이 (Romero-Steiner et al., 1997) HL-60 세포가 1 주 동안 *N,N*-디메틸포름아미드로 분화되고, OPKA 완충제 (0.1% (중량/용적) 젤라틴을 수반하는 Hanks' buffer)로 2회 세척하고 사용 직전에 동일한 완충제 중에 10^7 cells/ml의 밀도로 희석시켰다. 박테리아를 성장 배지 (Todd-Hewitt broth + 0.5% (중량/용적) 효모 추출물) 중에서 37 °C/5% CO₂에서 지수 증식기(log phase) (OD 0.2 내지 0.3)까지 성장시키고, 동결 배지 (15% (용적/용적) 글리세롤을 수반하는 성장 배지) 중에 대략 10⁶ cells/ml의 밀도로 희석시키고 0.5 ml 분획 중에서 -80 °C에서 동결시켰다. 박테리아를 OPKA 완충제로 희석시키고 96 웰-플레이트 중에 분획시켰다 (각 20 μ l 중의 1000 cells). 박테리아 혼탁액을 적절한 항체 또는 항혈청 (1 : 4) 희석물로 처리하고 15 분 동안 37 °C에서 배양시켰다. 보충원(complement source ; 베이비 래빗 보충물, CedarLane, 10 μ l) 및 분화된 HL-60 cell suspension (40 μ l, 식세포/박테리아 비율 400 : 1)을 첨가하고 혼탁액을 45 분 동안 37 °C에서 교반 (220 rpm)과 함께 배양시켰다. 옵소닌식세포작용이 3중으로 수행되었다. 각 웰의 내용물의 10%를 Columbia Agar plate에 플레이팅하고 37 °C/5% CO₂에서 10 내지 12 시간 배양 후에 콜로니를 계수하였다. 대조 웰은 항체 또는 보충원이 결여되었다.

[1075] 합성 스트렙토코커스 뉴모니에 혈청형 8 테트라사카라이드 18에 대하여 성장시켰으나, 동형 대조 mAb가 아닌 모노클로날 항체 1H8가 시험된 모든 농도 (각각 래빗 스트렙토코커스 뉴모니에 타입 8 (1 : 4 희석) 및 인간 항혈청 007sp (1 : 4 희석))에서 보충물 및 대조 혈청으로서 분화된 HL-60 세포의 존재 중에서 유사한 옵소닌식세포작용 사멸 능력을 나타내었다 (도 10을 참조하시오).

[1076] 실시예 2-11: 모노클로날 항체 mAbs 1H8 및 1F1을 사용하는 글리칸 어레이 분석.

[1077] 실시예 2.1에서 나타낸 바와 같이 합성된 마이크로어레이 슬라이드를 SP8 협막 폴리사카라이드의 존재 또는 부재 중에서 그리고 화합물 19, 49, 90, 60, 62, 55 및 57을 포함하여 배양하는 것에 의하여 결합 실험을 수행하였다.

[1078] 도 11에 나타난 바와 같이, 더 작은 구조 49 및 90이 아닌, 트리사카라이드 62, 테트라사카라이드 19, 테트라사카라이드 60, 펜타사카라이드 55 및 헥사사카라이드 57이 mAbs 1H8 및 1F1에 의해 유사한 세기로 인식되었다.

[1079] 도 11에 나타난 바와 같이, 펜타사카라이드 55 및 헥사사카라이드 57에의 mAbs 1H8 및 1F1의 결합은 천연 SP8 폴리사카라이드로의 억제에 의하여 폐지되어 이러한 사카라이드가 천연 폴리사카라이드와 중첩하는 에피토프를 정착시키는 것을 확인하고 있다.

[1080] 실시예 2-12: 마이크로어레이에 의한 본 발명의 사카라이드에의 mAb 28H11의 결합의 평가

[1081] 서로 다른 희석에서 10 μ g/ml 스트렙토코커스 뉴모니에 타입 8 CPS를 첨가하거나 첨가함이 없이 천연 Sp8 폴리사카라이드 (Yano and Pirofski (2011), *Clin. Vaccine Immunol.*, 18 (1), 59-66)에 대하여 성장시킨 뮤린 모노클로날 항체 28H11 (IgM)를 결합을 위하여 사용한 것을 제외하고는 상기 나타낸 바와 같이 (실시예 2-1 및 2-2) 글리칸 어레이를 제조하였다. 동키 항-마우스 IgM Alexa Fluor® 594 콘쥬게이트 (dianova, Hamburg, Germany)를 검출을 위한 이차 항체로 사용하였다.

[1082] 천연 스트렙토코커스 뉴모니에 타입 8 CPS에 대하여 성장시킨 뮤린 IgM인 MAb 28H11은 잘-특정되었고 마우스를 여러 설정에서 생 스트렙토코커스 뉴모니에 타입 8 폐렴구균으로부터 보호한다 (Yano and Pirofski (2011), *Clin. Vaccine Immunol.*, 18 (1), 59-66). 10 μ g/ml 까지의 천연 스트렙토코커스 뉴모니에 타입 8 CPS에 의한

결합의 소모에 의하여 나타난 바와 같이, 글리칸 마이크로어레이 분석은 스트렙토코커스 뉴모니에 타입 8에 대하여 특이적인 사카라이드 **19**와 mAb 28H11 간의 활발한 상호작용을 나타내었다 (도 12를 참조하시오).

[1083] 실시예 2-13: 비스(4-나트로페닐)아디페이트를 사용하는 CRM₁₉₇에의 올리고사카라이드의 콘쥬게이션:

[1084] 무수 DMSO 및 무수 피리딘의 1 : 3 (용적/용적) 혼합물 (100 내지 200 μl) 중의 올리고사카라이드 (하기 특정된 양; 전형적으로 0.2 μmol)의 교반된 용액에 비스(4-나트로페닐)아디페이트 (당의 양에 대하여 12 당량; 전형적으로 2.4 μmol) 및 트리에틸아민 (10 μl)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 2 시간 동안 실온에서 아르곤 분위기 하에서 교반시켰다. 혼합물을 급속-동결(shock-frozen) 및 동결건조시켰다. 잔사를 클로로포름 (4x0.5 mL) 및 디클로로메탄 (4x0.5 mL)으로 분말화하고 용매로서 DMSO를 사용하여 새로운 반응관(reaction tube)으로 옮기고 다시 동결건조시켰다. CRM₁₉₇ (3 mg, 52 nmol)을 원심여과기 (10 kDa MWCO, Millipore, Darmstadt, Germany)를 사용하여 0.1 M 인산나트륨 완충제 pH 8.0에 대하여 2회 투석시키고, 대략 300 μl 로 농축시키고 활성화된 올리고사카라이드에 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 16 시간 동안 교반시키고 물에 대하여 4회 투석 (상기 참조)시켰다. 특정화를 위하여 분획을 취하고 혼합물을 인산염-완충 염수에 대하여 3회 투석시켰다. 글리코콘쥬게이트가 MALDI-TOF MS (도 13을 참조하시오), SDS-PAGE 및 Western Blot으로 특정되었다.

[1085] 사용된 올리고사카라이드의 정확한 양:

[1086] 테트라사카라이드 **18**: 2.6 μmol (1.9 mg)

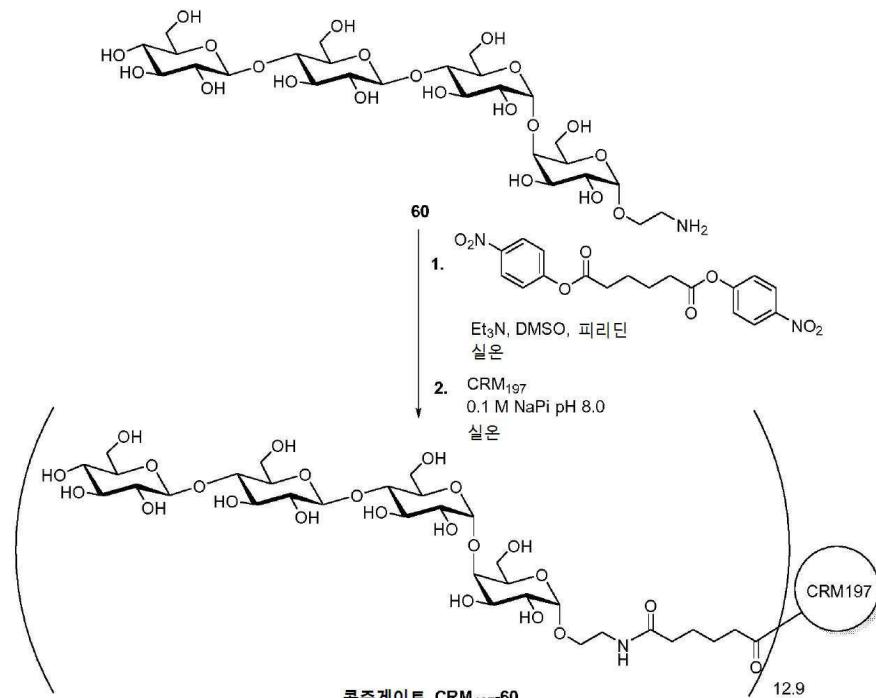
[1087] 테트라사카라이드 **60**: 2.1 μmol (1.5 mg)

[1088] 헥사사카라이드 **57**: 1.9 μmol (2.0 mg)

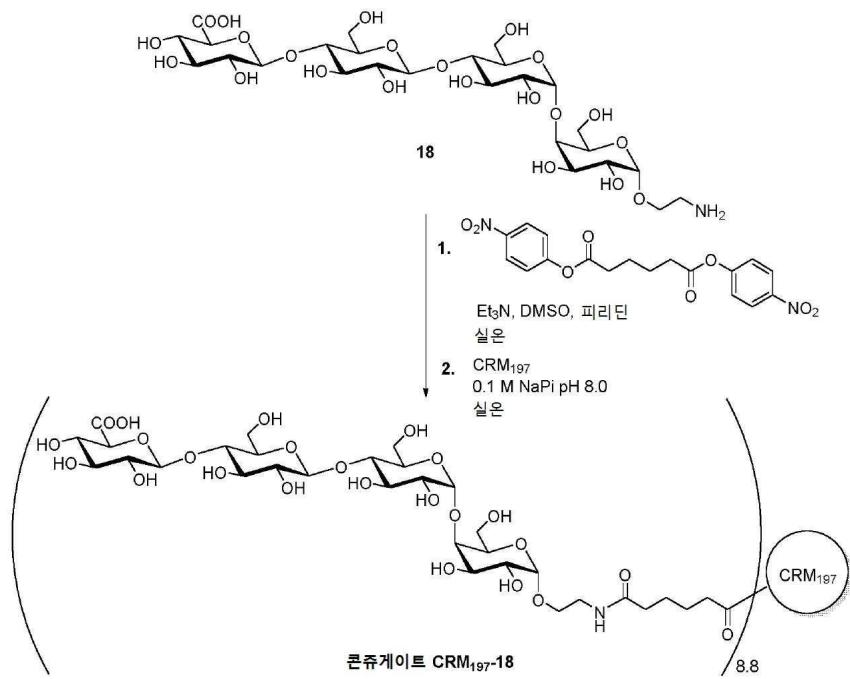
[1089] 콘쥬게이트 CRM₁₉₇-**18**: 약 65503 m/z (평균 8.8 테트라사카라이드 분자의 내포);

[1090] 콘쥬게이트 CRM₁₉₇-**60**: 약 68281 m/z (평균 12.9 테트라사카라이드 분자의 내포);

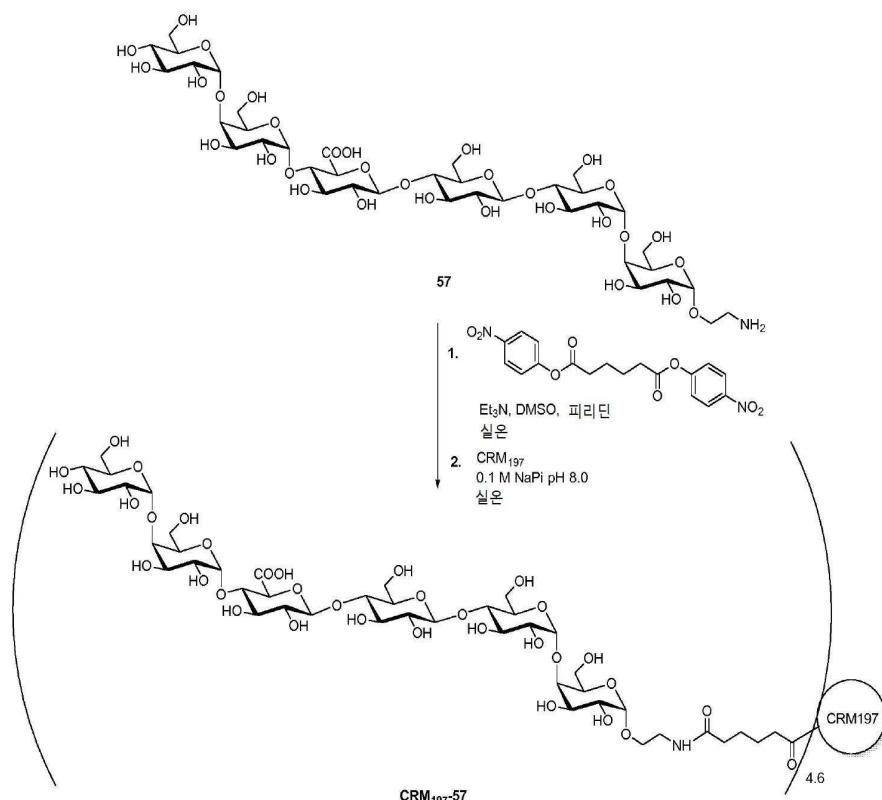
[1091] 콘쥬게이트 CRM₁₉₇-**57**: 약 63535 m/z (평균 4.6 헥사사카라이드 분자의 내포).



[1092]



[1093]



[1094]

실시예 2-14: 래빗에서의 실시예 2-13의 콘쥬게이트에 대한 면역 반응의 평가.

[1095]

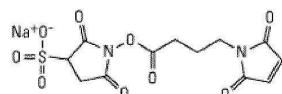
래빗 (그룹 당 n = 3)을 피하로 복수의 지점들에서 글리코콘쥬게이트 CRM197-18, CRM197-60 또는 CRM197-57 (투여량 당 10 μ g 글리칸) 또는 CRM₁₉₇ (100 μ g)으로 0일차 및 14일차에서 면역화시켰다. 혈청을 0일차, 14일차 및 21일차에서 수집하였다. 면역화 시험의 결과를 도 15에 요약하였다.

[1097]

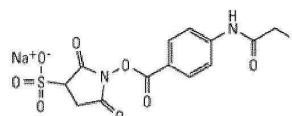
콘쥬게이트로 면역화된 모든 래빗이 스트렙토코커스 뉴모니에 타입 8 CPS-연관 올리고사카라이드 및 스트렙토코커스 뉴모니에 타입 8 CPS에 대하여 뚜렷한 면역 반응을 나타내고 있다. 따라서, 모든 콘쥬게이트가 래빗에서 스트렙토코커스 뉴모니에 박테리아에 대하여 면역력을 유발한다.

도면

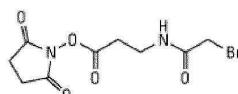
도면1



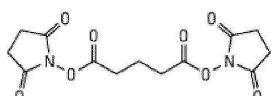
Sulfo-GMBS
N-(χ -말레이미도부티릴옥시)
설포숙신이미드 에스테르
분자량 382.28
스페이서 암암 7.3 Å



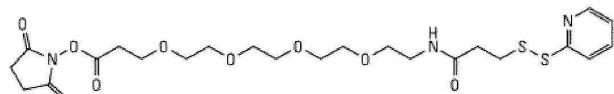
Sulfo-SIAB
설포숙신아미딜(4-이오도아세틸)
아미노벤조에이트
분자량 504.19
스페이서 암암 10.6 Å



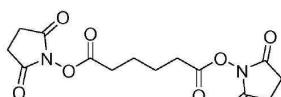
SBAP
숙신이미딜-3-(브로모아세트아미도)
프로피오네이트
분자량307.10
스페이서 암암 6.2 Å



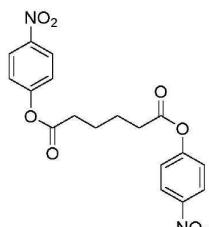
DSG
디속신이미딜글루타레이트
분자량 326.26
수페이너이온 7.7.8



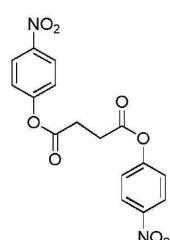
PEG4-SPDP
2-피리딜디티올-테트라돌사테트라데칸-N-하이드록시숙신이미드
분자량 559.17
스페이서 암모 25.7 Å



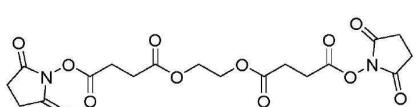
DSA



비소-(4-나트로페닐)아디페이트

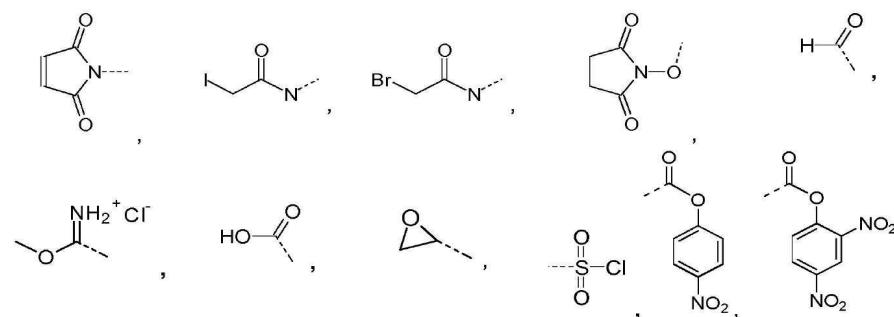


비스-(4-니트로페닐)숙시네이트

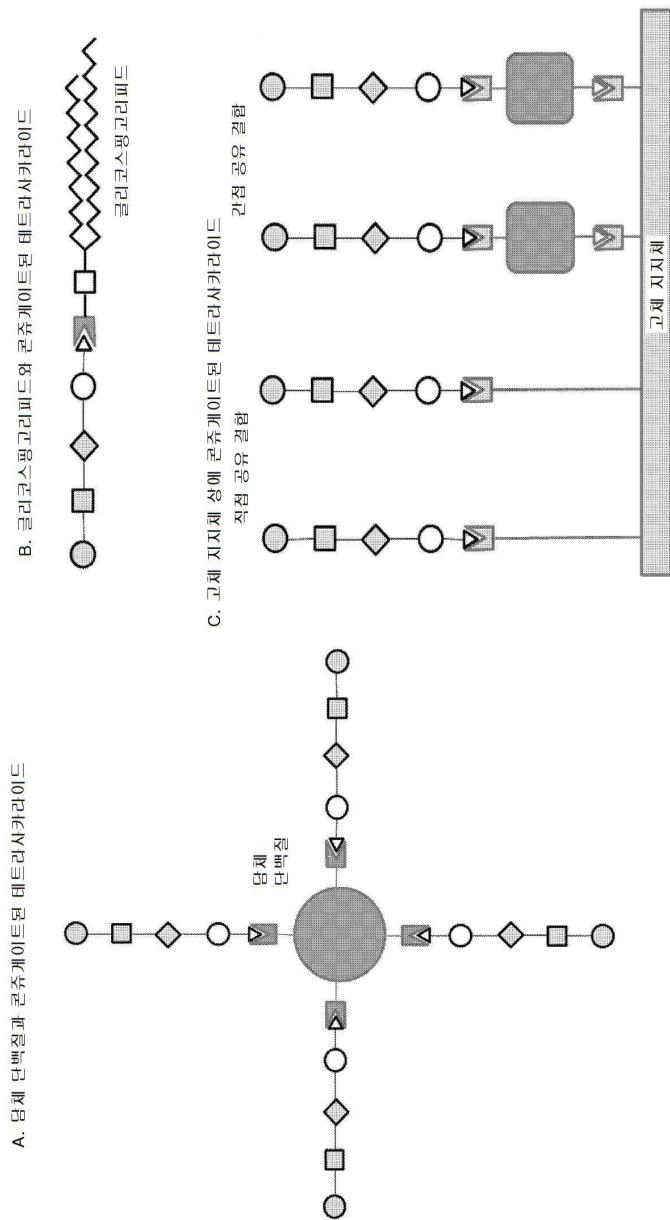


에틸렌글리콜-비스(숙신산 N-하이드록시숙신이미드에스테르)

도면2

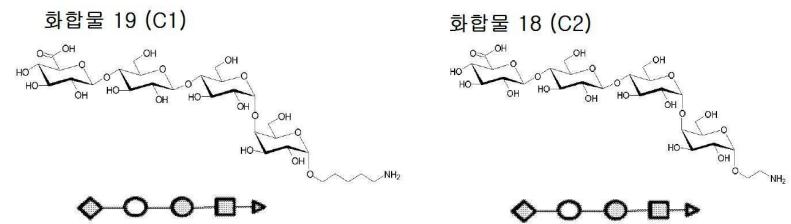


도면3

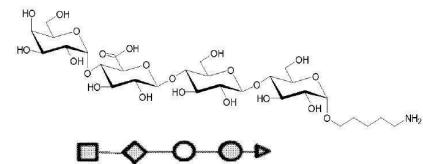


도면4a

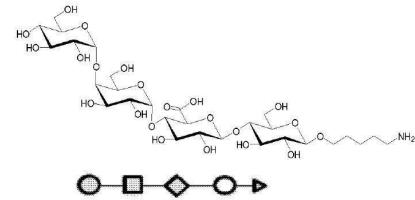
A. 기호와 함께의 사카라이드



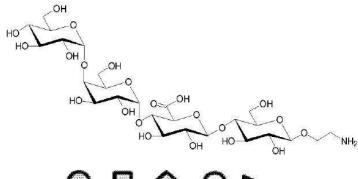
화합물 20 (D1)



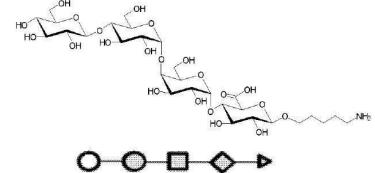
화합물 21 (A1)



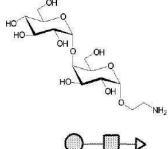
화합물 10 (A2)



화합물 22 (B1)



화합물 49

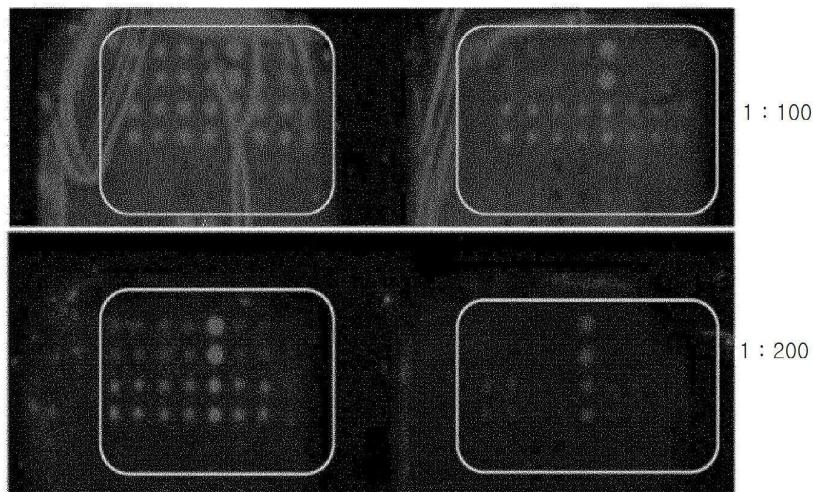


도면4b

B.

천연 Sp8
폴리사카라이드

+

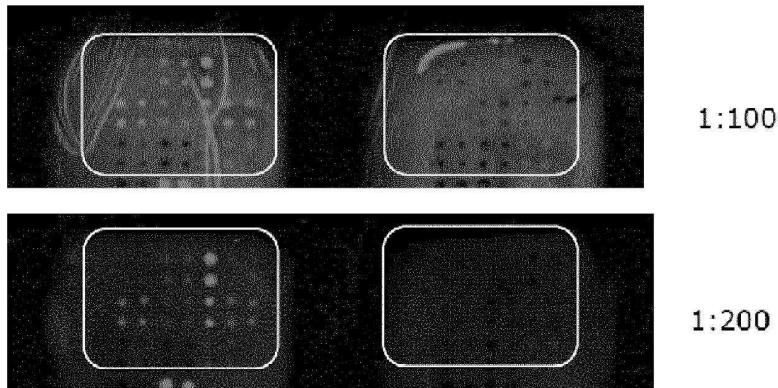


		Sp8 PS		
		교란		

도면4c

C.

천연 Sp8
폴리사카라이드: - +



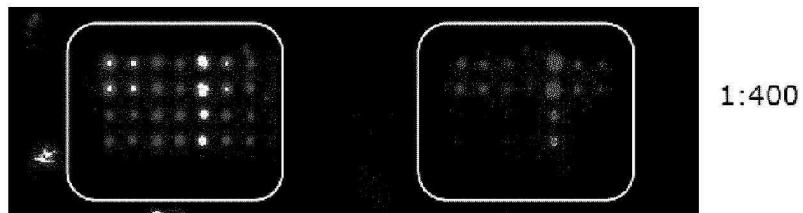
		Sp 8 PS		Cpd 6
		공란		

도면4d

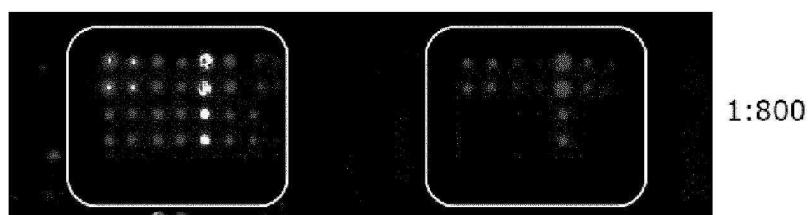
D.

천연 Sp8
폴리사카라이드: -

+



1:400

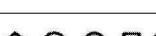


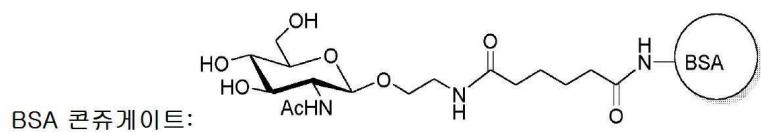
1:800

		Sp8 PS		Cpd 18
		공란		

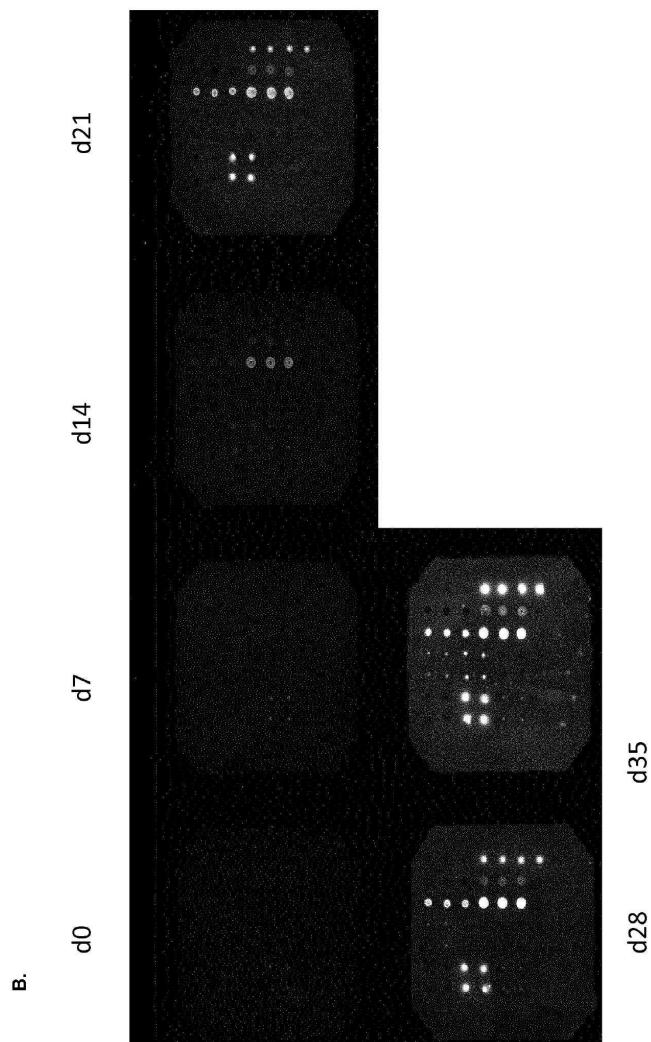
도면5a

A.

 Cpd 21	 Cpd 20	SP8 PS	SP3 PS	
 Cpd 19	 Cpd 22			 Cpd 10
 Cpd 49	 SP3	BSA 콘쥬게이트	CRM- 197	 Cpd 10
공란	협막폴리사카라이드			

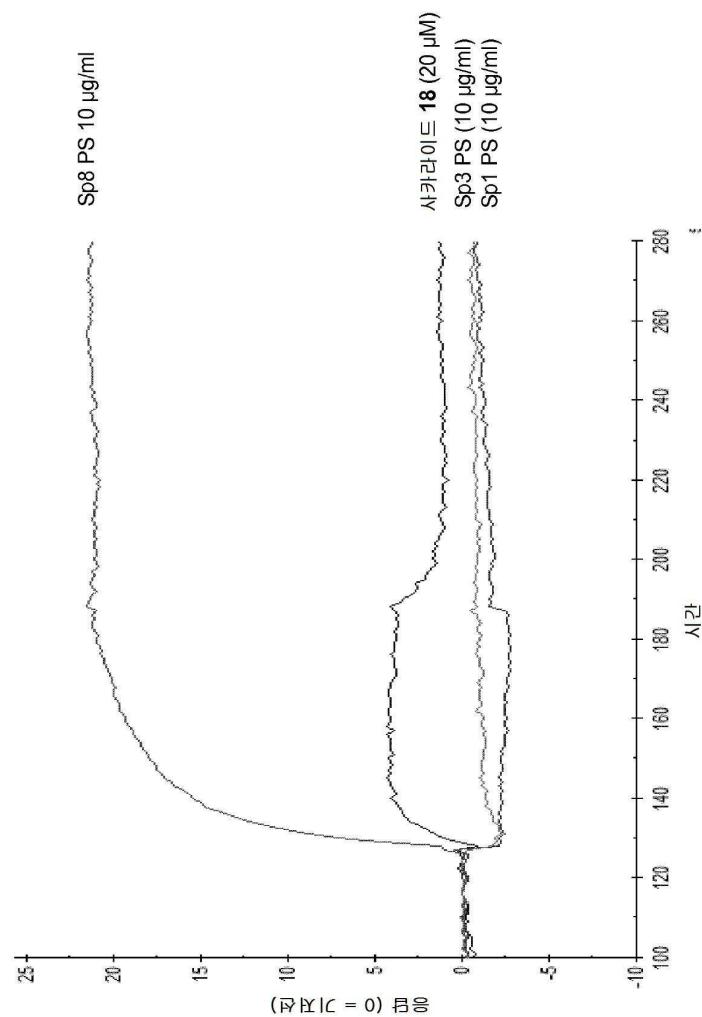


도면5b

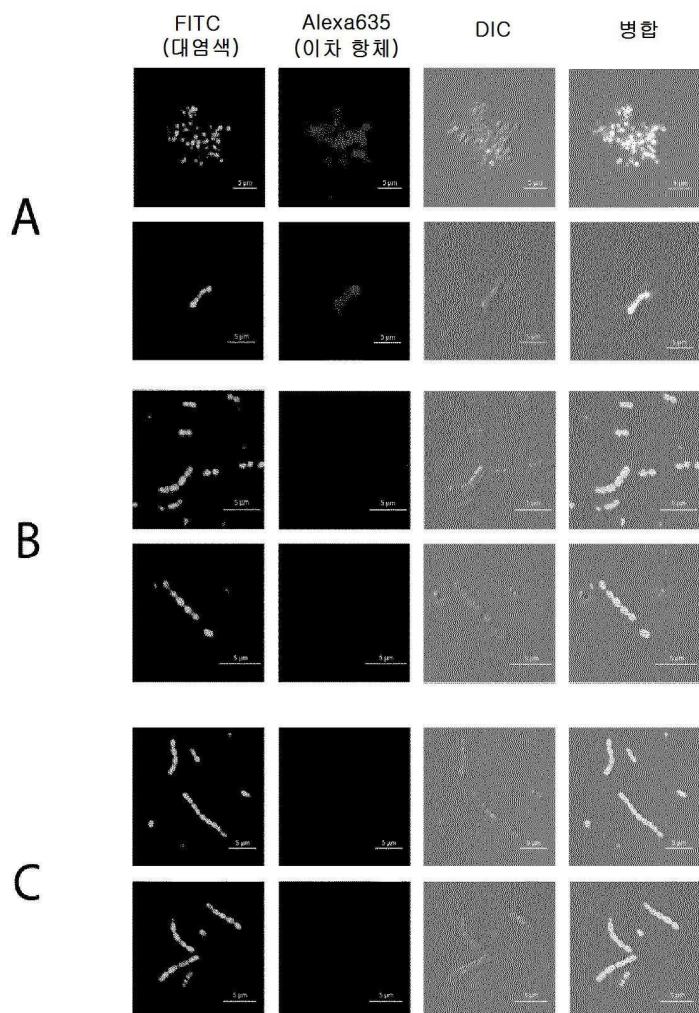


도면6

도면7



도면8

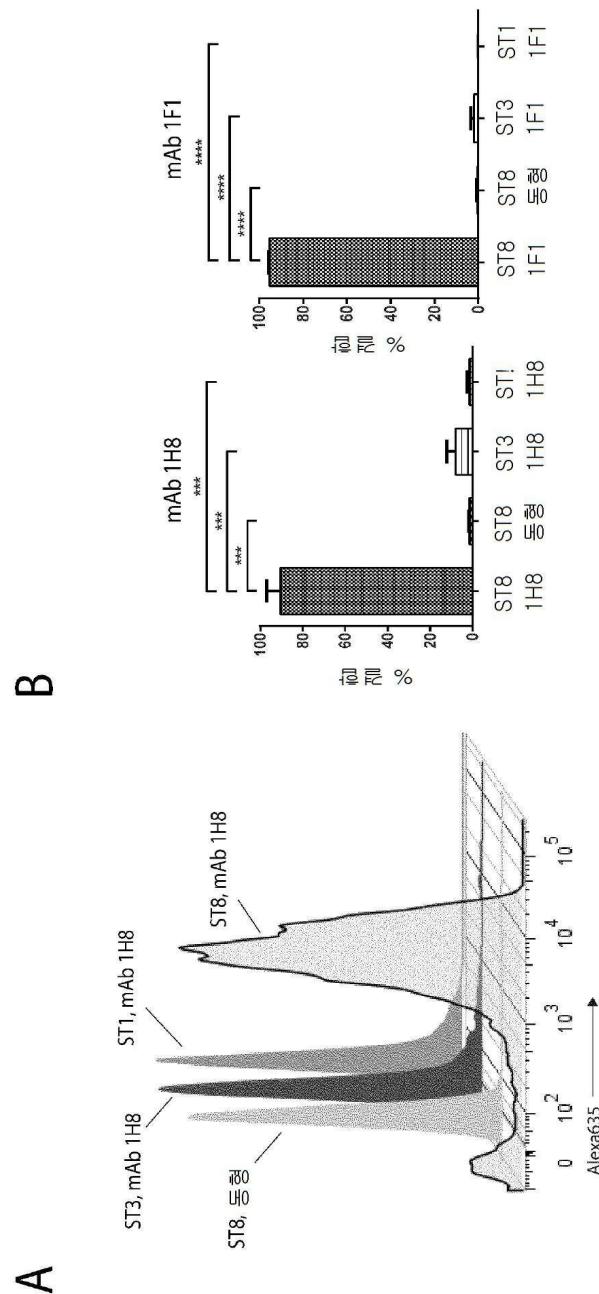


A: 스텝토코커스 뉴모니에 혈청형 8; mAb 1H8

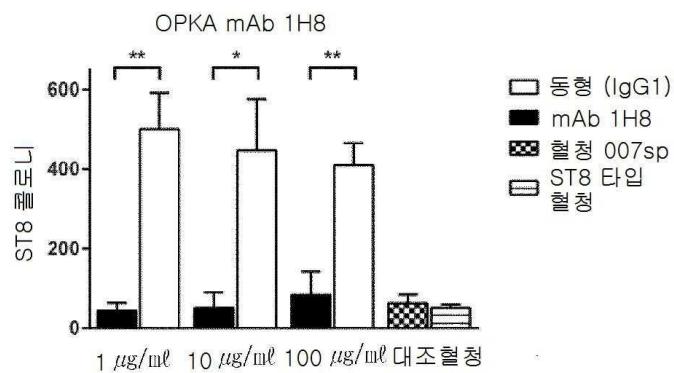
B: 스텝토코커스 뉴모니에 혈청형 8;
mAb 동형 대조 (항-에르시니아 페스티스 LPS 코어)

C: 스텝토코커스 뉴모니에 혈청형 1; mAb 1H8

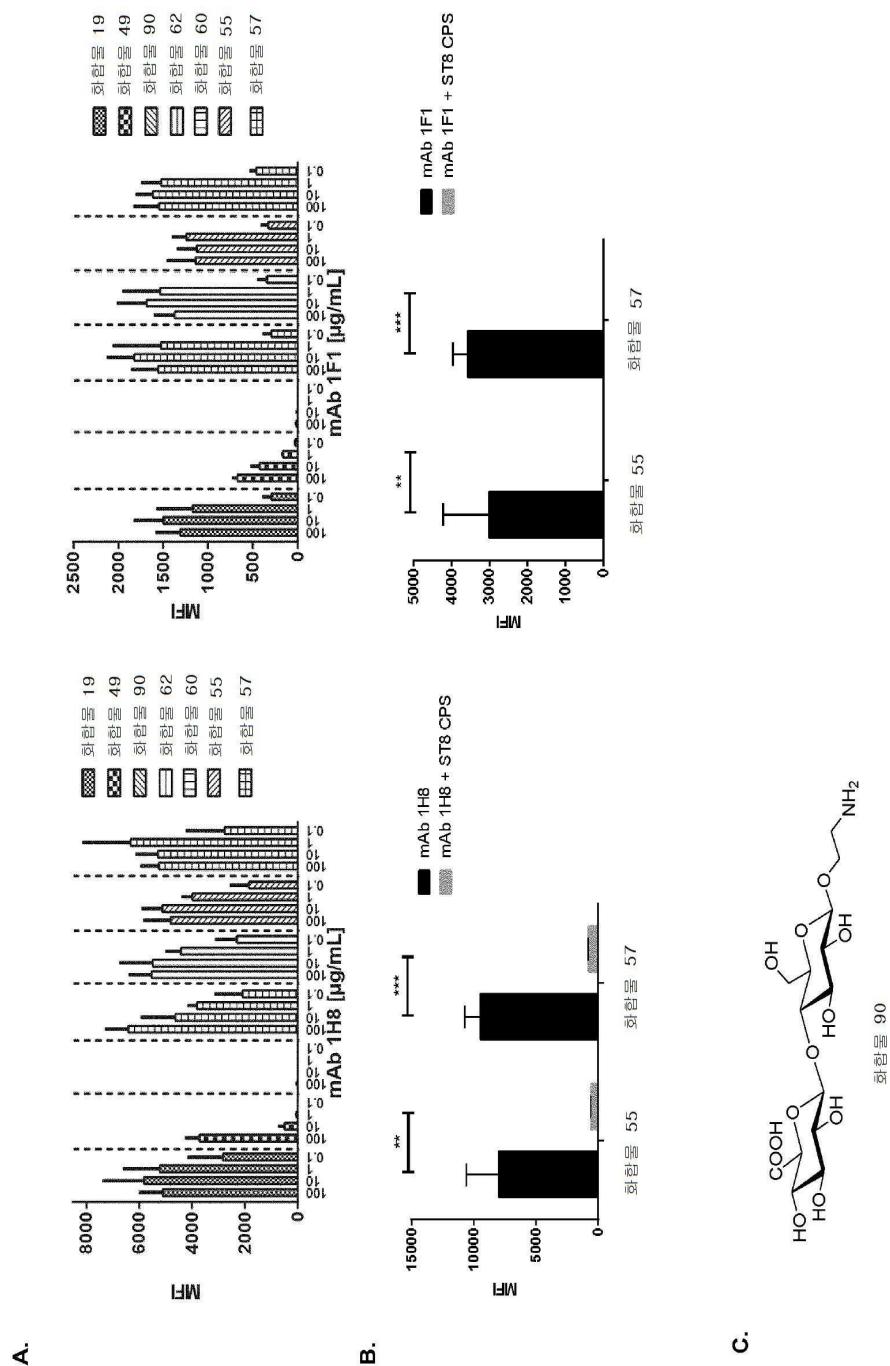
도면9



도면10



도면11

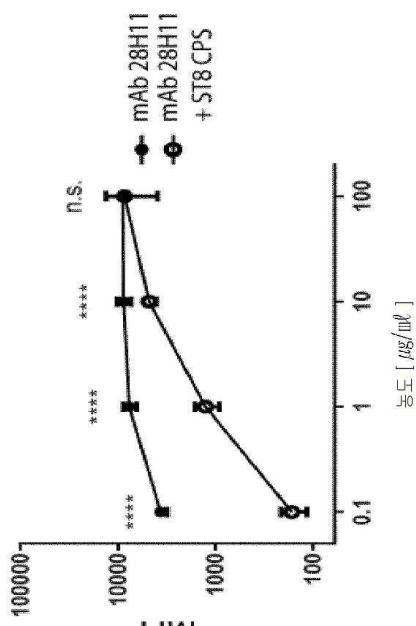
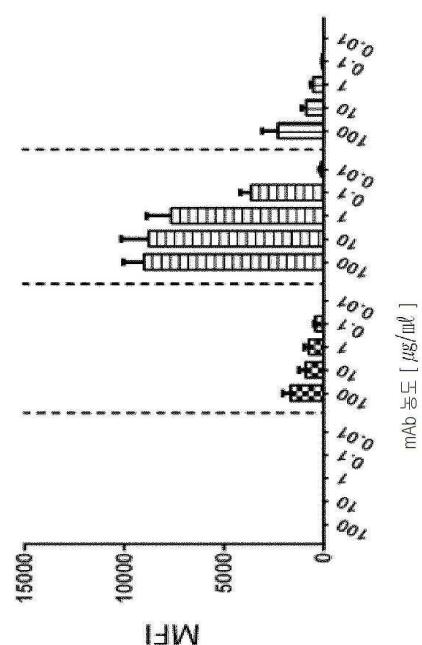


도면 12

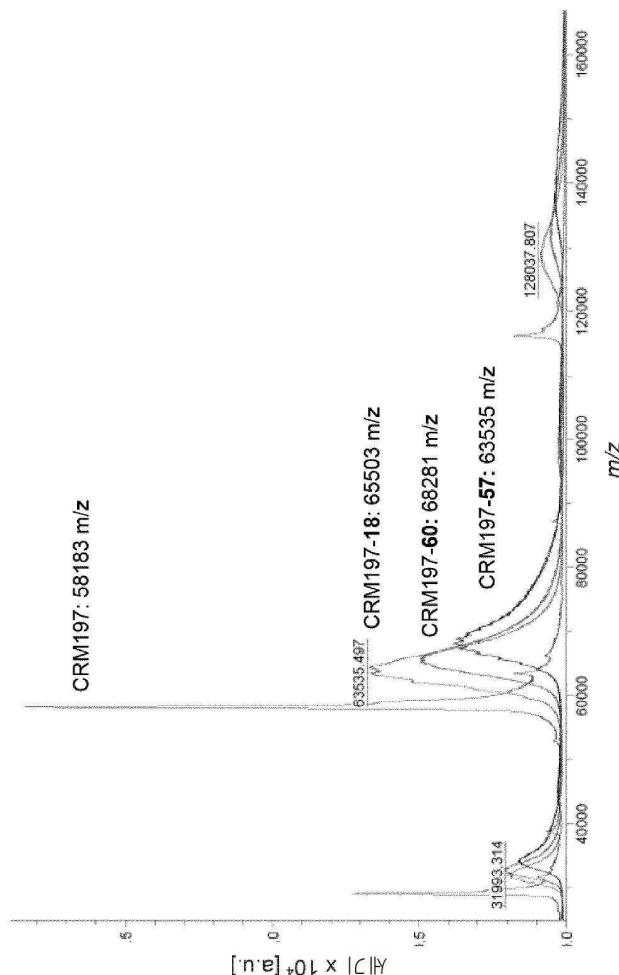
B.

A.

■ 화합물 21
 ▨ 화합물 20
 ▨ 화합물 19
 ▨ 화합물 22

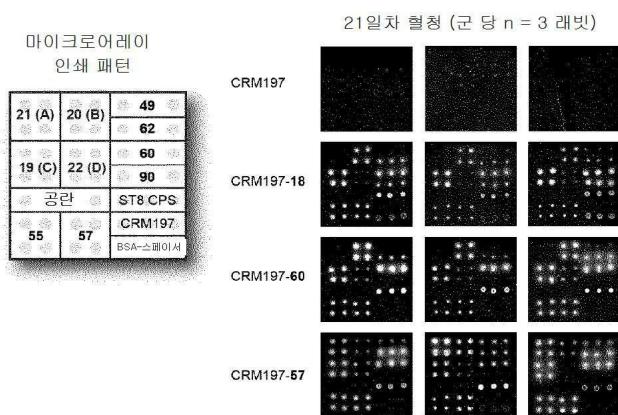


도면13

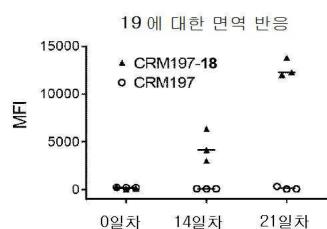


도면14

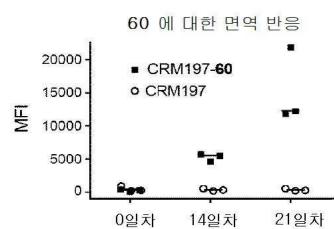
A



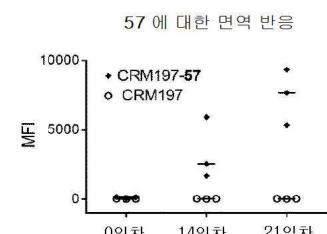
B



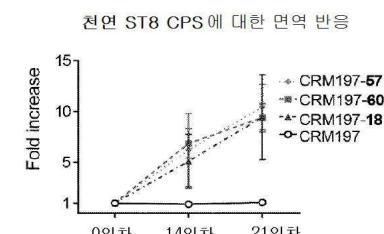
C



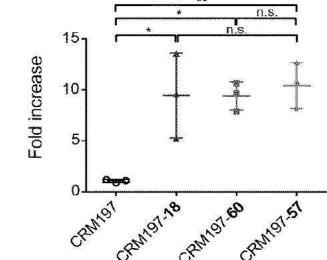
D



E



F



G

