

【公報種別】 特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載
【部門区分】 第 3 部門第 2 区分
【発行日】 令和 7 年 2 月 10 日 (2025.2.10)

【国際公開番号】 WO2022/163846
【出願番号】 特願 2022-578533 (P2022-578533)
【国際特許分類】

C 0 7 H 19/213(2006.01)
A 6 1 K 47/68(2017.01)
C 0 7 H 19/23(2006.01)
C 0 7 H 21/02(2006.01)
C 0 7 H 19/207(2006.01)
C 0 7 H 19/167(2006.01)
C 0 7 H 19/14(2006.01)
C 0 7 H 5/02(2006.01)
C 0 7 H 13/08(2006.01)
C 0 7 H 19/067(2006.01)
C 0 7 D 487/04(2006.01)
C 0 7 K 5/08(2006.01)
C 0 7 K 7/06(2006.01)
C 0 7 K 16/00(2006.01)
C 0 7 K 16/18(2006.01)

10

20

【F I】

C 0 7 H 19/213
A 6 1 K 47/68
C 0 7 H 19/23
C 0 7 H 21/02
C 0 7 H 19/207
C 0 7 H 19/167
C 0 7 H 19/14
C 0 7 H 5/02
C 0 7 H 13/08
C 0 7 H 19/067
C 0 7 D 487/04 1 4 0
C 0 7 K 5/08 Z N A
C 0 7 K 7/06
C 0 7 K 16/00
C 0 7 K 16/18

30

【手続補正書】

40

【提出日】 令和 7 年 1 月 28 日 (2025.1.28)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 全文

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートに利用可能な、環状ジヌクレオチド誘導

50

体の立体選択的な新規製造方法及びその製造中間体に関する。また、該製造方法を含む、環状ジヌクレオチドリンカー及び抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートの新規製造方法に関する。さらに、環状ジヌクレオチド誘導体の製造に用いる原料化合物の新規製造方法、及びその製造中間体に関する。

【背景技術】

【0002】

環状ジヌクレオチド (Cyclic dinucleotide, 以下、CDNともいう。) はSTING (Stimulator of Interferon Genes) を活性化させる (非特許文献1)。この活性化によりCDNを担がんマウスに投与することでSTING介在による抗腫瘍免疫応答が増強して腫瘍増殖が著しく阻害され、マウスの生存率を改善することが示された (非特許文献2)。最近の研究により、生体内で核酸分解酵素による分解を受けずにSTINGアゴニスト活性を有する合成低分子化合物が開発されている (例えば、特許文献1～5)。このような活性を示すCDNと抗体とをリンカーを介して結合させた抗体薬物複合体 (Antibody Drug Conjugate, ADC) も研究されており、抗原が発現している腫瘍で抗腫瘍効果が示されている (特許文献6、特許文献7)。

10

【0003】

これまでに研究されているCDNは2種類のヌクレオチドを環状に結ぶ際に2つのホスホロチオエート結合と呼ばれる硫黄修飾された5価のリン酸結合を有しており、非対称なヌクレオチド同士で環状化した場合、それぞれのホスホロチオエート部のリン原子上に不斉点が生成する。これまで報告されてきたCDNの合成法ではリン上の不斉を制御することなく合成を行い、結果として生成する4種類のジアステレオマーを精製することにより、目的の絶対立体配置を有するCDNを取得している (例えば、非特許文献3、特許文献1～7)。このような合成法の場合、4種類のジアステレオマーの生成により低収率となること、またジアステレオマーは物性が類似しているため、その分離精製には低負荷量でのHPLCによる厳密な分取精製が必要となることから、このような合成法で目的物を大量に合成するには大きな負荷が生じていた。立体選択的なCDNの合成法としては5価リンと不斉補助基を組み合わせた化合物を用いる方法が報告されているが、環化時の収率としては低収率にとどまっている (非特許文献4)。また、立体選択的なホスホロチオエートの合成法はこれまでに3価のリンと不斉補助基を組み合わせた立体制御型オリゴヌクレオチドに関連していくつかの研究例がある (例えば、非特許文献5～9、特許文献8～9)。一方で、環状ジヌクレオチド合成に応用可能な化合物を用いたジヌクレオチド結合生成の例は無く、実際に立体選択的に環状ジヌクレオチドを合成した例も無い。

20

30

【先行技術文献】

【特許文献】

【0004】

【特許文献1】国際公開第2014／189805号

【特許文献2】国際公開第2014／189806号

【特許文献3】国際公開第2016／145102号

【特許文献4】国際公開第2017／093933号

【特許文献5】国際公開第2018／060323号

【特許文献6】国際公開第2020／050406号

【特許文献7】国際公開第2021／177438号

【特許文献8】国際公開第2005／092909号

【特許文献9】国際公開第2016／012305号

40

【非特許文献】

【0005】

【非特許文献1】Mol. Cell, 2013, 51, 226-235

【非特許文献2】Sci. Rep. 2016, 6, 19049

【非特許文献3】J. Med. Chem. 2016, 59, 10253-10267

50

【非特許文献4】 Science 2018. 361. 1234-1238

【非特許文献5】 Tetrahedron Lett. 1998. 39. 2491-2494

【非特許文献6】 Bioorg. Med. Chem. Lett. 1998. 8. 2539-2544

【非特許文献7】 J. Am. Chem. Soc. 2002. 124. 4962-4963

【非特許文献8】 J. Am. Chem. Soc. 2003. 125. 8307-8317

【非特許文献9】 J. Am. Chem. Soc. 2008. 130. 16031-16037

【発明の概要】

10

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

本発明は一面において、抗体薬物複合体、とりわけ、STINGアゴニスト活性を有し、免疫細胞を賦活化する抗体-免疫賦活化剤コンジュゲートの中間体として有用な、環状ジヌクレオチド誘導体の新規製造方法を提供するものである。

【0007】

環状ジヌクレオチドの立体選択的な合成には亜リン酸という強い酸性官能基を有するヌクレオチドと酸性に著しく不安定な光学活性なアミダイト部位を有するヌクレオチドを実用的な収率及び高い立体選択性で結合させる方法が必要となる。しかし、従来の製造方法は立体非選択的な合成法のため、目的物の生成割合も低く、それに伴い精製が困難となるため総収率は著しく低かった。

20

【0008】

従って、本発明の課題の1つは、立体選択的合成を用いることにより目的物の生成割合を高め、それに伴い精製負荷を低減し、総収率が向上する工業的に優れたCDNの新規製造方法を提供することである。また、該製造方法を用いたCDN-リンカーの新規製造方法を提供することである。

【0009】

また、本発明の課題の1つは、環状ジヌクレオチドの合成に用いる原料化合物の調製について、より工程数が短縮され、収率が向上した新規製造方法も提供することである。

【課題を解決するための手段】

30

【0010】

本発明者らは、上記の課題を解決するため、鋭意検討した結果、光学活性なホスフィチル化剤を用いた、環状ジヌクレオチド誘導体の立体選択的な合成法を見出し、それによりジアステレオマー精製負荷を低減し、総収率が向上した新規製造方法を完成させた。また、該製造方法によって得られたCDNを用いたCDN-リンカーの構築、及びそのCDN-リンカーを用いた抗体-免疫賦活化剤コンジュゲーションの構築を行った。さらに、環状ジヌクレオチドの製造に用いる原料化合物の調製について、従来の製造方法よりも工程数が短縮され、収率が向上した新規製造方法を見出し、本発明を完成させた。

【0011】

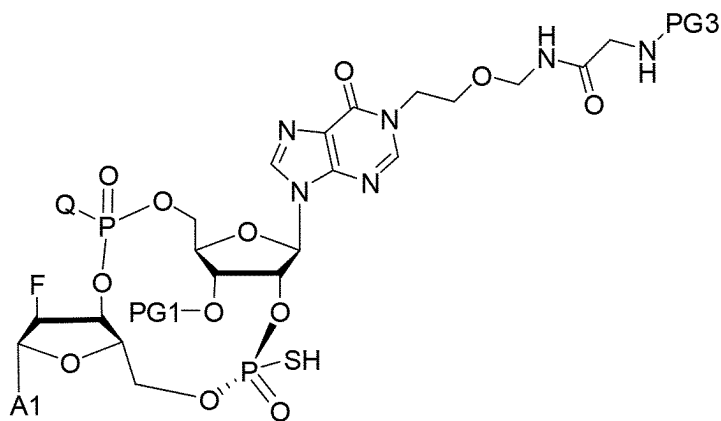
すなわち本願発明は、以下に関するものである。

40

[1]

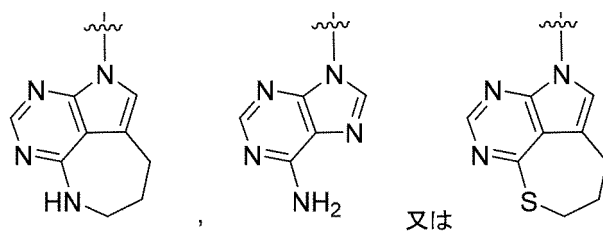
式(Rp-VII)：

【化 1】



10

〔式中、
A 1 は、
【化 2】



20

であり、

Q は、チオール基又はヒドロキシ基であり、

PG 1 は、ヒドロキシ基の保護基であり、及び

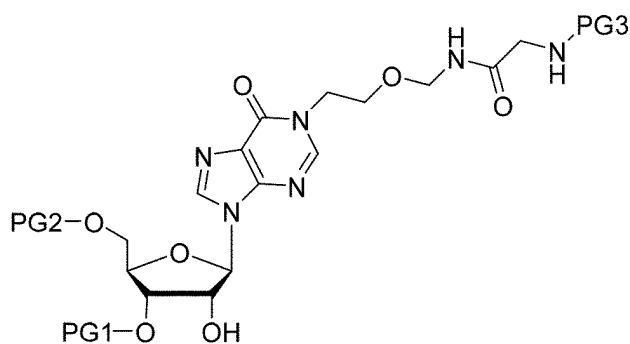
PG 3 は、アミノ基の保護基である。]

で表される化合物又はその塩の製造方法であって、

(工程 a 1) 式 (I) :

30

【化 3】



(I)

40

〔式中、

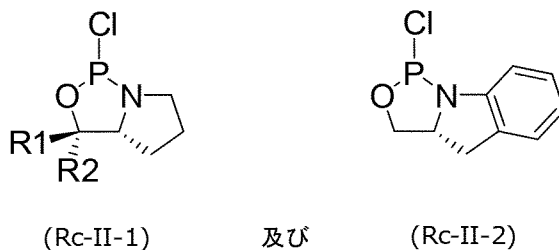
PG 1 及び PG 3 は、上に定義したとおりであり、及び

PG 2 はヒドロキシ基の保護基である。]

で表される化合物を、以下の式 (Rc-II-1) 及び (Rc-II-2) からなる群から選択される光学活性なホスフィチル化剤 (Rc-II) :

50

【化 4】



[式中、

R 1 は、水素又はメチルであり、

R 2 は、水素、炭素数 1 ～ 3 のアルキル又はフェニルであり、

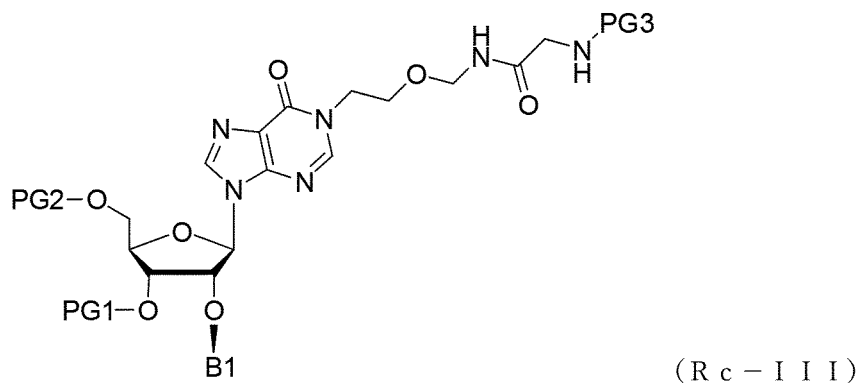
ここで、前記アルキルは、非置換であるか、又は 1 つ以上のフェニル、トシル若しくはジフェニルメチルシリルで置換されており、及び、

前記フェニルは、非置換であるか、又はニトロ若しくはメトキシで置換されている。

]

と反応させて、式 (R c - I I I) :

【化 5】

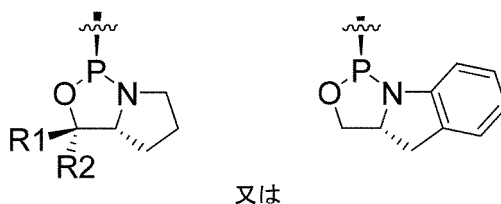


[式中、

P G 1 、 P G 2 及び P G 3 は、上に定義したとおりであり、及び

B 1 は、

【化 6】



であり、R 1 及び R 2 は、上で定義したとおりである。]

で表される化合物を得る工程、

(工程 a 2) 得られた式 (R c - I I I) の化合物を、式 (I V) :

10

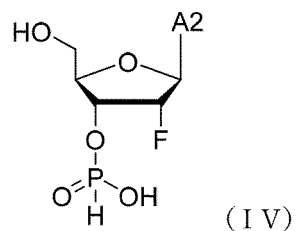
20

30

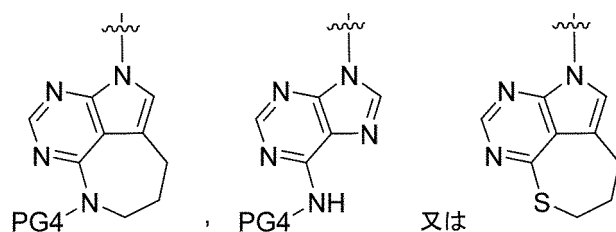
40

50

【化 7】



〔式中、
A 2 は、
【化 8】

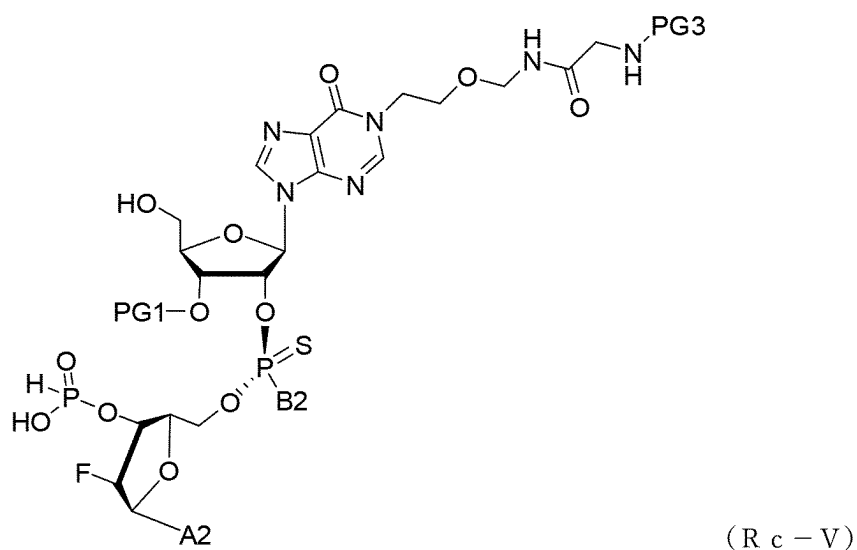


であり、及び

PG 4 は、アミノ基の保護基である。]

で表される化合物又はその塩と、活性化剤の存在下で反応させ、次いで、アシル化剤又はアルコキシカルボニル化剤で処理し、さらにチオ化剤と反応させ、続いて PG 2 を脱保護して、式 (R c - V) :

【化 9】



〔式中、
A 2、PG 1 及び PG 3 は、上に定義したとおりであり、
B 2 は、

10

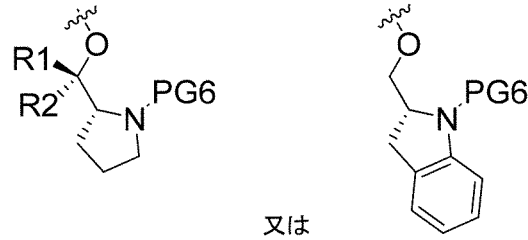
20

30

40

50

【化 1 0】



であり、及び

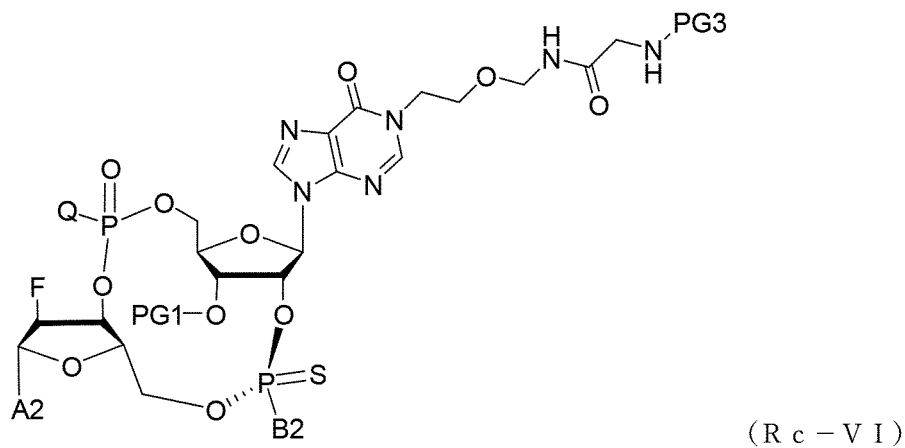
10

PG 6 は、アミノ基の保護基である。]

で表される化合物又はその塩を得る工程、

(工程 a 3) 得られた式 (R c - V) の化合物又はその塩を、縮合剤の存在下で環化させ、次いで、チオ化剤又は酸化剤と反応させて、式 (R c - V I) :

【化 1 1】



20

[式中、

A 2、B 2、Q、PG 1 及び PG 3 は、上に定義したとおりである。]

30

で表される化合物又はその塩を得る工程、並びに

(工程 a 4) 得られた式 (R c - V I) の化合物のチオリン酸部位の保護基である B 2、及び A 2 中の保護基である PG 4 を脱保護して、式 (R p - V I I) の化合物又はその塩を得る工程

を含む、方法。

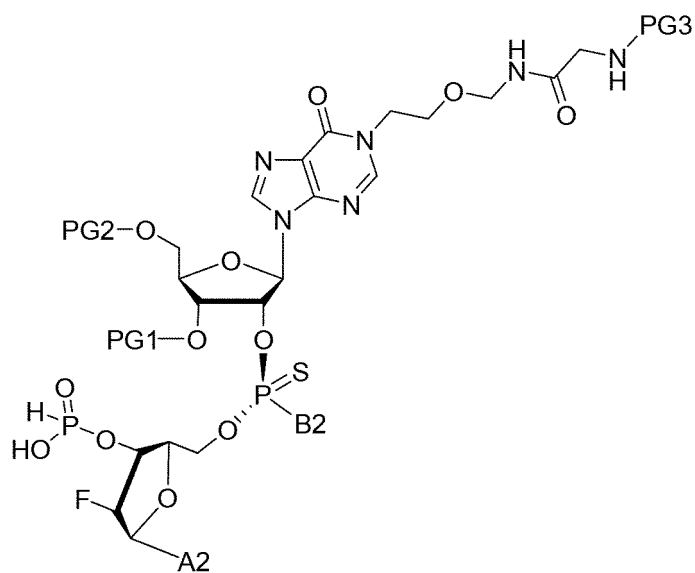
[2]

工程 a 2 において、チオ化剤と反応させた後で、PG 2 を脱保護する前に得られる中間体が、式 (R c - V 0) :

40

50

【化 1 2】



10

【式中、

A 2、B 2、P G 1、P G 2 及び P G 3 は、[1] に定義したとおりである。]

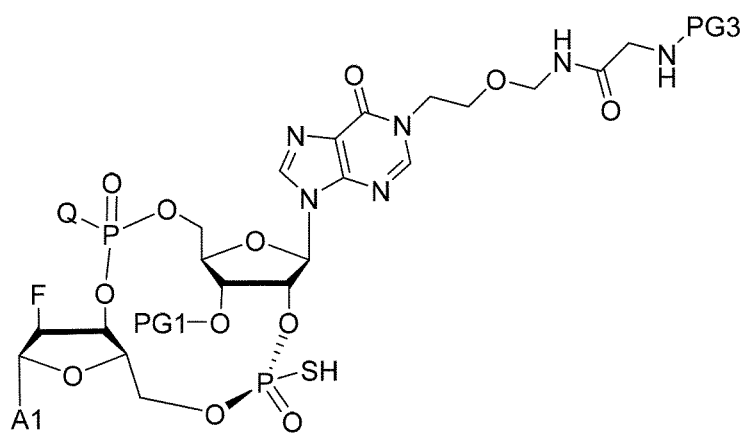
で表される化合物又はその塩である、[1] に記載の方法。

20

【 3】

式 (S p - V I I) :

【化 1 3】



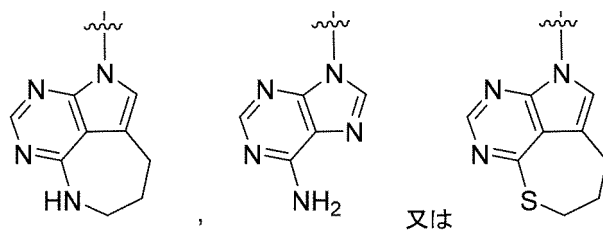
30

【式中、

A 1 は、

【化 1 4】

40



であり、

Q は、チオール基又はヒドロキシ基であり、

P G 1 は、ヒドロキシ基の保護基であり、及び

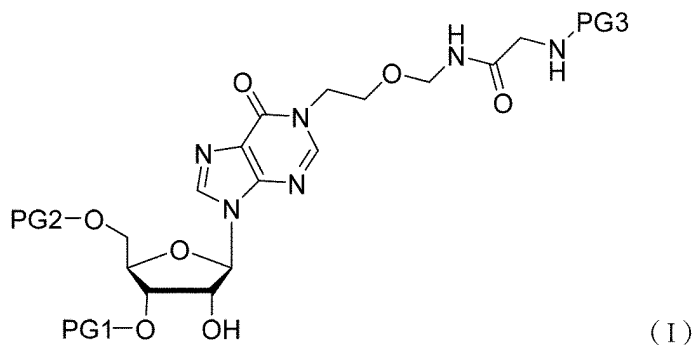
50

PG3は、アミノ基の保護基である。]

で表される化合物又はその塩の製造方法であって、

(工程a1) 式(I) :

【化15】



10

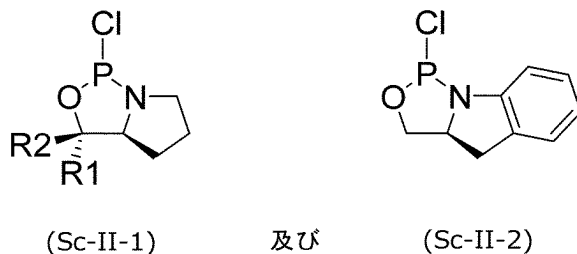
[式中、

PG1及びPG3は、上に定義したとおりであり、及び

PG2はヒドロキシ基の保護基である。]

で表される化合物を、以下の式(Sc-II-1)及び(Sc-II-2)からなる群から選択される光学活性なホスフィチル化剤(Sc-II) :

【化16】



20

[式中、

R1は、水素又はメチルであり、

R2は、水素、炭素数1~3のアルキル又はフェニルであり、

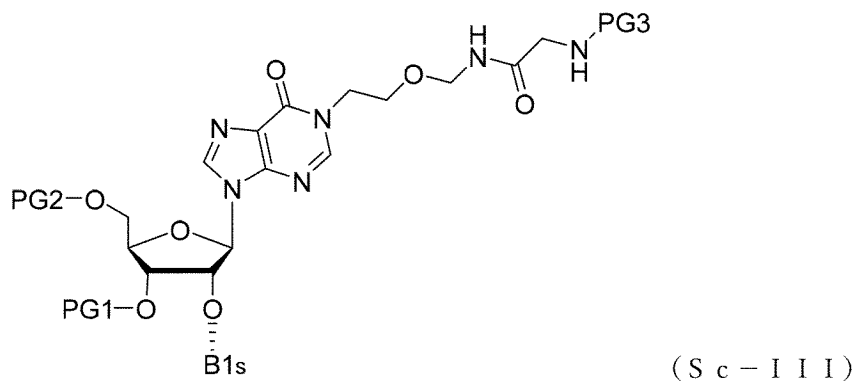
ここで、前記アルキルは、非置換であるか、又は1つ以上のフェニル、トシル若しくはジフェニルメチルシリルで置換されており、及び、

前記フェニルは、非置換であるか、又はニトロ若しくはメトキシで置換されている。

]

と反応させて、式(Sc-III) :

【化17】



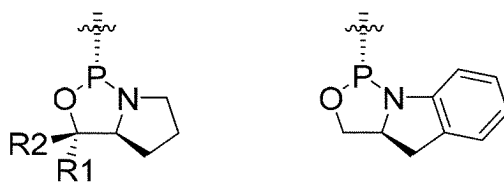
40

[式中、

PG1、PG2及びPG3は、上に定義したとおりであり、及び

50

B 1 s は、
【化 1 8】



又は

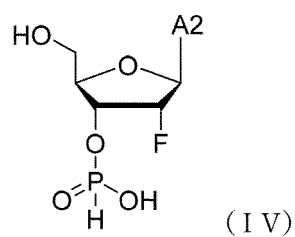
であり、R 1 及び R 2 は、上で定義したとおりである。]

10

で表される化合物を得る工程、

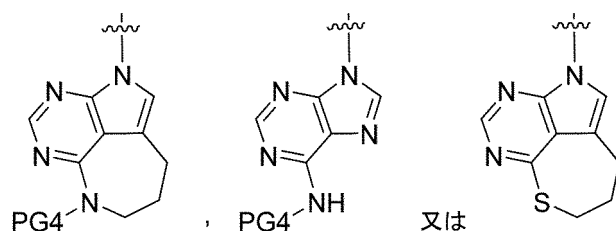
(工程 a 2) 得られた式 (S c - I I I) の化合物を、式 (I V) :

【化 1 9】



20

[式中、
A 2 は、
【化 2 0】



30

であり、及び

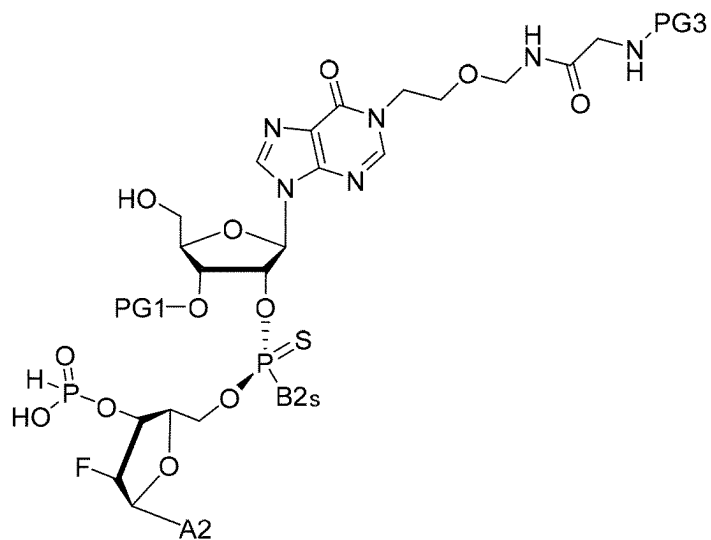
P G 4 は、アミノ基の保護基である。]

で表される化合物又はその塩と、活性化剤の存在下で反応させ、次いで、アシル化剤又はアルコキシカルボニル化剤で処理し、さらにチオ化剤と反応させ、続いて P G 2 を脱保護して、式 (S c - V) :

40

50

【化 2 1】



10

(S c - V)

[式中、

A 2、P G 1 及び P G 3 は、上に定義したとおりであり、

B 2 s は、

【化 2 2】

20



又は

であり、及び

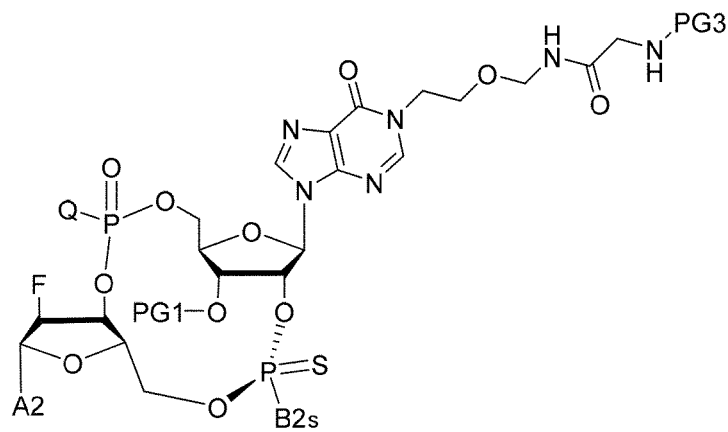
P G 6 は、アミノ基の保護基である。]

30

で表される化合物又はその塩を得る工程、

(工程 a 3) 得られた式 (S c - V) の化合物又はその塩を、縮合剤の存在下で環化させ、次いで、チオ化剤又は酸化剤と反応させて、式 (S c - V I) :

【化 2 3】



40

(S c - V I)

[式中、

A 2、B 2 s、Q、P G 1 及び P G 3 は、上に定義したとおりである。]

で表される化合物又はその塩を得る工程、並びに

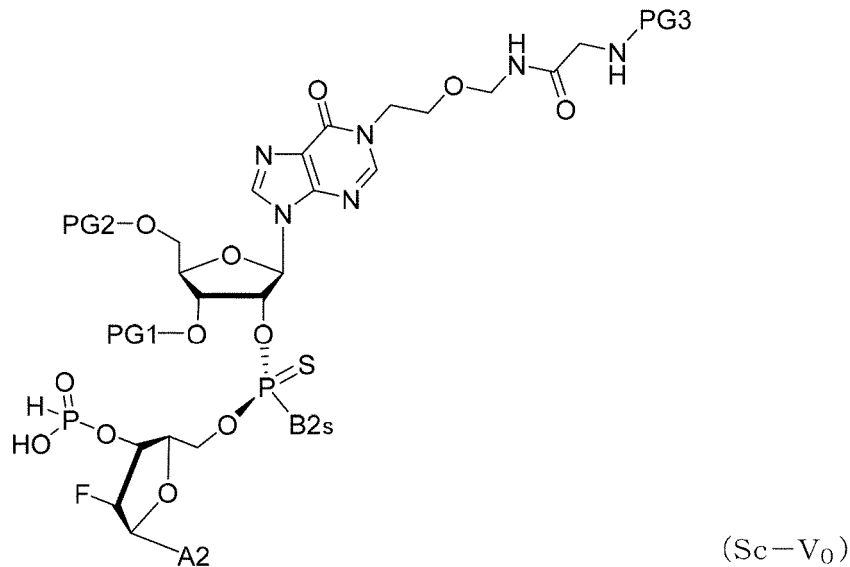
50

(工程 a 4) 得られた式 (Sc-VI) の化合物のチオリン酸部位の保護基である B2s、及び A2 中の保護基である PG4 を脱保護して、式 (Sp-VII) の化合物又はその塩を得る工程を含む、方法。

[4]

工程 a 2 において、チオ化剤と反応させた後で、PG2 を脱保護する前に得られる中間体が、式 (Sc-V0) :

【化 2 4】



10

20

[式中、

A2、B2s、PG1、PG2 及び PG3 は、[3] に定義したとおりである。]

で表される化合物又はその塩である、[3] に記載の方法。

[5]

工程 a 2 における活性化剤が、1-フェニルイミダゾール、ベンゾイミダゾール、1-メチルベンゾイミダゾール、1-シアノメチルピペリジン、1-ピロリジンアセトニトリル、1-(シアノメチル)イミダゾール、及びそれらの塩からなる群から選択される少なくとも1つである、[1] ~ [4] のいずれか1つに記載の方法。

30

[6]

工程 a 2 におけるアシル化剤又はアルコキシカルボニル化剤が、無水酢酸、N-スクシンイミジルアセテート、ペンタフルオロフェニルアセテート、エチルトリフルオロアセテート、メチルトリフルオロアセテート、ペンタフルオロフェニルトリフルオロアセテート、トリフルオロアセチルベンゾトリアゾール、1-トリフルオロアセチルイミダゾール、無水安息香酸、ペンタフルオロフェニルベンゾエート、1-tert-ブトキシカルボニル-1,2,4-トリアゾール、N-tert-ブトキシカルボニルイミダゾール、ジ-tert-ブチルジカーボネート、9-フルオレニルメチルペンタフルオロフェニルカーボネート、1-[(9H-フルオレン-9-イルメトキシ)カルボニロキシ]ベンゾトリアゾール、N-[(9H-フルオレン-9-イルメトキシ)カルボニロキシ]スクシンイミド、N-(2,2,2-トリクロロエトキシカルボニロキシ)スクシンイミド、N-カルボベンジロキシスクシンイミド、ジベンジルジカーボネート、2-(トリメチルシリル)エチル-3-ニトロ-1H-1,2,4-トリアゾール-1-カルボキシレート、N-[2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニロキシ]スクシンイミド、N-エトキシカルボニルフタルイミド、及びメチルイミダゾール-1-カルボキシレートからなる群から選択される少なくとも1つである、[1] ~ [5] のいずれか1つに記載の方法。

40

[7]

50

工程 a 2 におけるチオ化剤が、キサンタンヒドリド、ビス（フェニルアセチル）ジスルフィド、3 H-1, 2-ベンゾジチオール-3-オン-1, 1-ジオキシド、5-フェニル-3 H-1, 2, 4-ジチアゾール-3-オン及び〔（N, N-ジメチルアミノメチリデン）アミノ〕-3 H-1, 2, 4-ジチアゾリン-3-チオンからなる群から選択される少なくとも1つである、〔1〕～〔6〕のいずれか1つに記載の方法。

〔8〕

工程 a 3 における縮合剤が、2-クロロ-5, 5-ジメチル-1, 3, 2-ジオキサホスホリナン 2-オキシド、ジメチルクロロホスフェート、ジエチルクロロホスフェート、2-クロロ-2-オキソ-1, 3, 2-ジオキサホスホラン、1 H-ベンゾトリアゾール-1-イルオキシトリピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスフェート、クロロトリピロリジノヘキサフルオロホスフェート、プロモトリピロリジノヘキサフルオロホスフェート、及びプロピルホスホン酸無水物からなる群から選択される少なくとも1つである、〔1〕～〔7〕のいずれか1つに記載の方法。

10

〔9〕

工程 a 3 におけるチオ化剤が、キサンタンヒドリド、ビス（フェニルアセチル）ジスルフィド、3 H-1, 2-ベンゾジチオール-3-オン-1, 1-ジオキシド、5-フェニル-3 H-1, 2, 4-ジチアゾール-3-オン及び〔（N, N-ジメチルアミノメチリデン）アミノ〕-3 H-1, 2, 4-ジチアゾリン-3-チオンからなる群から選択される少なくとも1つである、〔1〕～〔8〕のいずれか1つに記載の方法。

20

〔10〕

工程 a 3 における酸化剤が、ヨウ素、tert-ブチルヒドロペルオキシド、3-クロロ過安息香酸、過酸化水素、過ヨウ素酸、過マンガン酸カリウム及び酸素からなる群から選択される少なくとも1つである、〔1〕～〔8〕のいずれか1つに記載の方法。

〔11〕

PG 4 が、ベンジル、ベンゾイル、tert-ブトキシカルボニル、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル、アリルオキシカルボニル、2, 2, 2-トリクロロエトキシカルボニル、ベンジルオキシカルボニル、2-（トリメチルシリル）エトキシカルボニル、又はエトキシカルボニルである、〔1〕～〔10〕のいずれか1つに記載の方法。

〔12〕

PG 6 が、アセチル、トリフルオロアセチル、ベンゾイル、tert-ブトキシカルボニル、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル、アリルオキシカルボニル、2, 2, 2-トリクロロエトキシカルボニル、ベンジルオキシカルボニル、2-（トリメチルシリル）エトキシカルボニル、メトキシカルボニル、又はエトキシカルボニルである、〔1〕～〔11〕のいずれか1つに記載の方法。

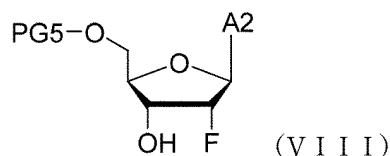
30

〔13〕

前記式（I V）の化合物又はその塩が、以下の工程：

（工程 a 5）式（V I I I）：

〔化 2 5〕



40

〔式中、

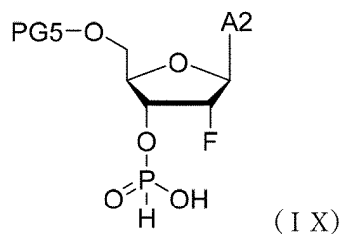
A 2 は、〔1〕に定義したとおりであり、及び

PG 5 は、ヒドロキシ基の保護基である。〕

で表される化合物又はその塩を、亜リン酸エステルと反応させて、式（I X）：

50

【化 2 6】



〔式中、A 2 及び P G 5 は、上に定義したとおりである。〕

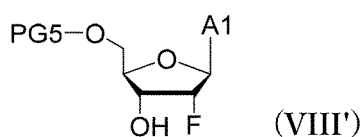
10

で表される化合物又はその塩を得る工程、

或いは、

（工程 a 5 '）式（V I I I '）：

【化 2 7】



20

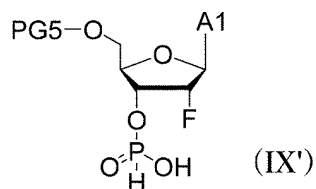
〔式中、

A 1 は〔1〕に定義したとおりであり、及び

P G 5 は上に定義したとおりである。〕

で表される化合物又はその塩を、亜リン酸エステルと反応させて、式（I X '）：

【化 2 8】



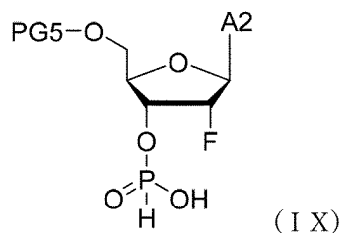
30

〔式中、A 1 及び P G 5 は、上に定義したとおりである。〕

で表される化合物又はその塩を得る工程、及び

（工程 a 5 ' '）得られた式（I X '）の化合物又はその塩を、アシル化剤又はアルコキシカルボニル化剤と反応させて、式（I X）：

【化 2 9】



40

〔式中、A 2 及び P G 5 は、上に定義したとおりである。〕

で表される化合物又はその塩を得る工程

並びに

（工程 a 6）工程 a 5 又は工程 a 5 ' ' で得られた式（I X）の化合物の 5 ' 水酸基の保護基である P G 5 を脱保護して、式（I V）の化合物又はその塩を得る工程

50

によって製造される、[1]～[12]のいずれか1つに記載の方法。

[14]

工程a5及び工程a5'の亜リン酸エステルが、亜リン酸ジフェニル、亜リン酸メチル、亜リン酸ジエチル、及び亜リン酸ジブチルからなる群から選択される少なくとも1つである、[13]に記載の方法。

[15]

工程a5'のアシル化剤又はアルコキシカルボニル化剤が、無水酢酸、アセチルクロリド、N-スクシンイミジルアセテート、ペンタフルオロフェニルアセテート、1-アセチル-1H-1,2,3-トリアゾロ[4,5-b]ピリジン、N-メトキシジアセトアミド、N-アセチルイミダゾール、トリフルオロ酢酸無水物、ビストリフルオロアセトアミド、エチルトリフルオロアセテート、メチルトリフルオロアセテート、ペンタフルオロフェニルトリフルオロアセテート、トリフルオロアセチルベンゾトリアゾール、S-エチルトリフルオロチオアセテート、N-メチルビストリフルオロアセトアミド、トリフルオロアセチルトリフレート、1-トリフルオロアセチルイミダゾール、無水安息香酸、ベンゾイルクロリド、ペンタフルオロフェニルベンゾエート、ベンゾイルトリフルオロメタンスルホネート、3-ベンゾイルチアゾリジン-2-チオン、tert-ブチルフェニルカーボネート、N-(tert-ブトキシカルボニロキシ)フタルイミド、2-(tert-ブトキシカルボニルチオ)-4,6-ジメチルピリジン、N-tert-ブトキシカルボニルイミダゾール、tert-ブチルカルバゼート、2-(tert-ブトキシカルボニロキシイミノ)-2-フェニルアセトニトリル、1-tert-ブトキシカルボニル-1,2,4-トリアゾール、ジ-tert-ブチルジカーボネート、9-フルオレニルメチルペンタフルオロフェニルカーボネート、クロロギ酸9-フルオレニルメチル、9-フルオレニルメチルカルバゼート、19-フルオレニルメチルカーバメート、1-[(9H-フルオレン-9-イルメトキシ)カルボニロキシ]ベンゾトリアゾール、N-[(9H-フルオレン-9-イルメトキシ)カルボニロキシ]スクシンイミド、クロロギ酸アリル、ジアリルジカーボネート、N-(アリロキシカルボニロキシ)スクシンイミド、アリルフェニルカーボネート、N-(2,2,2-トリクロロエトキシカルボニロキシ)スクシンイミド、クロロギ酸2,2,2-トリクロロエチル、クロロギ酸ベンジル、ベンジルカルバゼート、ベンジルフェニルカーボネート、N-カルボベンジロキシスクシンイミド、ジベンジルジカーボネート、4-[2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニロキシ]ニトロベンゼン、2-(トリメチルシリル)エチル-3-ニトロ-1H-1,2,4-トリアゾール-1-カルボキシレート、N-[2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニロキシ]スクシンイミド、N-エトキシカルボニルフタルイミド、クロロギ酸エチル、ジエチルジカーボネート、エチルイミダゾール-1-カルボキシレート、2-エトキシ-1-(エトキシカルボニル)-1,2-ジヒドロキノリン、クロロギ酸メチル、ジメチルカーボネート、ジメチルジカーボネート、又はメチルイミダゾール-1-カルボキシレートからなる群から選択される少なくとも1つである、[13]又は[14]に記載の方法。

[16]

[1]に記載の工程a3において、前記チオ化剤を用いることによって、式(Rp-VII)の化合物(式中、Qがチオール基である。)又はその塩を得ることを特徴とする、[1]、[2]、[5]～[9]及び[11]～[12]のいずれか1つに記載の方法。

[17]

[1]に記載の工程a4において、得られた式(Rp-VII)の化合物(式中、Qはチオール基である。)を、その塩に変換する前に、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで処理するか、及び／又は、その塩に変換した後に、結晶化して、式(Rp,Rp-VII'):

10

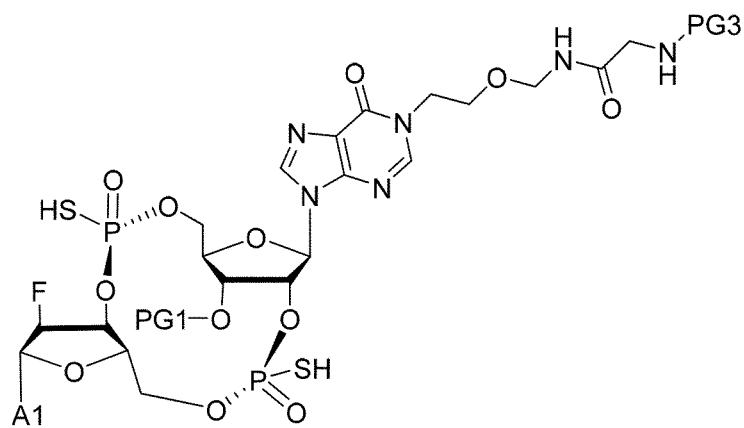
20

30

40

50

【化 3 0】


$$(R_p, R_p - V I I')$$

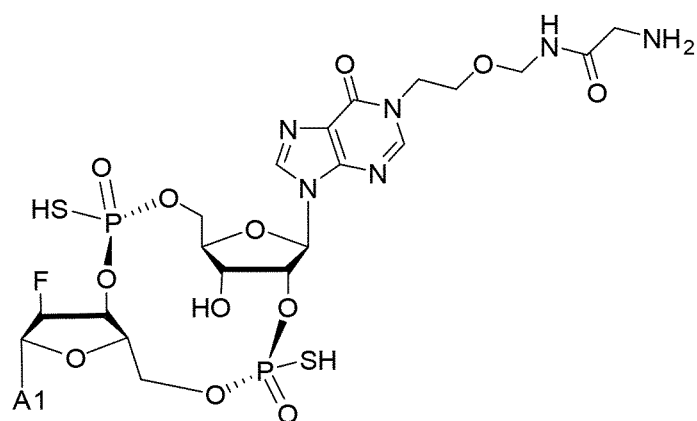
の化合物又はその塩を得ることをさらに含む、[16]に記載の方法。

[1 8]

さらに

(工程 a 7) 得られた式 (R_p, R_p-V I I') の化合物の保護基である P G 1 及び P G 3 を脱保護して、式 (R_p, R_p-X) :

【化 3 1】


$$(R_p, R_p - X)$$

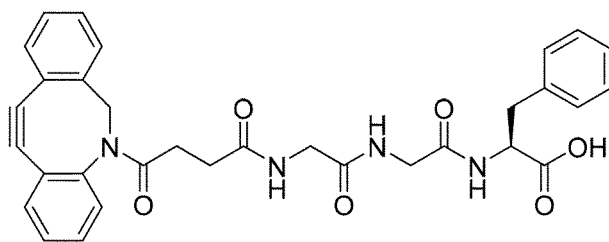
[式中、

A 1 は、[1] に定義したとおりである。]

で表される化合物又はその塩を得る工程、及び

(工程 a 8) 得られた式 (R p , R p - X) の化合物又はその塩を、式 (X I) :

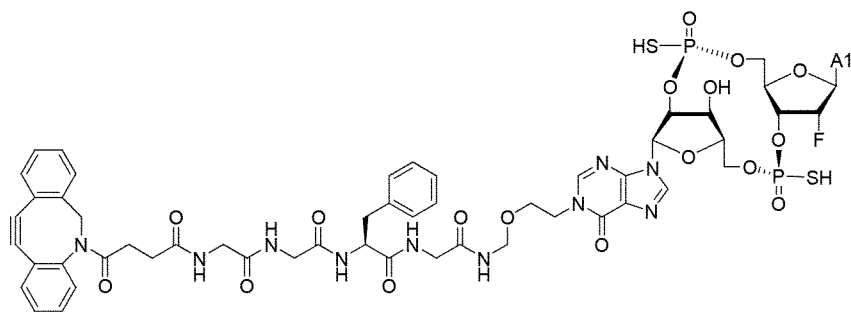
【化 3 2】



(X I)

で表される化合物又はその活性エステル体と縮合して、式 (R_p, R_p-X I I) :

【化 3 3】



(Rp, Rp-XII)

10

【式中、A1は、上に定義したとおりである。】

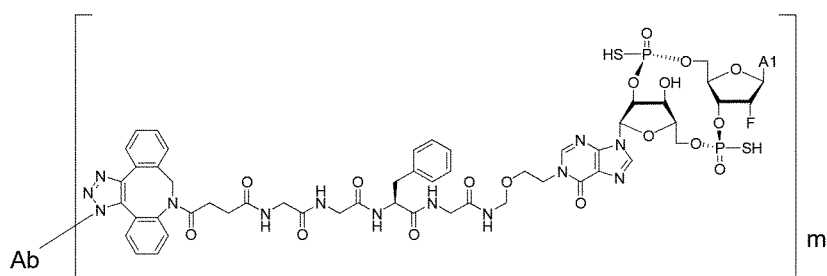
で表される化合物又はその塩を得る工程を含む、【17】に記載の方法。

【19】

さらに、

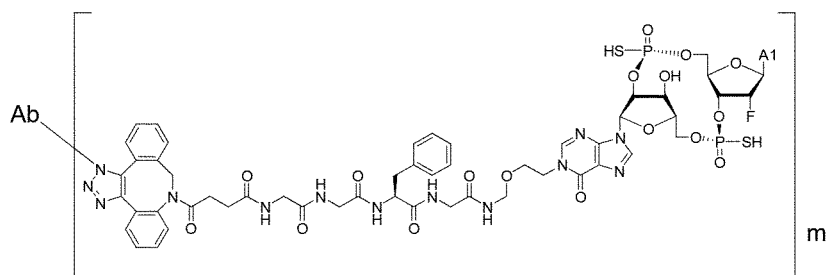
(工程a9)得られた式(Rp, Rp-XII)の化合物又はその塩と、抗体又は該抗体の機能性断片(以下、Abという。)とを結合させて、式(Rp, Rp-XIII)：

【化 3 4】



20

又は



30

(Rp, Rp-XIII)

【式中、

mは1から10の範囲であり、

Abの糖鎖は、任意にリモデリングされており、

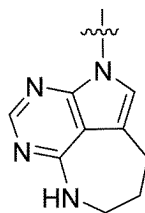
Abは、修飾されていてもよいアミノ酸残基の側鎖から直接式(Rp, Rp-XII)の化合物に結合するか、又はAbの糖鎖又はリモデリングされた糖鎖から式(Rp, Rp-XII)の化合物に結合しており、

40

A1は、

50

【化 3 5】



である。]

で表される抗体-免疫賦活化剤コンジュゲート、又はそれらの混合物を得る工程を含む、[18]に記載の方法。

10

[20]

工程 a 9 において、式 (Rp, Rp-XII) の化合物又はその塩と Ab とを、歪み促進型アジド-アルキン付加環化反応 (strain-promoted azide-alkyne cycloaddition) 反応により結合させることを特徴とする、[19]に記載の方法。

[21]

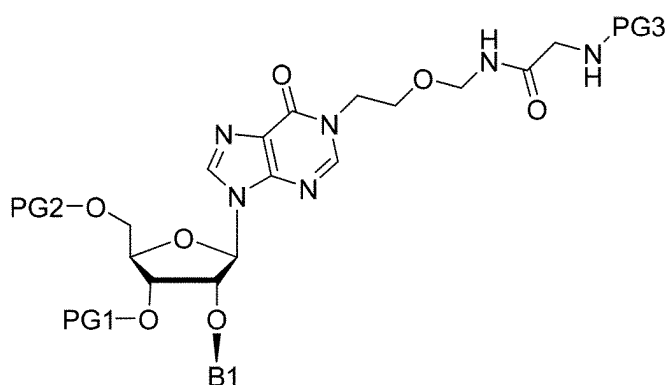
抗体が、抗HER2抗体、抗HER3抗体、抗DLL3抗体、抗FAP抗体、抗CDH11抗体、抗CDH6抗体、抗A33抗体、抗CanAg抗体、抗CD19抗体、抗CD20抗体、抗CD22抗体、抗CD30抗体、抗CD33抗体、抗CD56抗体、抗CD70抗体、抗CD98抗体、抗TROP2抗体、抗CEA抗体、抗CripTo抗体、抗EphA2抗体、抗G250抗体、抗MUC1抗体、抗GPNMB抗体、抗Integrin抗体、抗PSMA抗体、抗Tenascin-C抗体、抗SLC44A4抗体、抗Mesothelin抗体、抗ENPP3抗体、抗CD47抗体、抗EGFR抗体、抗GPR20抗体、及び抗DR5抗体からなる群から選択される抗体である、[19]又は[20]に記載の方法。

20

[22]

式 (Rc-III) :

【化 3 6】



(Rc-III)

30

40

[式中、

B1は、[1]に定義したとおりであり、

PG1は、tert-ブチルジメチルシリル、トリメチルシリル、トリエチルシリル、トリイソプロピルシリル、又はtert-ブチルジフェニルシリルであり、

PG2は、4,4'-ジメトキシトリチル、4-メトキシトリチル、2-クロロトリチル、又はトリチルであり、

PG3は、2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニル、tert-ブトキシカルボニル、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル、アリルオキシカルボニル、2,2,2-トリクロロエトキシカルボニル、又はベンジルオキシカルボニルである。]

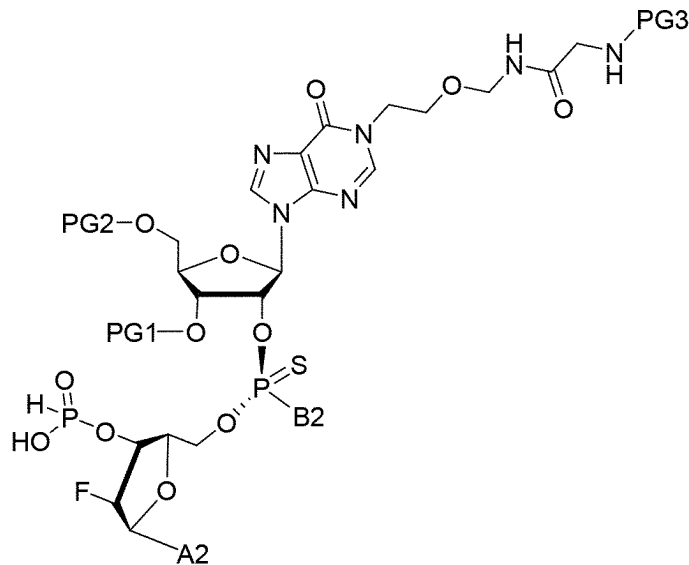
50

で表される化合物。

[2 3]

式 (R c - V ₀) :

【化 3 7】



[式中、

A 2 及び B 2 は、[1] に定義したとおりであり、

PG 1 は、tert-ブチルジメチルシリル、トリメチルシリル、トリエチルシリル、トリイソプロピルシリル、又はtert-ブチルジフェニルシリルであり、

PG 2 は、4, 4'-ジメトキシトリチル、4-メトキシトリチル、2-クロロトリチル、又はトリチルであり、

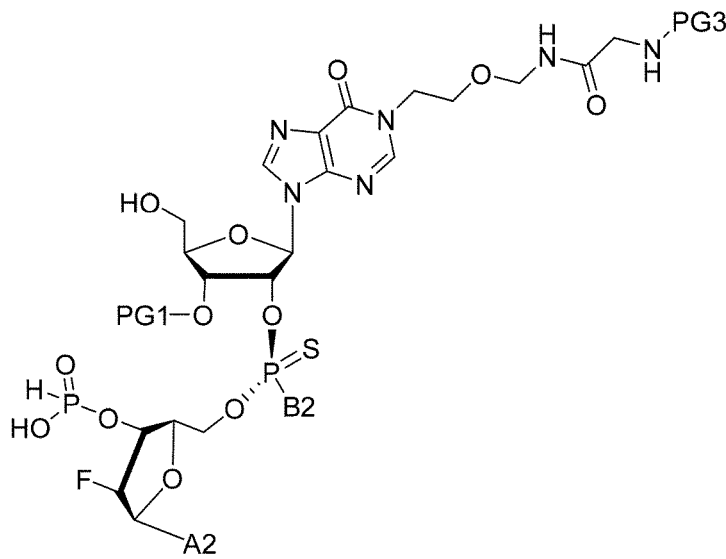
PG 3 は、2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニル、tert-ブトキシカルボニル、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル、アリルオキシカルボニル、2, 2, 2-トリクロロエトキシカルボニル、又はベンジルオキシカルボニルである。]

で表される化合物又はその塩。

[2 4]

式 (R c - V) :

【化 3 8】



[式中、

A 2 及び B 2 は、[1] に定義したとおりであり、

P G 1 は、tert-ブチルジメチルシリル、トリメチルシリル、トリエチルシリル、トリイソプロピルシリル、又はtert-ブチルジフェニルシリルであり、

P G 3 は、2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニル、tert-ブトキシカルボニル、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル、アリルオキシカルボニル、2, 2, 2-トリクロロエトキシカルボニル、又はベンジルオキシカルボニルである。]

で表される化合物又はその塩。

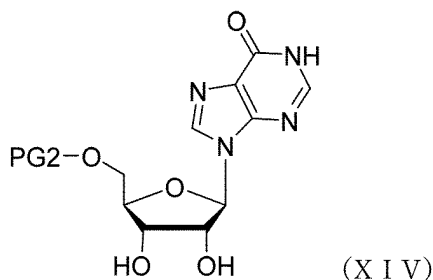
[2 5]

前記式 (I) の化合物 (式中、P G 1 はtert-ブチルジメチルシリルである。) が
、以下の工程：

10

(工程 b 1) 式 (X I V) :

[化 3 9]

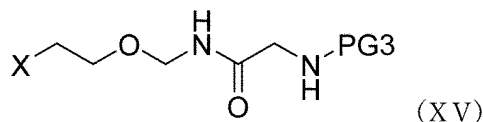


20

[式中、P G 2 は、[1] に定義したとおりである。]

で表される化合物を、式 (X V) :

[化 4 0]



30

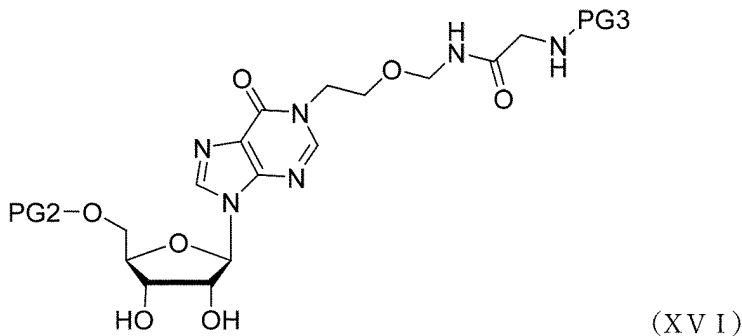
[式中、

P G 3 は、[1] に定義したとおりであり、及び

X は、C l、B r、又はIである。]

で表される化合物と反応させて、式 (X V I) :

[化 4 1]



40

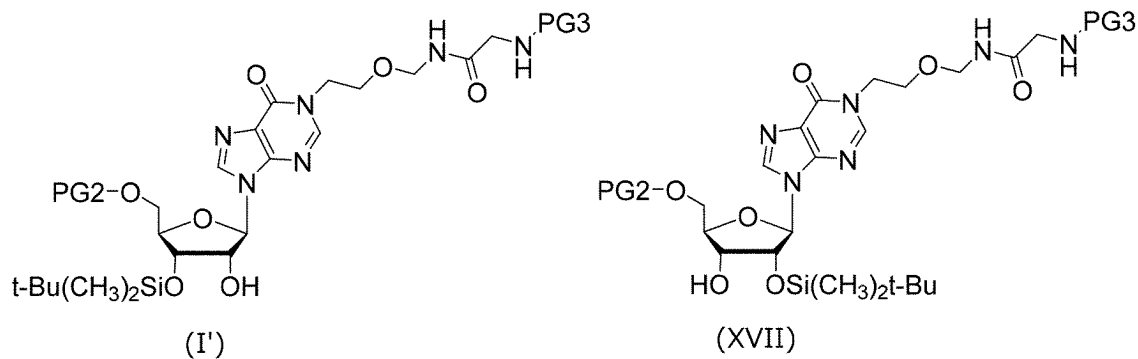
[式中、P G 2 及び P G 3 は、上に定義したとおりである。]

で表される化合物を得る工程、及び

(工程 b 2) 得られた式 (X V I) の化合物を、シリル化剤と反応させて、以下の式 (I ') の化合物及び式 (X V I I) の化合物との混合物：

50

【化 4 2】



10

〔式中、PG2、及びPG3は、上に定義したとおりである。〕

を得、次いで、塩基の存在下で、該混合物中の式(XVII)の化合物を、式(I')の化合物に変換して、式(I')の化合物を得る工程によって製造される、〔1〕～〔21〕のいずれか1つに記載の方法。

〔26〕

工程b1の反応が塩基の存在下で実施され、該塩基が、1,1,3,3-テトラメチルグアニジン、トリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、又は1,8-ジアザビシクロ〔5.4.0〕-7-ウンデセンである、〔25〕に記載の方法。

20

〔27〕

工程b2において、式(XVI)の化合物とシリル化剤との反応を、第一の塩基の存在下で実施して、式(I')の化合物と式(XVII)の化合物との混合物を得、次いで、該混合物中の式(XVII)の化合物を、第二の塩基の存在下で、式(I')の化合物に変換して、式(I')の化合物を得る工程を含む、〔25〕又は〔26〕に記載の方法。

〔28〕

第一の塩基が、1,1,3,3-テトラメチルグアニジン、トリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、及び1,8-ジアザビシクロ〔5.4.0〕-7-ウンデセンからなる群から選択される少なくとも1つである、〔27〕に記載の方法。

〔29〕

第二の塩基が、1,1,3,3-テトラメチルグアニジン、トリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、及び1,8-ジアザビシクロ〔5.4.0〕-7-ウンデセンからなる群から選択される少なくとも1つである、〔27〕又は〔28〕に記載の方法。

30

〔30〕

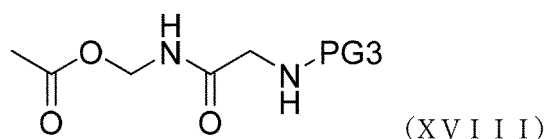
工程b2のシリル化剤が、tert-ブチルジメチルクロロシラン、又はtert-ブチルジメチルシリルトリフラートである、〔25〕～〔29〕のいずれか1つに記載の方法。

〔31〕

前記式(XV)の化合物が、以下の工程：

(工程b3) 式(XVIII)：

【化 4 3】



40

〔式中、PG3は、〔1〕に定義したとおりである。〕

で表される化合物を、酸又は塩基の存在下で、2-ハロエタノールと反応させて、式(XV)の化合物を得る工程

によって製造される、〔25〕～〔30〕のいずれか1つに記載の方法。

50

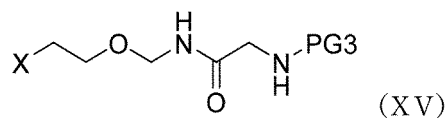
[3 2]

工程 b 3 の塩基が、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化リチウム、トリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、及び 1, 8-ジアザビシクロ [5 . 4 . 0] - 7-ウンデセンからなる群から選択される少なくとも 1 つである、[3 1] に記載の方法。

[3 3]

式 (X V) :

【化 4 4】



10

[式中、

PG 3 が、2- (トリメチルシリル) エトキシカルボニルであり、及び

X は、C l、B r、又は I である。]

で表される化合物。

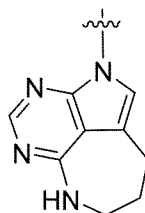
[3 4]

前記式 (V I I I ') の化合物

[式中、

A 1 は、

【化 4 5】



20

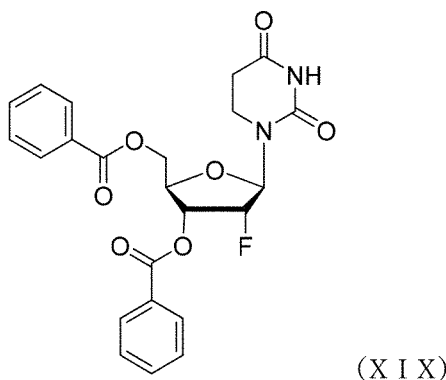
であり、及び

PG 5 は、4, 4'-ジメトキシトリチル、4-メトキシトリチル、2-クロロトリチル又はトリチルである。]

が、以下の工程：

(工程 c 1) 式 (X I X) :

【化 4 6】

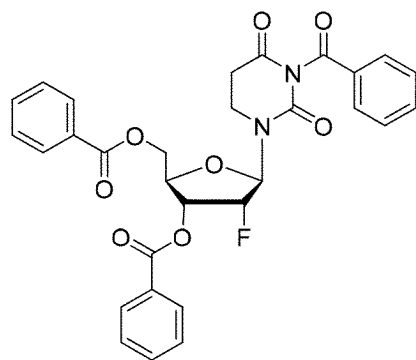


40

で表される化合物を、ベンゾイル化剤と反応させて、式 (X X) :

50

【化 4 7】



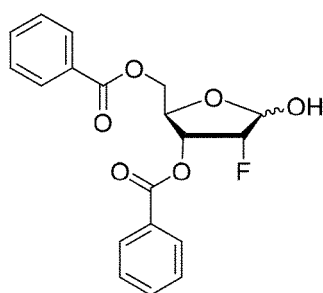
(XX)

10

で表される化合物を得る工程、

(工程 c 2) 得られた式 (XX) の化合物を、加水分解して、式 (XXI) :

【化 4 8】



(XXI)

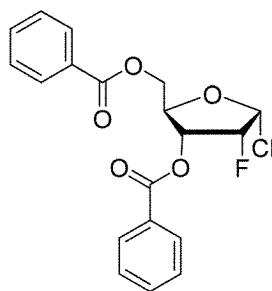
20

で表される化合物を得る工程、

(工程 c 3) 得られた式 (XXI) の化合物を、塩素化剤と反応させて、式 (XXII) :

:

【化 4 9】



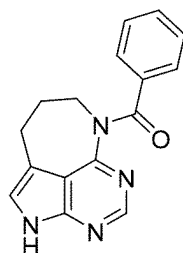
(XXII)

30

で表される化合物を得る工程、

(工程 c 4) 得られた式 (XXII) の化合物を、式 (XXIII) :

【化 5 0】



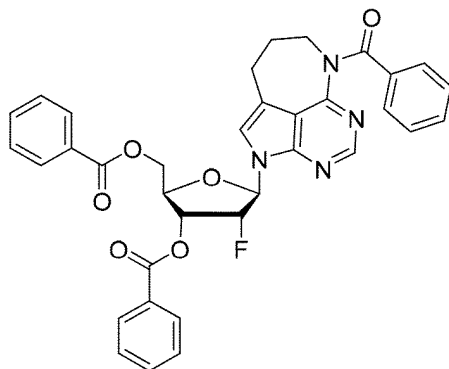
(XXIII)

40

で表される化合物と反応させて、式 (XXIV) :

50

【化 5 1】



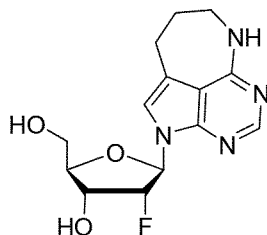
(XXIV)

10

で表される化合物を得る工程、

(工程 c 5) 得られた式 (XXIV) の化合物からベンゾイル基を、脱保護して、式 (XXV) :

【化 5 2】



(XXV)

20

で表される化合物又はその塩を得る工程、

(工程 c 6) 得られた式 (XXV) の化合物又はその塩を、トリチル化剤と反応させて、式 (VII') の化合物 (式中、A1 及び PG5 は、上に定義したとおりである。) 又はその塩を得る工程

によって製造される、[13] ~ [21] 及び [25] ~ [32] のいずれか 1 つに記載の方法。

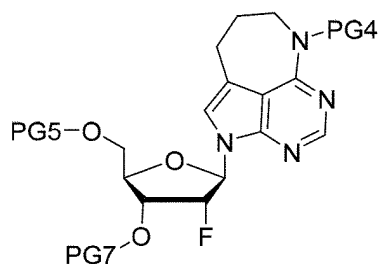
30

[35]

さらに、

(工程 c 7) 得られた式 (VII') の化合物 (式中、A1 及び PG5 は、[34] に定義したとおりである。) 又はその塩を、シリル化剤と反応させ、次いで、アシル化剤又はアルコキシカルボニル化剤と反応させて、式 (XXVI) :

【化 5 3】



(XXVI)

40

[式中、

PG4 は、ベンゾイル、2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニル、tert-ブトキシカルボニル、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル、アリルオキシカルボニル、2,2,2-トリクロロエトキシカルボニル、又はベンジルオキシカルボニルであり、

PG5 は、上に定義したとおりであり、及び

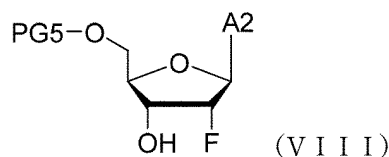
PG7 は、ヒドロキシ基の保護基である。]

50

で表される化合物を得る工程、並びに

(工程 c 8) 得られた式 (X X V I I) の化合物の保護基である P G 7 を脱保護して、式 (V I I I) :

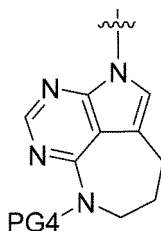
【化 5 4】



【式中、

A 2 は、

【化 5 5】



10

20

であり、及び

P G 4 及び P G 5 は、上に定義したとおりである。]

で表される化合物又はその塩を得る工程

を含む、【3 4】に記載の方法。

【3 6】

工程 c 3 の塩素化剤が、トリクロロイソシアヌル酸、クロロイソシアヌル酸、ジクロロイソシアヌル酸、N-クロロスクシンイミド、1, 3-ジクロロ-5, 5-ジメチルヒダントイン、及び四塩化炭素からなる群から選択される少なくとも1つであり、

工程 c 3 の反応が、トリス(2, 4-ジ-tert-ブチルフェニル)ホスファイト、トリ-o-トリルホスファイト、トリフェニルホスファイト、トリエチルホスファイト、及びトリフェニルホスフィンからなる群から選択される少なくとも1つの存在下で実施される、【3 4】又は【3 5】に記載の方法。

30

【3 7】

工程 c 4 が、炭酸セシウム、炭酸カリウム、炭酸ナトリウム、炭酸リチウム、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化リチウム、及び1, 8-ジアザビシクロ[5. 4. 0]-7-ウンデセンからなる群から選択される少なくとも1つの存在下で実施される、【3 4】～【3 6】のいずれか1つに記載の方法。

【3 8】

工程 c 6 のトリチル化剤が、4, 4-ジメトキシトリチルクロリド、4-メトキシトリチルクロリド、2-クロロトリチルクロリド、及びトリチルクロリドからなる群から選択される少なくとも1つである、【3 4】～【3 7】のいずれか1つに記載の方法。

40

【3 9】

工程 c 7 のアシル化剤又はアルコキシカルボニル化剤が、ベンゾイル化剤、2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニル化剤、tert-ブトキシカルボニル化剤、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル化剤、アリルオキシカルボニル化剤、2, 2, 2-トリクロロエトキシカルボニル化剤、及びベンジルオキシカルボニル化剤からなる群から選択される少なくとも1つである、【3 5】～【3 8】のいずれか1つに記載の方法。

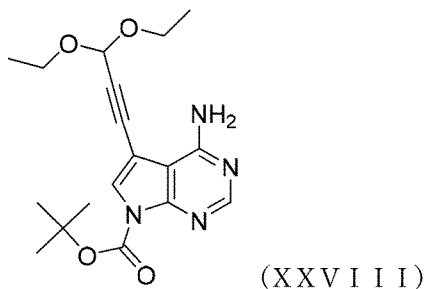
【4 0】

前記式 (X X I I I) の化合物が、以下の工程：

(工程 c 9) 式 (X X V I I I) :

50

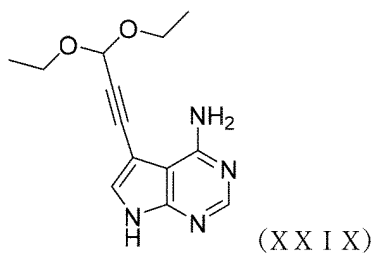
【化 5 6】



10

で表される化合物から *tert*-ブトキシカルボニル基を、脱保護して、式 (XXIX) :

【化 5 7】

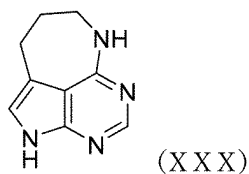


20

で表される化合物を得る工程、

(工程 c 1 0) 得られた式 (XXIX) の化合物を、触媒の存在下で、アルキンの還元反応、次いで還元的アミノ化反応を行って、式 (XXX) :

【化 5 8】



30

で表される化合物を得る工程、及び

(工程 c 1 1) 得られた式 (XXX) の化合物を、ベンゾイル化剤と反応させて、式 (XXXI) の化合物を得る工程

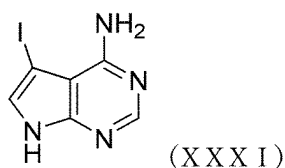
によって製造される、[3 4] ~ [3 9] のいずれか 1 つに記載の方法。

[4 1]

前記式 (XXVII) の化合物が、以下の工程 :

(工程 c 1 2) 式 (XXXI) :

【化 5 9】

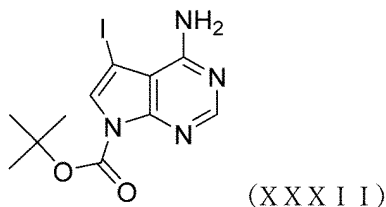


40

で表される化合物を、1-メチルイミダゾールの存在下、*tert*-ブトキシカルボニル化剤と反応させて、式 (XXXII) :

50

【化 6 0】



で表される化合物を得る工程、及び

(工程 c 1 3) 得られた式 (XXXII) の化合物を、プロパルギルアルデヒドジエチル
アセタールと反応させて、式 (XXXIII) の化合物を得る工程
によって製造される、[40]に記載の方法。

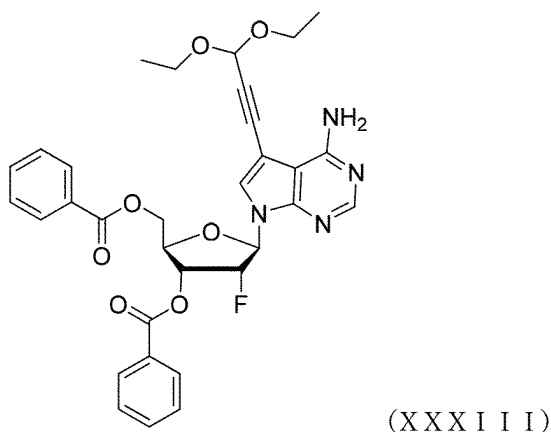
10

[42]

前記式 (XXIV) の化合物が、前記工程 c 4 の代わりに、以下の工程：

(工程 c 1 4) 前記式 (XXXII) の化合物を、前記式 (XXIX) の化合物と反応させ
て、式 (XXXIII)：

【化 6 1】



20

30

で表される化合物を得る工程、及び

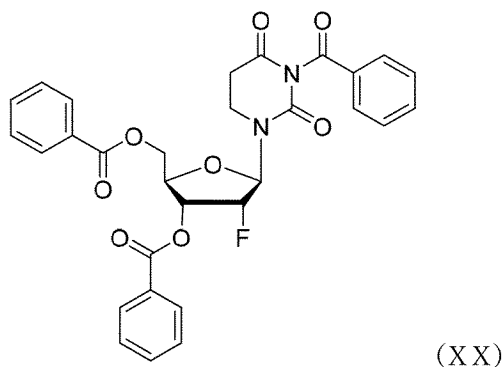
(工程 c 1 5) 得られた式 (XXXIII) の化合物を、触媒の存在下で、アルキンの還
元反応、次いで還元的アミノ化反応を行い、さらにベンゾイル化剤と反応させて、式 (X
XIV) の化合物を得る工程

によって製造される、[34]～[39]及び[41]のいずれか1つに記載の方法。

[43]

式 (XX)：

【化 6 2】



40

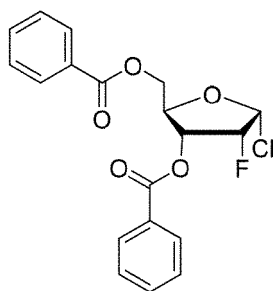
で表される化合物。

50

[4 4]

式 (X X I I) :

【化 6 3】



(XXII)

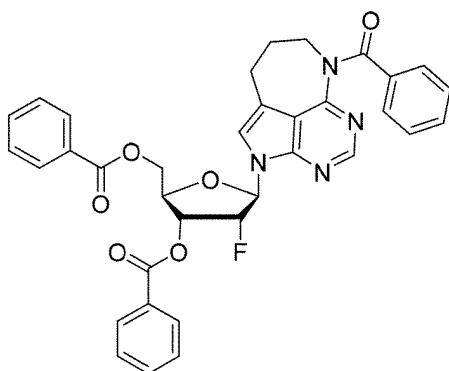
10

で表される化合物。

[4 5]

式 (X X I V) :

【化 6 4】



(XXIV)

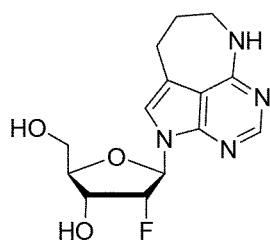
20

で表される化合物。

[4 6]

式 (X X V) :

【化 6 5】



(XXV)

30

で表される化合物又はその塩。

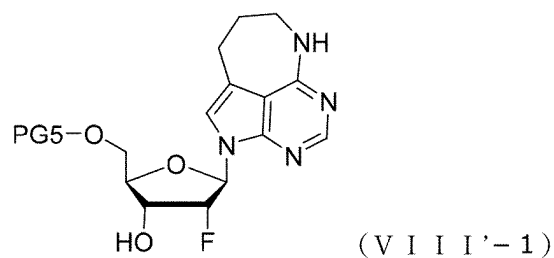
[4 7]

式 (V I I I ' - 1) :

40

50

【化 6 6】



10

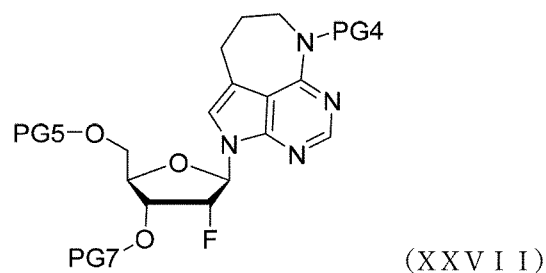
〔式中、PG5は、4，4'-ジメトキシトリチル、4-メトキシトリチル、2-クロロトリチル又はトリチルである。〕

で表される化合物又はその塩。

〔48〕

式 (XXVII) :

【化 6 7】



20

〔式中、

PG4が、ベンゾイル、2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニル、tert-ブトキシカルボニル、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル、アリルオキシカルボニル、2,2,2-トリクロロエトキシカルボニル、又はベンジルオキシカルボニルであり、

PG5が、4，4'-ジメトキシトリチル、4-メトキシトリチル、2-クロロトリチル又はトリチルであり、及び

30

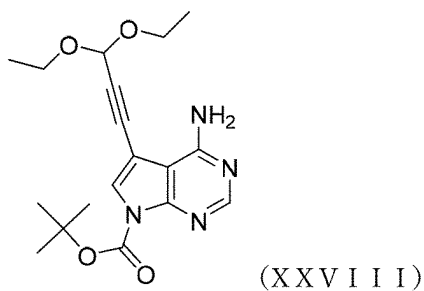
PG7が、トリメチルシリル、トリエチルシリル、トリイソプロピルシリル、tert-ブチルジメチルシリル、tert-ブチルジフェニルシリル、又はトリフェニルシリルである。〕

で表される化合物。

〔49〕

式 (XXVIII) :

【化 6 8】



40

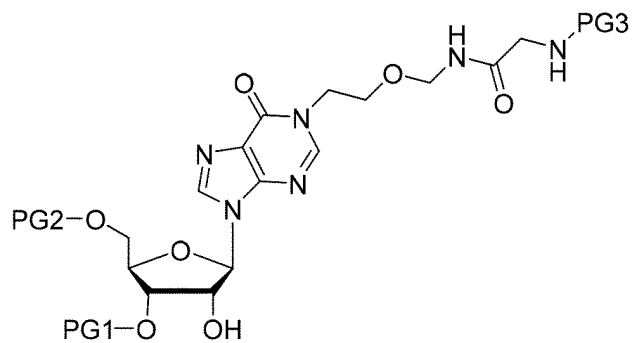
で表される化合物。

〔50〕

式 (I) :

50

【化 6 9】



10

[式中、

PG1は、tert-ブチルジメチルシリルであり、

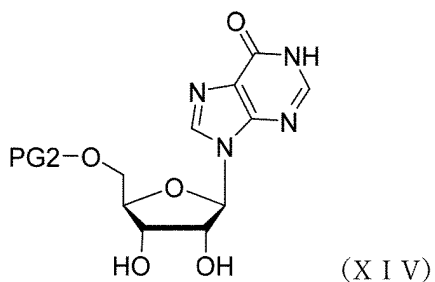
PG2は、ヒドロキシ基の保護基であり、及び

PG3は、アミノ基の保護基である。]

で表される化合物の製造方法であって、

(工程b1) 式(XIV)：

【化 7 0】

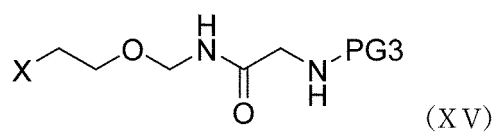


20

[式中、PG2は、上に定義したとおりである。]

で表される化合物を、式(XV)：

【化 7 1】



30

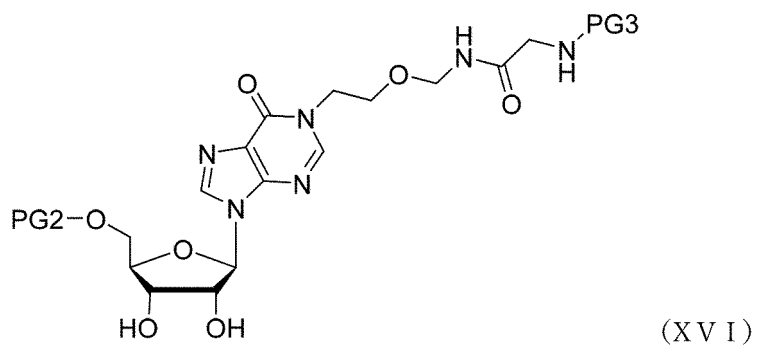
[式中、

PG3は、上に定義したとおりであり、及び

Xは、Cl、Br、又はIである。]

で表される化合物と反応させて、式(XVI)：

【化 7 2】



40

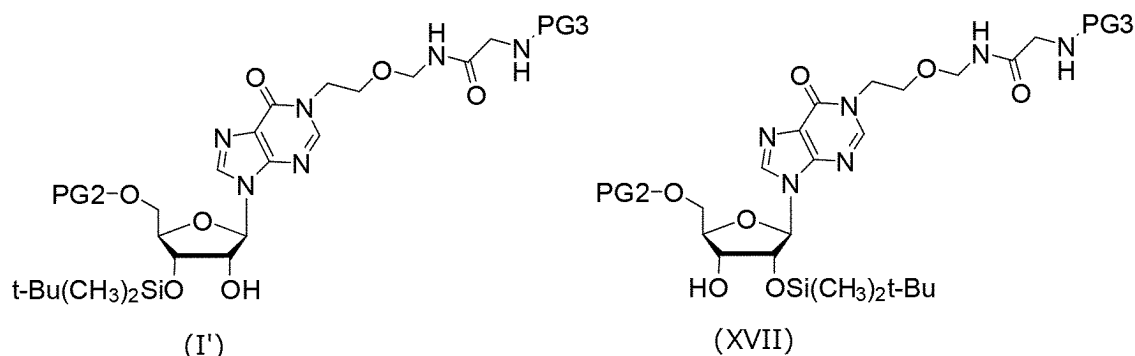
50

〔式中、PG2及びPG3は、上に定義したとおりである。〕

で表される化合物を得る工程、及び

(工程b2)得られた式(XVI)の化合物を、シリル化剤と反応させて、以下の式(I')の化合物及び式(XVII)の化合物との混合物：

〔化73〕



10

〔式中、PG2及びPG3は、上に定義したとおりである。〕

を得、次いで、塩基の存在下で、該混合物中の式(XVII)の化合物を、式(I')の化合物に変換して、式(I')の化合物を得る工程を含む、方法。

20

〔51〕

工程b1の反応が塩基の存在下で実施され、該塩基が、1,1,3,3-テトラメチルグアニジン、トリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、又は1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]-7-ウンデセンである、〔50〕に記載の方法。

〔52〕

工程b2において、式(XVI)の化合物とシリル化剤との反応を、第一の塩基の存在下で実施して、式(I')の化合物と式(XVII)の化合物との混合物を得、次いで、該混合物中の式(XVII)の化合物を、第二の塩基の存在下で、式(I')の化合物に変換して、式(I')の化合物を得る工程を含む、〔50〕又は〔51〕に記載の方法。

〔53〕

第一の塩基が、1,1,3,3-テトラメチルグアニジン、トリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、及び1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]-7-ウンデセンからなる群から選択される少なくとも1つである、〔52〕に記載の方法。

〔54〕

第二の塩基が、1,1,3,3-テトラメチルグアニジン、トリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、及び1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]-7-ウンデセンからなる群から選択される少なくとも1つである、〔52〕又は〔53〕に記載の方法。

〔55〕

工程b2のシリル化剤が、tert-ブチルジメチルクロロシラン、又はtert-ブチルジメチルシリルトリフラートである、〔50〕～〔54〕のいずれか1つに記載の方法。

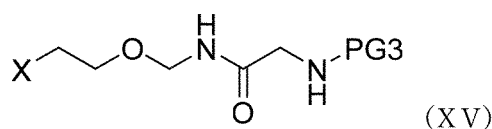
30

40

〔56〕

式(XV)：

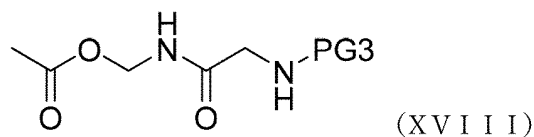
〔化74〕



〔式中、

50

PG3は、アミノ基の保護基であり、及び
 Xは、Cl、Br、又はIである。]
 で表される化合物の製造方法であって、
 (工程b3) 式(XVII I) :
 【化75】



10

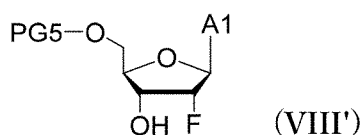
[式中、PG3は、上に定義したとおりである。]
 で表される化合物を、酸又は塩基の存在下で、2-ハロエタノールと反応させて、式(XV)
 の化合物を得る工程
 を含む、方法。
 【57】

工程b3の塩基が、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化リチウム、トリエチル
 アミン、ジイソプロピルエチルアミン、及び1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]-7-
 -ウンデセンからなる群から選択される少なくとも1つである、【56】に記載の方法。
 【58】

20

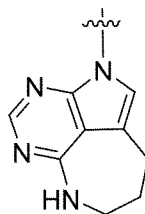
式(VII I') :

【化76】



[式中、
 A1は、
 【化77】

30



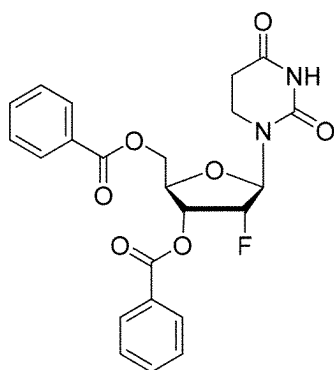
であり、及び

PG5は、4,4'-ジメトキシトリチル、4-メトキシトリチル、2-クロロトリチ
 ル又はトリチルである。]
 で表される化合物の製造方法であって、
 (工程c1) 式(XIX) :

40

50

【化 7 8】

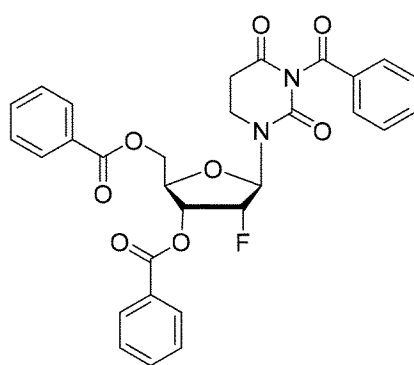


(XIX)

10

で表される化合物を、ベンゾイル化剤と反応させて、式 (XX) :

【化 7 9】



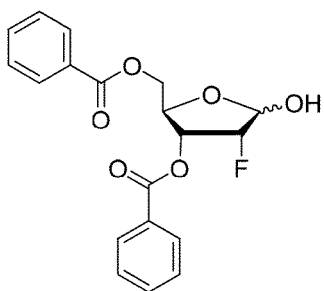
(XX)

20

で表される化合物を得る工程、

(工程 c 2) 得られた式 (XX) の化合物を、加水分解して、式 (XXI) :

【化 8 0】



(XXI)

30

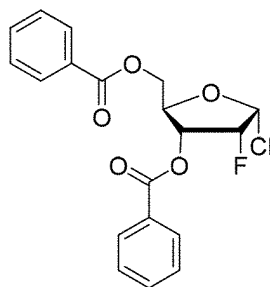
で表される化合物を得る工程、

(工程 c 3) 得られた式 (XXI) の化合物を、塩素化剤と反応させて、式 (XXII) :

40

50

【化 8 1】



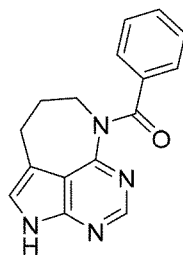
(XXII)

10

で表される化合物を得る工程、

(工程 c 4) 得られた式 (XXII) の化合物を、式 (XXIII) :

【化 8 2】

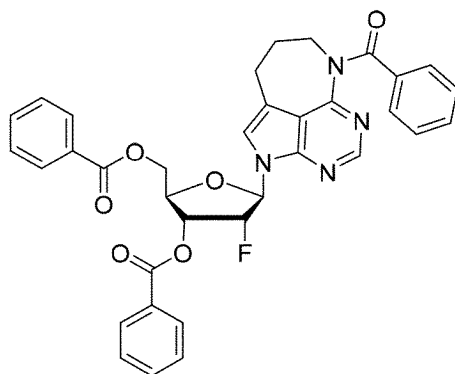


(XXIII)

20

で表される化合物と反応させて、式 (XXIV) :

【化 8 3】



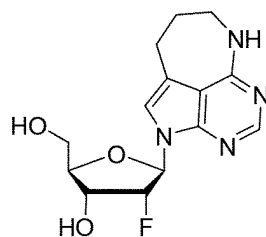
(XXIV)

30

で表される化合物を得る工程、

(工程 c 5) 得られた式 (XXIV) の化合物からベンゾイル基を、脱保護して、式 (XXV) :

【化 8 4】



(XXV)

40

で表される化合物又はその塩を得る工程、

(工程 c 6) 得られた式 (XXV) の化合物又はその塩を、トリチル化剤と反応させて、式 (VII') の化合物 (式中、A1 及び PG5 は、上に定義したとおりである。) 又

50

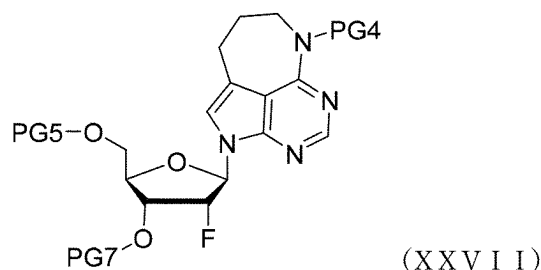
はその塩を得る工程
を含む、方法。

〔 5 9 〕

さらに、

（工程 c 7）得られた式（V I I I'）の化合物（式中、A 1 及び P G 5 は、 5 8〕に
定義したとおりである。）又はその塩を、シリル化剤と反応させ、次いで、アシル化剤又
はアルコキシカルボニル化剤と反応させて、式（X X V I I）：

〔化 8 5〕



10

〔式中、

P G 4 は、ベンゾイル、2-（トリメチルシリル）エトキシカルボニル、tert-ブ
トキシカルボニル、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル、アリルオキシカルボニル
、2, 2, 2-トリクロロエトキシカルボニル、又はベンジルオキシカルボニルであり、

20

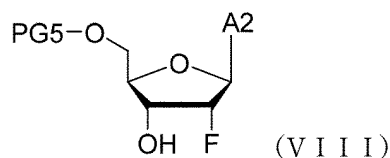
P G 5 は、上に定義したとおりであり、及び

P G 7 は、ヒドロキシ基の保護基である。〕

で表される化合物を得る工程、並びに

（工程 c 8）得られた式（X X V I I）の化合物の保護基である P G 7 を脱保護して、式
（V I I I）：

〔化 8 6〕

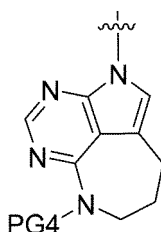


30

〔式中、

A 2 は、

〔化 8 7〕



40

であり、及び

P G 4 及び P G 5 は、上に定義したとおりである。〕

で表される化合物又はその塩を得る工程

を含む、〔 5 8 〕に記載の方法。

〔 6 0 〕

工程 c 3 の塩素化剤が、トリクロロイソシアヌル酸、クロロイソシアヌル酸、ジクロロ
イソシアヌル酸、N-クロロスクシンイミド、1, 3-ジクロロ-5, 5-ジメチルヒダ

50

ントイン、及び四塩化炭素からなる群から選択される少なくとも1つであり、

工程 c 3 の反応が、トリス (2, 4-*tert*-ブチルフェニル) ホスファイト、トリ-*o*-トリルホスファイト、トリフェニルホスファイト、トリエチルホスファイト、及びトリフェニルホスフィンからなる群から選択される少なくとも1つの存在下で実施される、[59]に記載の方法。

[61]

工程 c 4 が、炭酸セシウム、炭酸カリウム、炭酸ナトリウム、炭酸リチウム、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化リチウム、及び1, 8-ジアザビシクロ[5. 4. 0]-7-ウンデセンからなる群から選択される少なくとも1つの存在下で実施される、[59]又は[60]に記載の方法。

10

[62]

工程 c 6 のトリチル化剤が、4, 4-ジメトキシトリチルクロリド、4-メトキシトリチルクロリド、2-クロロトリチルクロリド、及びトリチルクロリドからなる群から選択される少なくとも1つである、[59]～[61]のいずれか1つに記載の方法。

[63]

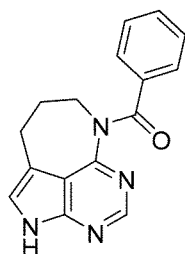
工程 c 7 のアシル化剤又はアルコキシカルボニル化剤が、ベンゾイル化剤、2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニル化剤、*tert*-ブトキシカルボニル化剤、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル化剤、アリルオキシカルボニル化剤、2, 2, 2-トリクロロエトキシカルボニル化剤、及びベンジルオキシカルボニル化剤からなる群から選択される少なくとも1つである、[59]～[62]のいずれか1つに記載の方法。

20

[64]

式 (XXIII) :

[化88]



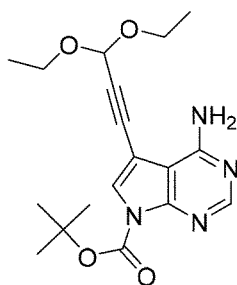
(XXIII)

30

で表される化合物の製造方法であって、

(工程 c 9) 式 (XXVII) :

[化89]



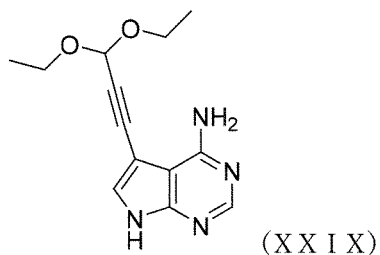
(XXVII)

40

で表される化合物から *tert*-ブトキシカルボニル基を、脱保護して、式 (XXIX) :

50

【化 9 0】

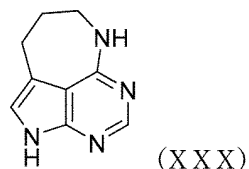


で表される化合物を得る工程、

10

(工程 c 1 0) 得られた式 (XXIX) の化合物を、触媒の存在下で、アルキンの還元反応、次いで還元的アミノ化反応を行って、式 (XXX) :

【化 9 1】



で表される化合物を得る工程、及び

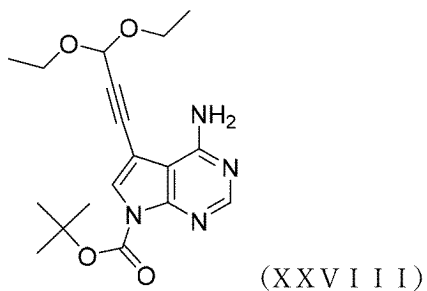
20

(工程 c 1 1) 得られた式 (XXX) の化合物を、ベンゾイル化剤と反応させて、式 (XXVII) の化合物を得る工程を含む、方法。

【 6 5】

式 (XXVII) :

【化 9 2】

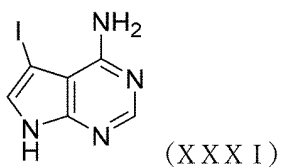


30

で表される化合物の製造方法であって、

(工程 c 1 2) 式 (XXXI) :

【化 9 3】

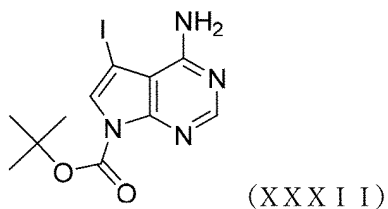


40

で表される化合物を、1-メチルイミダゾールの存在下、tert-ブトキシカルボニル化剤と反応させて、式 (XXXII) :

50

【化 9 4】



で表される化合物を得る工程、及び

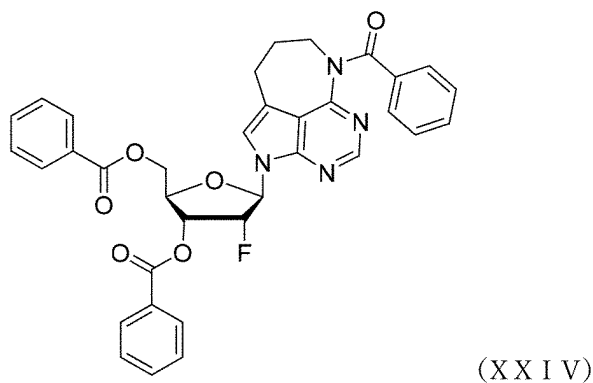
(工程 c 1 3) 得られた式 (X X X I I) の化合物を、プロパルギルアルデヒドジエチル
アセタールと反応させて、式 (X X V I I I) の化合物を得る工程 10

を含む、方法。

[6 6]

式 (X X I V) :

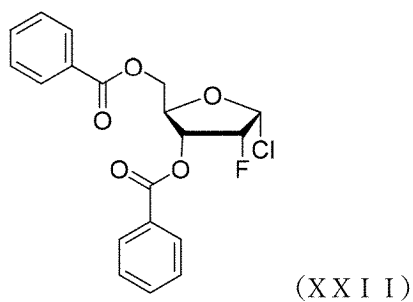
【化 9 5】



で表される化合物の製造方法であって、

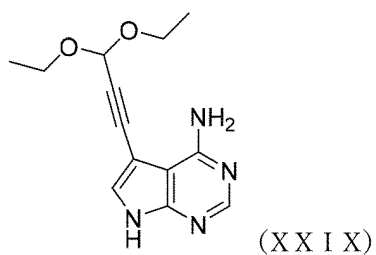
(工程 c 1 4) 式 (X X I I) :

【化 9 6】



で表される化合物を、式 (X X I X) :

【化 9 7】



で表される化合物と反応させて、式 (X X X I I I) :

10

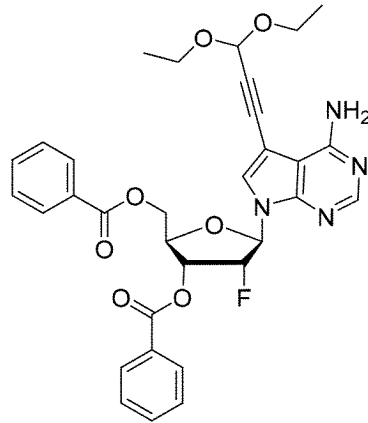
20

30

40

50

【化 9 8】



(XXXIII)

10

20

30

40

50

で表される化合物を得る工程、及び

(工程 c 15) 得られた式 (XXXIII) の化合物を、触媒の存在下で、アルキンの還元反応、次いで還元的アミノ化反応を行い、さらにベンゾイル化剤と反応させて、式 (XXIV) の化合物を得る工程

を含む、方法。

に関する。

【発明の効果】

【0012】

本発明により、環状ジヌクレオチドの立体選択的な製造方法を提供できる。この製造方法によれば、ジアステレオマー精製の負担が軽減され、目的とする立体配置を有する CDN をより高収率で、大量に製造することができる。また、その結果として、この立体選択的な CDN の製造方法を含む CDN-リンカーの製造方法によって、CDN-リンカーを高収率で製造することができる。さらに、本発明により、環状ジヌクレオチドの製造に用いる原料化合物の調製についても、より短い工程数で、かつ高収率で製造することができる。

【図面の簡単な説明】

【0013】

【図 1】環状ジヌクレオチドの製造方法において、光学活性なホスフィチル化剤 (Rc-III) を用いて、2 種類のヌクレオチド (化合物 (I) 及び化合物 (IV)) を立体選択的にホスホロチエート結合させて、製造中間体 (Rc-V) を得る工程を示す。

【図 2】抗 CD70 抗体 1 軽鎖のアミノ酸配列 (配列番号 1) 及び抗 CD70 抗体 1 重鎖のアミノ酸配列 (配列番号 2) を示す。

【図 3】抗 CD70 抗体 2 軽鎖のアミノ酸配列 (配列番号 3) 及び抗 CD70 抗体 2 重鎖のアミノ酸配列 (配列番号 4) を示す。

【図 4】抗 TROP2 抗体 1 軽鎖のアミノ酸配列 (配列番号 5) 及び抗 TROP2 抗体 1 重鎖のアミノ酸配列 (配列番号 6) を示す。

【図 5】抗 TROP2 抗体 2 軽鎖のアミノ酸配列 (配列番号 7) 及び抗 TROP2 抗体 2 重鎖のアミノ酸配列 (配列番号 8) を示す。

【図 6】抗 EGFR 抗体 1 軽鎖のアミノ酸配列 (配列番号 9) 及び抗 EGFR 抗体 1 重鎖のアミノ酸配列 (配列番号 10) を示す。

【図 7】抗 EGFR 抗体 2 の軽鎖のアミノ酸配列 (配列番号 11) 及び抗 EGFR 抗体 2 の重鎖のアミノ酸配列 (配列番号 12) を示す。

【図 8】抗 CD70 抗体 1 の CDR L1 アミノ酸配列 (配列番号 13)、抗 CD70 抗体 1 の CDR L2 アミノ酸配列 (配列番号 14)、抗 CD70 抗体 1 の CDR L3 アミノ酸配列 (配列番号 15)、抗 CD70 抗体 1 の CDR H1 アミノ酸配列 (配列番号 16)、抗 CD70 抗体 1 の CDR H2 アミノ酸配列 (配列番号 17)、及び抗 CD70 抗体 1 の

CDRH3 アミノ酸配列（配列番号 18）を示す。CDR 配列は K a b a t の定義により決定した。

【図 9】抗 CD70 抗体 2 の CDR L1 アミノ酸配列（配列番号 19）、抗 CD70 抗体 2 の CDR L2 アミノ酸配列（配列番号 20）、抗 CD70 抗体 2 の CDR L3 アミノ酸配列（配列番号 21）、抗 CD70 抗体 2 の CDR H1 アミノ酸配列（配列番号 22）、抗 CD70 抗体 2 の CDR H2 アミノ酸配列（配列番号 23）、及び抗 CD70 抗体 2 の CDR H3 アミノ酸配列（配列番号 24）を示す。CDR 配列は K a b a t の定義により決定した。

【図 10】抗 TROP2 抗体 1 の CDR L1 アミノ酸配列（配列番号 25）、抗 TROP2 抗体 1 の CDR L2 アミノ酸配列（配列番号 26）、抗 TROP2 抗体 1 の CDR L3 アミノ酸配列（配列番号 27）、抗 TROP2 抗体 1 の CDR H1 アミノ酸配列（配列番号 28）、抗 TROP2 抗体 1 の CDR H2 アミノ酸配列（配列番号 29）、及び抗 TROP2 抗体 1 の CDR H3 アミノ酸配列（配列番号 30）を示す。CDR 配列は K a b a t の定義により決定した。

【図 11】抗 TROP2 抗体 2 の CDR L1 アミノ酸配列（配列番号 31）、抗 TROP2 抗体 2 の CDR L2 アミノ酸配列（配列番号 32）、抗 TROP2 抗体 2 の CDR L3 アミノ酸配列（配列番号 33）、抗 TROP2 抗体 2 の CDR H1 アミノ酸配列（配列番号 34）、抗 TROP2 抗体 2 の CDR H2 アミノ酸配列（配列番号 35）、及び抗 TROP2 抗体 2 の CDR H3 アミノ酸配列（配列番号 36）を示す。CDR 配列は K a b a t の定義により決定した。

【図 12】抗 EGFR 抗体 1 の CDR L1 アミノ酸配列（配列番号 37）、抗 EGFR 抗体 1 の CDR L2 アミノ酸配列（配列番号 38）、抗 EGFR 抗体 1 の CDR L3 アミノ酸配列（配列番号 39）、抗 EGFR 抗体 1 の CDR H1 アミノ酸配列（配列番号 40）、抗 EGFR 抗体 1 の CDR H2 アミノ酸配列（配列番号 41）、及び抗 EGFR 抗体 1 の CDR H3 アミノ酸配列（配列番号 42）を示す。CDR 配列は K a b a t の定義により決定した。

【図 13】抗 EGFR 抗体 2 の CDR L1 アミノ酸配列（配列番号 43）、抗 EGFR 抗体 2 の CDR L2 アミノ酸配列（配列番号 44）、抗 EGFR 抗体 2 の CDR L3 アミノ酸配列（配列番号 45）、抗 EGFR 抗体 2 の CDR H1 アミノ酸配列（配列番号 46）、抗 EGFR 抗体 2 の CDR H2 アミノ酸配列（配列番号 47）、及び抗 EGFR 抗体 2 の CDR H3 アミノ酸配列（配列番号 48）を示す。CDR 配列は K a b a t の定義により決定した。

【図 14】トラスツズマブ軽鎖のアミノ酸配列（配列番号 49）及びトラスツズマブ重鎖のアミノ酸配列（配列番号 50）を示す。

【図 15】改変抗 HER2 抗体の軽鎖のアミノ酸配列（配列番号 49）及び改変抗 HER2 抗体の重鎖のアミノ酸配列（配列番号 51）を示す。

【図 16】ペルツズマブ軽鎖のアミノ酸配列（配列番号 52）及びペルツズマブ重鎖のアミノ酸配列（配列番号 53）を示す。

【図 17】改変抗 HER2 抗体 2 の軽鎖のアミノ酸配列（配列番号 52）及び改変抗 HER2 抗体 2 の重鎖のアミノ酸配列（配列番号 54）を示す。

【図 18】抗 CDH6 抗体の軽鎖のアミノ酸配列（配列番号 55）及び抗 CDH6 抗体の重鎖のアミノ酸配列（配列番号 56）を示す。

【図 19】抗体-免疫賦活化剤コンジュゲート（（X X X I V）の分子）である、SG 型糖鎖リモデリング抗体から得られた抗体-免疫賦活化剤コンジュゲート（図 19A の（X X X I V）の分子）及びMSG 型糖鎖リモデリング抗体から得られた抗体-免疫賦活化剤コンジュゲート（図 19B の（X X X I V）の分子）を模式的に表したものである。（a）は免疫賦活化剤 D、（b）はリンカー L、（c）はPEG リンカー（L（PEG））、（d）はN297 糖鎖（ここで、白色の円はNeuAc（Sia）、白色の六角形はMan、黒色の六角形はGlcNAc、白色のひし形はGal、及び白色の逆三角形はFuc）をそれぞれ表す。白色の五角形は、リンカー L 由来のアルキンとPEG リンカー由来の

10

20

30

40

50

アジド基が反応して生成したトリアゾール環を表す。Y字型は、抗体Abを表す。PEGリンカーは、非還元末端に位置するシアル酸の2位のカルボキシル基とアミド結合を介して連結している。このような表示方法は、特に言及がない限り、本明細書の全体を通じて適用される。

【図20】ペルツズマブのCDRL1アミノ酸配列（配列番号57）、ペルツズマブのCDRL2アミノ酸配列（配列番号58）、ペルツズマブのCDRL3アミノ酸配列（配列番号59）、ペルツズマブのCDRH1アミノ酸配列（配列番号60）、ペルツズマブのCDRH2アミノ酸配列（配列番号61）、及びペルツズマブのCDRH3アミノ酸配列（配列番号62）を示す。CDR配列はIMGTの定義により決定した。

【図21】抗CDH6抗体のCDRL1アミノ酸配列（配列番号63）、抗CDH6抗体のCDRL2アミノ酸配列（配列番号64）、抗CDH6抗体のCDRL3アミノ酸配列（配列番号65）、抗CDH6抗体のCDRH1アミノ酸配列（配列番号66）、抗CDH6抗体のCDRH2アミノ酸配列（配列番号67）、及び抗CDH6抗体のCDRH3アミノ酸配列（配列番号68）を示す。CDR配列はKabattの定義により決定した。

10

【発明を実施するための形態】

【0014】

本発明は、一態様として、STINGアゴニスト活性を有し、免疫細胞を賦活化する抗体-免疫賦活化剤コンジュゲートの中間体であるCDN誘導体の新規な製造方法を提供する。そのような抗体-免疫賦活化剤コンジュゲートは、国際公開第2020/050406号公報（特許文献6）に開示されている。

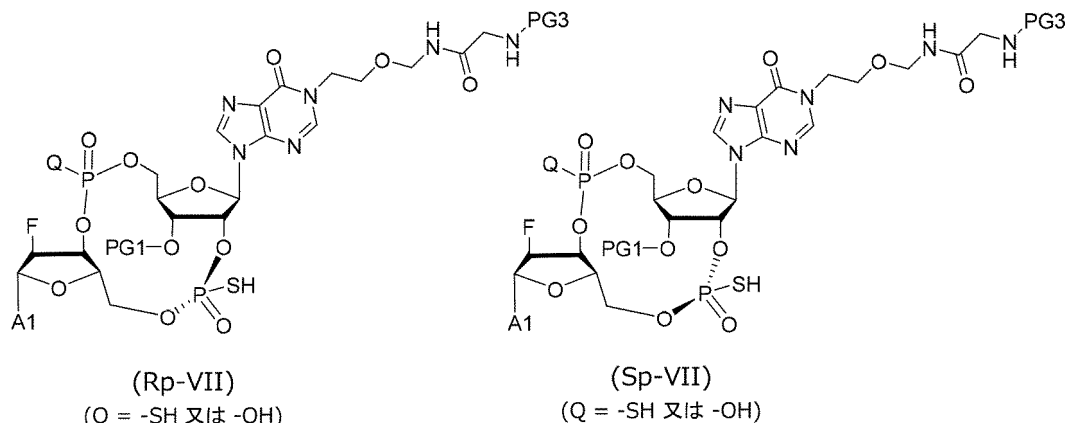
20

【0015】

本発明の一実施形態は、以下の式(Rp-VII)又は式(Sp-VII)の構造を有するCDN誘導体を、立体選択的に合成する方法である。

【0016】

【化99】



30

【0017】

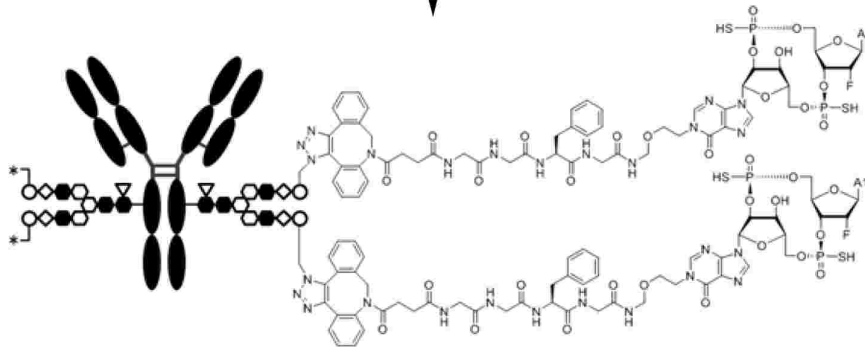
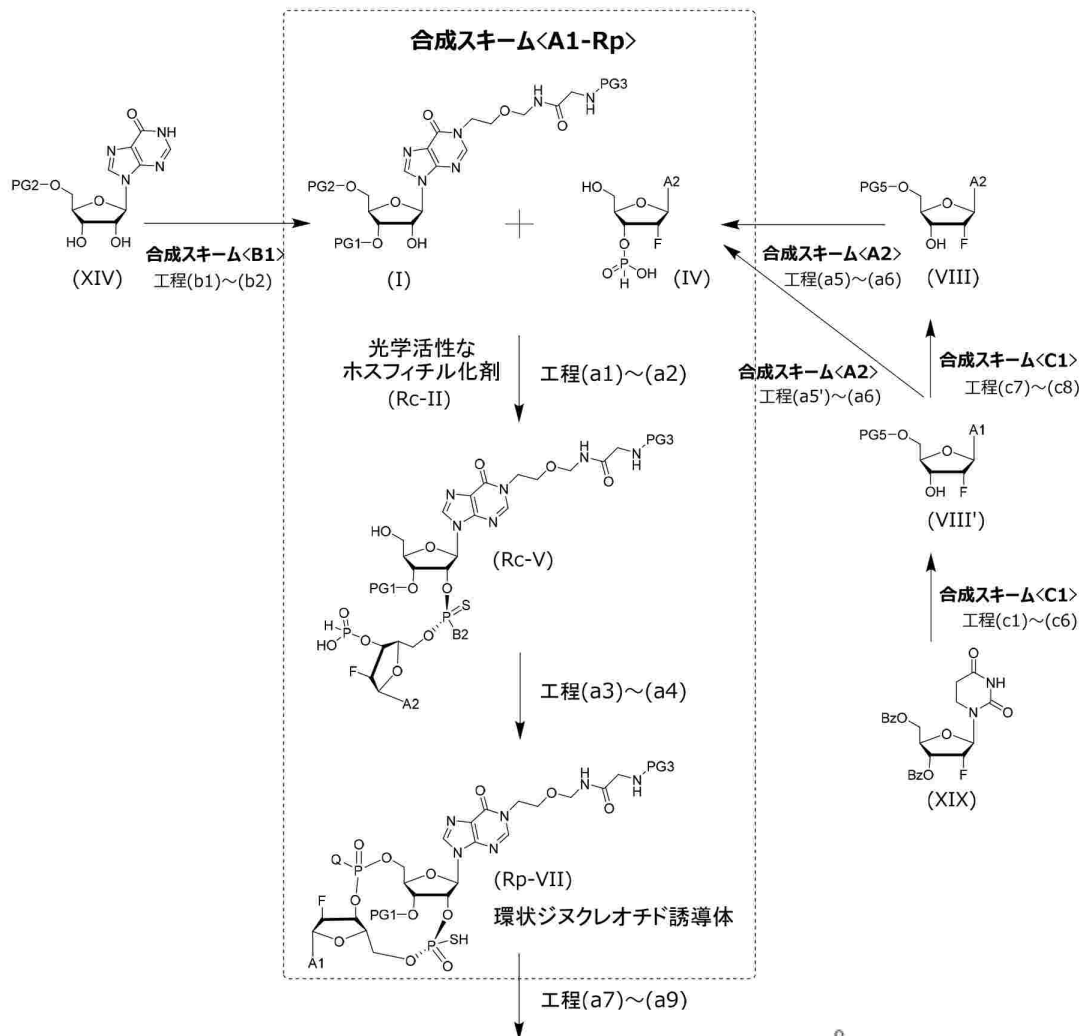
一実施形態である、式(Rp-VII)のCDN誘導体の新規な製造方法を中心とした、本発明の代表的なスキームの概要を以下に示す。

40

【0018】

50

【化 1 0 0】



(Rp,Rp-XIII) 抗体-免疫賦活化剤コンジュゲート

【0 0 1 9】

以下、本発明を実施するための好適な形態について説明する。なお、以下に説明する実施形態は、本発明の代表的な実施形態の一例を示したものであり、これによって本発明の範囲が狭く解釈されることはない。なお、本明細書において、化合物を示すために、各反応式中に示される化合物の番号を用いる。すなわち、「式 (I) の化合物」、「化合物 (I)」等と称する。また、これ以外の番号の化合物についても同様に記載する。

【0 0 2 0】

< 1. 環状ジヌクレオチド (CDN) 及び CDN-リンカーの製造 >

< 1-1. 環状ジヌクレオチド (化合物 (Rp-VII) 及び (Sp-VII)) の製造

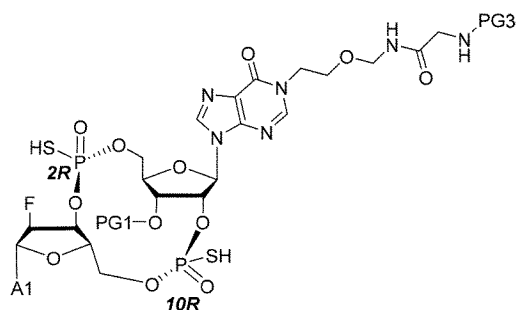
方法及びその中間体＞

【0021】

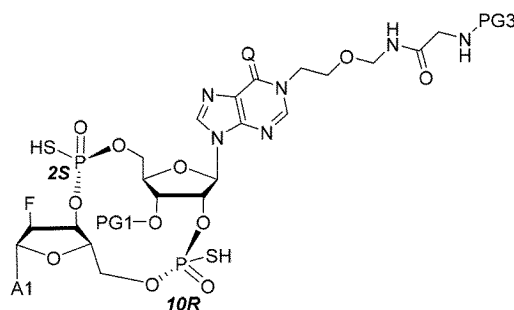
従来の製造方法では、以下に示す4種類の環状ジヌクレオチドが、立体非選択的に合成されていた（特許文献6等参照）。これらの4種類の環状ジヌクレオチドの立体配置は、2つのリン原子上の絶対立体配置について、（2位のリンの絶対立体配置，10位のリンの絶対立体配置）の順で、（Rp，Rp）、（Sp，Rp）、（Rp，Sp）、（Sp，Sp）と表記される。

【0022】

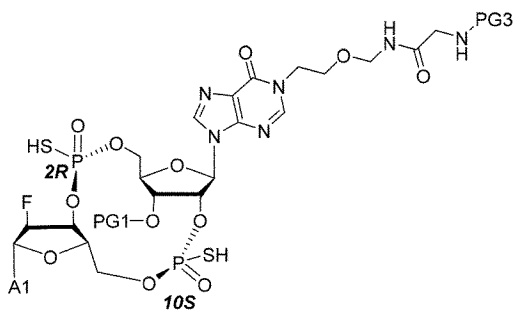
【化101】



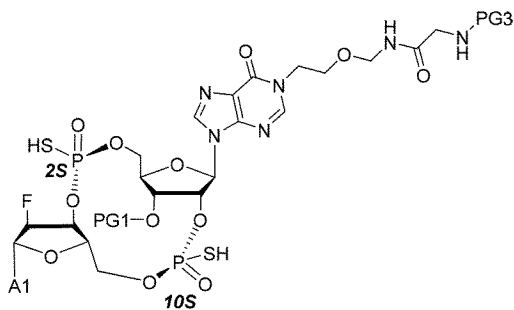
(2Rp,10Rp)-(VII) = (Rp,Rp-VII)
(Q=-SHの場合)



(2Sp,10Rp)-(VII) = (Sp,Rp-VII)
(Q=-SHの場合)



(2Rp,10Sp)-(VII) = (Rp,Sp-VII)
(Q=-SHの場合)



(2Sp,10Sp)-(VII) = (Sp,Sp-VII)
(Q=-SHの場合)

【0023】

本発明のCDNの製造では、一実施形態において、式（Rp-VII）の環状ジヌクレオチドを、以下の合成スキーム＜A1-Rp＞に従って製造することができる。

【合成スキーム＜A1-Rp＞】

【0024】

10

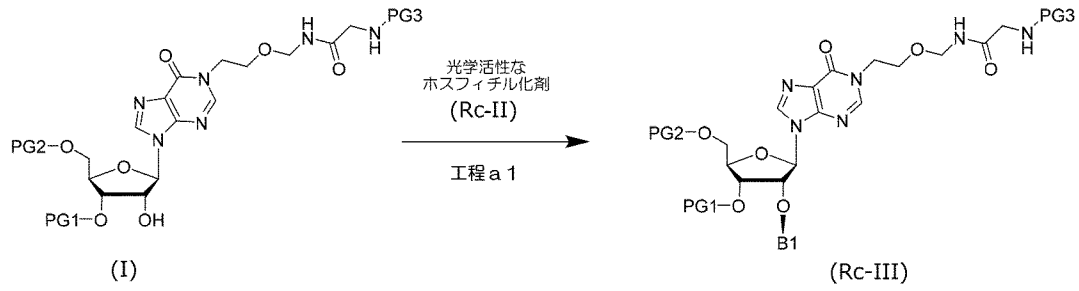
20

30

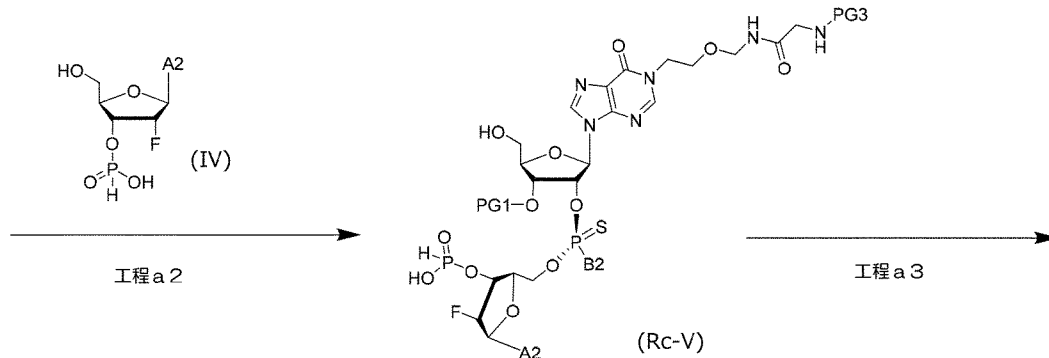
40

50

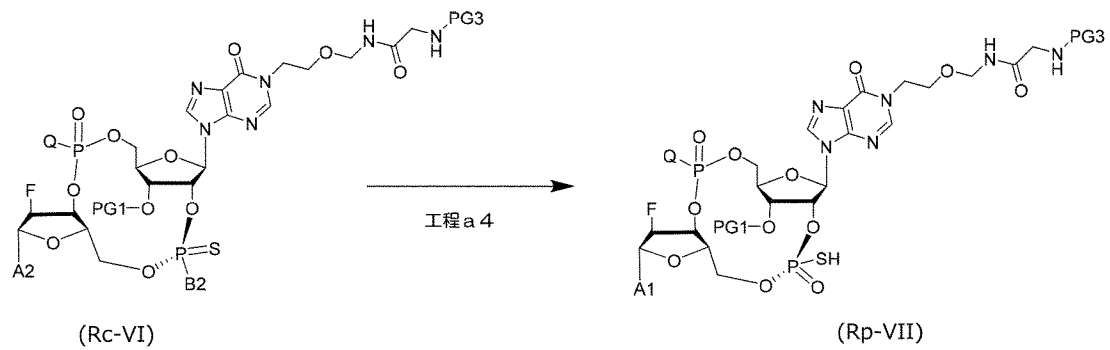
【化 1 0 2】



10



20



30

【0 0 2 5】

別の実施形態では、式 (Sp-VII) の環状ジヌクレオチドは、以下の合成スキーム < A 1 - S p > に従って製造することができる。

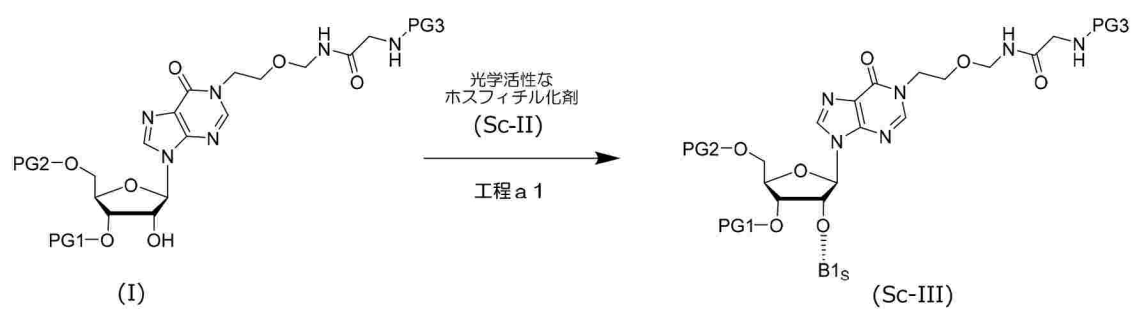
[合成スキーム < A 1 - S p >]

【0 0 2 6】

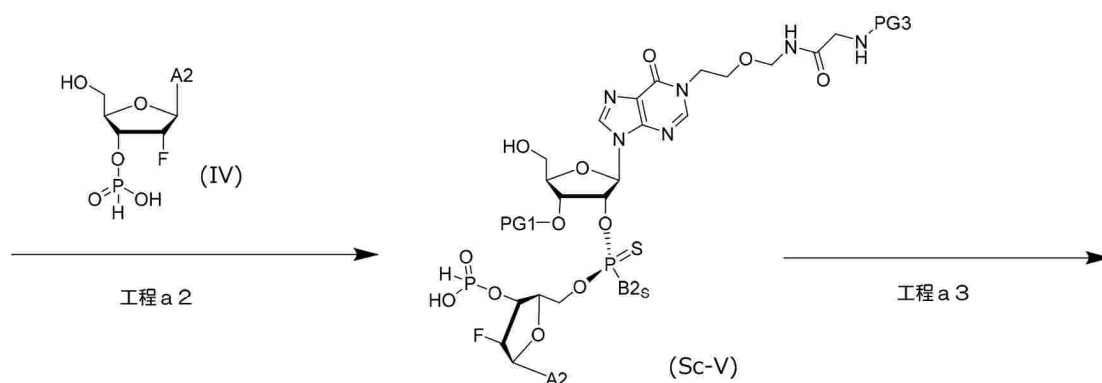
40

50

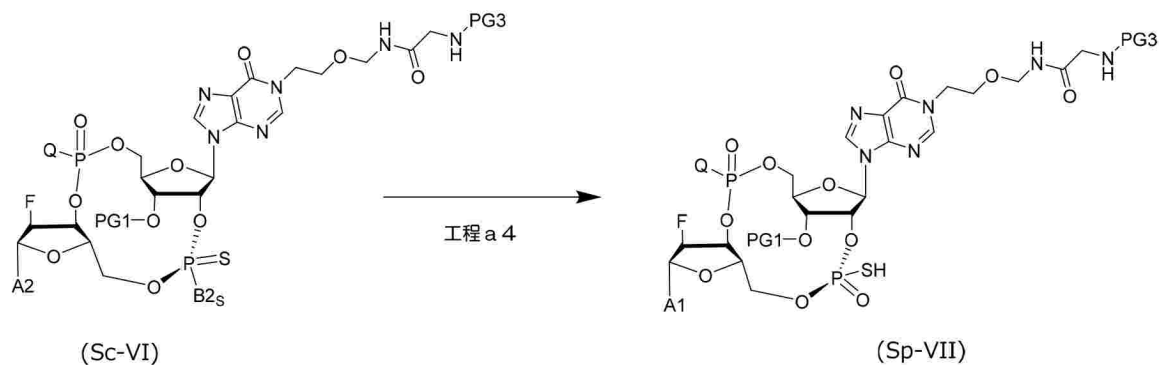
【化 1 0 3】



10



20



30

【0 0 2 7】

上記の〔合成スキーム<A 1 - R p>及び<A 1 - S p>〕中、

PG 1は、ヒドロキシ基の保護基であり、

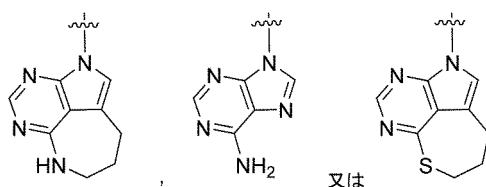
PG 2は、ヒドロキシ基の保護基であり、

PG 3は、アミノ基の保護基であり、

A 1は、

【0 0 2 8】

【化 1 0 4】



40

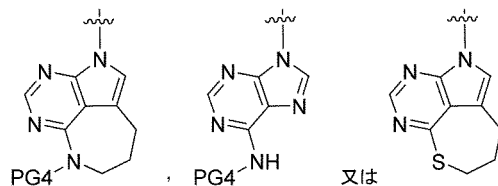
50

であり、

A 2 は、

【 0 0 2 9 】

【 化 1 0 5 】



10

(ここで、PG 4 は、アミノ基の保護基である。)

であり、

光学活性なホスフィチル化剤 (Rc-ⅠⅠ) は、

【 0 0 3 0 】

【 化 1 0 6 】



(Rc-II-1)

又は

(Rc-II-2)

20

(ここで、R 1 は、水素又はメチルであり、R 2 は、水素、炭素数 1 ～ 3 のアルキル又はフェニルであり、前記アルキルは、非置換であるか、又は 1 つ以上のフェニル、トシル若しくはジフェニルメチルシリルで置換されており、及び、前記フェニルは、非置換であるか、又はニトロ若しくはメトキシで置換されている。)

であり、光学活性なホスフィチル化剤 (Sc-ⅠⅠ) は、

【 0 0 3 1 】

【 化 1 0 7 】



(Sc-II-1)

又は

(Sc-II-2)

30

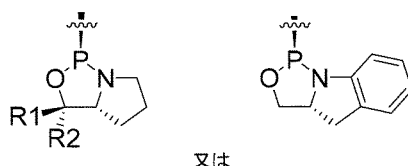
(ここで、R 1 及び R 2 は、上のホスフィチル化剤 (Rc-ⅠⅠ) と同義である。)

であり、

合成スキーム< A 1 - R p >において、B 1 は、

【 0 0 3 2 】

【 化 1 0 8 】



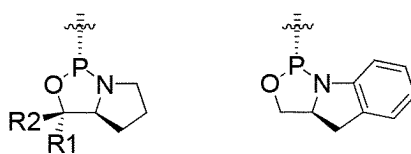
40

であり、合成スキーム< A 1 - S p >において、B 1 s は、

50

【 0 0 3 3 】

【 化 1 0 9 】



又は

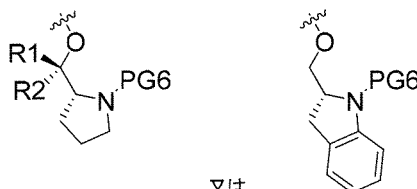
であり、

合成スキーム< A 1 - R p >において、 B 2 は、

10

【 0 0 3 4 】

【 化 1 1 0 】



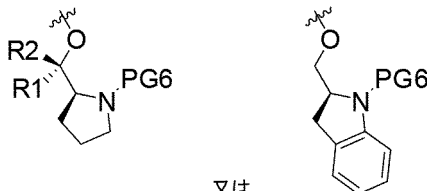
又は

であり、合成スキーム< A 1 - S p >において、 B 2 s は、

20

【 0 0 3 5 】

【 化 1 1 1 】



又は

(ここで、 P G 6 は、アミノ基の保護基である。)

であり、

Q は、チオール基又はヒドロキシ基である。

30

【 0 0 3 6 】

本製造方法において、 P G 1 としては、例えば、 t e r t - ブチルジメチルシリル、トリメチルシリル、トリエチルシリル、トリイソプロピルシリル、又は t e r t - ブチルジフェニルシリルを挙げることができる。好適には、 t e r t - ブチルジメチルシリル、トリメチルシリルである。より好適には、 t e r t - ブチルジメチルシリルである。

【 0 0 3 7 】

P G 2 としては、例えば、 4 , 4 ' - ジメトキシトリチル、 4 - メトキシトリチル、 2 - クロロトリチル、又はトリチルを挙げることができる。好適には、 4 , 4 ' - ジメトキシトリチル、 4 - メトキシトリチル又はトリチルである。より好適には、 4 , 4 ' - ジメトキシトリチルである。

40

【 0 0 3 8 】

P G 3 としては、例えば、 2 - (トリメチルシリル) エトキシカルボニル、 t e r t - ブトキシカルボニル、 9 - フルオレニルメチルオキシカルボニル、アリルオキシカルボニル、 2 , 2 , 2 - トリクロロエトキシカルボニル、又はベンジルオキシカルボニルを挙げることができる。好適には、 2 - (トリメチルシリル) エトキシカルボニル、又はアリルオキシカルボニルである。より好適には、 2 - (トリメチルシリル) エトキシカルボニルである。

【 0 0 3 9 】

P G 4 としては、例えば、ベンジル、ベンゾイル、 t e r t - ブトキシカルボニル、 9 - フルオレニルメチルオキシカルボニル、アリルオキシカルボニル、 2 , 2 , 2 - トリク

50

ロロエトキシカルボニル、ベンジルオキシカルボニル、2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニル、又はエトキシカルボニルを挙げることができる。好適には、ベンゾイル又は2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニルである。

【0040】

PG6としては、例えば、アセチル、トリフルオロアセチル、ベンゾイル、tert-ブトキシカルボニル、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル、アリルオキシカルボニル、2,2,2-トリクロロエトキシカルボニル、ベンジルオキシカルボニル、2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニル、メトキシカルボニル又はエトキシカルボニルを挙げることができる。好適には、アセチル、トリフルオロアセチル、ベンゾイル、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル、アリルオキシカルボニル、又は2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニルである。より好適には、アセチル、トリフルオロアセチル、アリルオキシカルボニル、又は2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニルである。

10

【0041】

以下に、各工程について説明する。

(工程a1)

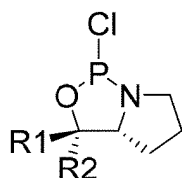
一実施形態では、本工程は、式(I)の化合物を、光学活性なホスフィチル化剤(Rc-II)と反応させて、式(Rc-III)の化合物を得る工程である。別の実施形態では、光学活性なホスフィチル化剤(Sc-II)と反応させて、式(Sc-III)の化合物を得る工程である。

【0042】

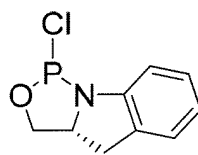
一実施形態において、本工程に用いられる光学活性なホスフィチル化剤(Rc-II)としては、以下の式(Rc-II-1)又は式(Rc-II-2)：

【0043】

【化112】



(Rc-II-1)



(Rc-II-2)

又は

30

[式中、

R1は、水素又はメチルであり、

R2は、水素、炭素数1～3のアルキル又はフェニルであり、

ここで、前記アルキルは、非置換であるか、又は1つ以上のフェニル、トシル若しくはジフェニルメチルシリルで置換されており、及び、

前記フェニルは、非置換であるか、又はニトロ若しくはメトキシで置換されている。

]

で表される化合物を挙げることができる。前記光学活性なホスフィチル化剤は、式(I)の化合物と式(IV)の化合物とを立体選択的に縮合させて、式(Rc-V)の化合物を生成させるための試薬であり、式(I)の化合物と立体選択的に反応して、式(Rc-III)の中間体が生成する。

40

【0044】

光学活性なホスフィチル化剤(Rc-II)としては、(3aR)-1-クロロテトラヒドロ-1H,3H-ピロロ[1,2-c][1,3,2]オキサザホスホール、(3aR)-1-クロロ-3,3-ジメチルテトラヒドロ-1H,3H-ピロロ[1,2-c][1,3,2]オキサザホスホール、(3S,3aR)-1-クロロ-3-メチル-3-フェニルテトラヒドロ-1H,3H-ピロロ[1,2-c][1,3,2]オキサザホスホール、(3S,3aR)-1-クロロ-3-フェニルテトラヒドロ-1H,3H-ピロ

50

ロ [1, 2-c] [1, 3, 2] オキサザホスホール、(3 R, 3 a R) - 1-クロロ-3-[(4-メチルベンゼン-1-スルホニル)メチル]テトラヒドロ-1 H, 3 H-ピロロ [1, 2-c] [1, 3, 2] オキサザホスホール、(3 S, 3 a R) - 1-クロロ-3-[(4-ニトロフェニル)メチル]テトラヒドロ-1 H, 3 H-ピロロ [1, 2-c] [1, 3, 2] オキサザホスホール、(3 R, 3 a R) - 1-クロロ-3-{[メチル(ジフェニル)シリル]メチル}テトラヒドロ-1 H, 3 H-ピロロ [1, 2-c] [1, 3, 2] オキサザホスホール、(3 S, 3 a R) - 1-クロロ-3-[(4-メトキシフェニル)メチル]テトラヒドロ-1 H, 3 H-ピロロ [1, 2-c] [1, 3, 2] オキサザホスホール、(3 S, 3 a R) - 1-クロロ-3-(ジフェニルメチル)テトラヒドロ-1 H, 3 H-ピロロ [1, 2-c] [1, 3, 2] オキサザホスホール、(3 a R) - 1-クロロ-3 a, 4-ジヒドロ-1 H, 3 H-[1, 3, 2] オキサザホスホロ [3, 4-a] インドール等を用いることができ、好適には、(3 a R) - 1-クロロテトラヒドロ-1 H, 3 H-ピロロ [1, 2-c] [1, 3, 2] オキサザホスホール、(3 a R) - 1-クロロ-3, 3-ジメチルテトラヒドロ-1 H, 3 H-ピロロ [1, 2-c] [1, 3, 2] オキサザホスホール、(3 S, 3 a R) - 1-クロロ-3-メチル-3-フェニルテトラヒドロ-1 H, 3 H-ピロロ [1, 2-c] [1, 3, 2] オキサザホスホール、(3 S, 3 a R) - 1-クロロ-3-フェニルテトラヒドロ-1 H, 3 H-ピロロ [1, 2-c] [1, 3, 2] オキサザホスホール、(3 R, 3 a R) - 1-クロロ-3-{[メチル(ジフェニル)シリル]メチル}テトラヒドロ-1 H, 3 H-ピロロ [1, 2-c] [1, 3, 2] オキサザホスホールを用いることができ、より好適には、(3 a R) - 1-クロロテトラヒドロ-1 H, 3 H-ピロロ [1, 2-c] [1, 3, 2] オキサザホスホール、(3 a R) - 1-クロロ-3, 3-ジメチルテトラヒドロ-1 H, 3 H-ピロロ [1, 2-c] [1, 3, 2] オキサザホスホール、(3 S, 3 a R) - 1-クロロ-3-フェニルテトラヒドロ-1 H, 3 H-ピロロ [1, 2-c] [1, 3, 2] オキサザホスホール、(3 R, 3 a R) - 1-クロロ-3-{[メチル(ジフェニル)シリル]メチル}テトラヒドロ-1 H, 3 H-ピロロ [1, 2-c] [1, 3, 2] オキサザホスホールを用いることができる。本工程に用いられる光学活性なホスフィチル化剤の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式 (I) で表される化合物に対して、1~3 当量である。

【0045】

上記に例示された光学活性なホスフィチル化剤 (R c - I I) の構造を以下に示す。

10

20

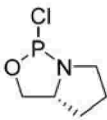
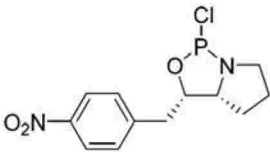
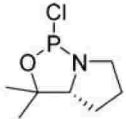
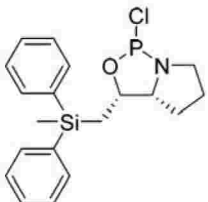
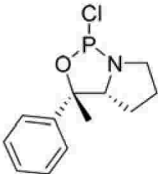
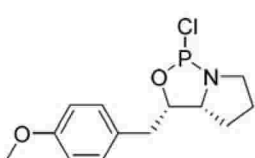
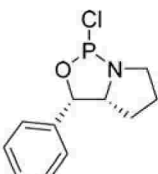
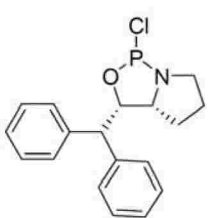
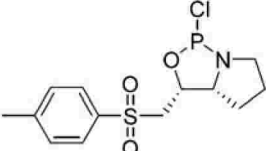
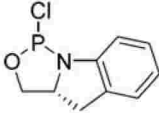
30

40

50

【表 1】

表 A：ホスフィチル化剤（R c - I I）の構造

化合物名	構造	化合物名	構造
(3aR)-1-クロロテトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オキサザホスホール		(3S, 3aR)-1-クロロ-3-[(4-ニトロフェニル)メチル]テトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オキサザホスホール	
(3aR)-1-クロロ-3,3-ジメチルテトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オキサザホスホール		(3R, 3aR)-1-クロロ-3-[[メチル(ジフェニル)シリル]メチル]テトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オキサザホスホール	
(3S, 3aR)-1-クロロ-3-メチル-3-フェニルテトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オキサザホスホール		(3S, 3aR)-1-クロロ-3-[(4-メトキシフェニル)メチル]テトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オキサザホスホール	
(3S, 3aR)-1-クロロ-3-フェニルテトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オキサザホスホール		(3S, 3aR)-1-クロロ-3-(ジフェニルメチル)テトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オキサザホスホール	
(3R, 3aR)-1-クロロ-3-[(4-メチルベンゼン-1-スルホニル)メチル]テトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オキサザホスホール		(3aR)-1-クロロ-3a,4-ジヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1, 3, 2]オキサザホスホール[3, 4-a]インドール	

【0046】

また、別の実施形態において用いられる光学活性なホスフィチル化剤（S c - I I）としては、以下の式（S c - I I - 1）又は式（S c - I I - 2）：

【0047】

10

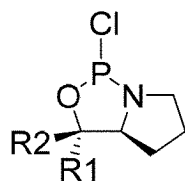
20

30

40

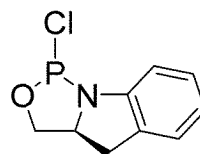
50

【化 1 1 3】



(Sc-II-1)

又は



(Sc-II-2)

〔式中、

R 1 は、水素又はメチルであり、

R 2 は、水素、炭素数 1 ～ 3 のアルキル又はフェニルであり、

ここで、前記アルキルは、非置換であるか、又は 1 つ以上のフェニル、トシル若しくはジフェニルメチルシリルで置換されており、及び、

前記フェニルは、非置換であるか、又はニトロ若しくはメトキシで置換されている。

〕

で表される化合物を挙げることができる。

【 0 0 4 8 】

光学活性なホスフィチル化剤 (Sc-II) としては、(3aS)-1-クロロテトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オキサザホスホール、(3aS)-1-クロロ-3, 3-ジメチルテトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オキサザホスホール、(3R, 3aS)-1-クロロ-3-メチル-3-フェニルテトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オキサザホスホール、(3R, 3aS)-1-クロロ-3-フェニルテトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オキサザホスホール、(3S, 3aS)-1-クロロ-3-[(4-メチルベンゼン-1-スルホニル)メチル]テトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オキサザホスホール、(3R, 3aS)-1-クロロ-3-[(4-ニトロフェニル)メチル]テトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オキサザホスホール、(3S, 3aS)-1-クロロ-3-{[メチル(ジフェニル)シリル]メチル}テトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オキサザホスホール、(3R, 3aS)-1-クロロ-3-[(4-メトキシフェニル)メチル]テトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オキサザホスホール、(3R, 3aS)-1-クロロ-3-(ジフェニルメチル)テトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オキサザホスホール、(3aS)-1-クロロ-3a, 4-ジヒドロ-1H, 3H-[1, 3, 2]オキサザホスホロ[3, 4-a]インドール等を用いることができ、好適には、(3aS)-1-クロロテトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オキサザホスホール、(3aS)-1-クロロ-3, 3-ジメチルテトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オキサザホスホール、(3R, 3aS)-1-クロロ-3-メチル-3-フェニルテトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オキサザホスホール、(3R, 3aS)-1-クロロ-3-フェニルテトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オキサザホスホール、(3S, 3aS)-1-クロロ-3-{[メチル(ジフェニル)シリル]メチル}テトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オキサザホスホールを用いることができ、より好適には、(3aS)-1-クロロテトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オキサザホスホール、(3aS)-1-クロロ-3, 3-ジメチルテトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オキサザホスホール、(3R, 3aS)-1-クロロ-3-フェニルテトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オキサザホスホール、(3S, 3aS)-1-クロロ-3-{[メチル(ジフェニル)シリル]メチル}テトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オ

10

20

30

40

50

キサザホスホールを用いることができる。本工程に用いられる光学活性なホスフィチル化剤の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式（Ⅰ）で表される化合物に対して、0.5～10当量、より好適には、1～3当量である。

【0049】

上記に例示された光学活性なホスフィチル化剤（Sc-ⅠⅠ）の構造を以下に示す。

【表2】

表B：ホスフィチル化剤（Sc-ⅠⅠ）の構造

化合物名	構造	化合物名	構造
(3aS)-1-クロロテトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オキサザホスホール		(3R, 3aS)-1-クロロ-3-[(4-ニトロフェニル)メチル]テトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オキサザホスホール	
(3aS)-1-クロロ-3,3-ジメチルテトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オキサザホスホール		(3S, 3aS)-1-クロロ-3-[[メチル(ジフェニル)シリル]メチル]テトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オキサザホスホール	
(3R, 3aS)-1-クロロ-3-メチル-3-フェニルテトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オキサザホスホール		(3R, 3aS)-1-クロロ-3-[(4-メトキシフェニル)メチル]テトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オキサザホスホール	
(3R, 3aS)-1-クロロ-3-フェニルテトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オキサザホスホール		(3R, 3aS)-1-クロロ-3-(ジフェニルメチル)テトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オキサザホスホール	
(3S, 3aS)-1-クロロ-3-[(4-メチルベンゼン-1-ルスルホニル)メチル]テトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オキサザホスホール		(3aS)-1-クロロ-3a,4-ジヒドロ-1H, 3H-ピロロ[3, 4-a]インドール	

【0050】

本工程では立体選択的に反応が進行して、所望の絶対立体配置を有する式（ⅠⅠⅠ）の化合物を得ることが出来る。ここで、式（ⅠⅠⅠ）の化合物の絶対立体配置は、以下に例示するとおり、プロリノール骨格中に含まれる不斉炭素原子上の絶対立体配置の（Rc）又は（Sc）を用いて示す。

【0051】

10

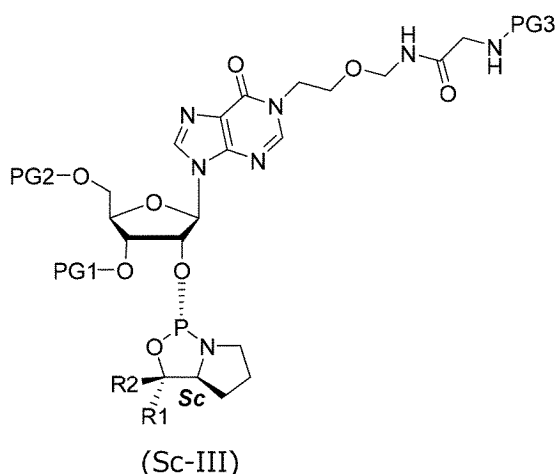
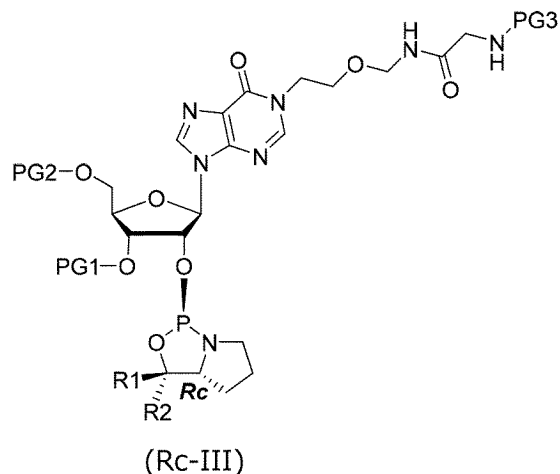
20

30

40

50

【化 1 1 4】



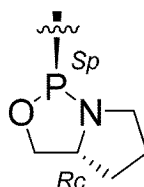
10

【0052】

一実施形態において、R1及びR2が水素原子である光学活性なホスフィチル化剤（Rc-I）を用いた場合、以下に示すとおり、リン原子上の絶対立体配置が（Sp）の式（Rc-II）の化合物が生成される。

【0053】

【化 1 1 5】



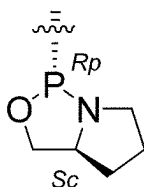
20

また、別の実施形態において、光学活性なホスフィチル化剤（Sc-I）を用いた場合、リン上の不斉点に関して逆の絶対立体配置を有するジアステレオマーを取得することができる。

30

【0054】

【化 1 1 6】



【0055】

すなわち、絶対立体配置が（Rc）又は（Sc）の光学活性なホスフィチル化剤を用いることによって、各々、90%以上の、好ましくは95%以上の、より好ましくは98%以上の高い選択性で、所望のジアステレオマーを得ることができる。従来の製造方法では、立体非選択的にホスホロチオエート結合が形成され、およそ50：50の比率で（Rp）体と（Sp）体が生成するため、目的とする絶対立体配置を有する化合物の収率は半分以下であった。

40

【0056】

本工程は、好適には、塩基の存在下で行うことができる。本工程に用いられる塩基としては、反応が進行する限り特に限定されないが、例えば、トリエチルアミン、トリブチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルモルホリン、N-メチルピロリジン、N-メチルピペリジン、ピリジン、2-メチルピリジン、2,6-ジメチルピリジン、4

50

ージメチルアミノピリジン、1, 4-ジアザビシクロ[2. 2. 2]オクタン、1, 8-ジアザビシクロ[5. 4. 0]ウンデクー7-エン等の有機塩基や、炭酸カリウム、水酸化カリウム、炭酸水素カリウム、炭酸ナトリウム、水酸化ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、酢酸ナトリウム、酢酸カリウム、ナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシド、及びカリウム *tert*-ブトキシド等の塩基を挙げることができ、好適には、トリエチルアミン、トリブチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルモルホリン、N-メチルピロリジン、N-メチルピペリジン、ピリジン、2-メチルピリジン、2, 6-ジメチルピリジン、4-ジメチルアミノピリジン、1, 4-ジアザビシクロ[2. 2. 2]オクタン、を挙げることができ、より好適には、トリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルモルホリンを挙げることができる。本工程に用いられる塩基の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式(I)で表される化合物に対して、0. 5~10当量であり、より好適には、1~5当量である。

10

【0057】

本工程に用いられる溶媒としては、反応を阻害するものでなければ特に限定はされないが、例えば、アセトニトリル、ジクロロメタン、クロロホルム、ジエチルエーテル、1, 2-ジメトキシエタン、テトラヒドロフラン、2-メチルテトラヒドロフラン、1, 4-ジオキサン、酢酸エチル、ヘキサン、ペンタン、シクロヘキサン、エチルシクロヘキサン、ベンゼン、トルエン、クロロベンゼン、アセトン、2-ブタノン、N, N-ジメチルホルムアミド、N, N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、及びジメチルスルホキシド、並びにこれらの混合溶媒を用いることができ、好適には、アセトニトリル、ジクロロメタン、1, 2-ジメトキシエタン、テトラヒドロフラン、2-メチルテトラヒドロフラン、トルエンを挙げることができ、より好適には、ジクロロメタン、テトラヒドロフランを挙げることができる。

20

【0058】

本工程の反応温度は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、-78℃から反応に用いる溶媒の沸点まで、より好適には、-20℃~30℃である。本工程の反応時間は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、2分~10時間であり、より好適には、5~180分である。

【0059】

(工程a2)

一実施形態では、本工程は、式(Rc-III)の化合物を、式(IV)の化合物又はその塩と、活性化剤の存在下で反応させ、次いで、アシル化剤又はアルコキシカルボニル化剤で処理し、さらにチオ化剤(硫黄化剤又はチオール化剤ともいう)と反応させ、続いてPG2を脱保護して、式(Rc-V)の化合物を得る工程である。任意に、PG2を脱保護する前に生成物を単離してもよい。別の実施形態では、式(Sc-III)の化合物から、同様の反応によって、式(Sc-V)の化合物を得る工程である。本工程は、任意に、有機又は無機塩基で処理して、その塩に変換する工程を含む。

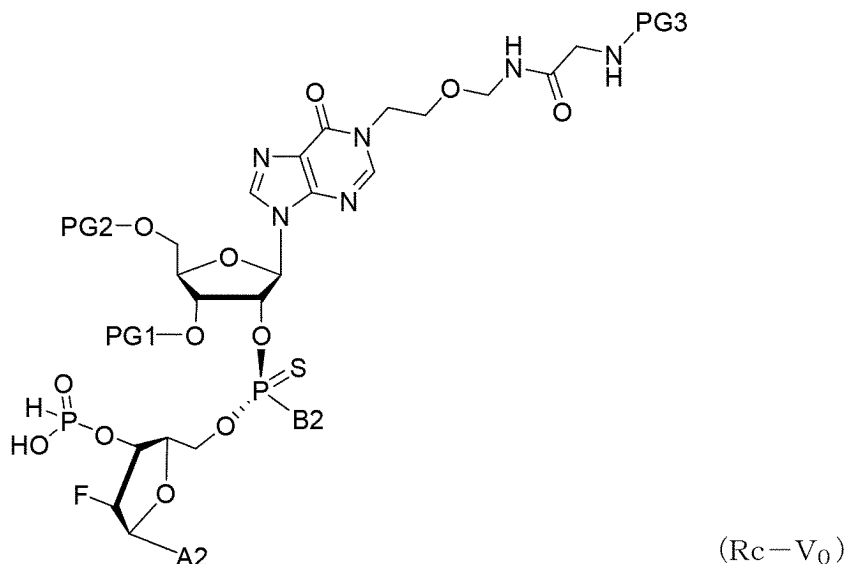
30

【0060】

本工程において、チオ化剤と反応させた後で、PG2を脱保護する前に得られる中間体として、式(Rc-V₀):

40

【化 1 1 7】



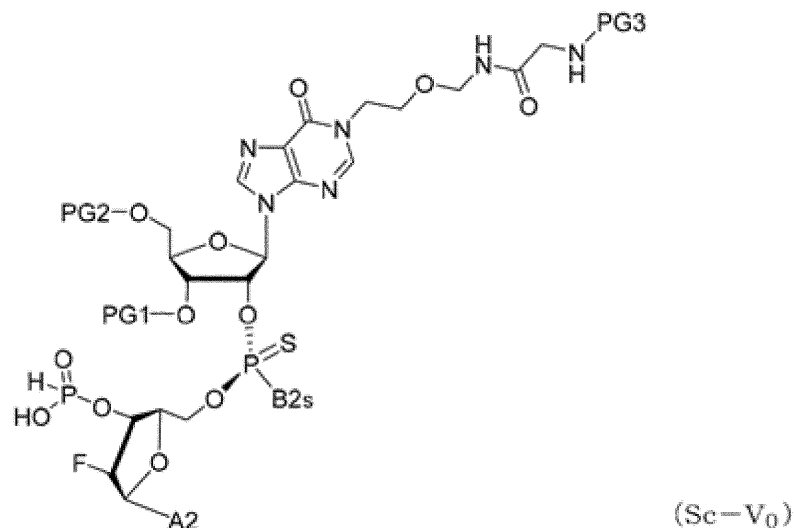
10

で表される化合物又はその塩（ここで、A 2、B 2、P G 1、P G 2 及び P G 3 は、合成スキーム<A 1 - R p>で説明した基と同義である。）が得られる。

20

また、別の実施態様では、チオ化剤と反応させた後で、P G 2 を脱保護する前に得られる中間体として、式（S c - V₀）：

【化 1 1 8】



30

で表される化合物又はその塩（ここで、A 2、B 2_s、P G 1、P G 2 及び P G 3 は、合成スキーム<A 1 - S p>で説明した基と同義である。）が得られる。

40

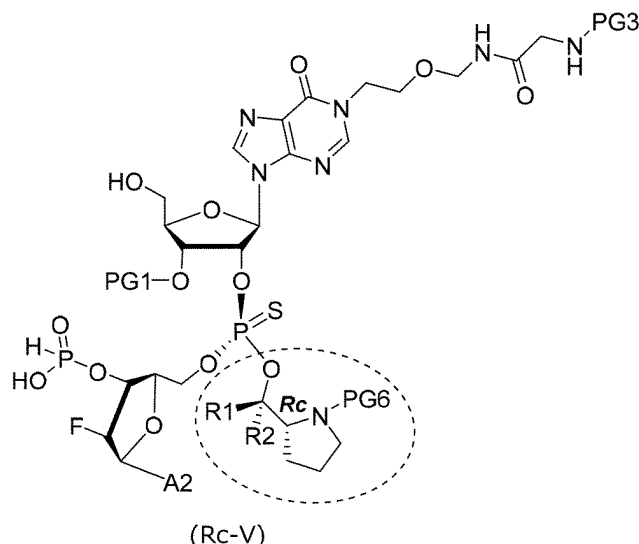
【0 0 6 1】

一実施形態としては、本工程では、立体選択的に反応が進行して、目的の絶対立体配置を有する式（R c - V）の化合物を、式（R c - V₀）の中間体を介して得ることが出来る。式（V）及び式（V₀）の絶対立体配置の表記は、上記の式（I I I）の化合物と同様に、B 2 内プロリノール骨格中に含まれる不斉炭素原子上の絶対立体配置を用いて示す。

【0 0 6 2】

50

【化 1 1 9】



10

【0063】

本工程では、式 (Rc-III) で構築した不斉環境を維持しつつ、70%以上、75%以上、80%以上、85%以上、90%以上、95%以上又は98%以上の選択性で、立体反転型に反応が進行する。これにより、所望のジアステレオマーを、70%以上、75%以上、80%以上、85%以上、90%以上、95%以上又は98%以上の高い選択性で得ることができる。従来法では、立体非選択的に式 (I) の化合物と式 (IV) の化合物が縮合するため、およそ50:50の比率で、式 (V) の化合物に相当する、分離困難な (Rp) 体と (Sp) 体の混合物が得られていた。従って、所望の化合物である (Rc-V) 体の収率に関しては、立体選択性の観点から約2倍の改善が見られるだけでなく、分離困難な大量のリン上のジアステレオマーの分離負荷を考慮すると、生産性は3~10倍程度まで向上すると想定される。

20

【0064】

一方、式 (Sc-III) の化合物を用いた場合、同様に反転したジアステレオマーである式 (Sc-V) の化合物を、式 (Sc-V0) の中間体を介して得ることができる。よって、用いる光学活性なホスフィチル化剤のプロリノール骨格上の不斉炭素の絶対立体配置により、所望の絶対立体配置を有する化合物を立体選択的に得ることができる。

30

【0065】

本工程で用いられる活性化剤としては、式 (Rc-III) 又は式 (Sc-III) で表される化合物の絶対立体配置を損なわずに反応が進行するものであれば特に限定されないが、例えば、1-フェニルイミダゾール、ベンゾイミダゾール、1-メチルベンゾイミダゾール、1-シアノメチルピペリジン、1-ピロリジンアセトニトリル、1-(シアノメチル)イミダゾール、又はそれらの塩を挙げることができ、好適には、1-フェニルイミダゾール、1-メチルベンゾイミダゾール、1-シアノメチルピペリジン、1-(シアノメチル)イミダゾール又はそれらの塩を挙げることができ、より好適には、1-フェニルイミダゾール、1-メチルベンゾイミダゾール又はそれらの塩を挙げることができる。本工程に用いられる活性化剤の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式 (Rc-III) 又は式 (Sc-III) で表される化合物に対して、1~3当量である。

40

【0066】

本工程に用いられる化合物 (IV) 又はその塩の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式 (Rc-III) 又は式 (Sc-III) で表される化合物に対して、0.5~3当量であり、より好適には、0.8~1.2当量である。

【0067】

本工程に用いられるアシル化剤又はアルコキシカルボニル化剤としては、反応が進行す

50

るものであれば特に限定されないが、例えば、無水酢酸、アセチルクロリド、N-スクシンイミジルアセテート、ペンタフルオロフェニルアセテート、1-アセチル-1H-1,2,3-トリアゾロ[4,5-b]ピリジン、N-メトキシジアセトアミド、N-アセチルイミダゾール、トリフルオロ酢酸無水物、ビストリフルオロアセトアミド、エチルトリフルオロアセテート、メチルトリフルオロアセテート、ペンタフルオロフェニルトリフルオロアセテート、トリフルオロアセチルベンゾトリアゾール、S-エチルトリフルオロチオアセテート、N-メチルビストリフルオロアセトアミド、トリフルオロアセチルトリフレート、1-トリフルオロアセチルイミダゾール、無水安息香酸、ベンゾイルクロリド、ペンタフルオロフェニルベンゾエート、ベンゾイルトリフルオロメタンスルホネート、3-ベンゾイルチアゾリジン-2-チオン、tert-ブチルフェニルカーボネート、N-(tert-ブトキシカルボニロキシ)フタルイミド、2-(tert-ブトキシカルボニルチオ)-4,6-ジメチルピリジン、N-tert-ブトキシカルボニルイミダゾール、tert-ブチルカルバゼート、2-(tert-ブトキシカルボニロキシイミノ)-2-フェニルアセトニトリル、1-tert-ブトキシカルボニル-1,2,4-トリアゾール、ジ-tert-ブチルジカーボネート、9-フルオレニルメチルペンタフルオロフェニルカーボネート、クロロギ酸9-フルオレニルメチル、9-フルオレニルメチルカルバゼート、19-フルオレニルメチルカーバメート、1-[(9H-フルオレン-9-イルメトキシ)カルボニロキシ]ベンゾトリアゾール、N-[(9H-フルオレン-9-イルメトキシ)カルボニロキシ]スクシンイミド、クロロギ酸アリル、ジアリルジカーボネート、N-(アリロキシカルボニロキシ)スクシンイミド、アリルフェニルカーボネート、N-(2,2,2-トリクロロエトキシカルボニロキシ)スクシンイミド、クロロギ酸2,2,2-トリクロロエチル、クロロギ酸ベンジル、ベンジルカルバゼート、ベンジルフェニルカーボネート、N-カルボベンジロキシスクシンイミド、ジベンジルジカーボネート、4-[2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニロキシ]ニトロベンゼン、2-(トリメチルシリル)エチル-3-ニトロ-1H-1,2,4-トリアゾール-1-カルボキシレート、N-[2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニロキシ]スクシンイミド、N-エトキシカルボニルフタルイミド、クロロギ酸エチル、ジエチルジカーボネート、エチルイミダゾール-1-カルボキシレート、2-エトキシ-1-(エトキシカルボニル)-1,2-ジヒドロキノリン、クロロギ酸メチル、ジメチルカーボネート、ジメチルジカーボネート、又はメチルイミダゾール-1-カルボキシレートを挙げることができ、好適には、無水酢酸、1-トリフルオロアセチルイミダゾール、無水安息香酸、N-[(9H-フルオレン-9-イルメトキシ)カルボニロキシ]スクシンイミド、N-(アリロキシカルボニロキシ)スクシンイミド、N-[2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニロキシ]スクシンイミドを挙げることができ、より好適には、無水酢酸、1-トリフルオロアセチルイミダゾール、N-(アリロキシカルボニロキシ)スクシンイミド、N-[2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニロキシ]スクシンイミドを挙げることができる。本工程に用いられるアシル化剤又はアルコキシカルボニル化剤の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式(Rc-III)又は式(Sc-III)で表される化合物に対して、0.7~5当量であり、より好適には、1~3当量である。

【0068】

本工程のアシル化剤又はアルコキシカルボニル化剤との反応温度は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、-20℃から反応に用いる溶媒の沸点まで、より好適には、-20℃~30℃である。本工程の反応時間は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、2分~5時間であり、より好適には、5~90分である。

【0069】

本工程の活性化剤、アシル化剤又はアルコキシカルボニル化剤、及びチオ化剤の反応は、好適には、脱水剤の存在下で行うことができる。本工程に用いられる脱水剤としては、反応が進行する限り特に限定されないが、モレキュラーシーブ3A、モレキュラーシーブ4A、モレキュラーシーブ5A、モレキュラーシーブ13X、硫酸マグネシウム、硫酸ナトリウム、及び塩化カルシウム等を挙げることができ、好適には、モレキュラーシーブ3

10

20

30

40

50

A、モレキュラーシーブ4A、モレキュラーシーブ5A、モレキュラーシーブ13X及び硫酸ナトリウムを挙げることができ、より好適には、モレキュラーシーブ3A、モレキュラーシーブ4Aを挙げることができる。本工程に用いられる脱水剤の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式(Rc-III)又は式(Sc-III)で表される化合物の質量に対して、0.01~3倍の質量であり、より好適には、0.01~1倍の質量である。

【0070】

本工程で用いられるチオ化剤としては、反応が進行するものであれば特に限定されないが、例えば、キサンタンヒドリド、ビス(フェニルアセチル)ジスルフィド、3H-1, 2-ベンゾジチオール-3-オン-1, 1-ジオキシド、5-フェニル-3H-1, 2, 4-ジチアゾール-3-オン及び[(N, N-ジメチルアミノメチリデン)アミノ]-3H-1, 2, 4-ジチアゾリン-3-チオンなどを用いることができ、好適には、キサンタンヒドリド、ビス(フェニルアセチル)ジスルフィド、[(N, N-ジメチルアミノメチリデン)アミノ]-3H-1, 2, 4-ジチアゾリン-3-チオンを用いることができる。本工程に用いられるチオ化剤の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式(Rc-III)又は式(Sc-III)で表される化合物に対して、0.5~5当量であり、より好適には、1~2当量である。

10

【0071】

本工程のチオ化剤との反応温度は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、-20℃から反応に用いる溶媒の沸点まで、より好適には、0℃~30℃である。本工程の反応時間は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、5分~5時間であり、より好適には、5~90分である。

20

【0072】

本工程は、好適には、塩基の存在下で行うことができる。本工程に用いられる塩基としては、反応が進行する限り特に限定されないが、例えば、トリエチルアミン、トリブチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルモルホリン、N-メチルピロリジン、N-メチルピペリジン、ピリジン、2-メチルピリジン、2, 6-ジメチルピリジン、4-ジメチルアミノピリジン、1, 4-ジアザビシクロ[2. 2. 2]オクタン、1, 8-ジアザビシクロ[5. 4. 0]ウンデカ-7-エン等の有機塩基や、炭酸カリウム、水酸化カリウム、炭酸水素カリウム、炭酸ナトリウム、水酸化ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、酢酸ナトリウム、酢酸カリウム、ナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシド、及びカリウム tert-ブトキシド等の塩基を挙げることができ、好適には、トリエチルアミン、トリブチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルモルホリン、N-メチルピロリジン、N-メチルピペリジンを挙げることができ、より好適には、トリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルモルホリンを挙げることができる。本工程に用いられる塩基の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式(Rc-III)又は式(Sc-III)で表される化合物に対して、0.5~20当量であり、より好適には、1~10当量である。

30

【0073】

本工程の脱保護反応に用いられる酸としては、例えば、塩酸、硫酸、ギ酸、シュウ酸、酢酸、トリフルオロ酢酸、モノクロロ酢酸、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸、メタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸等を挙げることができる。好適には、塩酸、酢酸、モノクロロ酢酸、ジクロロ酢酸を挙げることができ、より好適には、塩酸、ジクロロ酢酸を挙げることができる。脱保護に用いられるpHは、反応が進行する限り制限されないが、好適には、1~4である。脱保護反応の反応温度は、反応が進行する限り、制限されないが、好適には-30℃から反応に用いる溶媒の沸点まで、より好適には-20℃から30℃である。本反応の反応時間は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、0.5~48時間であり、より好適には、1~24時間である。

40

【0074】

本工程に用いられる溶媒としては、反応を阻害するものでなければ特に限定はされない

50

が、例えば、アセトニトリル、ジクロロメタン、クロロホルム、ジエチルエーテル、1, 2-ジメトキシエタン、テトラヒドロフラン、2-メチルテトラヒドロフラン、1, 4-ジオキサン、酢酸エチル、ヘキサン、ペンタン、シクロヘキサン、エチルシクロヘキサン、ベンゼン、トルエン、クロロベンゼン、アセトン、2-ブタノン、N, N-ジメチルホルムアミド、N, N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、及びジメチルスルホキシド、並びにこれらの混合溶媒を用いることができ、好適には、アセトニトリル、ジクロロメタンを挙げることができ、より好適には、アセトニトリルを挙げることができる。

【0075】

式(Rc-V)又は式(Sc-V)の化合物をその塩に変換する際に用いる有機塩基としては、トリエチルアミン、トリブチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルモルホリン、N-メチルピロリジン、N-メチルピペリジン、ピリジン、2-メチルピリジン、2, 6-ジメチルピリジン、4-ジメチルアミノピリジン、1, 4-ジアザビシクロ[2.2.2]オクタン、1, 8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデク-7-エン等が挙げられる。また、無機塩基としては、炭酸カリウム、水酸化カリウム、炭酸水素カリウム、炭酸ナトリウム、水酸化ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、酢酸ナトリウム、酢酸カリウム、ナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシド、及びカリウム tert-ブトキシド等がある。好適には、トリエチルアミン、トリブチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルモルホリン、N-メチルピロリジン、N-メチルピペリジン、炭酸カリウム、炭酸水素カリウム、炭酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウムを挙げられる。より好適には、トリエチルアミン、炭酸カリウム、炭酸水素カリウム、炭酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウムを挙げることができる。

【0076】

(工程a3)

一実施形態では、本工程は、式(Rc-V)の化合物又はその塩を、縮合剤の存在下で環化させ、次いで、チオ化剤又は酸化剤と反応させて、式(Rc-VI)の化合物を得る工程である。別の実施形態では、式(Sc-V)の化合物から、同様の反応によって、式(Sc-VI)の化合物を得る工程である。

【0077】

本工程において、チオ化剤と反応させる場合、Qがチオール基である式(VI)の化合物を得ることができる。また、本工程において、酸化剤と反応させる場合、Qがヒドロキシ基である式(VI)の化合物を得ることができる。

【0078】

本工程に用いられる縮合剤としては、反応が進行するものであれば特に限定されないが、例えば、2-クロロ-5, 5-ジメチル-1, 3, 2-ジオキサホスホリナン 2-オキシド、ジメチルクロロホスフェート、ジエチルクロロホスフェート、2-クロロ-2-オキソ-1, 3, 2-ジオキサホスホラン、1H-ベンゾトリアゾール-1-イルオキシトリピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスフェート、クロロトリピロリジノヘキサフルオロホスフェート、プロモトリピロリジノヘキサフルオロホスフェート、プロピルホスホン酸無水物、ジイソプロピルクロロホスフェート、ビス(2, 6-ジメチルフェニル)クロロホスフェート、ビス(ジメチルアミノ)ホスホリルクロリド、ビス(2-オキソ-3-オキサゾリジニル)ホスホン酸クロリド、ジフェニルホスフィン酸クロリド、ジエチルクロロチオホスフェート、(7-アザベンゾトリアゾール-1-イルオキシ)トリピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスファート、6-トリフルオロメチル-1H-ベンゾトリアゾール-1-イルオキシトリピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスファート、ジフェニルホスホクロリダート、ビス(2, 2, 2-トリクロロエチル)ホスホクロリダート、ジクロロリン酸エチル、o-フェニレンホスホクロリダート、3-(ジエトキシホスホリルオキシ)-1, 2, 3-ベンゾトリアジン-4(3H)-オン、2-クロロ-1-メチルピリジニウムヨージド、1-[ビス(ジメチルアミノ)メチレン]-1H-ベンゾトリアゾリウム3-オキシドヘキサフルオロホスファート、(ベンゾトリ

アゾール-1-イルオキシ) トリス (ジメチルアミノ) ホスホニウムヘキサフルオロホスファート、1-アダマンタンカルボニルクロリド、ピバロイルクロリドを挙げることができる、好適には、2-クロロ-5, 5-ジメチル-1, 3, 2-ジオキサホスホリナン 2-オキシド、ジメチルクロロホスフェート、ジエチルクロロホスフェート、2-クロロ-2-オキソ-1, 3, 2-ジオキサホスホラン、プロピルホスホン酸無水物を挙げることができる、より好適には、2-クロロ-5, 5-ジメチル-1, 3, 2-ジオキサホスホリナン 2-オキシド、2-クロロ-2-オキソ-1, 3, 2-ジオキサホスホラン、プロピルホスホン酸無水物を挙げることができる。本工程に用いられる縮合剤の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式 (Rc-V) 又は式 (Sc-V) で表される化合物に対して、0.5~10 当量であり、より好適には、1~5 当量である。

10

【0079】

本工程の縮合剤との反応温度は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、-78℃から反応に用いる溶媒の沸点まで、より好適には、-20℃~0℃である。本工程の反応時間は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、2分~10時間であり、より好適には、5分~2時間である。

【0080】

本工程で用いられるチオ化剤としては、反応が進行するものであれば特に限定されないが、例えば、キサントニド、ビス (フェニルアセチル) ジスルフィド、3H-1, 2-ベンゾジチオール-3-オン-1, 1-ジオキシド、5-フェニル-3H-1, 2, 4-ジチアゾール-3-オン及び [(N, N-ジメチルアミノメチリデン) アミノ]-3H-1, 2, 4-ジチアゾリン-3-チオンなどを用いることができ、好適には、キサントニド、ビス (フェニルアセチル) ジスルフィド、[(N, N-ジメチルアミノメチリデン) アミノ]-3H-1, 2, 4-ジチアゾリン-3-チオンを用いることができる。本工程に用いられるチオ化剤の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式 (Rc-V) 又は式 (Sc-V) で表される化合物に対して、0.5~5 当量であり、より好適には、1~2 当量である。

20

【0081】

本工程のチオ化剤との反応温度は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、-40℃から反応に用いる溶媒の沸点まで、より好適には、-20℃~30℃である。本工程の反応時間は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、2分~10時間であり、より好適には、5分~3時間である。

30

【0082】

本工程で用いられる酸化剤としては、反応が進行するものであれば特に限定されないが、例えば、ヨウ素、臭素、tert-ブチルヒドロペルオキシド、3-クロロ過安息香酸、過酸化水素、過ヨウ素酸、過マンガン酸カリウム、酸素及びオゾンなどを用いることができ、好適には、ヨウ素、3-クロロ過安息香酸、過酸化水素、酸素を用いることができる。本工程に用いられる酸化剤の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式 (Rc-V) 又は式 (Sc-V) で表される化合物に対して、0.5~10 当量であり、より好適には、1~5 当量である。

【0083】

本工程の酸化剤との反応温度は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、-40℃から反応に用いる溶媒の沸点まで、より好適には、-20℃~30℃である。本工程の反応時間は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、2分~10時間であり、より好適には、5分~3時間である。

40

【0084】

本工程に用いられる溶媒としては、反応を阻害するものでなければ特に限定はされないが、例えば、ピリジン、2-メチルピリジン、3-メチルピリジン、4-メチルピリジン、2, 6-ルチジン、アセトニトリル、ジクロロメタン、クロロホルム、ジエチルエーテル、1, 2-ジメトキシエタン、テトラヒドロフラン、2-メチルテトラヒドロフラン、1, 4-ジオキサン、酢酸エチル、ヘキサン、ペンタン、シクロヘキサン、エチルシクロ

50

ヘキサン、ベンゼン、トルエン、クロロベンゼン、アセトン、2-ブタノン、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、及びジメチルスルホキシド、並びにこれらの混合溶媒を用いることができ、好適には、ピリジン、2-メチルピリジン、3-メチルピリジン、4-メチルピリジン、2,6-ルチジン、アセトニトリル、ジクロロメタン並びにこれらの混合溶媒を挙げることができ、より好適には、ピリジンを挙げることができる。

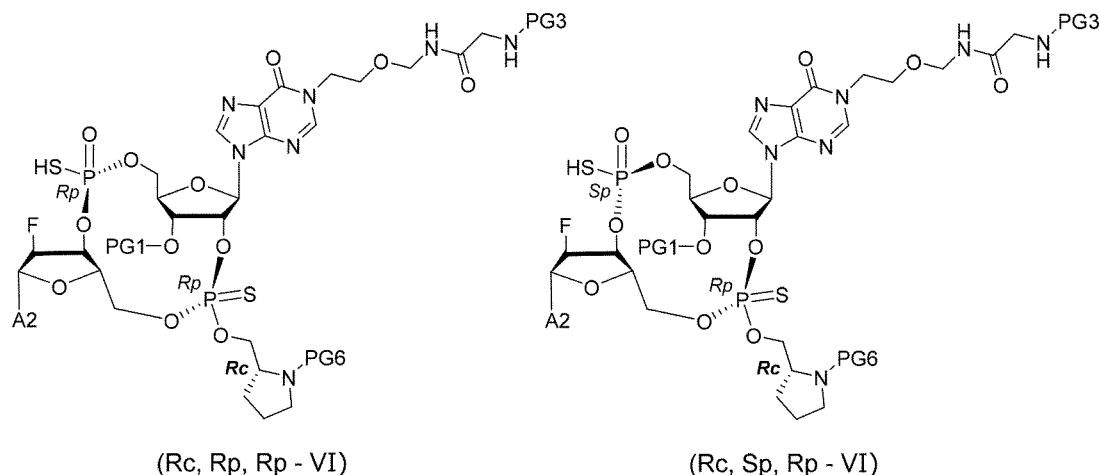
【0085】

式(VI)の化合物の絶対立体配置は、B2内のプロリノール骨格上の不斉炭素原子の絶対立体配置で示す。なお、Qがチオール基である式(VI)の化合物では、以下に示すとおり、2つのリン原子上の絶対立体配置に対して、(2位のリンの絶対立体配置, 10位のリンの絶対立体配置)の順で表記する。先のプロリノール骨格上の不斉炭素原子上の立体と併せて、(Rc, Rp, Rp), (Rc, Sp, Rp), (Rc, Rp, Sp), (Rc, Sp, Sp), (Sc, Rp, Rp), (Sc, Sp, Rp), (Sc, Rp, Sp), (Sc, Sp, Sp)と表記される。

10

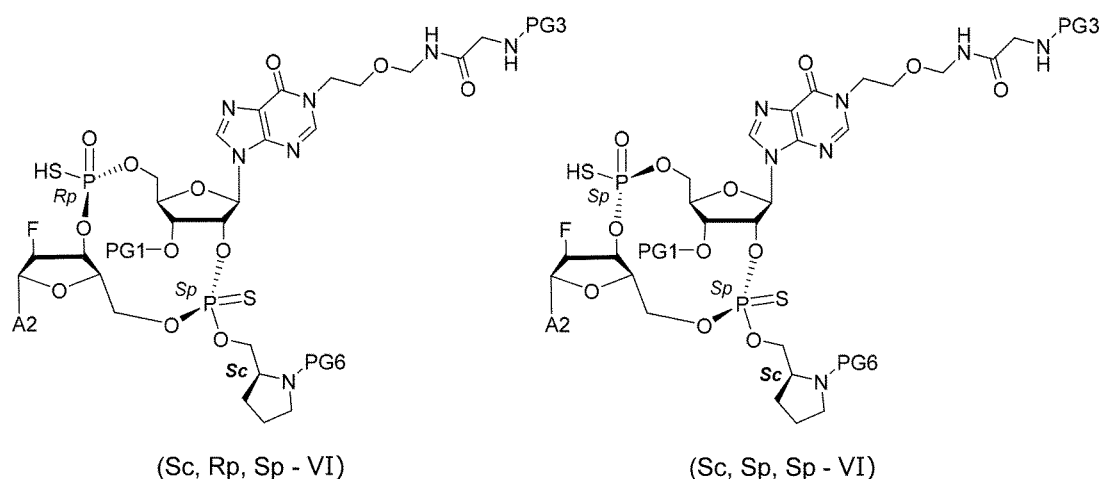
【0086】

【化120】



20

30



40

【0087】

本工程における環化反応は、立体選択的に反応を制御するものではないが、分子自身の立体構造に基づいて、一方のジアステレオマーの生成が優位に進行する。例えば、本明細書の実施例3、実施例8及び実施例A5-4に示したとおり、式(Rc-V)の化合物から式(Rc-VI)の化合物への環化反応において、所望の絶対立体配置を有する(Rc

50

、 R_p 、 R_p-VI ）体が、 (R_c, S_p, R_p-VI) 体に対して、約 70 : 30 ~ 85 : 15 の選択性で得られた。

【0088】

（工程 a 4）

一実施形態では、本工程は、 (R_c-VI) の化合物のチオリン酸部位の保護基である B 2、及び A 2 中の保護基である PG 4 を脱保護して、式 (R_p-VII) の化合物を得る工程である。別の実施形態では、式 (S_c-VI) の化合物から、同様の反応によって、式 (S_p-VII) の化合物を得る工程である。本工程は、任意に、有機又は無機塩基で処理して、その塩に変換する工程を含む。

【0089】

本工程の脱保護反応に用いられるアンモニアは、反応が進行する限り制限されないが、好適には、28%アンモニア水を用いることができる。

【0090】

本工程の反応温度は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、0℃から反応に用いる溶媒の沸点まで、より好適には、30℃~65℃である。本工程の反応時間は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、1~96時間であり、より好適には、5~48時間である。

【0091】

本工程に用いられる溶媒としては、反応を阻害するものでなければ特に限定はされないが、例えば、メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、アセトニトリル、ジクロロメタン、クロロホルム、ジエチルエーテル、1,2-ジメトキシエタン、テトラヒドロフラン、2-メチルテトラヒドロフラン、1,4-ジオキサン、酢酸エチル、ヘキサン、ペンタン、シクロヘキサン、エチルシクロヘキサン、ベンゼン、トルエン、クロロベンゼン、アセトン、2-ブタノン、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、ピリジン、及びジメチルスルホキシド、並びにこれらの混合溶媒を用いることができ、好適には、メタノール、エタノール、アセトニトリル、ジクロロメタン、ピリジンを挙げることができ、より好適には、メタノール、ピリジンを挙げるができる。

【0092】

式 (R_p-VII) 又は式 (S_p-VII) の化合物をその塩に変換する際に用いる有機塩基としては、トリエチルアミン、トリブチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルモルホリン、N-メチルピロリジン、N-メチルピペリジン、ピリジン、2-メチルピリジン、2,6-ジメチルピリジン、4-ジメチルアミノピリジン、1,4-ジアザビシクロ[2.2.2]オクタン、1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデカ-7-エン等が挙げられる。また、無機塩基としては、炭酸カリウム、水酸化カリウム、炭酸水素カリウム、炭酸ナトリウム、水酸化ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、酢酸ナトリウム、酢酸カリウム、ナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシド、及びカリウムtert-ブトキシド等が挙げられる。好適には、トリエチルアミン、トリブチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルモルホリン、N-メチルピロリジン、N-メチルピペリジン、炭酸カリウム、炭酸水素カリウム、炭酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウムを挙げるができる、より好適には、トリエチルアミン、炭酸カリウム、炭酸水素カリウム、炭酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウムを挙げるができる。

【0093】

（新規中間体）

上記の〔合成スキーム<A1-Rp>〕における新規中間体として、以下の式 (R_c-VIII) で表される化合物が挙げられる。

【0094】

10

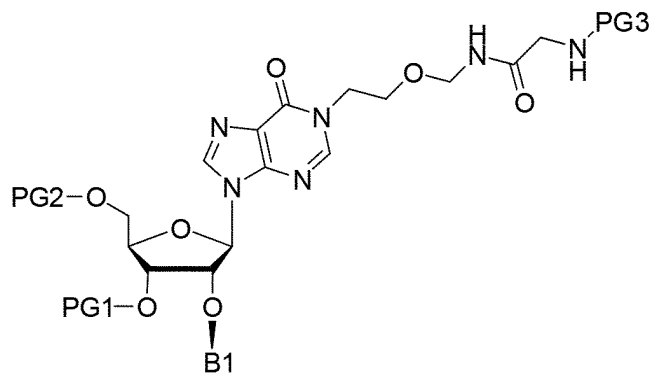
20

30

40

50

【化 1 2 1】

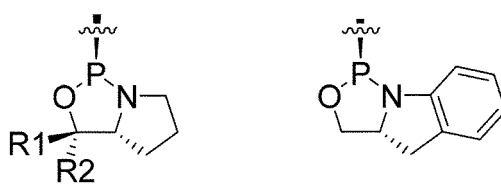


10

ここで、B1は、

【0095】

【化 1 2 2】



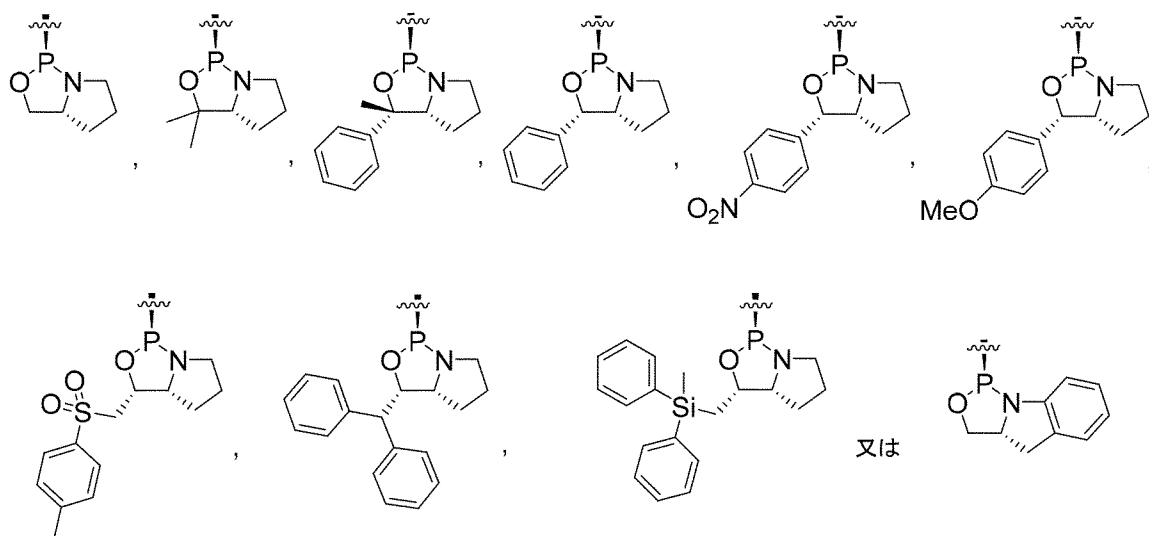
20

であり、R1は、水素又はメチルであり、R2は、水素、炭素数1～3のアルキル又はフェニルであり、前記アルキルは、非置換であるか、又は1つ以上のフェニル、トシル若しくはジフェニルメチルシリルで置換されており、及び、前記フェニルは、非置換であるか、ニトロ若しくはメトキシで置換されている基が好ましい。

より好ましくは、B1は、

【0096】

【化 1 2 3】



30

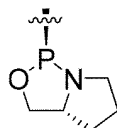
40

であり、さらに好ましくは、B1は、

【0097】

50

【化 1 2 4】



である。

PG1は、好ましくは、tert-ブチルジメチルシリル、トリメチルシリル、トリエチルシリル、トリスプロピルシリル、又はtert-ブチルジメチルシリルであり、より好ましくは、tert-ブチルジメチルシリルである。

10

PG2は、好ましくは、4,4'-ジメトキシトリチル、4-メトキシトリチル、2-クロロトリチル、又はトリチルであり、より好ましくは、4,4'-ジメトキシトリチルである。

PG3は、好ましくは、2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニル、tert-ブトキシカルボニル、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル、アリルオキシカルボニル、2,2,2-トリクロロエトキシカルボニル、又はベンジルオキシカルボニルであり、より好ましくは、2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニルである。

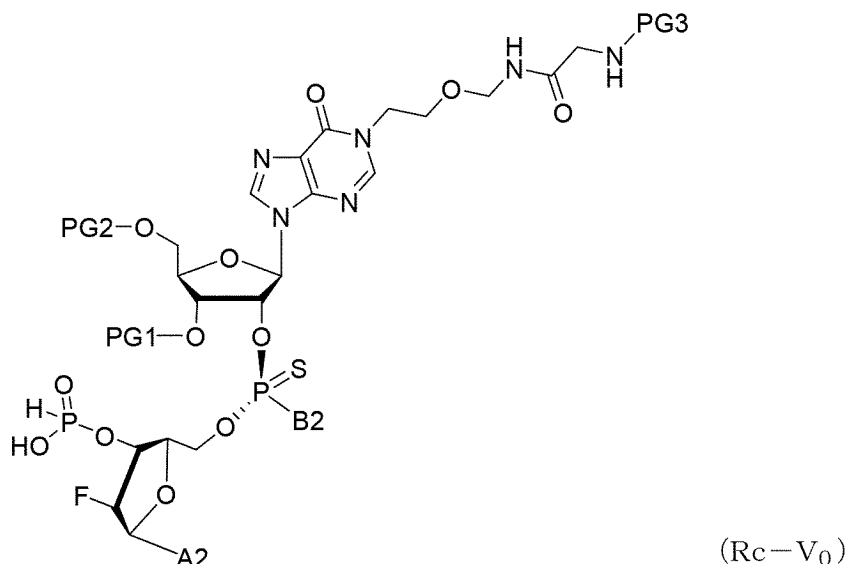
【0098】

また、上記の〔合成スキーム<A1-Rp>〕における新規中間体として、以下の式(Rc-V0)で表される化合物が挙げられる。

20

【0099】

【化 1 2 5】



30

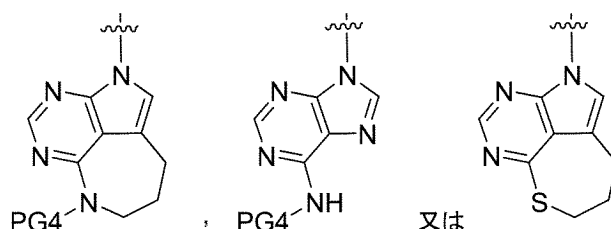
(Rc-V0)

40

ここで、A2は、好ましくは、

【0100】

【化 1 2 6】

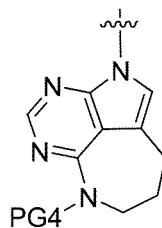


50

であり、より好ましくは、

【0101】

【化127】



10

である。

PG4は、アミノ基の保護基であり、好ましくは、ベンジル、ベンゾイル、tert-ブトキシカルボニル、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル、アリルオキシカルボニル、2,2,2-トリクロロエトキシカルボニル、ベンジルオキシカルボニル、2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニル、又はエトキシカルボニルを挙げることができる。より好ましくは、ベンゾイル又は2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニルである。

PG1、PG2及びPG3は、上記に示した式(Rc-III)の化合物の各基と同義であり、B2は、下記の示した式(Rc-V)の化合物のB2と同義である。

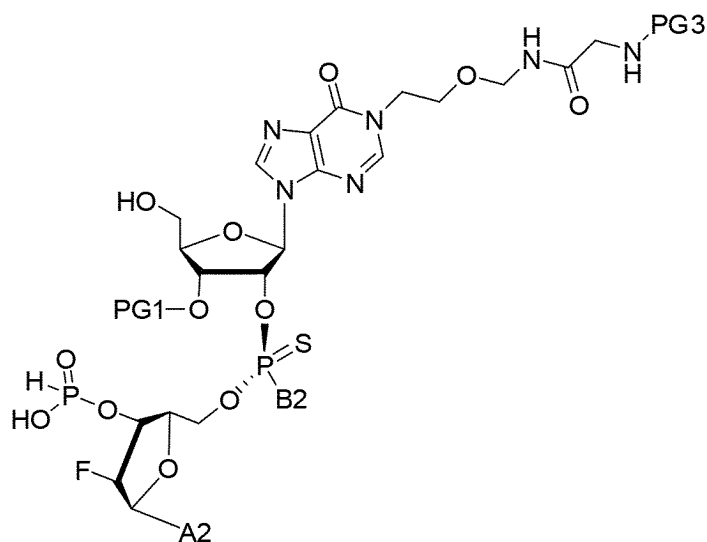
【0102】

20

さらに、上記の〔合成スキーム<A1-Rp>〕における新規中間体として、以下の式(Rc-V)で表される化合物が挙げられる。

【0103】

【化128】



30

(Rc-V)

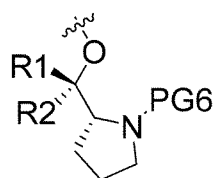
ここで、A2は、上記に示した式(Rc-V0)の化合物のA2と同義である。

40

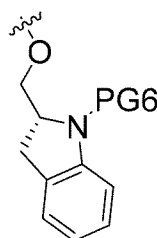
B2は、好ましくは、

【0104】

【化129】



又は



50

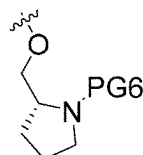
より好ましくは、B2は、

【化 1 3 0】



【 0 1 0 6 】

【化 1 3 1】



PG6は、アミノ基の保護基であり、好ましくは、アセチル、トリフルオロアセチル、ベンゾイル、tert-ブトキシカルボニル、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル、アリルオキシカルボニル、2,2,2-トリクロロエトキシカルボニル、ベンジルオキシカルボニル、2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニル、メトキシカルボニル、又はエトキシカルボニルであり、より好ましくは、アセチル、トリフルオロアセチルである。

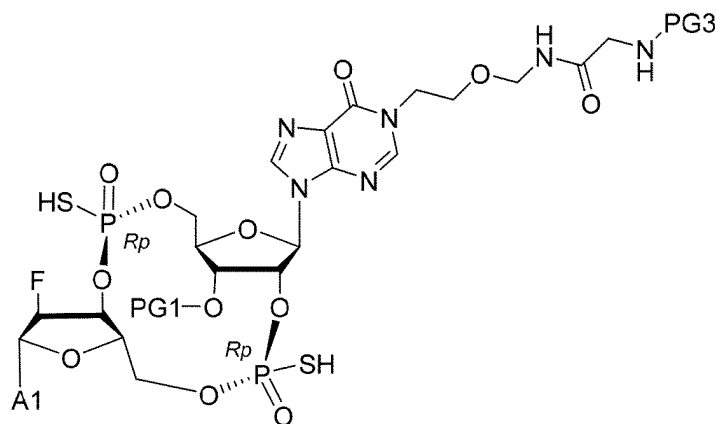
PG 3 は、好ましくは、2-（トリメチルシリル）エトキシカルボニル、tert-ブトキシカルボニル、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル、アリルオキシカルボニル、2, 2, 2-トリクロロエトキシカルボニル、又はベンジルオキシカルボニルであり、より好ましくは、2-（トリメチルシリル）エトキシカルボニルである。

【 0 1 0 7 】

また、本工程 a 4 は、式 (Rp-VII) において、Q がチオール基である化合物を、その塩に変換する前に、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで処理するか、及び／又は、その塩に変換した後に、結晶化して、式 (Rp, Rp-VII') :

【 0 1 0 8 】

【化 1 3 2】



(Rp, Rp-VII')

10

の化合物又はその塩を得ることをさらに含む。

【0109】

本発明の製造方法により得られた式 (Rp-VII) 又は式 (Sp-VII) で表される化合物、とりわけ、式 (Rp, Rp-VII') で表される化合物は、好適には、式 (Rp, Rp-XII) で示されるCDN-リンカー（以下、CDNコンジュゲート前駆体ともいう。）、及び、該CDNコンジュゲート前駆体にさらに抗体が結合した抗体-免疫賦活化剤コンジュゲートのために使用することができる。また、本発明の製造方法により得られた式 (Rp-VII) 又は式 (Sp-VII) の化合物は、これに限定されず、他の化学構造を有する抗体-免疫賦活化剤コンジュゲートの製造や、その他の用途のために使用することもできる。

20

【0110】

<1-2. 本発明の化合物 (Rp-VII) の製造方法と従来法（特許文献6他）との比較>

従来法では、環状ジヌクレオチドが、ほぼ同じ比率で4種類のジアステレオマー混合物が生成するため、目的の立体配置を有する環状ジヌクレオチドを、カラム精製で取得する必要があり、収率が非常に低くなるという問題があった。本発明の式 (Rp-VII) の化合物の製造方法では、目的の立体を選択的に合成することが可能となり、結果として、以下に示す特許文献6の合成スキームと比較して、総収率の向上、カラム精製の回避のような優れた効果を有する製造方法の提供が可能となった。

30

【0111】

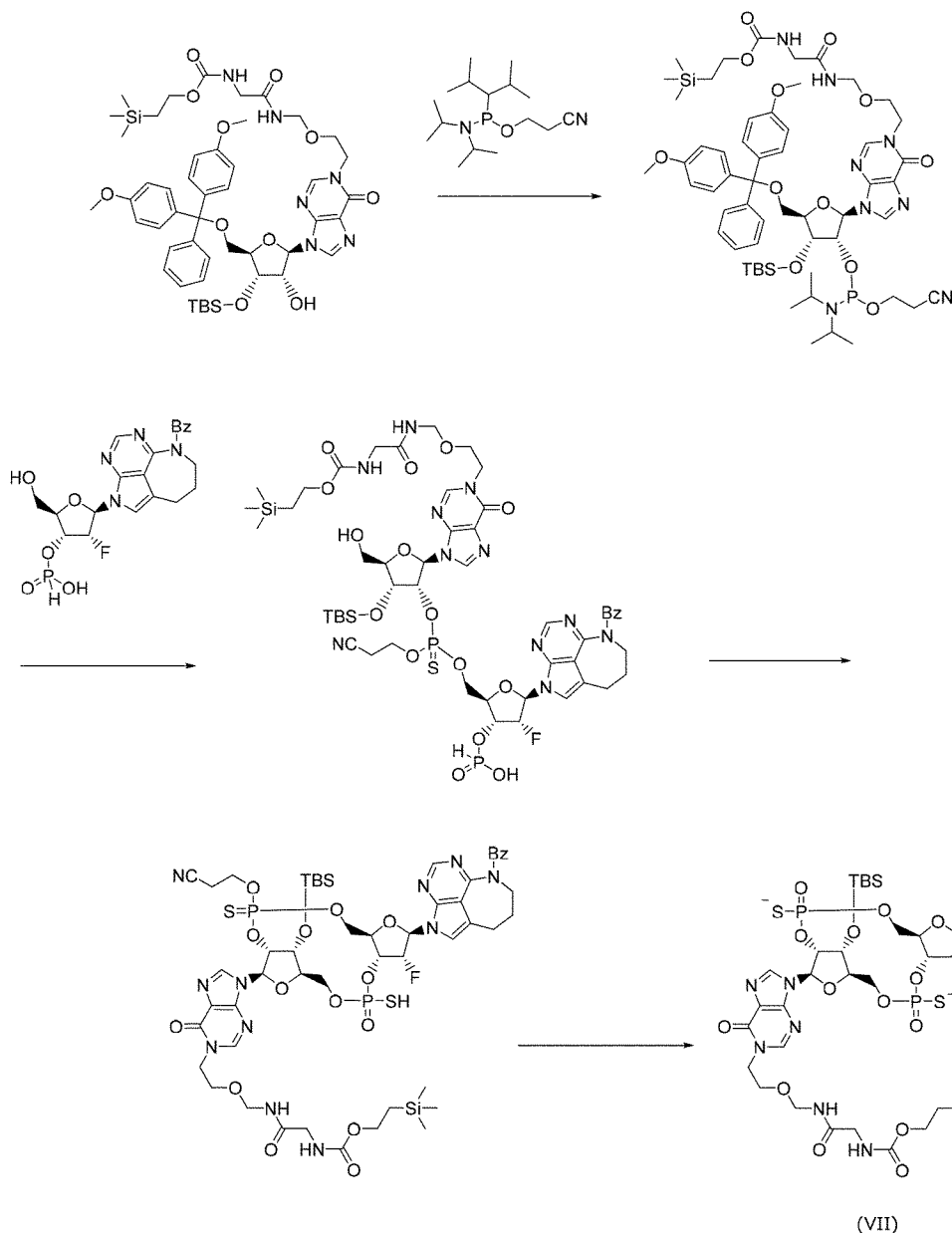
[従来法の合成スキーム（特許文献6 実施例77の合成スキームより）]

【0112】

40

50

【化 1 3 3】



【0 1 1 3】

【本発明の式 (Rp-VII) の製造方法の効果】

従来の合成ルート（特許文献6）では、リン上の立体については、反応で制御するのではなく、4種類のジアステレオマー混合物で合成して、最終的にカラム精製で望みの立体を取得する方法であったため、収率が極めて低かった（8反応工程の総収率7.5%（不純物含有と記載されている。））。

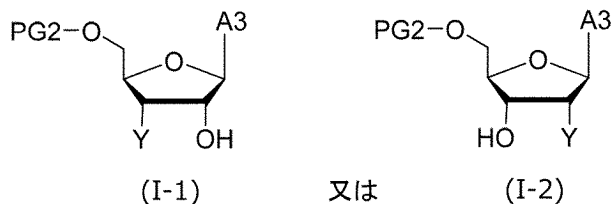
一方、本発明の製造方法では、第一段階のホスホロチオエート結合を立体選択的に行うことが可能であり、結果として、式(I)の化合物からの総収率が約20~40%向上し、品質もHPLC分析で92.4~>99%と高品質であった。

【0 1 1 4】

なお、上記の合成スキーム<A1-Rp>又は<A1-Sp>の（工程a1）において、式(I)の化合物として、以下の式(I-1)又は式(I-2)：

【0 1 1 5】

【化 1 3 4】



〔式中、

A 3 は、置換若しくは非置換のデアザプリン基、置換若しくは非置換のプリン塩基、又は置換若しくは非置換のピリミジン塩基であり、及び

10

Y は、それぞれ独立して、H、F 又は $-O-PG1$ であり、ここで、PG 1 は、ヒドロキシ基の保護基である。]

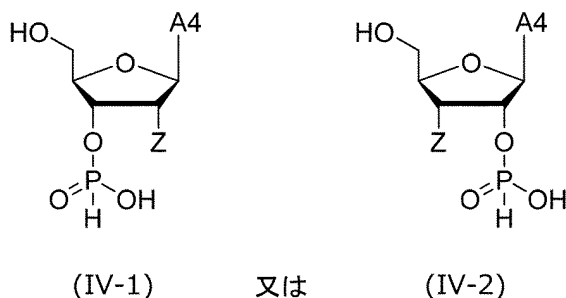
で表される化合物を用い、及び

(工程 a 2) において、式 (IV) として、以下の式 (IV-1) 又は式 (IV-2)

:

【0 1 1 6】

【化 1 3 5】



20

〔式中、

A 4 は、置換若しくは非置換のデアザプリン基、置換若しくは非置換のプリン塩基、又は置換若しくは非置換のピリミジン塩基であり、及び

30

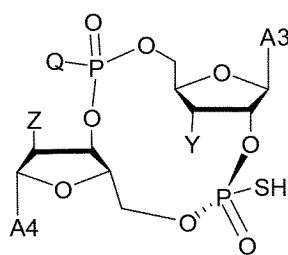
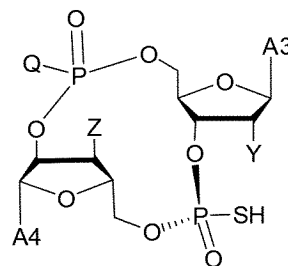
Z は、それぞれ独立して、H、F 又は $-O-PG1$ であり、ここで、PG 1 は、ヒドロキシ基の保護基である。]

で表される化合物又はその塩を用いることで、その組合せに応じて、式 (Rp-VII) に対応する以下の 12 員環～14 員環構造を有する 4 種類の環状ジヌクレオチド誘導体、又は、式 (Sp-VII) に対応する 12 員環～14 員環構造を有する 4 種類の環状ジヌクレオチド (図示せず) を合成することもできる。

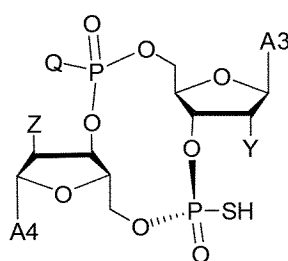
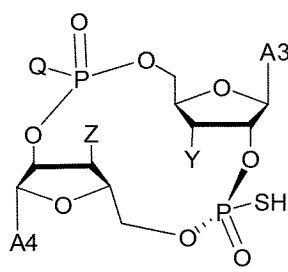
【0 1 1 7】

40

【化 1 3 6】

(Rp-VII-1)
(13員環)(Rp-VII-2)
(13員環)

10

(Rp-VII-3)
(12員環)(Rp-VII-4)
(14員環)

20

【0 1 1 8】

< 1 - 3 . 式 (I V) の化合物の製造方法 >

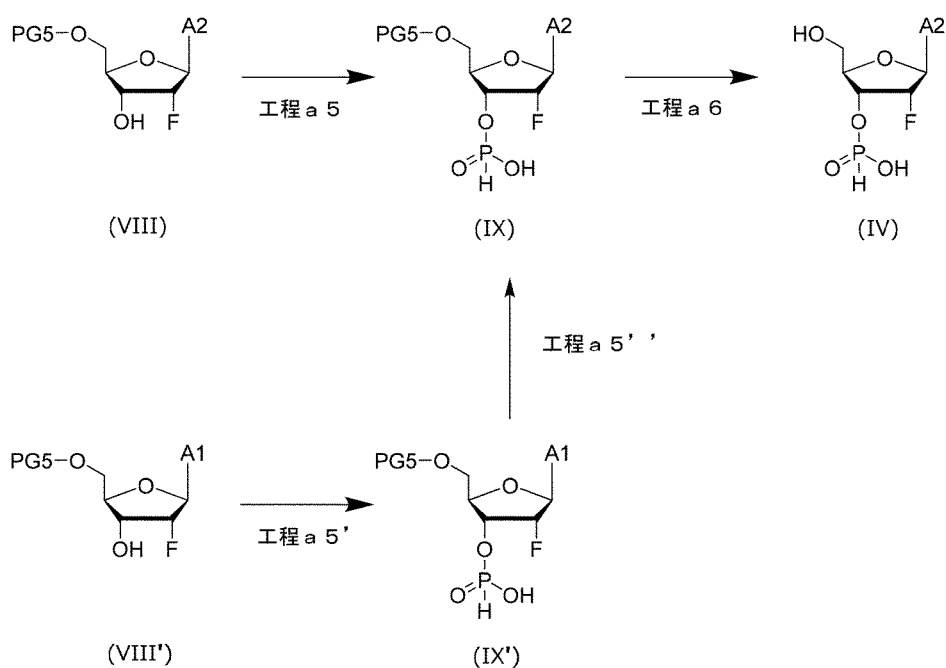
上記の環状ジヌクレオチドの製造に用いる式 (I V) の化合物又はその塩は、以下の合成スキームに従って製造することができる。

【合成スキーム< A 2 >】

【0 1 1 9】

【化 1 3 7】

30



40

【0 1 2 0】

50

上記の〔合成スキーム< A 2 >〕中、

A 1 及び A 2 は、上記〔合成スキーム< A 1 >〕と同義であり、

P G 5 は、ヒドロキシ基の保護基である。

【0121】

本製造方法において、P G 5 としては、例えば、4, 4'-ジメトキシトリチル、4-メトキシトリチル、2-クロロトリチル又はトリチルを挙げることができる。好適には、4, 4'-ジメトキシトリチル又は4-メトキシトリチルを挙げることができる。

【0122】

以下に、各工程について説明する。

(工程 a 5) 及び (工程 a 5')

本工程は、式 (V I I I) 又は式 (V I I I') の化合物を、亜リン酸エステルと反応させて、式 (I X) 若しくは式 (I X') の化合物又はそれらの塩を得る工程である。

【0123】

本工程に用いられる亜リン酸エステルとしては、亜リン酸ジフェニル、亜リン酸メチル、亜リン酸ジエチル、又は亜リン酸ジブチルを挙げることができ、好適には、亜リン酸ジフェニル、亜リン酸メチルを挙げることができ、より好適には、亜リン酸ジフェニルを挙げることができる。本工程に用いられる亜リン酸エステルの量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式 (V I I I) 又は式 (V I I I') で表される化合物に対して、0.5~20 当量であり、より好適には、1~10 当量である。

【0124】

本工程の反応温度は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、-20℃から反応に用いる溶媒の沸点まで、より好適には、-10℃~30℃である。本工程の反応時間は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、2分~120時間であり、より好適には、5分~72時間である。

【0125】

本工程に用いられる溶媒としては、反応を阻害するものでなければ特に限定はされないが、例えば、ピリジン、2-メチルピリジン、3-メチルピリジン、4-メチルピリジン、2, 6-ルチジン、アセトニトリル、ジクロロメタン、クロロホルム、ジエチルエーテル、1, 2-ジメトキシエタン、テトラヒドロフラン、2-メチルテトラヒドロフラン、1, 4-ジオキサン、酢酸エチル、ヘキサン、ペンタン、シクロヘキサン、エチルシクロヘキサン、ベンゼン、トルエン、クロロベンゼン、アセトン、2-ブタノン、N, N-ジメチルホルムアミド、N, N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、及びジメチルスルホキシド、並びにこれらの混合溶媒を用いることができ、好適には、ピリジン、2-メチルピリジン、3-メチルピリジン、4-メチルピリジン、2, 6-ルチジン、アセトニトリル、ジクロロメタンを挙げることができ、より好適には、ピリジン、アセトニトリルを挙げることができる。

【0126】

式 (I X) 又は式 (I X') の化合物を、その塩に変換する際に用いる試薬としては、トリエチルアミン、トリブチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルモルホリン、N-メチルピロリジン、N-メチルピペリジン、ピリジン、2-メチルピリジン、2, 6-ジメチルピリジン、4-ジメチルアミノピリジン、1, 4-ジアザビシクロ [2.2.2] オクタン、1, 8-ジアザビシクロ [5.4.0] ウンデク-7-エン、プロピルアミン、i s o-プロピルアミン、ブチルアミン、i s o-ブチルアミン、t e r t-ブチルアミン、ペンチルアミン、アニリン、炭酸カリウム、水酸化カリウム、炭酸水素カリウム、炭酸ナトリウム、水酸化ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、酢酸ナトリウム、酢酸カリウム、ナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシド、カリウム t e r t-ブトキシド、塩化ナトリウム、及び塩化カリウム等がある。好適には、トリエチルアミン、トリブチルアミン、i s o-プロピルアミン、ブチルアミン、i s o-ブチルアミン、t e r t-ブチルアミン、炭酸カリウム、炭酸水素カリウム、炭酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウムを挙げられる。より好適には、トリエチルアミ

10

20

30

40

50

ン、*tert*-ブチルアミン、炭酸カリウム、炭酸水素カリウム、炭酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウムを挙げることができる。塩に変換するために用いられる塩基の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式 (IX) 又は式 (IX') で表される化合物に対して、0.5 ~ 10 当量であり、より好適には、3 ~ 8 当量である。

【0127】

(工程 a5',')

本工程は、式 (IX') の化合物又はその塩を、アシル化剤又はアルコキシカルボニル化剤と反応させて、式 (IX) の化合物又はその塩を得る工程である。

【0128】

本工程に用いられるアシル化剤又はアルコキシカルボニル化剤としては、反応が進行するものであれば特に限定されないが、例えば、無水酢酸、アセチルクロリド、*N*-スクシンイミジルアセテート、ペンタフルオロフェニルアセテート、1-アセチル-1*H*-1, 2, 3-トリアゾロ[4, 5-*b*]ピリジン、*N*-メトキシジアセトアミド、*N*-アセチルイミダゾール、トリフルオロ酢酸無水物、ビストリフルオロアセトアミド、エチルトリフルオロアセテート、メチルトリフルオロアセテート、ペンタフルオロフェニルトリフルオロアセテート、トリフルオロアセチルベンゾトリアゾール、*S*-エチルトリフルオロチオアセテート、*N*-メチルビストリフルオロアセトアミド、トリフルオロアセチルトリフレート、1-トリフルオロアセチルイミダゾール、無水安息香酸、ベンゾイルクロリド、ペンタフルオロフェニルベンゾエート、ベンゾイルトリフルオロメタンスルホネート、3-ベンゾイルチアゾリジン-2-チオン、*tert*-ブチルフェニルカーボネート、*N*-(*tert*-ブトキシカルボニロキシ)フタルイミド、2-(*tert*-ブトキシカルボニルチオ)-4, 6-ジメチルピリジン、*N*-*tert*-ブトキシカルボニルイミダゾール、*tert*-ブチルカルバゼート、2-(*tert*-ブトキシカルボニロキシイミノ)-2-フェニルアセトニトリル、1-*tert*-ブトキシカルボニル-1, 2, 4-トリアゾール、ジ-*tert*-ブチルジカーボネート、9-フルオレニルメチルペンタフルオロフェニルカーボネート、クロロギ酸9-フルオレニルメチル、9-フルオレニルメチルカルバゼート、19-フルオレニルメチルカーバメート、1-[(9*H*-フルオレン-9-イルメトキシ)カルボニロキシ]ベンゾトリアゾール、*N*-[(9*H*-フルオレン-9-イルメトキシ)カルボニロキシ]スクシンイミド、クロロギ酸アリル、ジアリルジカーボネート、*N*-(アリロキシカルボニロキシ)スクシンイミド、アリルフェニルカーボネート、*N*-(2, 2, 2-トリクロロエトキシカルボニロキシ)スクシンイミド、クロロギ酸2, 2, 2-トリクロロエチル、クロロギ酸ベンジル、ベンジルカルバゼート、ベンジルフェニルカーボネート、*N*-カルボベンジロキシスクシンイミド、ジベンジルジカーボネート、4-[2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニロキシ]ニトロベンゼン、2-(トリメチルシリル)エチル-3-ニトロ-1*H*-1, 2, 4-トリアゾール-1-カルボキシレート、*N*-[2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニロキシ]スクシンイミド、*N*-エトキシカルボニルフタルイミド、クロロギ酸エチル、ジエチルジカーボネート、エチルイミダゾール-1-カルボキシレート、2-エトキシ-1-(エトキシカルボニル)-1, 2-ジヒドロキノリン、クロロギ酸メチル、ジメチルカーボネート、ジメチルジカーボネート、又はメチルイミダゾール-1-カルボキシレートを挙げることができる。好適には、無水酢酸、1-トリフルオロアセチルイミダゾール、無水安息香酸、*N*-[(9*H*-フルオレン-9-イルメトキシ)カルボニロキシ]スクシンイミド、*N*-(アリロキシカルボニロキシ)スクシンイミド、4-[2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニロキシ]ニトロベンゼン、*N*-[2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニロキシ]スクシンイミドを挙げることができる。より好適には、1-トリフルオロアセチルイミダゾール、4-[2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニロキシ]ニトロベンゼン、2-(トリメチルシリル)エチル-3-ニトロ-1*H*-1, 2, 4-トリアゾール-1-カルボキシレート、*N*-[2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニロキシ]スクシンイミドを挙げることができる。本工程に用いられるアシル化剤又はアルコキシカルボニル

10

20

30

40

50

化剤の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式（IX'）で表される化合物に対して、1～15当量であり、より好適には、3～8当量である。

【0129】

本工程は、好適には、塩基の存在下で行うことができる。本工程に用いられる塩基としては、反応が進行する限り特に限定されないが、例えば、トリエチルアミン、トリブチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルモルホリン、N-メチルピロリジン、N-メチルピペリジン、ピリジン、2-メチルピリジン、2,6-ジメチルピリジン、4-ジメチルアミノピリジン、1,4-ジアザビシクロ[2.2.2]オクタン、1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデクー7-エン等の有機塩基や、炭酸カリウム、水酸化カリウム、炭酸水素カリウム、炭酸ナトリウム、水酸化ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、酢酸ナトリウム、酢酸カリウム、ナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシド、及びカリウム tert-ブトキシド等の塩基を挙げることができ、好適には、トリエチルアミン、トリブチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルモルホリン、N-メチルピロリジン、N-メチルピペリジンを挙げることができ、より好適には、トリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルモルホリンを挙げることができる。本工程に用いられる塩基の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式（IX'）で表される化合物に対して、1～20当量であり、より好適には、4～10当量である。

10

【0130】

本工程のアシル化剤又はアルコキシカルボニル化剤との反応温度は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、-20℃から反応に用いる溶媒の沸点まで、より好適には、40℃～80℃である。本工程の反応時間は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、1時間～96時間であり、より好適には、24時間～72時間である。

20

【0131】

本工程に用いられる溶媒としては、反応を阻害するものでなければ特に限定はされないが、例えば、ピリジン、2-メチルピリジン、3-メチルピリジン、4-メチルピリジン、2,6-ルチジン、アセトニトリル、ジクロロメタン、クロロホルム、ジエチルエーテル、1,2-ジメトキシエタン、テトラヒドロフラン、2-メチルテトラヒドロフラン、1,4-ジオキサン、酢酸エチル、ヘキサン、ペンタン、シクロヘキサン、エチルシクロヘキサン、ベンゼン、トルエン、クロロベンゼン、アセトン、2-ブタノン、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、及びジメチルスルホキシド、並びにこれらの混合溶媒を用いることができ、好適には、ピリジン、4-メチルピリジン、2-メチルテトラヒドロフラン、アセトニトリル、1-メチル-2-ピロリドンを挙げることができ、より好適には、2-メチルテトラヒドロフラン、アセトニトリルを挙げることができる。

30

【0132】

得られた式（IX）の化合物をその塩に変換する際に用いる試薬及びその量としては、上記工程a5と同じ試薬及び量を用いることができる。

【0133】

（工程a6）

本工程は、式（IX）の化合物の5'水酸基の保護基であるPG5を脱保護して、式（IV）の化合物を得る工程である。

40

【0134】

本工程の脱保護反応に用いられる酸としては、酢酸、クロロ酢酸、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸、トリフルオロ酢酸、メタンスルホン酸、トルエンスルホン酸、及び硫酸等を挙げることができ、好適には、酢酸、クロロ酢酸、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸を挙げることができ、より好適には、ジクロロ酢酸を挙げることができる。本工程に用いられる酸の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式（IX）で表される化合物に対して、0.05～500当量であり、より好適には、0.1～200当量である。

【0135】

50

本工程の反応温度は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、 -20°C から反応に用いる溶媒の沸点まで、より好適には、 -10°C ～ 40°C である。本工程の反応時間は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、1時間～96時間であり、より好適には、5時間～48時間である。

【0136】

本工程に用いられる溶媒としては、反応を阻害するものでなければ特に限定はされないが、例えば、メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、アセトニトリル、ジクロロメタン、クロロホルム、ジエチルエーテル、1,2-ジメトキシエタン、テトラヒドロフラン、2-メチルテトラヒドロフラン、1,4-ジオキサン、酢酸エチル、ヘキサン、ペンタン、シクロヘキサン、エチルシクロヘキサン、ベンゼン、トルエン、クロロベンゼン、アセトン、2-ブタノン、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、及びジメチルスルホキシド、並びにこれらの混合溶媒を用いることができ、好適には、メタノール、アセトニトリル、ジクロロメタンを挙げることができ、より好適には、ジクロロメタンを挙げることができる。

10

【0137】

<1-4. CDN-リンカー（化合物（Rp, Rp-XII））の製造方法>

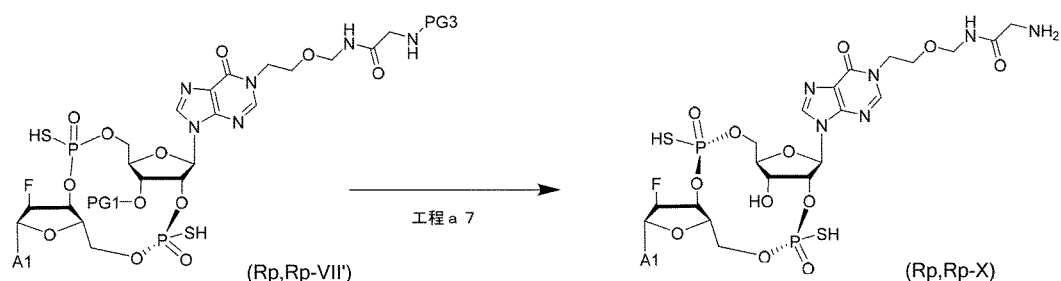
式（Rp, Rp-XII）の化合物又はその塩は、以下の合成スキームに従って製造することができる。式（Rp, Rp-XII）の化合物は、抗体-免疫賦活化剤コンjugateの製造前駆体である。

【合成スキーム<A3>】

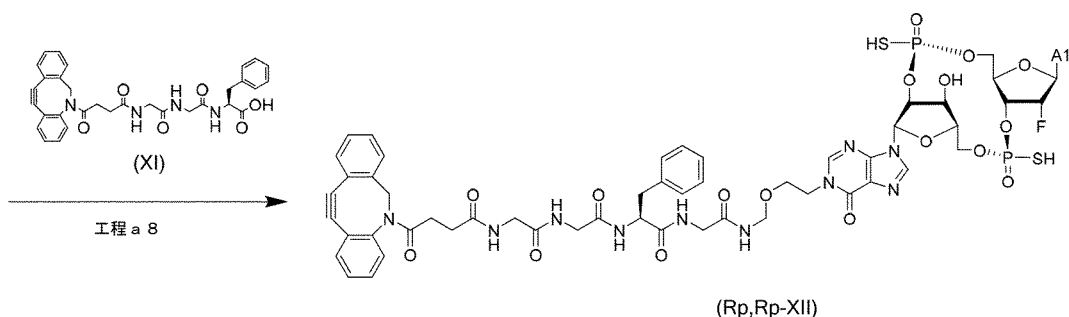
20

【0138】

【化138】



30



40

【0139】

上記の【合成スキーム<A3>】中、

PG1、PG3、A1は、上記【合成スキーム<A1-Rp>】と同義である。

【0140】

以下に、各工程について説明する。

（工程 a 7）

本工程は、式（Rp, Rp-VII'）の化合物の保護基であるPG1及びPG3を脱保護して、式（Rp, Rp-X）の化合物を得る工程である。

50

【0141】

本工程に用いる脱保護剤としては、フッ化アンモニウム、フッ化テトラ-*n*-ブチルアンモニウム、フッ化水素ピリジン、及びトリエチルアミン三ふっ化水素酸塩などを挙げることができ、好適には、フッ化アンモニウム、フッ化テトラ-*n*-ブチルアンモニウムを挙げることができ、より好適には、フッ化テトラ-*n*-ブチルアンモニウムが挙げることができる。本工程に用いられる脱保護剤の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式(R_p, R_p-V_{II})で表される化合物に対して、0.5~60当量であり、より好適には、1~30当量である。

【0142】

本工程の反応温度は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、0℃から反応に用いる溶媒の沸点まで、より好適には、10℃~40℃である。本工程の反応時間は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、30分~240時間であり、より好適には、1時間~120時間である。

10

【0143】

本工程に用いられる溶媒としては、反応を阻害するものでなければ特に限定はされないが、例えば、メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、アセトニトリル、ジクロロメタン、クロロホルム、ジエチルエーテル、1,2-ジメトキシエタン、テトラヒドロフラン、2-メチルテトラヒドロフラン、1,4-ジオキサン、酢酸エチル、ヘキサン、ペンタン、シクロヘキサン、エチルシクロヘキサン、ベンゼン、トルエン、クロロベンゼン、アセトン、2-ブタノン、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、及びジメチルスルホキシド、並びにこれらの混合溶媒を用いることができ、好適には、メタノール、アセトニトリル、テトラヒドロフラン、ジクロロメタン、ジメチルスルホキシドを挙げることができ、より好適には、テトラヒドロフラン、ジメチルスルホキシドを挙げることができる。

20

【0144】

(工程a8)

本工程は、式(R_p, R_p-X)の化合物と、式(X_I)の化合物を縮合して、式(R_p, R_p-X_{II})の化合物又はその塩を得る工程である。

【0145】

式(X_I)で表される化合物は、好適には、活性エステルへと誘導することにより、式(R_p, R_p-X)で表される化合物と縮合することができる。本工程で用いられる式(X_I)で表される化合物の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式(R_p, R_p-X)で表される化合物に対して、0.3~3当量であり、より好適には、0.7~1.3当量である。

30

【0146】

本工程における活性エステルへの誘導は、反応が進行する限り制限されないが、例えば、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド・塩酸塩(WSCD・HCl)、又はN,N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)等の縮合剤を用いて、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(HOBt)、1-ヒドロキシ-7-アザベンゾトリアゾール(HOAt)、N-ヒドロキシスクシンイミド、シアノ(ヒドロキシイミノ)酢酸エチル、又はp-ニトロフェノール等の添加剤を用いて行うことができ、又は、1-[ビス(ジメチルアミノ)メチレン]-1H-ベンゾトリアゾリウム3-オキシドヘキサフルオロホスファート(HBTU)、1-[ビス(ジメチルアミノ)メチレン]-1H-1,2,3-トリアゾロ[4,5-b]ピリジニウム3-オキシドヘキサフルオロホスファート(HATU)、又は(1-シアノ-2-エトキシ-2-オキソエチリデンアミノオキシ)ジメチルアミノ-モルホリノ-カルベニウムヘキサフルオロリン酸塩(COMU)、4-(4,6-ジメトキシ-1,3,5-トリアジン-2-イル)-4-メチルモルホリニウムクロリド(DMT-MM)等の縮合剤を用いて行うことができる。好適には、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド・塩酸塩と1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(HOBt)、又は1-エチル-3-(3-ジメチルアミノ

40

50

ロピル)カルボジイミド・塩酸塩と1-ヒドロキシ-7-アザベンゾトリアゾール、又は4-(4,6-ジメトキシ-1,3,5-トリアジン-2-イル)-4-メチルモルホリニウムクロリド(DMT-MM)を用いて行うことができる。本工程に用いられる1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド・塩酸塩の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式(Rp, Rp-X)で表される化合物に対して0.5~5当量であり、より好適には、0.7~2当量である。本工程に用いられる1-ヒドロキシベンゾトリアゾール、又は1-ヒドロキシ-7-アザベンゾトリアゾールの量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式(Rp, Rp-X)で表される化合物に対して0.05~4当量であり、より好適には、0.1~2当量である。本工程に用いられる4-(4,6-ジメトキシ-1,3,5-トリアジン-2-イル)-4-メチルモルホリニウムクロリドの量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式(Rp, Rp-X)で表される化合物に対して0.3~5当量であり、より好適には、0.7~2当量である。

10

【0147】

本工程は、好適には、塩基の存在下で行うことができる。本工程に用いられる塩基としては、反応が進行する限り特に限定されないが、例えば、トリエチルアミン、トリブチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルモルホリン、N-メチルピロリジン、N-メチルピペリジン、ピリジン、2-メチルピリジン、2,6-ジメチルピリジン、4-ジメチルアミノピリジン、1,4-ジアザビシクロ[2.2.2]オクタン、1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデカ-7-エン等の有機塩基や、炭酸カリウム、水酸化カリウム、炭酸水素カリウム、炭酸ナトリウム、水酸化ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、酢酸ナトリウム、酢酸カリウム、ナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシド、及びカリウムtert-ブトキシド等の塩基を挙げることができ、好適には、トリエチルアミン、トリブチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルモルホリン、炭酸カリウム、水酸化カリウム、炭酸水素カリウム、炭酸ナトリウム、水酸化ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、及び酢酸ナトリウムを挙げることができ、より好適には、トリエチルアミン、N-メチルモルホリンを挙げることができる。本工程に用いられる塩基の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式(Rp, Rp-X)で表される化合物に対して、0.5~10当量であり、より好適には1~5当量である。

20

【0148】

本工程の反応温度は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、0℃から反応に用いる溶媒の沸点まで、より好適には、-10℃~40℃である。本工程の反応時間は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、5分~72時間であり、より好適には、1時間~24時間である。

30

【0149】

本工程に用いられる溶媒としては、反応を阻害するものでなければ特に限定はされないが、例えば、水、メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、アセトニトリル、ジクロロメタン、クロロホルム、ジエチルエーテル、1,2-ジメトキシエタン、テトラヒドロフラン、2-メチルテトラヒドロフラン、1,4-ジオキサン、酢酸エチル、ヘキサン、ペンタン、シクロヘキサン、エチルシクロヘキサン、ベンゼン、トルエン、クロロベンゼン、アセトン、2-ブタノン、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、及びジメチルスルホキシド、並びにこれらの混合溶媒を用いることができ、好適には、水、テトラヒドロフラン、N,N-ジメチルホルムアミド、アセトニトリル、及びジメチルスルホキシド並びにこれらの混合溶媒を挙げることができる。

40

【0150】

式(Rp, Rp-XII)をその塩に変換する際に用いる塩基としては、トリエチルアミン、トリブチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルモルホリン、N-メチルピロリジン、N-メチルピペリジン、ピリジン、2-メチルピリジン、2,6-ジメチルピリジン、4-ジメチルアミノピリジン、プロピルアミン、iso-プロピルアミン

50

、ブチルアミン、i s o -ブチルアミン、t e r t -ブチルアミン、ペンチルアミン、アニリン等の有機塩基や、2 -エチルヘキサン酸カリウム、炭酸カリウム、水酸化カリウム、炭酸水素カリウム、2 -エチルヘキサン酸ナトリウム、炭酸ナトリウム、水酸化ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、酢酸ナトリウム、酢酸カリウム、ナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシド、カリウム t e r t -ブトキシド、塩化ナトリウム、及び塩化カリウム等の無機塩基を挙げることができる。好適には、トリエチルアミン、t e r t -ブチルアミン、2 -エチルヘキサン酸カリウム、炭酸カリウム、炭酸水素カリウム、2 -エチルヘキサン酸ナトリウム、炭酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウムを挙げられる。より好適には、トリエチルアミン、2 -エチルヘキサン酸カリウム、炭酸ナトリウムを挙げることができる。

10

【0151】

式 (R p , R p - X I I) をその塩に変換する際に用いる溶媒としては、水、メタノール、エタノール、1 -プロパノール、2 -プロパノール、アセトニトリル、ジクロロメタン、クロロホルム、ジエチルエーテル、1 , 2 -ジメトキシエタン、テトラヒドロフラン、2 -メチルテトラヒドロフラン、1 , 4 -ジオキサン、シクロペンチルメチルエーテル、酢酸エチル、ヘキサン、ペンタン、シクロヘキサン、エチルシクロヘキサン、ベンゼン、トルエン、クロロベンゼン、アセトン、2 -ブタノン、N , N -ジメチルホルムアミド、N , N -ジメチルアセトアミド、1 -メチル-2 -ピロリドン、及びジメチルスルホキシド、並びにこれらの混合溶媒を用いることができ、好適には、水、2 -プロパノール、アセトニトリル、シクロペンチルメチルエーテル、及び酢酸エチル並びにこれらの混合溶媒を挙げることができる。

20

【0152】

< 2 . 環状ジヌクレオチドの製造に用いる原料化合物 (I) の製造 >

< 2 - 1 . 式 (I) の化合物の製造方法 >

上記の環状ジヌクレオチドの製造に用いる式 (I) の化合物は、以下の合成スキームに従って製造することができる。

[合成スキーム< B 1 >]

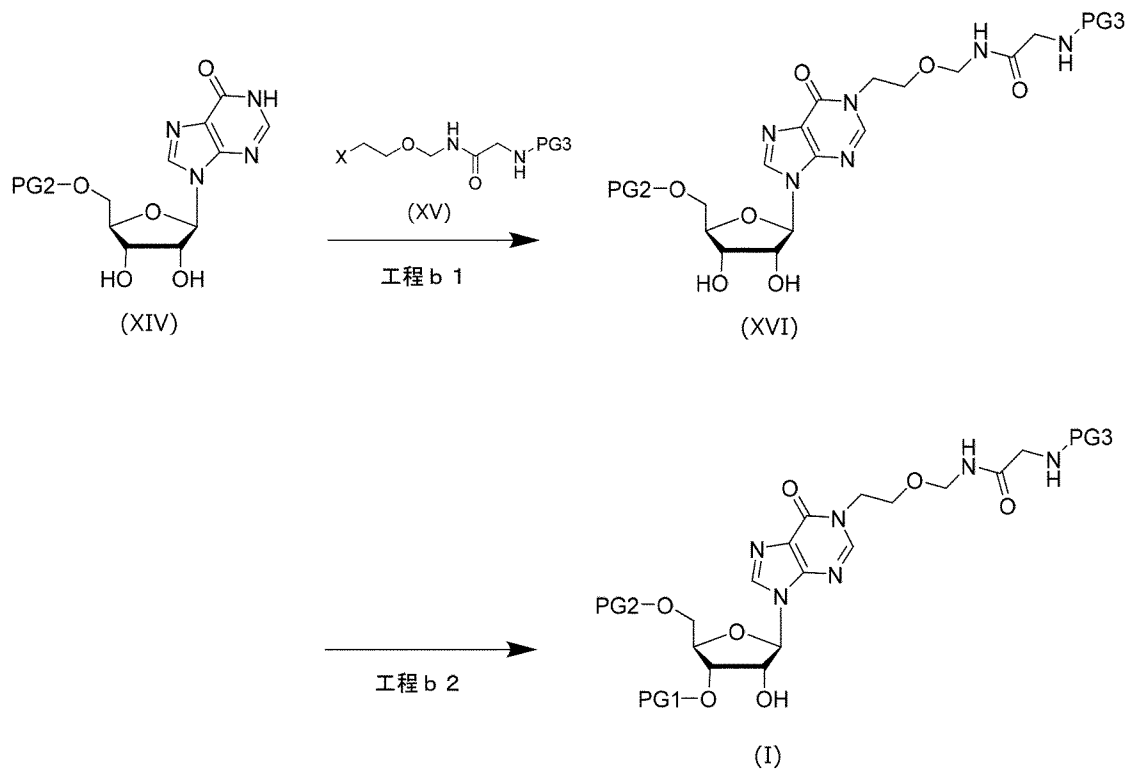
【0153】

30

40

50

【化 1 3 9】



10

20

【0 1 5 4】

上記の〔合成スキーム<B 1>〕中、

PG 1、PG 2、及びPG 3は、上記〔合成スキーム<A 1-R p>〕と同義であり、Xは、Cl、Br、又はIである。

【0 1 5 5】

本製造方法において、

PG 1はヒドロキシ基の保護基を示し、該保護基として、tert-ブチルジメチルシリル、トリメチルシリル、トリエチルシリル、トリスプロピルシリル、又はtert-ブチルジフェニルシリルを挙げることができる。好適には、tert-ブチルジメチルシリル、トリメチルシリルである。より好適には、tert-ブチルジメチルシリルである。

30

【0 1 5 6】

PG 2はヒドロキシ基の保護基を示し、該保護基として、4, 4'-ジメトキシトリチル、4-メトキシトリチル、2-クロロトリチル、又はトリチルを挙げることができる。好適には、4, 4'-ジメトキシトリチル、4-メトキシトリチル又はトリチルである。より好適には、4, 4'-ジメトキシトリチルである。

【0 1 5 7】

PG 3はアミノ基の保護基を示し、該保護基として、2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニル、tert-ブトキシカルボニル、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル、アリルオキシカルボニル、2, 2, 2-トリクロロエトキシカルボニル、又はベンジルオキシカルボニルを挙げることができる。好適には、2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニル、又はアリルオキシカルボニルである。より好適には、2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニルである。

40

【0 1 5 8】

以下に、各工程について説明する。

(工程 b 1)

本工程は、式(XIV)の化合物を、式(XV)の化合物と反応させて、式(XVI)

50

の化合物を得る工程である。

【0159】

本工程の反応は、塩基の存在下で実施され、該塩基としては、1, 1, 3, 3-テトラメチルグアニジン、トリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、又は1, 8-ジアザビシクロ[5. 4. 0]-7-ウンデセンを用いることができ、好適には、1, 1, 3, 3-テトラメチルグアニジン、1, 8-ジアザビシクロ[5. 4. 0]-7-ウンデセンを用いることができ、より好適には、1, 1, 3, 3-テトラメチルグアニジンが挙げられる。本工程に用いられる塩基の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式(XIV)で表される化合物に対して、0. 5～10当量であり、より好適には、1～3当量である。

10

【0160】

本工程の反応温度は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、10℃から反応に用いる溶媒の沸点まで、より好適には、20℃～50℃である。本工程の反応時間は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、30分～72時間であり、より好適には、5時間～36時間である。

【0161】

本工程に用いられる溶媒としては、反応を阻害するものでなければ特に限定はされないが、例えば、メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、アセトニトリル、ジクロロメタン、クロロホルム、ジエチルエーテル、1, 2-ジメトキシエタン、テトラヒドロフラン、2-メチルテトラヒドロフラン、1, 4-ジオキサン、酢酸エチル、ヘキサン、ペンタン、シクロヘキサン、エチルシクロヘキサン、ベンゼン、トルエン、クロロベンゼン、アセトン、2-ブタノン、N, N-ジメチルホルムアミド、N, N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、1, 3-ジメチル-2-イミダゾリジノン及びジメチルスルホキシド、並びにこれらの混合溶媒を用いることができ、好適には、N, N-ジメチルホルムアミド、N, N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、1, 3-ジメチル-2-イミダゾリジノンを挙げるができる。

20

【0162】

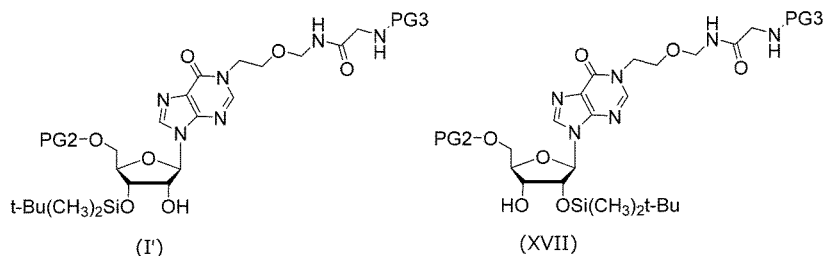
(工程b2)

本工程は、式(XVI)の化合物を、シリル化剤と反応させて、式(I')の化合物及び式(XVII)の化合物との混合物：

30

【0163】

【化140】



40

を得、次いで、塩基の存在下で、該混合物中の式(XVII)の化合物を、式(I')の化合物に変換して、式(I')の化合物を得る工程である。

【0164】

また、本工程は、式(XVI)の化合物とシリル化剤との反応を、第一の塩基の存在下で実施して、式(I')の化合物と式(XVII)の化合物との混合物を得、次いで、該混合物中の式(XVII)の化合物を、第二の塩基の存在下で、式(I')の化合物に変換して、式(I')の化合物を得る工程を含む。

【0165】

式(XVII)の化合物から式(I')の化合物への変換は、該混合物溶液中の平衡反

50

応、及び、式 (X V I I) の化合物と式 (I') の化合物との溶解性の差を利用して、該混合物の溶液から、式 (I') の化合物を晶析させることによって実施される。

【0166】

ここで、第一の塩基としては、1, 1, 3, 3-テトラメチルグアニジン、トリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、2, 6-ルチジン又は1, 8-ジアザビシクロ [5. 4. 0] -7-ウンデセンを挙げることができ、好適には、1, 1, 3, 3-テトラメチルグアニジン、2, 6-ルチジン、1, 8-ジアザビシクロ [5. 4. 0] -7-ウンデセンを挙げることができ、より好適には、1, 1, 3, 3-テトラメチルグアニジンを挙げることができる。本工程に用いられる第一の塩基の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式 (X V I) で表される化合物に対して、0. 5 ~ 10 当量であり、より好適には、1 ~ 5 当量である。

10

【0167】

本工程の第一塩基を用いる反応の反応温度は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、10℃から反応に用いる溶媒の沸点まで、より好適には、40℃~70℃である。本工程の反応時間は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、30分~72時間であり、より好適には、5時間~36時間である。

【0168】

本工程の第一塩基を用いる反応の溶媒としては、反応を阻害するものでなければ特に限定はされないが、例えば、メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、アセトニトリル、ジクロロメタン、クロロホルム、ジエチルエーテル、1, 2-ジメトキシエタン、テトラヒドロフラン、2-メチルテトラヒドロフラン、1, 4-ジオキサン、酢酸エチル、ヘキサン、ペンタン、シクロヘキサン、エチルシクロヘキサン、ベンゼン、トルエン、クロロベンゼン、アセトン、2-ブタノン、N, N-ジメチルホルムアミド、N, N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、1, 3-ジメチル-2-イミダゾリジノン及びジメチルスルホキシド、並びにこれらの混合溶媒を用いることができ、好適には、N, N-ジメチルホルムアミド、N, N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、1, 3-ジメチル-2-イミダゾリジノンを挙げることができる。

20

【0169】

本工程のシリル化剤としては、tert-ブチルジメチルクロロシラン、又はtert-ブチルジメチルシリルトリフラートを挙げることができ、好適には、tert-ブチルジメチルクロロシランを挙げることができる。本工程に用いられるシリル化剤の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式 (X I V) で表される化合物に対して、0. 5 ~ 10 当量であり、より好適には、2 ~ 4 当量である。

30

【0170】

また、第二の塩基としては、1, 1, 3, 3-テトラメチルグアニジン、トリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、2, 6-ルチジン、又は1, 8-ジアザビシクロ [5. 4. 0] -7-ウンデセンが挙げることができ、好適には、1, 1, 3, 3-テトラメチルグアニジン、2, 6-ルチジン、1, 8-ジアザビシクロ [5. 4. 0] -7-ウンデセンを挙げることができ、より好適には、1, 1, 3, 3-テトラメチルグアニジンを挙げることができる。本工程に用いられる第二の塩基の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式 (X I V) で表される化合物に対して、0. 01 ~ 3 当量であり、より好適には、0. 05 ~ 1 当量である。

40

【0171】

本工程の第二塩基を用いる反応の反応温度は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、10℃から反応に用いる溶媒の沸点まで、より好適には、10℃~40℃である。本工程の反応時間は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、2分~10時間であり、より好適には、5分~90分である。

【0172】

本工程の第二塩基を用いる反応の第一溶媒としては、反応を阻害するものでなければ特

50

に限定はされないが、例えば、メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、アセトニトリル、ジクロロメタン、クロロホルム、ジエチルエーテル、1,2-ジメトキシエタン、テトラヒドロフラン、2-メチルテトラヒドロフラン、1,4-ジオキサン、酢酸エチル、ヘキサン、ペンタン、シクロヘキサン、エチルシクロヘキサン、ベンゼン、トルエン、クロロベンゼン、アセトン、2-ブタノン、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、1,3-ジメチル-2-イミダゾリジノン及びジメチルスルホキシド、並びにこれらの混合溶媒を用いることができ、好適には、テトラヒドロフラン、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、1,3-ジメチル-2-イミダゾリジノンを用いることができ、より好適には、テトラヒドロフランを挙げることができる。

10

【0173】

本工程の第二塩基を用いる反応の第二溶媒としては、反応を阻害するものでなければ特に限定はされないが、例えば、メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、アセトニトリル、ジクロロメタン、クロロホルム、ジエチルエーテル、1,2-ジメトキシエタン、テトラヒドロフラン、2-メチルテトラヒドロフラン、1,4-ジオキサン、酢酸エチル、ヘキサン、ペンタン、ヘプタン、シクロヘキサン、エチルシクロヘキサン、ベンゼン、トルエン、クロロベンゼン、アセトン、2-ブタノン、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、1,3-ジメチル-2-イミダゾリジノン及びジメチルスルホキシド、並びにこれらの混合溶媒を用いることができ、好適には、テトラヒドロフラン、ヘプタン、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、1,3-ジメチル-2-イミダゾリジノンを用いることができ、より好適には、ヘプタンを挙げることができる。

20

【0174】

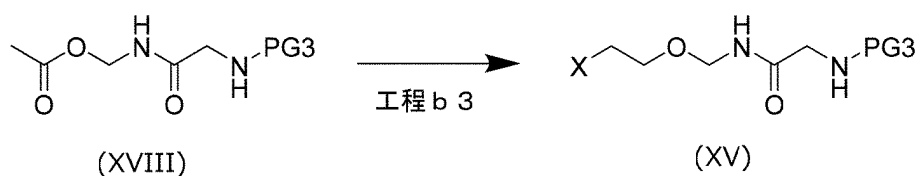
<2-2. 式(XV)の化合物の製造方法及びその中間体>

上記の式(I)の製造に用いる式(XV)の化合物は、以下の合成スキームに従って製造することができる。

【合成スキーム<B2>】

【0175】

【化141】



30

【0176】

上記の【合成スキーム<B2>】中、

PG3は、上記【合成スキーム<A1>】と同義であり、

Xは、上記【合成スキーム<B1>】と同義である。

40

【0177】

以下に、工程b3について説明する。

(工程b3)

本工程は、式(XVII)で表される化合物を、酸又は塩基の存在下で、2-ハロエタノールと反応させて、式(XV)の化合物を得る工程である。

【0178】

本工程の塩基としては、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化リチウム、トリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、又は1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]-7-ウンデセンを挙げることができる、好適には、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、

50

トリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミンを挙げることができ、より好適には、水酸化ナトリウムを挙げることができる。本工程に用いられる塩基の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、化合物(XVII)の出発原料であるグリシルグリシンに対して、0.5～2当量である。該化合物(XVII)は、グリシルグリシンから、アミノ基の保護及びカルボキシ基のアセチルオキシ基への変換によって得ることができる。

【0179】

本工程で用いられる2-ハロエタノールは、2-クロロエタノール、2-ブロモエタノール、及び2-ヨードエタノールを挙げることができ、好適には、2-ブロモエタノール、2-ヨードエタノールを挙げることができ、より好適には、2-ブロモエタノールを挙げることができる。本工程に用いられる2-ハロエタノールの量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、化合物(XVII)の出発原料であるグリシルグリシンの量に対して、0.5～10当量であり、より好適には、1～4当量である。

10

【0180】

本工程の反応温度は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、-20℃から反応に用いる溶媒の沸点まで、より好適には、-10℃～20℃である。本工程の反応時間は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、5分～36時間であり、より好適には、1時間～10時間である。

【0181】

本工程に用いられる溶媒としては、反応を阻害するものでなければ特に限定はされないが、例えば、メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、アセトニトリル、ジクロロメタン、クロロホルム、ジエチルエーテル、1,2-ジメトキシエタン、テトラヒドロフラン、2-メチルテトラヒドロフラン、1,4-ジオキサン、酢酸エチル、ヘキサン、ペンタン、ヘプタン、シクロヘキサン、エチルシクロヘキサン、ベンゼン、トルエン、クロロベンゼン、アセトン、2-ブタノン、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、1,3-ジメチル-2-イミダゾリジノン及びジメチルスルホキシド、並びにこれらの混合溶媒を用いることができ、好適には、1,2-ジメトキシエタン、2-メチルテトラヒドロフラン、1,4-ジオキサンを用いることができ、より好適には、1,2-ジメトキシエタンを挙げることができる。

20

30

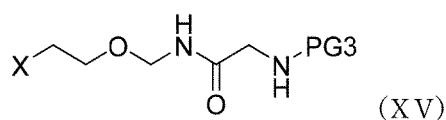
【0182】

(新規中間体)

上記の合成[スキーム<B1>]における新規中間体として、以下の式(XV)で表される化合物が挙げられる。

【0183】

【化142】



40

ここで、PG3は、2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニルであり、及びXは、好ましくは、Cl、Br、又はIであり、より好ましくは、Brである。

【0184】

<2-3. 本発明の化合物(I)の製造方法と従来法(特許文献6他)との比較>

本発明の式(I)の化合物の製造方法は、従来法の課題であった、2',3'位の水酸基のうち、3'位水酸基の選択的tert-ブチルジメチルシリル化体の合成が可能となり、結果として、以下に示す特許文献6の合成スキームと比較して、総収率の向上、工程数の削減、カラム精製の回避といった優れた効果を有する製造方法の提供が可能となった。

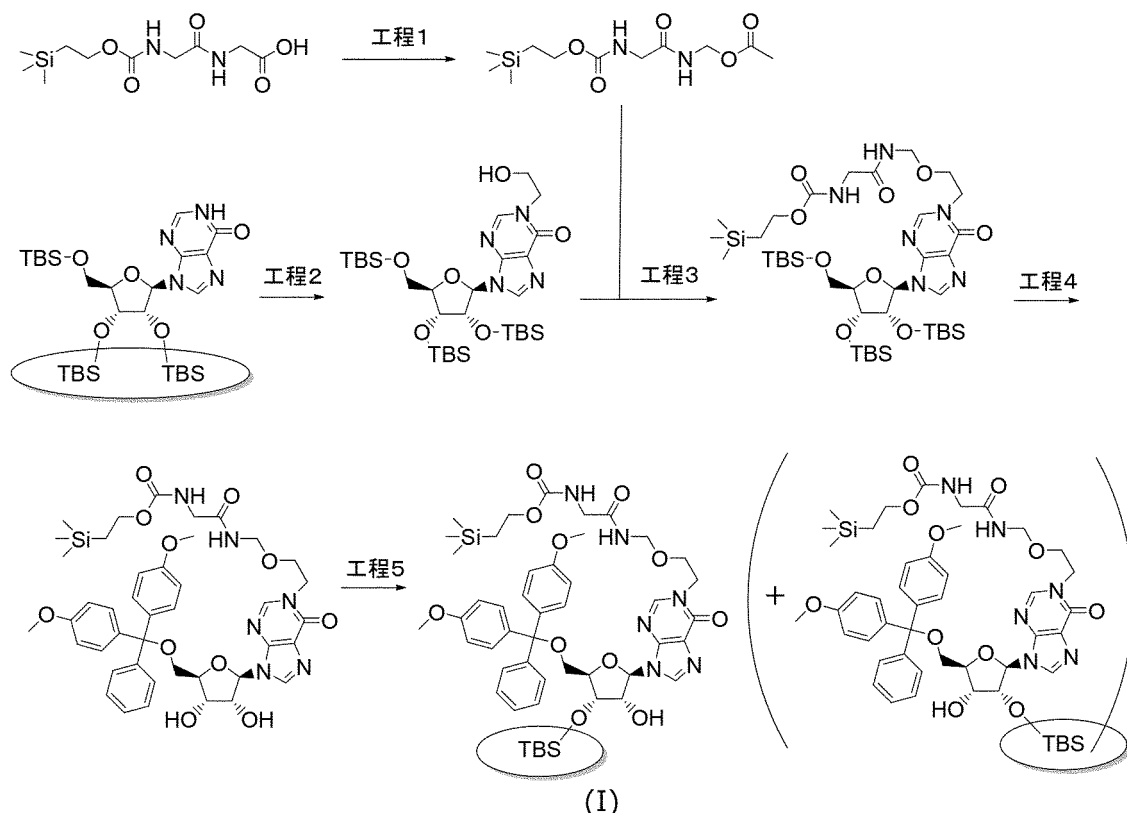
【0185】

50

【従来法の合成スキーム（特許文献6 実施例77の合成スキームより）】

【0186】

【化143】



10

20

【0187】

【本発明の式（I）の製造方法の効果】

【0188】

（効果1）2'，3'位の水酸基のうち、3'位水酸基の選択的tert-ブチルジメチルシリル化体（I）の合成 30

従来の合成ルート（特許文献6）では、tert-ブチルジメチルシリル化工程（工程5）において、2'，3'位の水酸基のうち、3'位を選択的にtert-ブチルジメチルシリル化できず、2'位がtert-ブチルジメチルシリル化された副生成物が生成することなどから、目的の式（I）の化合物の収率が約35%と低かった。また、2'，3'位の水酸基の選択的シリル化反応として、キラルイミダゾールを用いて選択的に3'位をトリエチルシリル化する方法が知られているが（Org. Lett.，Vol. 15，No. 18，2013，pp. 4710-4713参照）、特殊なキラルイミダゾールであり容易に入手できないという問題があった。さらに、銀試薬を用いる選択的なtert-ブチルジメチルシリル化も知られているが（Tetrahedron Lett.，Vol. 22，No. 52，1981，pp. 5423-5246参照）、高価な銀試薬を反応基質当量と同等以上使用する必要があるため好ましくなく、かつ、本基質を用いて同様の条件で実施したが、望む選択性を得ることができなかった。

40

【0189】

一方、本発明の製造方法では、2'，3'位の水酸基の非選択的なTBS基の導入後に、2'位と3'位間でTBS基が転移する条件を見出し、かつ、式（I）で表される目的の3'位水酸基がTBS化された化合物のみが結晶化する条件を見出したことにより、優位に目的の式（I）の化合物を取得することが可能となった。

【0190】

（効果2）工程数削減、収率向上、カラム精製回避

50

従来の合成ルート（特許文献６）では、核酸塩基アミド基のN-アルキル化の際に、反応基質に2', 3'位の水酸基を保護していることで余分な脱保護工程が必要であった。

【0191】

一方、本発明の製造方法では、2', 3'位の水酸基が無保護のまま核酸塩基アミド基のN-アルキル化が進行するアルキル化剤（式（XV）の化合物）を見出したことで、2', 3'位水酸基の保護、脱保護工程が不要となり、2工程短縮された製造方法の提供が可能となった。

【0192】

（効果３）全スキームを通した、収率向上、カラム精製回避

従来の合成ルート（特許文献６）では、出発原料の2', 3', 5'-トリスーO-tert-butyl（ジメチル）シリル]イノシンから式（I）の化合物までの総収率が、約13%（5工程）であったが、本発明の製造方法では、出発原料のイノシンから収率約60%（3工程）で式（I）の化合物の合成が可能となった。また、従来の合成ルート（特許文献６）では、全ての工程で、廃棄物量（シリカゲルやヘキサン、酢酸エチルのような展開溶媒など）の増加やリードタイムの長期化をもたらすシリカゲルカラムクロマトグラフィーの精製を実施して生成物を取得していたが、本発明の製造方法では、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを回避して、環境負荷軽減と生産性を向上させることが可能となった。

【0193】

< 3. 環状ジヌクレオチドの製造に用いる原料化合物（VII）及び式（VII'）の製造 > 20

< 3-1. 式（VII）及び式（VII'）の化合物の製造方法及びその中間体 >

上記の環状ジヌクレオチドの製造に用いる式（VII）及び式（VII'）の化合物は、以下の合成スキームに従って製造することができる。

〔合成スキーム< C1 >〕

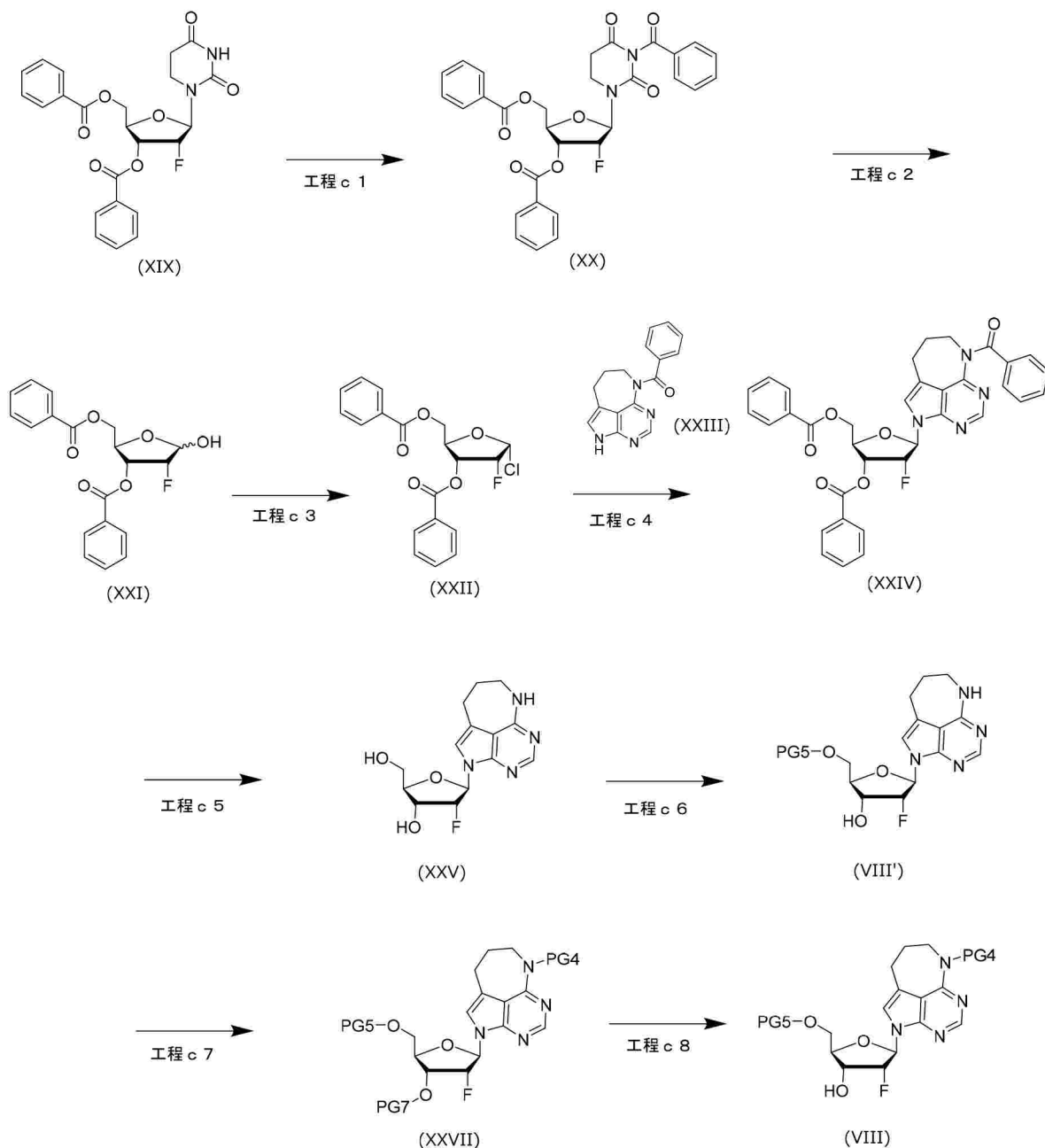
【0194】

30

40

50

【化 1 4 4】



10

20

30

40

50

【0195】

上記の【合成スキーム<C1>】中、

PG4は、ベンゾイル、2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニル、tert-ブトキシカルボニル、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル、アリルオキシカルボニル、2,2,2-トリクロロエトキシカルボニル、又はベンジルオキシカルボニルであり、

PG5は、4,4'-ジメトキシトリチル、4-メトキシトリチル、2-クロロトリチル又はトリチルであり、及び

PG7は、トリメチルシリル、トリエチルシリル、トリスプロピルシリル、tert-ブチルジメチルシリル、tert-ブチルジフェニルシリル、又はトリフェニルシリルである。

【0196】

以下に、各工程について説明する。

(工程 c 1)

本工程は、式 (X I X) の化合物を、ベンゾイル化剤と反応させて、式 (X X) の化合物を得る工程である。

【0197】

本工程で用いられるベンゾイル化剤は、塩化ベンゾイル、臭化ベンゾイル、安息香酸無水物又はトリフルオロメタンスルホン酸ベンゾイル等を挙げることができ、好適には、塩化ベンゾイル、臭化ベンゾイルを挙げることができ、より好適には、塩化ベンゾイルを挙げることができる。本工程に用いられるベンゾイル化剤の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式 (X I X) で表される化合物に対して、0.5～5当量であり、より好適には、1～2当量である。

【0198】

本工程は、好適には、塩基の存在下で行うことができる。本工程に用いられる塩基としては、反応が進行する限り特に限定されないが、例えば、トリエチルアミン、トリブチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルモルホリン、N-メチルピロリジン、N-メチルピペリジン、ピリジン、2-メチルピリジン、2,6-ジメチルピリジン、4-ジメチルアミノピリジン、1,4-ジアザビシクロ[2.2.2]オクタン、1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデカ-7-エン等の有機塩基や、炭酸カリウム、水酸化カリウム、炭酸水素カリウム、炭酸ナトリウム、水酸化ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、酢酸ナトリウム、酢酸カリウム、ナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシド、及びカリウム *tert*-ブトキシド等の塩基、並びにこれらの混合物を挙げることができ、好適には、トリエチルアミン、2,6-ジメチルピリジン、4-ジメチルアミノピリジン、炭酸カリウム、水酸化カリウム、炭酸水素カリウム、炭酸ナトリウム、水酸化ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、及び酢酸ナトリウム、並びにこれらの混合物を挙げることができる。本工程に用いられる塩基の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式 (X I X) で表される化合物に対して、0.1～10当量であり、より好適には、0.2～5当量である。

【0199】

本工程の反応温度は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、-40℃から反応に用いる溶媒の沸点まで、より好適には、-10℃～35℃である。本工程の反応時間は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、5分～24時間であり、より好適には、0.5時間～10時間である。

【0200】

本工程に用いられる溶媒としては、反応を阻害するものでなければ特に限定はされないが、例えば、メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、アセトニトリル、ジクロロメタン、クロロホルム、ジエチルエーテル、1,2-ジメトキシエタン、テトラヒドロフラン、2-メチルテトラヒドロフラン、1,4-ジオキサン、酢酸エチル、ヘキサン、ペンタン、ヘプタン、シクロヘキサン、エチルシクロヘキサン、ベンゼン、トルエン、クロロベンゼン、アセトン、2-ブタノン、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、1,3-ジメチル-2-イミダゾリジノン及びジメチルスルホキシド、並びにこれらの混合溶媒を用いることができ、好適には、アセトニトリル、N,N-ジメチルホルムアミドを用いることができ、より好適には、アセトニトリルを挙げることができる。

【0201】

(工程c2)

本工程は、式 (X X) で表される化合物を加水分解して、式 (X X I) の化合物を得る工程である。

【0202】

本工程で用いられる酸としては、塩酸、酢酸、クロロ酢酸、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸、トリフルオロ酢酸、メタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、及び硫酸等を挙げることができ、好適には、塩酸、メタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、硫酸を

10

20

30

40

50

挙げることができ、より好適には、p-トルエンスルホン酸を挙げることができる。本工程に用いられる酸の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式(X X)で表される化合物に対して、0.5～20当量であり、より好適には、1～10当量である。

【0203】

本工程の反応温度は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、0℃から反応に用いる溶媒の沸点まで、より好適には、40℃～80℃である。本工程の反応時間は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、5分～24時間であり、より好適には、1時間～10時間である。

【0204】

本工程に用いられる溶媒としては、反応を阻害するものでなければ特に限定はされないが、例えば、水、メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、アセトニトリル、ジクロロメタン、クロロホルム、ジエチルエーテル、1,2-ジメトキシエタン、テトラヒドロフラン、2-メチルテトラヒドロフラン、1,4-ジオキサン、シクロペンチルメチルエーテル、酢酸エチル、ヘキサン、ペンタン、ヘプタン、シクロヘキサン、エチルシクロヘキサン、ベンゼン、トルエン、クロロベンゼン、アセトン、2-ブタノン、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、1,3-ジメチル-2-イミダゾリジノン及びジメチルスルホキシド、並びにこれらの混合溶媒を用いることができ、好適には、1,2-ジメトキシエタン、2-メチルテトラヒドロフラン、テトラヒドロフラン、シクロペンチルメチルエーテル並びにこれらの混合溶媒を用いることができ、より好適には、シクロペンチルメチルエーテルと水の混合溶媒を挙げることができる。

【0205】

(工程c3)

本工程は、式(X X I)の化合物を、塩素化剤と反応させて、式(X X I I)の化合物を得る工程である。

【0206】

本工程の塩素化剤としては、トリクロロイソシアヌル酸、クロロイソシアヌル酸、ジクロロイソシアヌル酸、N-クロロスクシンイミド、1,3-ジクロロ-5,5-ジメチルヒダントイン、N-クロロサッカリン、N-N-ジクロロ-p-トルエンスルホンアミド、N-N-ジクロロベンゼンスルホンアミド、又は四塩化炭素を挙げることができ、好適には、トリクロロイソシアヌル酸、クロロイソシアヌル酸、ジクロロイソシアヌル酸を挙げることができ、より好適には、トリクロロイソシアヌル酸を挙げることができる。本工程に用いられる塩素化剤の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式(X X I)で表される化合物に対して、0.1～6当量であり、より好適には、0.3～3当量である。

【0207】

また、本工程の反応は、好適には、リン試薬の存在下で行うことができる。本工程に用いられるリン試薬としては、反応が進行する限り特に限定されないが、トリス(2,4-ジ-tert-ブチルフェニル)ホスファイト、トリー-o-トリルホスファイト、トリフェニルホスファイト、トリエチルホスファイト、トリブチルホスフィン、トリフェニルホスフィン、トリス(ジメチルアミノ)ホスフィン、又はトリス(ジエチルアミノ)ホスフィンを挙げることができ、好適には、トリス(2,4-ジ-tert-ブチルフェニル)ホスファイト、トリー-o-トリルホスファイト、トリフェニルホスファイトを挙げることができ、より好適には、トリス(2,4-ジ-tert-ブチルフェニル)ホスファイトを挙げることができる。本工程に用いられるリン試薬の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式(X X I)で表される化合物に対して、0.5～6当量であり、より好適には、1～3当量である。

【0208】

本工程の反応温度は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、-80℃から反

応に用いる溶媒の沸点まで、より好適には、 $-20^{\circ}\text{C} \sim 30^{\circ}\text{C}$ である。本工程の反応時間は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、5分～24時間であり、より好適には、1時間～10時間である。

【0209】

本工程に用いられる溶媒としては、反応を阻害するものでなければ特に限定はされないが、例えば、メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、アセトニトリル、ジクロロメタン、クロロホルム、ジエチルエーテル、1,2-ジメトキシエタン、テトラヒドロフラン、2-メチルテトラヒドロフラン、1,4-ジオキサン、シクロペンチルメチルエーテル、酢酸エチル、ヘキサン、ペンタン、ヘプタン、シクロヘキサン、エチルシクロヘキサン、ベンゼン、トルエン、クロロベンゼン、アセトン、2-ブタノン、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、1,3-ジメチル-2-イミダゾリジノン及びジメチルスルホキシド、並びにこれらの混合溶媒を用いることができ、好適には、ジクロロメタン、1,2-ジメトキシエタン、2-メチルテトラヒドロフラン、1,4-ジオキサン、シクロペンチルメチルエーテル並びにこれらの混合溶媒を用いることができ、より好適には、ジクロロメタン、シクロペンチルメチルエーテル並びにこれらの混合溶媒を挙げることができる。

10

【0210】

(工程c4)

本工程は、式(XXI)の化合物を、式(XXIII)と反応させて、式(XXIV)の化合物を得る工程である。

20

【0211】

本工程の反応は、好適には、塩基の存在下で行うことができる。本工程に用いられる塩基としては、反応が進行する限り特に限定されないが、例えば、トリエチルアミン、トリブチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルモルホリン、N-メチルピロリジン、N-メチルピペリジン、ピリジン、2-メチルピリジン、2,6-ジメチルピリジン、4-ジメチルアミノピリジン、1,4-ジアザビシクロ[2.2.2]オクタン、1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデカ-7-エン等の有機塩基や、炭酸セシウム、炭酸カリウム、水酸化カリウム、炭酸水素カリウム、炭酸ナトリウム、水酸化ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、酢酸ナトリウム、酢酸カリウム、ナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシド、及びカリウムtert-ブトキシド等の塩基、並びにこれらの混合物を挙げることができ、好適には、炭酸セシウム、炭酸カリウム、炭酸ナトリウムを挙げることができ、より好適には、炭酸セシウムを挙げることができる。本工程に用いられる塩基の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式(XXI)で表される化合物に対して、0.5～10当量であり、より好適には、1～5当量である。

30

【0212】

本工程の反応温度は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、 -20°C から反応に用いる溶媒の沸点まで、より好適には、 $10^{\circ}\text{C} \sim 50^{\circ}\text{C}$ である。本工程の反応時間は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、5分～24時間であり、より好適には、1時間～10時間である。

【0213】

本工程に用いられる溶媒としては、反応を阻害するものでなければ特に限定はされないが、例えば、メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、アセトニトリル、ジクロロメタン、クロロホルム、ジエチルエーテル、1,2-ジメトキシエタン、テトラヒドロフラン、2-メチルテトラヒドロフラン、1,4-ジオキサン、シクロペンチルメチルエーテル、酢酸エチル、ヘキサン、ペンタン、ヘプタン、シクロヘキサン、エチルシクロヘキサン、ベンゼン、トルエン、クロロベンゼン、アセトン、2-ブタノン、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、1,3-ジメチル-2-イミダゾリジノン及びジメチルスルホキシド、並びにこれらの混合溶媒を用いることができ、好適には、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、1,3-ジメチル-2-イミ

40

50

ダゾリジノン、ジメチルスルホキシドを用いることができ、より好適には、ジメチルスルホキシドを挙げることができる。

【0214】

(工程c5)

本工程は、式(XXIV)の化合物からベンゾイル基を脱保護して、式(XXV)の化合物またはその塩を得る工程である。

【0215】

本工程は、好適には、塩基の存在下で行うことができる。本工程に用いられる塩基としては、反応が進行する限り特に限定されないが、例えば、トリエチルアミン、トリブチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルモルホリン、N-メチルピロリジン、N-メチルピペリジン、ピリジン、2-メチルピリジン、2,6-ジメチルピリジン、4-ジメチルアミノピリジン、1,4-ジアザビシクロ[2.2.2]オクタン、1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデカ-7-エン等の有機塩基や、炭酸セシウム、炭酸カリウム、水酸化カリウム、炭酸水素カリウム、炭酸ナトリウム、水酸化ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、酢酸ナトリウム、酢酸カリウム、ナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシド、及びカリウムtert-ブトキシド等の塩基、並びにこれらの混合物を挙げることができる。好適には、1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデカ-7-エン、ナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシド、炭酸カリウム、炭酸ナトリウム、水酸化ナトリウム、水酸化カリウムを挙げることができる。より好適には、水酸化ナトリウム、ナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシドを挙げることができる。本工程に用いられる塩基の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式(XXIV)で表される化合物に対して、0.001~10当量であり、より好適には0.01~5当量である。

10

20

【0216】

本工程の反応温度は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、-20℃から反応に用いる溶媒の沸点まで、より好適には、0℃~40℃である。本工程の反応時間は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、5分~24時間であり、より好適には、1時間~10時間である。

【0217】

本工程に用いられる溶媒としては、反応を阻害するものでなければ特に限定はされないが、例えば、水、メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、アセトニトリル、ジクロロメタン、クロロホルム、ジエチルエーテル、1,2-ジメトキシエタン、テトラヒドロフラン、2-メチルテトラヒドロフラン、1,4-ジオキサン、シクロペンチルメチルエーテル、酢酸エチル、ヘキサン、ペンタン、ヘプタン、シクロヘキサン、エチルシクロヘキサン、ベンゼン、トルエン、クロロベンゼン、アセトン、2-ブタノン、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、1,3-ジメチル-2-イミダゾリジノン及びジメチルスルホキシド、並びにこれらの混合溶媒を用いることができ、好適には、水、メタノール、エタノール、テトラヒドロフラン、並びにこれらの混合溶媒を用いることができ、より好適には、エタノール又は水とテトラヒドロフランの混合溶媒を挙げることができる。

30

40

【0218】

式(XXV)の化合物をその塩に変換する際に用いる酸としては、ギ酸、酢酸、プロピオン酸、シュウ酸、マレイン酸、安息香酸、メタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、塩酸、硝酸、硫酸、リン酸等が挙げられる。好適には、酢酸、p-トルエンスルホン酸、塩酸を挙げられる。より好適には、p-トルエンスルホン酸、塩酸を挙げることができる。塩に変換するために用いられる酸の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式(XXIV)で表される化合物に対して、0.5~5当量であり、より好適には、1~3当量である。

【0219】

(工程c6)

50

本工程は、式（X X V）の化合物又はその塩を、トリチル化剤と反応させて、式（V I I I'）の化合物又はその塩を得る工程である。

【0220】

本工程のトリチル化剤としては、4，4-ジメトキシトリチルクロリド、4-メトキシトリチルクロリド、2-クロロトリチルクロリド、又はトリチルクロリド挙げることができる。好適には、4，4-ジメトキシトリチルクロリド、4-メトキシトリチルクロリドを挙げることができる。本工程に用いられるトリチル化剤の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式（X X V）で表される化合物に対して、0.5～6当量であり、より好適には、1～3当量である。

【0221】

本工程の反応温度は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、-20℃から反応に用いる溶媒の沸点まで、より好適には、0℃～40℃である。本工程の反応時間は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、5分～72時間であり、より好適には、1時間～36時間である。

【0222】

本工程に用いられる溶媒としては、反応を阻害するものでなければ特に限定はされないが、例えば、ピリジン、2-メチルピリジン、3-メチルピリジン、4-メチルピリジン、2，6-ルチジン、アセトニトリル、ジクロロメタン、クロロホルム、ジエチルエーテル、1，2-ジメトキシエタン、テトラヒドロフラン、2-メチルテトラヒドロフラン、1，4-ジオキサン、酢酸エチル、ヘキサン、ペンタン、シクロヘキサン、エチルシクロヘキサン、ベンゼン、トルエン、クロロベンゼン、アセトン、2-ブタノン、N，N-ジメチルホルムアミド、N，N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、及びジメチルスルホキシド、並びにこれらの混合溶媒を用いることができ、好適には、ピリジン、2-メチルピリジン、3-メチルピリジン、4-メチルピリジン、2，6-ルチジン、アセトニトリル、ジクロロメタンを挙げることができる、より好適には、ピリジンを挙げることができる。

【0223】

（工程c7）

本工程は、式（V I I I'）で表される化合物又はその塩を、シリル化剤と反応させ、次いで、アシル化剤又はアルコキシカルボニル化剤と反応させて、式（X X V I I）の化合物を得る工程である。

【0224】

本工程のシリル化剤としては、トリメチルクロロシラン、トリメチルシリルトリフラート、トリエチルクロロシラン、トリエチルシリルトリフラート、トリエチルプロピルクロロシラン、トリエチルプロピルシリルトリフラート、tert-ブチルジメチルクロロシラン、tert-ブチルジメチルシリルトリフラート、tert-ブチルジフェニルクロロシラン、tert-ブチルジフェニルシリルトリフラート、トリフェニルクロロシラン、又はトリフェニルシリルトリフラートを挙げることができる、好適には、tert-ブチルジメチルシリルトリフラートを挙げることができる。

【0225】

本工程のアシル化剤又はアルコキシカルボニル化剤としては、ベンゾイル化剤、2-（トリメチルシリル）エトキシカルボニル化剤、tert-ブトキシカルボニル化剤、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル化剤、アリルオキシカルボニル化剤、2，2，2-トリクロロエトキシカルボニル化剤、又はベンジルオキシカルボニル化剤挙げることができる、好適には、ベンゾイル化剤、2-（トリメチルシリル）エトキシカルボニル化剤を挙げることができる。本工程に用いられるアシル化剤又はアルコキシカルボニル化剤の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式（V I I I'）で表される化合物又はその塩に対して、0.5～6当量であり、より好適には、1～3当量である。

【0226】

本工程のアシル化剤又はアルコキシカルボニル化剤との反応温度は、反応が進行する限

10

20

30

40

50

り制限されないが、好適には、 -20°C から反応に用いる溶媒の沸点まで、より好適には、 $0^{\circ}\text{C}\sim 40^{\circ}\text{C}$ である。本工程のアシル化剤又はアルコキシカルボニル化剤との反応時間は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、5分～24時間であり、より好適には、1時間～10時間である。

【0227】

本工程に用いられる溶媒としては、反応を阻害するものでなければ特に限定はされないが、例えば、ピリジン、2-メチルピリジン、3-メチルピリジン、4-メチルピリジン、2,6-ルチジン、アセトニトリル、ジクロロメタン、クロロホルム、ジエチルエーテル、1,2-ジメトキシエタン、テトラヒドロフラン、2-メチルテトラヒドロフラン、1,4-ジオキサン、酢酸エチル、ヘキサン、ペンタン、シクロヘキサン、エチルシクロヘキサン、ベンゼン、トルエン、クロロベンゼン、アセトン、2-ブタノン、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、及びジメチルスルホキシド、並びにこれらの混合溶媒を用いることができ、好適には、ピリジン、2-メチルピリジン、3-メチルピリジン、4-メチルピリジン、2,6-ルチジン、アセトニトリル、ジクロロメタンを挙げることができ、より好適には、ピリジンを挙げることができる。

10

【0228】

(工程c8)

本工程は、式(XXVII)で表される化合物の保護基であるPG7を脱保護して、式(VIII)の化合物を得る工程である。

20

【0229】

本工程に用いられる脱保護剤としては、フッ化アンモニウム、フッ化テトラ-n-ブチルアンモニウム、フッ化水素ピリジン、及びトリエチルアミン三ふっ化水素酸塩などを挙げることができ、好適には、フッ化アンモニウム、フッ化テトラ-n-ブチルアンモニウムを挙げることができ、より好適には、フッ化テトラ-n-ブチルアンモニウムが挙げることができる。本工程に用いられる脱保護剤の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式(XXVII)で表される化合物に対して、0.1～5当量であり、より好適には、0.2～2当量である。

【0230】

本工程の反応温度は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、 -20°C から反応に用いる溶媒の沸点まで、より好適には、 $0^{\circ}\text{C}\sim 40^{\circ}\text{C}$ である。本工程の反応時間は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、5分～24時間であり、より好適には、1時間～10時間である。

30

【0231】

本工程に用いられる溶媒としては、反応を阻害するものでなければ特に限定はされないが、例えば、メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、アセトニトリル、ジクロロメタン、クロロホルム、ジエチルエーテル、1,2-ジメトキシエタン、テトラヒドロフラン、2-メチルテトラヒドロフラン、1,4-ジオキサン、酢酸エチル、ヘキサン、ペンタン、シクロヘキサン、エチルシクロヘキサン、ベンゼン、トルエン、クロロベンゼン、アセトン、2-ブタノン、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、及びジメチルスルホキシド、並びにこれらの混合溶媒を用いることができ、好適には、メタノール、アセトニトリル、テトラヒドロフラン、ジクロロメタンを挙げることができ、より好適には、テトラヒドロフランを挙げることができる。

40

【0232】

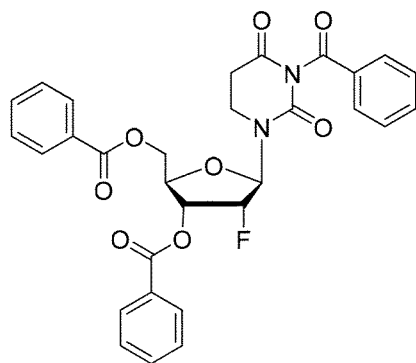
(新規中間体)

上記の「合成スキーム<C1>」における新規中間体として、以下の式(XX)で表される化合物が挙げられる。

【0233】

50

【化 1 4 5】



(XX)

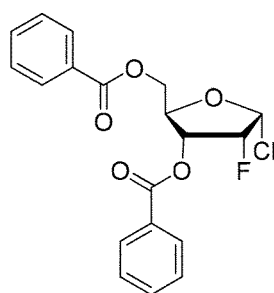
10

【0 2 3 4】

上記の【合成スキーム< C 1 >】における新規中間体として、以下の式 (XXII) で表される化合物が挙げられる。

【0 2 3 5】

【化 1 4 6】



(XXII)

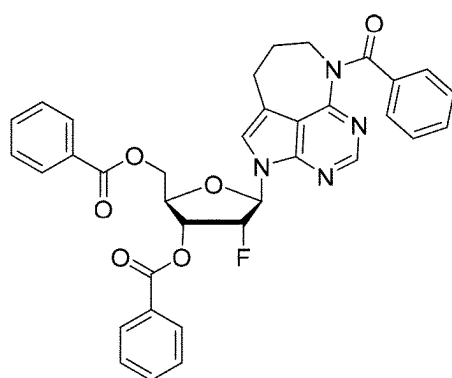
20

【0 2 3 6】

上記の【合成スキーム< C 1 >】における新規中間体として、以下の式 (XXIV) で表される化合物が挙げられる。

【0 2 3 7】

【化 1 4 7】



(XXIV)

40

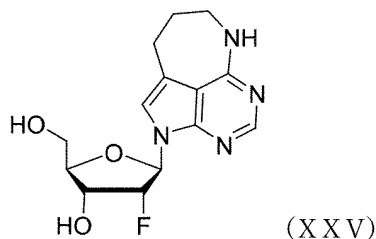
【0 2 3 8】

上記の【合成スキーム< C 1 >】における新規中間体として、以下の式 (XXV) で表される化合物またはその塩が挙げられる。

【0 2 3 9】

50

【化 1 4 8】



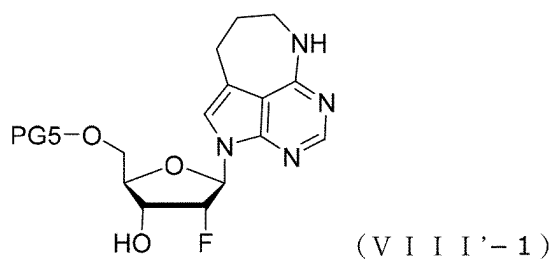
【0 2 4 0】

10

上記の〔合成スキーム< C 1 >〕における新規中間体として、以下の式（V I I I' - 1）で表される化合物又はその塩が挙げられる。

【0 2 4 1】

【化 1 4 9】



20

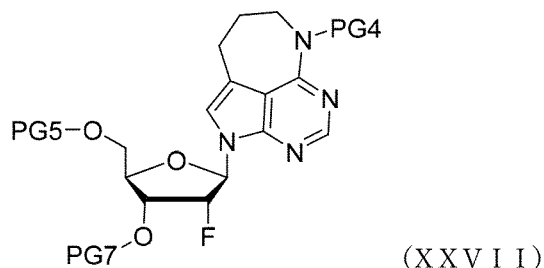
ここで、P G 5 は、好ましくは、4，4' - ジメトキシトリチル、4 - メトキシトリチル、2 - クロロトリチル又はトリチルである。

【0 2 4 2】

上記の〔合成スキーム< C 1 >〕における新規中間体として、以下の式（X X V I I）で表される化合物が挙げられる。

【0 2 4 3】

【化 1 5 0】



30

ここで、P G 4 は、好ましくは、ベンゾイル、2 - (トリメチルシリル) エトキシカルボニル、t e r t - ブトキシカルボニル、9 - フルオレニルメチルオキシカルボニル、アリルオキシカルボニル、2，2，2 - トリクロロエトキシカルボニル又はベンジルオキシカルボニルであり、より好ましくは、ベンゾイル又は2 - (トリメチルシリル) エトキシカルボニルである。

40

P G 5 は、好ましくは、4，4' - ジメトキシトリチル、4 - メトキシトリチル、2 - クロロトリチル又はトリチルであり、より好ましくは、4，4' - ジメトキシトリチル又は4 - メトキシトリチルである。

P G 7 が、好ましくは、ヒドロキシ（オキソ） - λ⁵ - ホスファニル、トリメチルシリル、トリエチルシリル、トリイソプロピルシリル、t e r t - ブチルジメチルシリル、t e r t - ブチルジフェニルシリル又はトリフェニルシリルであり、より好ましくは、t e

50

tert-ブチルジメチルシリルである。

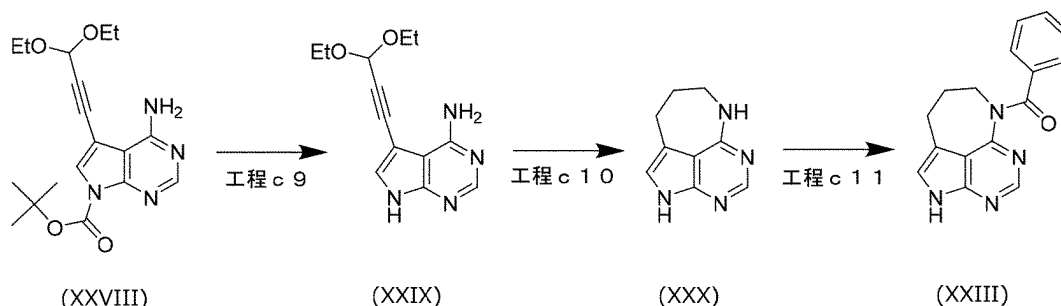
<3-2. 式 (XXXIII) の化合物の製造方法及びその中間体>

上記の式 (VII) の製造に用いる式 (XXXI) の化合物は、以下の合成スキームに従って製造することができる。

【合成スキーム<C2>】

【0244】

【化151】



10

【0245】

以下に、各工程について説明する。

(工程c9)

20

本工程は、式 (XXVII) で表される化合物から tert-ブトキシカルボニル基を、脱保護して、式 (XXIX) の化合物を得る工程である。

【0246】

本工程は、好適には、塩基の存在下で行うことができる。本工程に用いられる塩基としては、反応が進行する限り特に限定されないが、例えば、トリエチルアミン、トリブチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルモルホリン、N-メチルピロリジン、N-メチルピペリジン、ピリジン、2-メチルピリジン、2,6-ジメチルピリジン、4-ジメチルアミノピリジン、1,4-ジアザビシクロ[2.2.2]オクタン、1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデカ-7-エン等の有機塩基や、炭酸カリウム、水酸化カリウム、炭酸水素カリウム、炭酸ナトリウム、水酸化ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、酢酸ナトリウム、酢酸カリウム、ナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシド、及びカリウム tert-ブトキシド等の塩基を挙げることができ、好適には、水酸化カリウム、炭酸水素カリウム、炭酸ナトリウム、水酸化ナトリウムを挙げることができ、より好適には、水酸化ナトリウムを挙げることができる。本工程に用いられる塩基の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式 (XXVII) で表される化合物に対して、0.5~6当量であり、より好適には、1~3当量である。

30

【0247】

本工程の反応温度は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、-20℃から反応に用いる溶媒の沸点まで、より好適には、0℃~40℃である。本工程の反応時間は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、5分~24時間であり、1時間~10時間である。

40

【0248】

本工程に用いられる溶媒としては、反応を阻害するものでなければ特に限定はされないが、例えば、メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、アセトニトリル、ジクロロメタン、クロロホルム、ジエチルエーテル、1,2-ジメトキシエタン、テトラヒドロフラン、2-メチルテトラヒドロフラン、1,4-ジオキサン、酢酸エチル、ヘキサン、ペンタン、シクロヘキサン、エチルシクロヘキサン、ベンゼン、トルエン、クロロベンゼン、アセトン、2-ブタノン、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、及びジメチルスルホキシド、並びにこれらの混合溶媒を用いることができ、好適には、メタノール、エタノール、1-プロ

50

パノール、テトラヒドロフランを挙げることができ、より好適には、エタノールを挙げることができる。

【0249】

(工程c10)

本工程は、式(XXI)の化合物を、触媒の存在下で、アルキンの還元反応、次いで還元的アミノ化反応を行って、式(XXX)の化合物を得る工程である。

【0250】

本工程のアルキンの還元反応の触媒として金属触媒を用いることができる。本工程に用いられる金属触媒は、水素化を触媒するものであれば特に制限はないが、好適には、ルテニウム触媒、ロジウム触媒、パラジウム触媒、白金触媒、又はニッケル触媒を挙げることができ、より好適には、パラジウム触媒を挙げることができる。本工程に用いられる金属触媒の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式(XXVII)で表される化合物の質量に対して、0.01から1倍の質量であり、より好適には、0.02～0.4倍の質量であり、より好適には、0.05～0.2倍の質量である。水素ガス圧力は、通常100～1000kPaであり、好適には、100～700kPaであり、より好適には、200～500kPaである。本工程の反応温度は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、0℃から反応に用いる溶媒の沸点まで、より好適には、20℃～80℃である。本工程の反応時間は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、5分～72時間であり、より好適には、1時間～24時間である。

10

【0251】

本工程のアルキンの還元反応に用いられる溶媒としては、反応を阻害するものでなければ特に限定はされないが、例えば、水、メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、アセトニトリル、ジクロロメタン、クロロホルム、ジエチルエーテル、1,2-ジメトキシエタン、テトラヒドロフラン、2-メチルテトラヒドロフラン、1,4-ジオキサン、酢酸エチル、ヘキサン、ペンタン、シクロヘキサン、エチルシクロヘキサン、ベンゼン、トルエン、クロロベンゼン、アセトン、2-ブタノン、酢酸、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、及びジメチルスルホキシド、並びにこれらの混合溶媒を用いることができ、好適には、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン並びにこれらの混合溶媒を挙げることができ、より好適には、1-メチル-2-ピロリドンを挙げることができる。

20

30

【0252】

本工程の還元的アミノ化反応の触媒として金属触媒を用いることができる。本工程に用いられる金属触媒は、水素化を触媒するものであれば特に制限はないが、好適には、ルテニウム触媒、ロジウム触媒、パラジウム触媒、白金触媒、又はニッケル触媒を挙げることができ、より好適には、パラジウム触媒を挙げることができる。本工程に用いられる金属触媒の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式(XXVII)で表される化合物の質量に対して、0.01から1倍の質量であり、より好適には、0.02～0.4倍の質量であり、より好適には、0.05～0.2倍の質量である。水素ガス圧力は、通常100～1000kPaであり、好適には、100～700kPaであり、より好適には、200～500kPaである。本工程の反応温度は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、0℃から反応に用いる溶媒の沸点まで、より好適には、20℃～80℃である。本工程の反応時間は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、5分～72時間であり、より好適には、1時間～24時間である。

40

【0253】

本工程の還元的アミノ化反応に用いられる溶媒としては、反応を阻害するものでなければ特に限定はされないが、例えば、水、メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、アセトニトリル、ジクロロメタン、クロロホルム、ジエチルエーテル、1,2-ジメトキシエタン、テトラヒドロフラン、2-メチルテトラヒドロフラン、1,4-ジオキサン、酢酸エチル、ヘキサン、ペンタン、シクロヘキサン、エチルシクロヘキ

50

サン、ベンゼン、トルエン、クロロベンゼン、アセトン、2-ブタノン、酢酸、N，N-ジメチルホルムアミド、N，N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、及びジメチルスルホキシド、並びにこれらの混合溶媒を用いることができ、好適には、N，N-ジメチルホルムアミド、N，N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、水、酢酸並びにこれらの混合溶媒を挙げることができ、より好適には、1-メチル-2-ピロリドン、水、酢酸の混合溶媒を挙げることができる。

【0254】

(工程c11)

本工程は、式(XXX)の化合物を、ベンゾイル化剤と反応させた後、塩基処理により脱ベンゾイル化して、式(XXIII)の化合物を得る工程である。

10

【0255】

本工程のベンゾイル化剤としては、ベンゾイルクロリド、ベンゾイルブロミド、無水安息香酸又はトリフルオロメタンスルホン酸ベンゾイル等挙げることができ、好適には、ベンゾイルクロリドを挙げることができる。本工程に用いられるベンゾイル化剤の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式(XXX)で表される化合物に対して、0.5～10当量であり、より好適には、1～5当量である。

【0256】

本工程のベンゾイル化剤との反応は、好適には、塩基の存在下で行うことができる。本工程に用いられる塩基としては、反応が進行する限り特に限定されないが、例えば、トリエチルアミン、トリブチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルモルホリン、N-メチルピロリジン、N-メチルピペリジン、ピリジン、2-メチルピリジン、2，6-ジメチルピリジン、4-ジメチルアミノピリジン、1，4-ジアザビシクロ[2.2.2]オクタン、1，8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデカ-7-エン等の有機塩基や、炭酸カリウム、水酸化カリウム、炭酸水素カリウム、炭酸ナトリウム、水酸化ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、酢酸ナトリウム、酢酸カリウム、ナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシド、及びカリウムtert-ブトキシド、並びにこれらの混合塩基等の塩基を挙げることができ、好適には、トリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、4-ジメチルアミノピリジン、1，4-ジアザビシクロ[2.2.2]オクタン、1，8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデカ-7-エン、並びにこれらの混合塩基を挙げることができ、より好適には、トリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、4-ジメチルアミノピリジンの混合塩基を挙げることができる。本工程に用いられる塩基の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式(XXVII)で表される化合物に対して、0.5～10当量であり、より好適には、1～5当量である。

20

30

【0257】

本工程のベンゾイル化剤との反応温度は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、-20℃から反応に用いる溶媒の沸点まで、より好適には、0℃～40℃である。本工程の反応時間は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、5分～72時間であり、より好適には、1時間～24時間である。

【0258】

本工程のベンゾイル化剤との反応に用いられる溶媒としては、反応を阻害するものでなければ特に限定はされないが、例えば、ピリジン、2-メチルピリジン、3-メチルピリジン、4-メチルピリジン、2，6-メチルピリジン、アセトニトリル、ジクロロメタン、クロロホルム、ジエチルエーテル、1，2-ジメトキシエタン、テトラヒドロフラン、2-メチルテトラヒドロフラン、1，4-ジオキサン、酢酸エチル、ヘキサン、ペンタン、シクロヘキサン、エチルシクロヘキサン、ベンゼン、トルエン、クロロベンゼン、アセトン、2-ブタノン、N，N-ジメチルホルムアミド、N，N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、1，3-ジメチル-2-イミダゾリジノン、及びジメチルスルホキシド、並びにこれらの混合溶媒を用いることができ、好適には、N，N-ジメチルホルムアミド、N，N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、1，3-ジメチル-2-イミダゾリジノンを挙げることができ、より好適には、1，3-ジメチル-2

40

50

ーイミダゾリジノンを挙げるができる。

【0259】

本工程の塩基処理に用いられる塩基としては、反応が進行する限り特に限定されないが、例えば、トリエチルアミン、トリブチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルモルホリン、N-メチルピロリジン、N-メチルピペリジン、ピリジン、2-メチルピリジン、2,6-ジメチルピリジン、4-ジメチルアミノピリジン、1,4-ジアザビシクロ[2.2.2]オクタン、1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデクー7-エン等の有機塩基や、炭酸カリウム、水酸化カリウム、炭酸水素カリウム、炭酸ナトリウム、水酸化ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、酢酸ナトリウム、酢酸カリウム、ナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシド、及びカリウム tert-ブトキシド等の塩基を挙げることができ、好適には、水酸化カリウム、炭酸水素カリウム、炭酸ナトリウム、水酸化ナトリウムを挙げるができる、より好適には、トリエチルアミンを挙げるができる。本工程の塩基処理に用いられる塩基の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式(XXVII)で表される化合物に対して、0.5~10当量であり、より好適には、1~5当量である。

10

【0260】

本工程の塩基処理の反応温度は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、-20℃から反応に用いる溶媒の沸点まで、より好適には、0℃~40℃である。本工程の反応時間は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、5分~72時間であり、より好適には、1時間~24時間である。

20

【0261】

本工程の塩基処理に用いられる溶媒としては、反応を阻害するものでなければ特に限定はされないが、例えば、ピリジン、2-メチルピリジン、3-メチルピリジン、4-メチルピリジン、2,6-ルチジン、アセトニトリル、ジクロロメタン、クロロホルム、ジエチルエーテル、1,2-ジメトキシエタン、テトラヒドロフラン、2-メチルテトラヒドロフラン、1,4-ジオキサン、酢酸エチル、ヘキサン、ペンタン、シクロヘキサン、エチルシクロヘキサン、ベンゼン、トルエン、クロロベンゼン、アセトン、2-ブタノン、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、1,3-ジメチル-2-イミダゾリジノン、及びジメチルスルホキシド、並びにこれらの混合溶媒を用いることができ、好適には、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、1,3-ジメチル-2-イミダゾリジノンを挙げるができる、より好適には、メタノールと1,3-ジメチル-2-イミダゾリジノンの混合溶媒を挙げるができる。

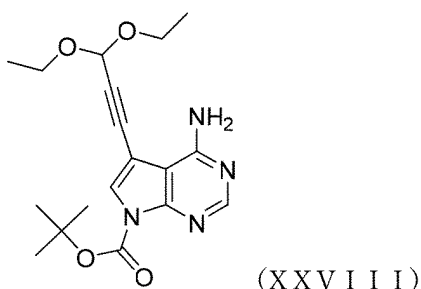
30

【0262】

上記の〔合成スキーム<C2>〕における中間体として、以下の式(XXVIII)で表される化合物が挙げられる。

【0263】

【化152】



40

【0264】

<3-3. 式(XXVIII)の化合物の製造方法>

上記の式(XXVIII)の製造に用いる式(XXVIII)の化合物は、以下の合成ス

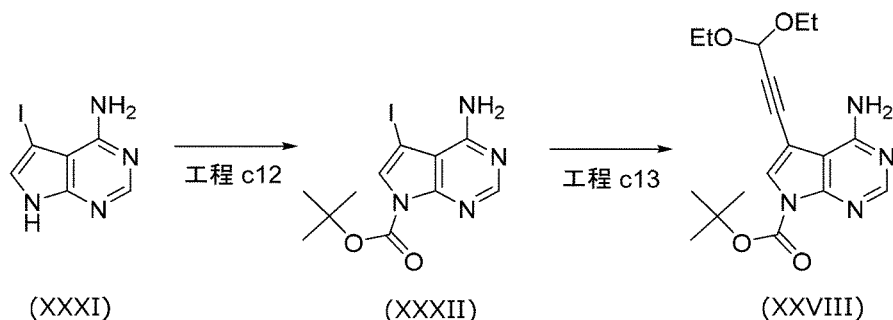
50

キームに従って製造することができる。

【合成スキーム< C 3 >】

【 0 2 6 5 】

【 化 1 5 3 】



10

【 0 2 6 6 】

以下に、各工程について説明する。

(工程 c 1 2)

本工程は、式 (X X X I) の化合物を、1-メチルイミダゾールの存在下、tert-ブトキシカルボニル化剤と反応させて、式 (X X X I I) の化合物を得る工程である。

【 0 2 6 7 】

本工程のtert-ブトキシカルボニル化剤としては、二炭酸ジ-tert-ブチル、N-tert-ブトキシカルボニルイミダゾール、N-tert-ブトキシカルボニル-1, 2, 4-トリアゾール、N-(tert-ブトキシカルボニルオキシ)フタルイミド等を挙げることができ、好適には、二炭酸ジ-tert-ブチルを挙げることができる。本工程に用いられるtert-ブトキシカルボニル化剤の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式 (X X X I) で表される化合物に対して、0.5～6当量であり、より好適には、1～3当量である。

20

【 0 2 6 8 】

本工程の反応温度は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、-20℃から反応に用いる溶媒の沸点まで、より好適には、0℃～40℃である。本工程の反応時間は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、5分～24時間であり、より好適には、1時間～10時間である。

30

【 0 2 6 9 】

本工程に用いられる溶媒としては、反応を阻害するものでなければ特に限定はされないが、例えば、メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、アセトニトリル、ジクロロメタン、クロロホルム、ジエチルエーテル、1, 2-ジメトキシエタン、テトラヒドロフラン、2-メチルテトラヒドロフラン、1, 4-ジオキサン、酢酸エチル、ヘキサン、ペンタン、シクロヘキサン、エチルシクロヘキサン、ベンゼン、トルエン、クロロベンゼン、アセトン、2-ブタノン、N, N-ジメチルホルムアミド、N, N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、及びジメチルスルホキシド、並びにこれらの混合溶媒を用いることができ、好適には、アセトニトリル、テトラヒドロフラン、酢酸エチル、ベンゼン、トルエンを挙げることができ、より好適には、トルエンを挙げることができる。

40

【 0 2 7 0 】

(工程 c 1 3)

本工程は、式 (X X X I I) で表される化合物を、プロパルギルアルデヒドジエチルアセタールと反応させて、式 (X X V I I I) の化合物を得る工程である。

【 0 2 7 1 】

本工程は、好適には、遷移金属触媒の存在下で行うことができ、好適には、パラジウム触媒の存在下で行うことができる。本工程に用いられるパラジウム触媒は、反応が進行す

50

るものであれば特に限定されないが、例えば、酢酸パラジウム（II）、トリフルオロ酢酸パラジウム（II）、塩化パラジウム（II）、臭化パラジウム（II）、よう化パラジウム（II）、ビス（トリフェニルホスフィン）パラジウム（II）ジクロリドなどの2価のパラジウム塩及びその錯体や、パラジウムブラック、パラジウムカーボン、テトラキストリフェニルホスフィンパラジウム（0）、ビス（ジベンジリデンアセトン）パラジウム（0）などの0価パラジウム金属及びその錯体などを用いることができ、好適には、ビス（トリフェニルホスフィン）パラジウム（II）ジクロリドを用いることができる。本工程に用いられるパラジウム触媒の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式（XXXII）で表される化合物に対して、0.0001～1当量であり、より好適には、0.005～0.05当量である。

10

【0272】

さらに、本工程は、好適には、上記パラジウム触媒の他に、銅触媒の存在下で行うことができる。本工程に用いることができる銅触媒は、塩化銅（I）、臭化銅（I）及びヨウ化銅（I）などを用いることができ、好適には、ヨウ化銅（I）を用いることができる。本工程に用いられる銅触媒の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式（XXXII）で表される化合物に対して、0.0001～1当量であり、より好適には、0.005～0.05当量である。

【0273】

また、本工程は、好適には、塩基の存在下で行うことができる。本工程に用いられる塩基としては、反応が進行する限り特に限定されないが、例えば、トリエチルアミン、トリブチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルモルホリン、N-メチルピロリジン、N-メチルピペリジン、ピリジン、2-メチルピリジン、2,6-ジメチルピリジン、4-ジメチルアミノピリジン、1,4-ジアザビシクロ[2.2.2]オクタン、1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデク-7-エン等の有機塩基や、炭酸カリウム、水酸化カリウム、炭酸水素カリウム、炭酸ナトリウム、水酸化ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、酢酸ナトリウム、酢酸カリウム、ナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシド、及びカリウム tert-ブトキシド、並びにこれらの混合塩基等の塩基を挙げることができ、好適には、トリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、1,4-ジアザビシクロ[2.2.2]オクタン、1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデク-7-エンを挙げることができ、より好適には、トリエチルアミン、を挙げることができる。本工程に用いられる塩基の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式（XXXII）で表される化合物に対して、0.5～10当量であり、より好適には、1～5当量である。

20

30

【0274】

本工程の反応温度は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、0℃から反応に用いる溶媒の沸点まで、より好適には、15℃～50℃である。本工程の反応時間は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、5分～72時間であり、より好適には、1時間～24時間である。

【0275】

本工程に用いられる溶媒としては、反応を阻害するものでなければ特に限定はされないが、例えば、メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、アセトニトリル、ジクロロメタン、クロロホルム、ジエチルエーテル、1,2-ジメトキシエタン、テトラヒドロフラン、2-メチルテトラヒドロフラン、1,4-ジオキサン、酢酸エチル、ヘキサン、ペンタン、シクロヘキサン、エチルシクロヘキサン、ベンゼン、トルエン、クロロベンゼン、アセトン、2-ブタノン、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、及びジメチルスルホキシド、並びにこれらの混合溶媒を用いることができ、好適には、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドンを挙げることができ、より好適には、N,N-ジメチルホルムアミドを挙げることができる。

40

【0276】

50

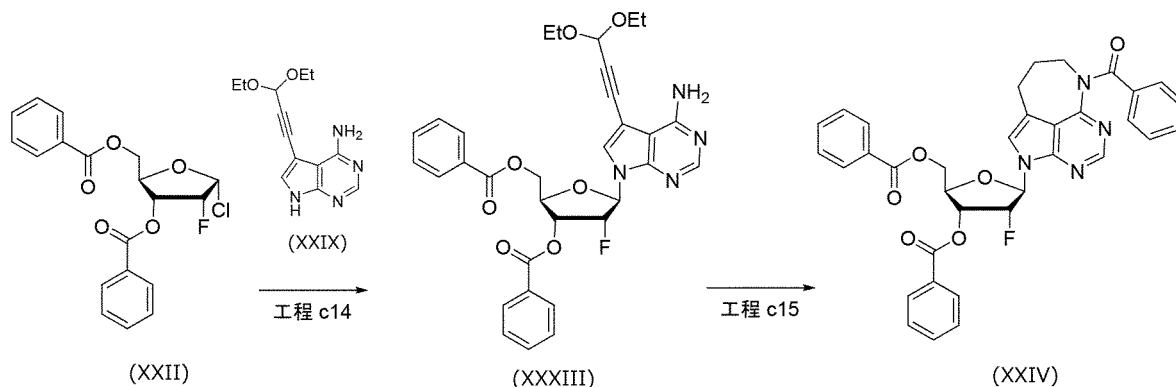
< 3 - 4 . 式 (X X I V) の化合物の製造方法 >

上記の式 (V I I I) 及び式 (V I I I ') の製造に用いる式 (X X I V) の化合物は、以下の合成スキームに従って製造することができる。

[合成スキーム< C 4 >]

【 0 2 7 7 】

【 化 1 5 4 】



10

【 0 2 7 8 】

以下に、各工程について説明する。

20

(工程 c 1 4)

本工程は、式 (X X I I) の化合物を、式 (X X I X) の化合物と反応させて、式 (X X I I I) の化合物を得る工程である。

【 0 2 7 9 】

本工程の反応は、好適には、塩基の存在下で行うことができる。本工程に用いられる塩基としては、反応が進行する限り特に限定されないが、例えば、トリエチルアミン、トリブチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルモルホリン、N-メチルピロリジン、N-メチルピペリジン、ピリジン、2-メチルピリジン、2,6-ジメチルピリジン、4-ジメチルアミノピリジン、1,4-ジアザビシクロ[2.2.2]オクタン、1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデカ-7-エン等の有機塩基や、炭酸セシウム、炭酸カリウム、水酸化カリウム、炭酸水素カリウム、炭酸ナトリウム、水酸化ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、酢酸ナトリウム、酢酸カリウム、ナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシド、及びカリウム *tert*-ブトキシド等の塩基、並びにこれらの混合物を挙げることができ、好適には、炭酸セシウム、炭酸カリウム、炭酸ナトリウムを挙げることができ、より好適には、炭酸セシウムを挙げることができる。本工程に用いられる塩基の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式 (X X I I) で表される化合物に対して、0.5~10当量であり、より好適には、1~5当量である。

30

【 0 2 8 0 】

本工程の反応温度は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、-20℃から反応に用いる溶媒の沸点まで、より好適には、10℃~50℃である。本工程の反応時間は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、5分~72時間であり、より好適には、1時間~24時間である。

40

【 0 2 8 1 】

本工程に用いられる溶媒としては、反応を阻害するものでなければ特に限定はされないが、例えば、メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、アセトニトリル、ジクロロメタン、クロロホルム、ジエチルエーテル、1,2-ジメトキシエタン、テトラヒドロフラン、2-メチルテトラヒドロフラン、1,4-ジオキサン、シクロペンチルメチルエーテル、酢酸エチル、ヘキサン、ペンタン、ヘプタン、シクロヘキサン、エチルシクロヘキサン、ベンゼン、トルエン、クロロベンゼン、アセトン、2-ブタノン、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピ

50

ロリドン、1,3-ジメチル-2-イミダゾリジノン及びジメチルスルホキシド、並びにこれらの混合溶媒を用いることができ、好適には、アセトニトリル、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、1,3-ジメチル-2-イミダゾリジノン、ジメチルスルホキシドを用いることができ、より好適には、ジメチルスルホキシドを挙げることができる。

【0282】

(工程c15)

本工程は、式(XXXIII)で表される化合物を、触媒の存在下で、アルキンの還元反応、次いで還元的アミノ化反応を行い、さらにベンゾイル化剤と反応させて、式(XXIV)の化合物を得る工程である。

【0283】

本工程におけるアルキンの還元反応及び還元的アミノ化反応は触媒として金属触媒を用いることができる。本工程に用いられる金属触媒は、水素化を触媒するものであれば特に制限はないが、好適には、ルテニウム触媒、ロジウム触媒、パラジウム触媒、白金触媒、又はニッケル触媒を挙げることができる。より好適には、パラジウム触媒を挙げることができる。本工程に用いられる金属触媒の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式(XXXIII)で表される化合物の質量に対して、0.01から1倍の質量であり、より好適には、0.02～1倍の質量であり、より好適には、0.05～0.5倍の質量である。水素ガス圧力は、通常100～1000kPaであり、好適には、100～900kPaであり、より好適には、200～700kPaである。本工程の反応温度は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、0℃から反応に用いる溶媒の沸点まで、より好適には、15℃～80℃である。本工程の反応時間は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、5分～96時間であり、より好適には、1時間～36時間である。

【0284】

本工程におけるアルキンの還元反応に用いられる溶媒としては、反応を阻害するものでなければ特に限定はされないが、例えば、水、メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、アセトニトリル、ジクロロメタン、クロロホルム、ジエチルエーテル、1,2-ジメトキシエタン、テトラヒドロフラン、2-メチルテトラヒドロフラン、1,4-ジオキサン、酢酸エチル、ヘキサン、ペンタン、シクロヘキサン、エチルシクロヘキサン、ベンゼン、トルエン、クロロベンゼン、アセトン、2-ブタノン、酢酸、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、及びジメチルスルホキシド、並びにこれらの混合溶媒を用いることができ、好適には、エタノール、メタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン並びにこれらの混合溶媒を挙げることができる。

【0285】

本工程における還元的アミノ化反応に用いられる溶媒としては、反応を阻害するものでなければ特に限定はされないが、例えば、水、メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、アセトニトリル、ジクロロメタン、クロロホルム、ジエチルエーテル、1,2-ジメトキシエタン、テトラヒドロフラン、2-メチルテトラヒドロフラン、1,4-ジオキサン、酢酸エチル、ヘキサン、ペンタン、シクロヘキサン、エチルシクロヘキサン、ベンゼン、トルエン、クロロベンゼン、アセトン、2-ブタノン、酢酸、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、及びジメチルスルホキシド、並びにこれらの混合溶媒を用いることができ、好適には、エタノール、水、酢酸並びにこれらの混合溶媒を挙げることができる。

【0286】

本工程のベンゾイル化反応で用いられるベンゾイル化剤は、無水安息香酸、塩化ベンゾイル、臭化ベンゾイル、又はトリフルオロメタンスルホン酸ベンゾイル等を挙げることが

10

20

30

40

50

でき、好適には、塩化ベンゾイル、臭化ベンゾイルを挙げることができ、より好適には、塩化ベンゾイルを挙げることができる。本工程に用いられるベンゾイル化剤の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式 $(X X X I I I)$ で表される化合物に対して、0.5～10当量であり、より好適には、1～5当量である。

【0287】

本工程のベンゾイル化は、好適には、塩基の存在下で行うことができる。本工程に用いられる塩基としては、反応が進行する限り特に限定されないが、例えば、トリエチルアミン、トリブチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルモルホリン、N-メチルピロリジン、N-メチルピペリジン、ピリジン、2-メチルピリジン、2,6-ジメチルピリジン、4-ジメチルアミノピリジン、1,4-ジアザビシクロ[2.2.2]オクタン、1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデカ-7-エン等の有機塩基や、炭酸カリウム、水酸化カリウム、炭酸水素カリウム、炭酸ナトリウム、水酸化ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、酢酸ナトリウム、酢酸カリウム、ナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシド、及びカリウム *ter*-ブトキシド等の塩基を挙げることができ、好適には、トリエチルアミン、2,6-ジメチルピリジン、4-ジメチルアミノピリジン、炭酸カリウム、水酸化カリウム、炭酸水素カリウム、炭酸ナトリウム、水酸化ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、及び酢酸ナトリウムを挙げることができ、より好適には、4-ジメチルアミノピリジンを挙げることができる。本工程に用いられる塩基の量は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、式 $(X X X I I I)$ で表される化合物に対して、0.05～10当量であり、より好適には、0.2～5当量である。

【0288】

本工程のベンゾイル化の反応温度は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、-20℃から反応に用いる溶媒の沸点まで、より好適には、0℃～90℃である。本工程の反応時間は、反応が進行する限り制限されないが、好適には、5分～24時間であり、より好適には、1時間～10時間である。

【0289】

本工程のベンゾイル化に用いられる溶媒としては、反応を阻害するものでなければ特に限定はされないが、例えば、ピリジン、2-メチルピリジン、3-メチルピリジン、4-メチルピリジン、2,6-メチルピリジン、アセトニトリル、ジクロロメタン、クロロホルム、ジエチルエーテル、1,2-ジメトキシエタン、テトラヒドロフラン、2-メチルテトラヒドロフラン、1,4-ジオキサン、酢酸エチル、ヘキサン、ペンタン、シクロヘキサン、エチルシクロヘキサン、ベンゼン、トルエン、クロロベンゼン、アセトン、2-ブタノン、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、1-メチル-2-ピロリドン、及びジメチルスルホキシド、並びにこれらの混合溶媒を用いることができ、好適には、ピリジン、2-メチルピリジン、3-メチルピリジン、4-メチルピリジン、2,6-メチルピリジン、アセトニトリル、ジクロロメタンを挙げることができ、より好適には、ピリジンを挙げることができる。

【0290】

<3-5. 本発明の化合物(VIII)の製造方法と従来法(特許文献6他)との比較>

本発明の式(VIII)の化合物の製造方法は、以下に示す特許文献6の合成スキームと比較して、総収率の向上、工程数の削減、カラム精製の回避といった優れた効果を有する製造方法の提供が可能となった。

【0291】

[従来法の合成スキーム1(特許文献6 実施例1及び44の合成スキームより)]

【0292】

10

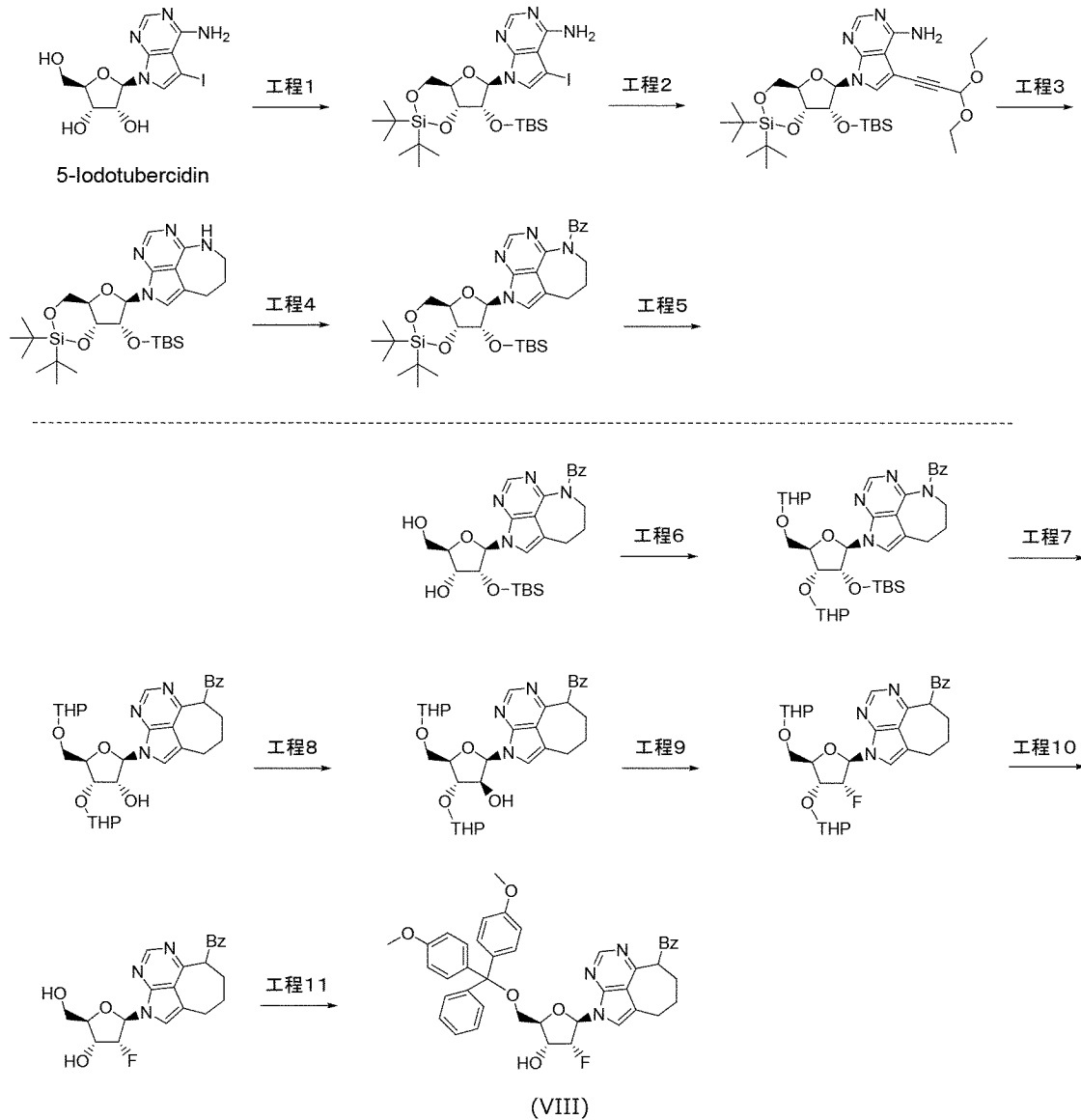
20

30

40

50

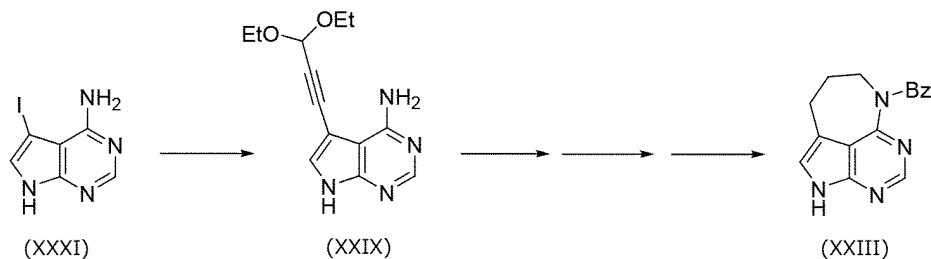
【化 1 5 5】



【従来法の合成スキーム 2（特許文献 6 実施例 4 2 の合成スキームより）

【 0 2 9 3】

【化 1 5 6】



【 0 2 9 4】

【本発明の式（V I I I）の製造方法の効果】

【 0 2 9 5】

（効果 1）合成ルートの改良（収率改善、カラム精製省略）

従来法の合成ルート（特許文献 6 / 従来法の合成スキーム 1）では、市販されている 5-Iodotubercidin から 11 工程で、式（V I I I）の化合物を合成したが、直線型合成（linear synthesis）であるため、通算収率が 5 % と低い

10

20

30

40

50

ことが課題であった。

【0296】

一方、本発明の製造方法では、並列型合成 (convergent synthesis) とすることで、入手可能な原材料である化合物 (XXXI) と 2'-デオキシ-2'-フルオロウリジンからの工程数が、それぞれ 10 工程に短縮され、通算収率は化合物 (XXXI) からは 17%、2'-デオキシ-2'-フルオロウリジンからは 9% に改善された。

【0297】

(効果2) 化合物 (XX) の脱グリコシル化による 2-フルオロリボース誘導体の合成
従来法として、2'-デオキシ-2'-フルオロ-5, 6-ジヒドロウリジンのようなジヒドロウリジン誘導体を加水分解して、化合物 (XXI) のような 2-デオキシ-2-フルオロリボース誘導体を合成する、酸加水分解法が知られている (Carbohydrate Res., I, 1966, pp. 455-466 参照)。しかし、この方法を化合物 (XIX) に適用して、化合物 (XXI) を合成すると、副反応として水酸基のベンゾイル基の脱保護を伴い、収率が低いという問題があった。

【0298】

一方、本発明の製造方法では、化合物 (XIX) のウリジン部をベンゾイル化し化合物 (XX) とすると、加水分解に対する反応性が向上し、より緩和な条件で脱グリコシル化が可能となり、ベンゾイル基の脱保護が抑制されることで収率が向上した。

【0299】

(効果3) 化合物 (XXI) の選択的な α クロロ化反応による化合物 (XXII) の合成
従来、2-フルオロリボース誘導体のクロロ化反応として、2, 5 位の水酸基を TBS 基で保護した 2-フルオロリボース誘導体を、メシルクロリド/トリエチルアミン条件下で処理する方法が報告されているが、この方法ではクロロ化糖は α/β の混合物として得られる (J. Org. Chem., 2009, 74, pp. 5779-5789、及び国際公開第 2011/003018 号参照)。また、2, 5 位の水酸基をベンジル基で保護した 2-フルオロリボース誘導体を、ヘキサメチル亜リン酸トリアミド/四塩化炭素で処理する手法も報告されているが、この方法では β 体が生成し、 α 体の合成には適用できなかった (国際公開第 2014/124430 号及び国際公開第 2015/038596 号参照)。

【0300】

一方、本発明の製造方法では、 α -クロロ-2-フルオロリボース誘導体の合成法について検討した結果、2, 5 位の水酸基をベンゾイル基で保護した 2-フルオロリボース誘導体 (化合物 (XXI)) を、トリアリールホスファイト又はトリアリールホスフィンとトリクロロイソシアヌル酸のようなクロロ化剤との組み合わせによりクロロ化することで、高い α 選択性 ($\alpha/\beta = 15/1$) で反応が進行することを見出し、 α -クロロ-2-フルオロリボース誘導体の効率的な合成法を確立できた。

【0301】

また、従来法として、トリアリールホスフィンとクロロ化剤によるアルコールのクロロ化反応が古くから知られており、例えばトリフェニルホスフィンと四塩化炭素の組み合わせによるクロロ化反応は、Appel 反応として広く知られている (Angew. Chem. Int. Edit., Vol. 14, No. 12, 1975, pp. 801-811 参照)。しかしながら、この Appel 反応は、反応後にトリフェニルホスフィンオキシドが生成するため、その除去のためにシリカゲルカラムによる精製が必要となり、大量合成において課題があった。

【0302】

一方、本発明の製造方法では、トリアリールホスファイトに 2, 4-ジ-tert-ブチルフェニルホスファイトを用いることで、副産物のリン酸エステルが分液で除去可能であり、カラム精製の回避に成功した。

【0303】

10

20

30

40

50

(効果4) Boc保護ルートによる化合物(XXIII)の合成

従来法の合成ルート(特許文献6/従来法の合成スキーム2)では、化合物(XXXI)から化合物(XXIX)を合成する園頭反応工程の収率が低く、通産収率が18%と低いことが課題であった。本発明の製造方法では、Boc保護基を用いた化合物(XXXI)を経由することで、園頭反応工程の収率が向上し、通産収率が53%に改善した。

【0304】

<4. 抗体-免疫賦活化剤コンジュゲート(Rp, Rp-XXXX)の製造方法>

<4-1. 抗体及びその糖鎖リモデリング>

<4-1-1. 抗体>

【0305】

本明細書において、「抗体の機能性断片」とは、「抗体の抗原結合断片」とも呼ばれ、抗原との結合活性を有する抗体の部分断片を意味しており、Fab、F(ab')₂、Fv、scFv、diabody、線状抗体及び抗体断片より形成された多特異性抗体等を含む。また、F(ab')₂を還元条件下で処理した抗体の可変領域の一価の断片であるFab'も抗体の抗原結合断片に含まれる。但し、抗原との結合能を有している限りこれらの分子に限定されない。また、これらの抗原結合断片には、抗体蛋白質の全長分子を適当な酵素で処理したもののみならず、遺伝子工学的に改変された抗体遺伝子を用いて適当な宿主細胞において産生された蛋白質も含まれる。

【0306】

本明細書において、「機能性断片」は、IgG重鎖のFc領域においてよく保存されたN結合型糖鎖による修飾を受けるアスパラギン(Asn297)及びその周辺のアミノ酸を保持し、且つ抗原との結合能を有している機能性断片を含む。

【0307】

本発明の抗体-免疫賦活化剤コンジュゲートの製造に使用される抗体は、免疫グロブリンを意味し、抗原と免疫特異的に結合する抗原結合部位を含有する分子である。本発明の抗体として、IgG、IgE、IgM、IgD、IgA及びIgYのいずれのクラスでもよいが、IgGが好ましい。また、サブクラスとして、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及びIgA2のいずれであってもよいがIgG1、IgG2又はIgG4が好ましい(IgG重鎖のFc領域にADCC及びADCP活性に影響する変異を持つ抗体を含む)。

【0308】

本発明の抗体-免疫賦活化剤コンジュゲートの製造に使用される抗体のアイソタイプとしてIgG1を用いる場合は、定常領域のアミノ酸残基の一部を置換することによって、エフェクター機能を調整することが可能である(WO88/07089、WO94/28027、WO94/29351参照)。IgG1の変異体としては、例えば、IgG1 LALA変異(IgG1-L234A、L235A)が挙げられる。前記L234A、L235AはEU index (Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, Vol. 63, No. 1 (May 15, 1969), pp. 78-85)により特定される234位及び235位のロイシンのアラニンへの置換を示す。

【0309】

抗体分子の重鎖及び軽鎖にはそれぞれ3箇所の相補性決定領域(CDR: Complementarity determining region)があることが知られている。CDRは、超可変領域(hypervariable region)とも呼ばれ、抗体の重鎖及び軽鎖の可変領域内にあって、一次構造の変異性が特に高い部位であり、重鎖及び軽鎖のポリペプチド鎖の一次構造上において、それぞれ3ヶ所に分離している。本明細書中においては、抗体のCDRについて、重鎖のCDRを重鎖アミノ酸配列のアミノ末端側からCDRH1、CDRH2、CDRH3と表記し、軽鎖のCDRを軽鎖アミノ酸配列のアミノ末端側からCDRL1、CDRL2、CDRL3と表記する。これらの部位

10

20

30

40

50

は立体構造の上で相互に近接し、結合する抗原に対する特異性を決定している。

【0310】

抗体は、いずれの種に由来してもよいが、好ましくは、ヒト、ラット、マウス及びウサギを例示できる。ヒト以外の種に由来する場合は、周知の技術を用いて、キメラ化又はヒト化することが好ましい。本発明の抗体は、ポリクローナル抗体であっても、モノクローナル抗体であってもよいが、モノクローナル抗体が好ましい。モノクローナル抗体には、ラット抗体、マウス抗体、ウサギ抗体等の非ヒト動物由来のモノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、それらの機能性断片、又はそれらの修飾体が含まれる。

【0311】

抗体は、好ましくは、腫瘍細胞又は免疫細胞を標的にする抗体であるが、これらに限定されない。抗体は、より好ましくは、腫瘍細胞を標的にする抗体である。

10

【0312】

抗体の腫瘍細胞への結合性は、フローサイトメトリーを用いて確認できる。腫瘍細胞内への抗体の取り込みは、(1)治療抗体に結合する二次抗体(蛍光標識)を用いて細胞内に取り込まれた抗体を蛍光顕微鏡で可視化するアッセイ(Cell Death and Differentiation (2008) 15, 751-761)、(2)治療抗体に結合する二次抗体(蛍光標識)を用いて細胞内に取り込まれた蛍光量を測定するアッセイ(Molecular Biology of the Cell Vol. 15, 5268-5282, December 2004)又は(3)治療抗体に結合するイムノトキシンを用いて、細胞内に取り込まれると毒素が放出されて細胞増殖が抑制されるというMab-ZAPアッセイ(Bio Techniques 28:162-165, January 2000)を用いて確認できる。イムノトキシンとしては、ジフテリア毒素の触媒領域とプロテインGとのリコンビナント複合蛋白質も使用可能である。

20

【0313】

本発明の抗体-免疫賦活化剤コンジュゲートに腫瘍細胞を標的とした抗体を用いる場合、抗体自体が抗腫瘍効果を有することは、好ましいが、必須ではない。

【0314】

免疫賦活化剤ならびに抗体-免疫賦活化剤コンジュゲートの抗腫瘍活性は、腫瘍細胞への細胞傷害活性、抗細胞効果、腫瘍体積の退縮をいう。公知のin vitro又はin vivoの評価系を用いて、抗腫瘍活性を確認することができる。

30

【0315】

免疫賦活化剤ならびに抗体-免疫賦活化剤コンジュゲートの免疫賦活化活性は、免疫細胞に対する腫瘍細胞の感受性亢進又は腫瘍細胞を介した免疫細胞の賦活化をいう。公知のin vitro又はin vivoの評価系を用いて、免疫賦活化活性を確認することができる。

【0316】

本発明の抗体-免疫賦活化剤コンジュゲートの製造に使用される抗体としては、例えば、抗HER2抗体、抗HER3抗体、抗DLL3抗体、抗FAP抗体、抗CDH11抗体、抗CDH6抗体、抗A33抗体、抗CanAg抗体、抗CD19抗体、抗CD20抗体、抗CD22抗体、抗CD30抗体、抗CD33抗体、抗CD56抗体、抗CD70抗体、抗CD98抗体、抗TROP2抗体、抗CEA抗体、抗CripTo抗体、抗EphA2抗体、抗G250抗体、抗MUC1抗体、抗GPNMB抗体、抗Integrin抗体、抗PSMA抗体、抗TenasCin-C抗体、抗SLC44A4抗体、抗Mesothelin抗体、抗ENPP3抗体、抗CD47抗体、抗EGFR抗体、抗GPR20抗体又は抗DR5抗体が挙げられるが、これらに限定されない。本発明の抗体として、好ましくは、抗HER2抗体(例えば、トラスツズマブ又はペルツズマブ)、抗CDH6抗体、抗CD33抗体、抗EphA2抗体、抗CD70抗体、抗TROP2抗体、又は抗EGFR抗体であり、より好ましくは、抗HER2抗体、抗CDH6抗体、抗CD70抗体、抗TROP2抗体、又は抗EGFR抗体である。

40

【0317】

50

本発明の抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートの製造に使用される抗体は、この分野で通常実施される方法を用いて、抗原となるポリペプチドを動物に免疫し、生体内に産生される抗体を採取、精製することによって得ることができる。抗原の由来はヒトに限定されず、マウス、ラット等のヒト以外の動物に由来する抗原を動物に免疫することもできる。この場合には、取得された異種抗原に結合する抗体とヒト抗原との交差性を試験することによって、ヒトの疾患に適用可能な抗体を選別できる。

【0318】

また、公知の方法（例えば、Kohler and Milstein, Nature (1975) 256, p. 495-497、Kennett, R. ed., Monoclonal Antibodies, p. 365-367, Plenum Press, N. Y. (1980)）に従って、抗原に対する抗体を産生する抗体産生細胞とミエローマ細胞とを融合させることによってハイブリドーマを樹立し、モノクローナル抗体を得ることもできる。

【0319】

なお、抗原は抗原蛋白質をコードする遺伝子を遺伝子操作によって宿主細胞に産生させることによって得ることができる。

【0320】

本発明の抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートの製造に使用されるヒト化抗体は公知の方法（例えば、Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 81, 6851-6855, (1984)、Nature (1986) 321, p. 522-525、WO 90/07861）に従って取得することができる。

【0321】

例えば、抗HER2抗体（US5821337、WO2004/008099、WO2020/050406等）、抗CD33抗体（WO2014/057687、WO2020/050406等）、抗EphA2抗体（WO2009/028639、WO2020/050406等）、抗CDH6抗体（WO2018/212136、WO2020/050406等）、抗CD70抗体（WO2004/073656、WO2007/038637、WO2021/177438等）、抗TROP2抗体（WO2015/098099、WO2021/177438等）、抗EGFR抗体（WO1998/050433、WO2002/092771、WO2021/177438等）は、公知の手段によって取得することができる。

【0322】

本発明の抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートの製造に使用される抗HER2抗体は、特に制限はないが、例えば、以下の特性を有するものが望ましい。

(1) 以下の特性を有することを特徴とする抗HER2抗体；

(a) HER2に特異的に結合する。

(b) HER2と結合することによってHER2発現細胞に内在化する活性を有する。

(2) HER2の細胞外ドメインに結合する上記(1)に記載の抗体。

(3) 前記抗体がモノクローナル抗体である上記(1)又は(2)に記載の抗体。

(4) 抗体依存性細胞傷害(ADCC)活性及び／又は補体依存性細胞傷害(CDC)活性を有する上記(1)～(3)のいずれかに記載の抗体。

(5) マウスモノクローナル抗体、キメラモノクローナル抗体又はヒト化モノクローナル抗体である、上記(1)～(4)のいずれかに記載の抗体。

(6) 重鎖定常領域がヒトIgG1の重鎖定常領域であり、ADCC及びADCP活性の低減をもたらす変異を含む、上記(1)～(3)に記載の抗体。

(7) 配列番号50に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号49に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなるヒト化モノクローナル抗体である上記(1)～(4)のいずれかに記載の抗体。

(8) 重鎖定常領域がヒトIgG1の重鎖定常領域であり、EUIンデックスにより示される234位及び235位のロイシンがアラニンに置換されている、上記(6)に記載の

10

20

30

40

50

抗体。

(9) 配列番号51に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号49に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなるヒト化モノクローナル抗体である上記(8)に記載の抗体。

(10) 配列番号53に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号52に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなるヒト化モノクローナル抗体である上記(1)～(4)に記載の抗体。

(11) 配列番号54に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号52に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなるヒト化モノクローナル抗体である上記(8)に記載の抗体。

(12) 配列番号57に記載のアミノ酸配列からなるCDRL1、配列番号58に記載のアミノ酸配列からなるCDRL2、及び配列番号59に記載のアミノ酸配列からなるCDRL3を含む軽鎖、並びに、配列番号60に記載のアミノ酸配列からなるCDRH1、配列番号61に記載のアミノ酸配列からなるCDRH2、及び配列番号62に記載のアミノ酸配列からなるCDRH3を含む重鎖を含んでなるヒト化モノクローナル抗体である上記(1)～(3)、(6)又は(8)に記載の抗体。

(13) 重鎖カルボキシル末端において1又は2つのアミノ酸が欠失している上記(1)～(12)のいずれかに記載の抗体。

(14) 上記(1)～(13)のいずれかに記載の抗体をコードするポリヌクレオチドを含有する発現ベクターによって形質転換された宿主細胞を培養する工程及び当該工程で得られた培養物から目的の抗体を採取する工程を含む当該抗体の製造方法によって得られる抗体。

【0323】

本発明の抗体-免疫賦活化剤コンジュゲートの製造に使用される抗CD70抗体は、特に制限はないが、例えば、以下の特性を有するものが望ましい。

(1) CD70に特異的に結合する抗CD70抗体。

(2) CD70の細胞外ドメインに結合する上記(1)に記載の抗体。

(3) 前記抗体がモノクローナル抗体である上記(1)又は(2)に記載の抗体。

(4) 抗体依存性細胞傷害(ADCC)活性及び／又は補体依存性細胞傷害(CDC)活性を有する上記(1)～(3)のいずれかに記載の抗体。

(5) マウスモノクローナル抗体、キメラモノクローナル抗体、又はヒト化モノクローナル抗体である、上記(1)～(4)のいずれかに記載の抗体。

(6) 重鎖定常領域がヒトIgG1の重鎖定常領域であり、ADCC及びADCP活性の低減をもたらす変異を含む、上記(1)～(3)に記載の抗体。

(7) 重鎖定常領域がヒトIgG1の重鎖定常領域であり、EUインデックスにより示される234位及び235位のロイシンがアラニンに置換されている、上記(6)に記載の抗体。

(8) 配列番号2に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号1に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなるヒト化モノクローナル抗体である上記(7)に記載の抗体。

(9) 配列番号4に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号3に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなるヒト化モノクローナル抗体である上記(7)に記載の抗体。

(10) 配列番号13に記載のアミノ酸配列からなるCDRL1、配列番号14に記載のアミノ酸配列からなるCDRL2、及び配列番号15に記載のアミノ酸配列からなるCDRL3を含む軽鎖、並びに、配列番号16に記載のアミノ酸配列からなるCDRH1、配列番号17に記載のアミノ酸配列からなるCDRH2、及び配列番号18に記載のアミノ酸配列からなるCDRH3を含む重鎖を含んでなるヒト化モノクローナル抗体である上記(1)～(3)、(6)又は(7)に記載の抗体。

(11) 配列番号19に記載のアミノ酸配列からなるCDRL1、配列番号20に記載のアミノ酸配列からなるCDRL2、及び配列番号21に記載のアミノ酸配列からなるCD

10

20

30

40

50

R L 3を含む軽鎖、並びに、配列番号 2 2 に記載のアミノ酸配列からなる C D R H 1、配列番号 2 3 に記載のアミノ酸配列からなる C D R H 2、及び配列番号 2 4 に記載のアミノ酸配列からなる C D R H 3を含む重鎖を含んでなるヒト化モノクローナル抗体である上記 (1) ~ (3)、(6) 又は (7) に記載の抗体。

(1 2) 重鎖カルボキシル末端において 1 又は 2 つのアミノ酸が欠失している上記 (1) ~ (1 1) のいずれかに記載の抗体。

(1 3) 上記 (1) ~ (1 2) のいずれかに記載の抗体をコードするポリヌクレオチドを含有する発現ベクターによって形質転換された宿主細胞を培養する工程及び当該工程で得られた培養物から目的の抗体を採取する工程を含む当該抗体の製造方法によって得られる抗体。

10

【0 3 2 4】

本発明の抗体-免疫賦活化剤コンジュゲートの製造に使用される抗 T R O P 2 抗体は、特に制限はないが、例えば、以下の特性を有するものが望ましい。

(1) T R O P 2 に特異的に結合する抗 T R O P 2 抗体。

(2) T R O P 2 の細胞外ドメインに結合する上記 (1) に記載の抗体。

(3) 前記抗体がモノクローナル抗体である上記 (1) 又は (2) に記載の抗体。

(4) 抗体依存性細胞傷害 (A D C C) 活性及び／又は補体依存性細胞傷害 (C D C) 活性を有する、上記 (1) ~ (3) のいずれかに記載の抗体。

(5) マウスモノクローナル抗体、キメラモノクローナル抗体、又はヒト化モノクローナル抗体である、上記 (1) ~ (4) のいずれかに記載の抗体。

20

(6) 重鎖定常領域がヒト I g G 1 の重鎖定常領域であり、A D C C 及び A D C P 活性の低減をもたらす変異を含む、上記 (1) ~ (3) に記載の抗体。

(7) 配列番号 6 に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号 5 に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなるヒト化モノクローナル抗体である上記 (1) ~ (4) のいずれかに記載の抗体。

(8) 重鎖定常領域がヒト I g G 1 の重鎖定常領域であり、E U インデックスにより示される 2 3 4 位及び 2 3 5 位のロイシンがアラニンに置換されている、上記 (6) に記載の抗体。

(9) 配列番号 8 に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号 7 に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなるヒト化モノクローナル抗体である上記 (8) に記載の抗体。

30

(1 0) 配列番号 2 5 に記載のアミノ酸配列からなる C D R L 1、配列番号 2 6 に記載のアミノ酸配列からなる C D R L 2、及び配列番号 2 7 に記載のアミノ酸配列からなる C D R L 3を含む軽鎖、並びに、配列番号 2 8 に記載のアミノ酸配列からなる C D R H 1、配列番号 2 9 に記載のアミノ酸配列からなる C D R H 2、及び配列番号 3 0 に記載のアミノ酸配列からなる C D R H 3を含む重鎖を含んでなるヒト化モノクローナル抗体である上記 (1) ~ (3)、(6) 又は (8) に記載の抗体。

(1 1) 配列番号 3 1 に記載のアミノ酸配列からなる C D R L 1、配列番号 3 2 に記載のアミノ酸配列からなる C D R L 2、及び配列番号 3 3 に記載のアミノ酸配列からなる C D R L 3を含む軽鎖、並びに、配列番号 3 4 に記載のアミノ酸配列からなる C D R H 1、配列番号 3 5 に記載のアミノ酸配列からなる C D R H 2、及び配列番号 3 6 に記載のアミノ酸配列からなる C D R H 3を含む重鎖を含んでなるヒト化モノクローナル抗体である上記 (1) ~ (3)、(6) 又は (8) に記載の抗体。

40

(1 2) 重鎖カルボキシル末端において 1 又は 2 つのアミノ酸が欠失している上記 (1) ~ (1 1) のいずれかに記載の抗体。

(1 3) 上記 (1) ~ (1 2) のいずれかに記載の抗体をコードするポリヌクレオチドを含有する発現ベクターによって形質転換された宿主細胞を培養する工程及び当該工程で得られた培養物から目的の抗体を採取する工程を含む当該抗体の製造方法によって得られる抗体。

【0 3 2 5】

本発明の抗体-免疫賦活化剤コンジュゲートの製造に使用される抗 E G F R 抗体は、特

50

に制限はないが、例えば、以下の特性を有するものが望ましい。

- (1) E G F Rに特異的に結合する抗 E G F R 抗体。
- (2) E G F Rの細胞外ドメインに結合する上記(1)に記載の抗体。
- (3) 前記抗体がモノクローナル抗体である上記(1)又は(2)に記載の抗体。
- (4) 抗体依存性細胞傷害(A D C C)活性及び／又は補体依存性細胞傷害(C D C)活性を有する上記(1)～(3)のいずれかに記載の抗体。
- (5) マウスモノクローナル抗体、キメラモノクローナル抗体、又はヒト化モノクローナル抗体である、上記(1)～(4)のいずれかに記載の抗体。
- (6) 重鎖定常領域がヒト I g G 1の重鎖定常領域であり、A D C C及びA D C P活性の低減をもたらす変異を含む、上記(1)～(3)に記載の抗体。
- (7) 重鎖定常領域がヒト I g G 1の重鎖定常領域であり、E Uインデックスにより示される234位及び235位のロイシンがアラニンに置換されている、上記(6)に記載の抗体。
- (8) 配列番号10に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号9に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなるヒト化モノクローナル抗体である上記(7)に記載の抗体。
- (9) 配列番号12に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号11に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなるヒト化モノクローナル抗体である上記(7)に記載の抗体。
- (10) 配列番号37に記載のアミノ酸配列からなるC D R L 1、配列番号38に記載のアミノ酸配列からなるC D R L 2、及び配列番号39に記載のアミノ酸配列からなるC D R L 3を含む軽鎖、並びに、配列番号40に記載のアミノ酸配列からなるC D R H 1、配列番号41に記載のアミノ酸配列からなるC D R H 2、及び配列番号42に記載のアミノ酸配列からなるC D R H 3を含む重鎖を含んでなるヒト化モノクローナル抗体である上記(1)～(3)、(6)又は(7)に記載の抗体。
- (11) 配列番号43に記載のアミノ酸配列からなるC D R L 1、配列番号44に記載のアミノ酸配列からなるC D R L 2、及び配列番号45に記載のアミノ酸配列からなるC D R L 3を含む軽鎖、並びに、配列番号46に記載のアミノ酸配列からなるC D R H 1、配列番号47に記載のアミノ酸配列からなるC D R H 2、及び配列番号48に記載のアミノ酸配列からなるC D R H 3を含む重鎖を含んでなるヒト化モノクローナル抗体である上記(1)～(3)、(6)又は(7)に記載の抗体。
- (12) 重鎖カルボキシル末端において1又は2つのアミノ酸が欠失している上記(1)～(11)のいずれかに記載の抗体。
- (13) 上記(1)～(12)のいずれかに記載の抗体をコードするポリヌクレオチドを含有する発現ベクターによって形質転換された宿主細胞を培養する工程及び当該工程で得られた培養物から目的の抗体を採取する工程を含む当該抗体の製造方法によって得られる抗体。

【0326】

本発明の抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートの製造に使用される抗 C D H 6 抗体は、特に制限はないが、例えば、以下の特性を有するものが望ましい。

- (1) C D H 6に特異的に結合する抗 C D H 6 抗体。
- (2) C D H 6の細胞外ドメインに結合する上記(1)に記載の抗体。
- (3) 前記抗体がモノクローナル抗体である上記(1)又は(2)に記載の抗体。
- (4) 抗体依存性細胞傷害(A D C C)活性及び／又は補体依存性細胞傷害(C D C)活性を有する上記(1)～(3)のいずれかに記載の抗体。
- (5) マウスモノクローナル抗体、キメラモノクローナル抗体、又はヒト化モノクローナル抗体である、上記(1)～(4)のいずれかに記載の抗体。
- (6) 重鎖定常領域がヒト I g G 1の重鎖定常領域であり、A D C C及びA D C P活性の低減をもたらす変異を含む、上記(1)～(3)に記載の抗体。
- (7) 重鎖定常領域がヒト I g G 1の重鎖定常領域であり、E Uインデックスにより示さ

れる 2 3 4 位及び 2 3 5 位のロイシンがアラニンに置換されている、上記 (6) に記載の抗体。

(8) 配列番号 5 6 に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号 5 5 に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなるヒト化モノクローナル抗体である上記 (7) に記載の抗体。

(9) 配列番号 6 3 に記載のアミノ酸配列からなる C D R L 1、配列番号 6 4 に記載のアミノ酸配列からなる C D R L 2、及び配列番号 6 5 に記載のアミノ酸配列からなる C D R L 3 を含む軽鎖、並びに、配列番号 6 6 に記載のアミノ酸配列からなる C D R H 1、配列番号 6 7 に記載のアミノ酸配列からなる C D R H 2、及び配列番号 6 8 に記載のアミノ酸配列からなる C D R H 3 を含む重鎖を含んでなるヒト化モノクローナル抗体である上記 (1) ~ (3)、(6) 又は (7) に記載の抗体。

(10) 重鎖カルボキシル末端において 1 又は 2 つのアミノ酸が欠失している上記 (1) ~ (9) のいずれかに記載の抗体。

(11) 上記 (1) ~ (10) のいずれかに記載の抗体をコードするポリヌクレオチドを含有する発現ベクターによって形質転換された宿主細胞を培養する工程及び当該工程で得られた培養物から目的の抗体を採取する工程を含む当該抗体の製造方法によって得られる抗体。

【0327】

<4-1-2. 抗体の糖鎖リモデリング>

近年、不均一な抗体の糖鎖を、酵素反応によってリモデリングし、官能基を有する糖鎖を均一に導入する方法が報告されている (ACS Chem. Biol. 2012, 7, 110-122, ACS Med. Chem. Lett. 2016, 7, 1005-1008)。この糖鎖リモデリング技術を用いて、部位特異的に薬物を導入し、均一な ADC を合成する試みもなされている (Bioconjugate Chem. 2015, 26, 2233-2242, Angew. Chem. Int. Ed. 2016, 55, 2361-2367, US 2016361436)。

【0328】

糖鎖のリモデリングは、まず加水分解酵素を利用して、蛋白質 (抗体等) に付加されている不均一な糖鎖を末端の GlcNAc のみ残して切除し、GlcNAc が付加した均一な蛋白質部分を調製する (以下、「アクセプター」という)。次に、別途調製した任意の糖鎖を用意し (以下、「ドナー」と言う)、このアクセプターとドナーとを、糖転移酵素を用いて連結する。これにより、任意の糖鎖構造を持った均一な糖蛋白質を合成できる。

【0329】

本明細書において、「糖鎖」とは、2 つ以上の単糖がグリコシド結合により結合された構造単位を意味する。具体的な単糖や糖鎖を、例えば “GlcNAc-”、“SG-” のように、略号として標記することがある。構造式中でこれらの略号で記載した場合、還元末端で別の構造単位とのグリコシド結合に帰属する酸素原子又は窒素原子は、特別な定義がある場合を除き、当該糖鎖を表す略号には含まれないものとして表示される。

【0330】

本明細書において、糖鎖の基本単位となる単糖の記載は、別に定める場合を除き、便宜上、その環構造において、環を構成する酸素原子に結合し、且つ、ヒドロキシ基 (又はグリコシド結合に帰属する酸素原子) と直接結合した炭素原子を 1 位 (シアル酸においてのみ 2 位) として表記する。実施例化合物の名称は、化学構造全体として付されたものであり、このルールは必ずしも適用されない。

【0331】

本明細書において、糖鎖を記号 (例えば、SG、MSG、GlcNAc 等) として記載する場合、別に定義される場合を除き、還元末端の炭素までを、当該記号に含めるものとし、N-又は O-グリコシド結合に帰属する N 又は O は、当該記号には含まれないものとする。

【0332】

10

20

30

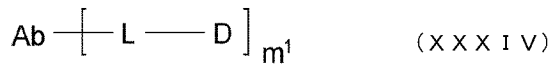
40

50

本発明の抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートの製造に使用される抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートは、次式（XXXIV）：

【0333】

【化157】



で示され、抗体Ab又はその機能性断片は、そのアミノ酸残基（例えば、システイン、リシン等）の側鎖から直接Lに結合するか、Abの糖鎖又はリモデリングされた糖鎖からLに結合している。アミノ酸残基の側鎖は、例えばアジド基等で修飾されていてもよい。

ここで、

Abは、抗体又は該抗体の機能性断片を示し、該抗体の糖鎖はリモデリングされていてもよく、

m^1 は1から10の範囲であり、

Lは、AbとDを連結するリンカーを示し、

リンカーLは、 $-\text{Lb}-\text{La}-\text{Lp}-\text{Lc}-*$ で示され、

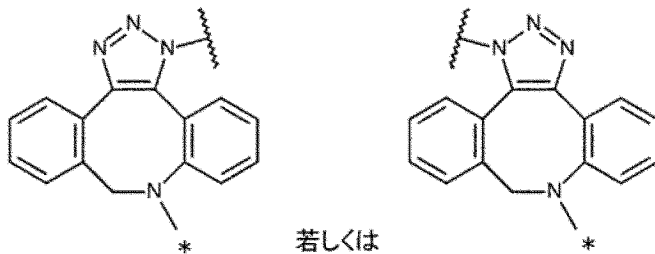
式中、アスタリスクは、免疫賦活化剤Dと結合していることを示し、

Lpが、 $-\text{GGFG}-$ であり、ここで、Gはグリシンを示し、Fはフェニルアラニンを示し、

Laが、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-$ を示し、

Lbが、次式：

【化158】



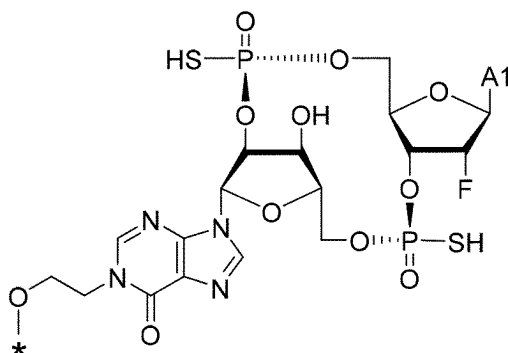
（上記で示されるLbの構造式において、アスタリスクはLaと結合していることを示し、波線はAbの糖鎖又はリモデリングされた糖鎖と結合していることを示す）を示し、

Lcが、 $-\text{NH}-\text{CH}_2-$ を示す。

Dは、

【0334】

【化159】



を示す。

【0335】

本明細書において、Abの糖鎖は、N結合型糖鎖やO結合型糖鎖であり、好ましくは、N結合型糖鎖である。

【0336】

N結合型糖鎖はNグリコシド結合、O結合型糖鎖はOグリコシド結合により、抗体のアミノ酸側鎖と結合している。

【0337】

本明細書において、Abは、IgGであり、好ましくは、IgG1、IgG2又はIgG4である。

【0338】

IgGはその重鎖のFc領域における297番目のアスパラギン残基（以下、「Asn297又はN297」という）によく保存されたN結合型糖鎖（以下、「Asn297糖鎖又はN297糖鎖」という）を有しており、抗体分子の活性や動態等に寄与することが知られている（Eon-Duval, A. et al, Biotechnol. Prog. 2012, 28, 608-622、Sanglier-Cianferani, S., Anal. Chem. 2013, 85, 715-736）。

【0339】

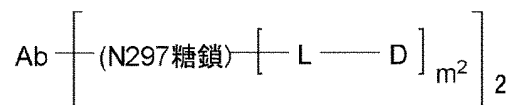
IgGの定常領域におけるアミノ酸配列はよく保存されており、Edelmanらの報告（Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 63, 78-85, (1969)）において、それぞれのアミノ酸がEU番号（EU INDEX）で特定されている。例えば、Fc領域においてN結合型糖鎖が付加するAsn297は、EU番号において297位に相当するものであり、分子の断片化や領域欠損によって実際のアミノ酸位置が変動した場合であってもEU番号で表示することによってアミノ酸が一義的に特定される。

【0340】

下図は本発明の抗体-免疫賦活化剤コンジュゲートが抗体又はその機能性断片の前記N297糖鎖からLに結合している場合を示す。 m^2 は1又は2の整数を示す。

【0341】

【化160】



なお、当該リモデリングされた糖鎖を有する抗体を糖鎖リモデリング抗体という。

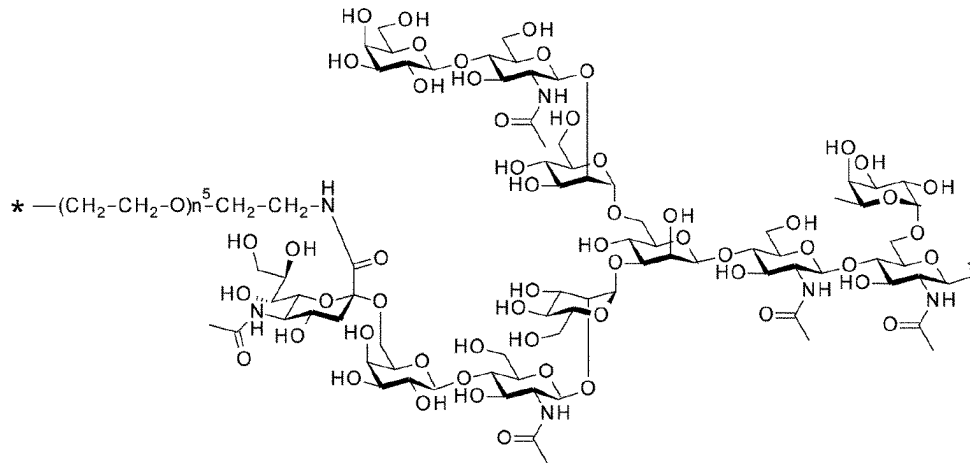
【0342】

SGP ($\alpha 2, 6$ -SGP) は、Sialylglycopeptideの略であり、N結合型糖ペプチドの代表的なものである。SGPは、例えば、WO2011/027868に記載の方法に従って、鶏卵の卵黄より単離、精製することができる。また、SGPの精製品が東京化成工業及び伏見製薬所から販売されている。本明細書において、SGPの糖鎖部分をSGと表記し、SGの還元末端のGlcNAcが1つ欠損した糖鎖をSG(10)と表記する。SG(10)は、例えば、梅川らの報告（Biochim. Biophys. Acta 2010, 1800, 1203-1209）を参照して、SGPの酵素的な加水分解により調製することができる。また、SG(10)も東京化成工業及び伏見製薬所から購入することができる。

【0343】

本明細書において、SG(10)の β -Manの分岐鎖のいずれか一方のみで非還元末端のシアル酸が欠失した糖鎖構造をMSG(9)と表記し、分岐鎖の1-3糖鎖のみにシアル酸を有するものをMSG1、分岐鎖の1-6糖鎖のみにシアル酸を有するものをMSG2、とそれぞれ表記する。

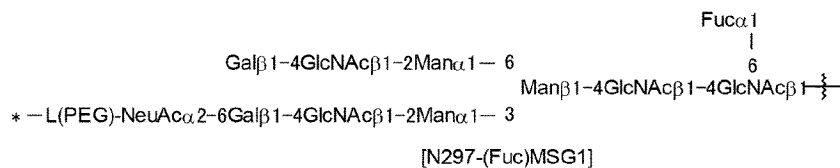
【化 1 6 3】



10

【 0 3 5 1】

【化 1 6 4】



20

【 0 3 5 2】

上記式中、波線は抗体のAsn297に結合していることを示し、

L(PEG)は、 $-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})^n-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-$ を示し、該L(PEG)の右端のアミノ基がN297糖鎖の β -Manの分岐鎖の1-3鎖側の非還元末端のシアル酸の2位のカルボキシル基とアミド結合していることを示し、

30

アステリスクは、前記リンカーL、特にリンカーLにおけるLbの1, 2, 3-トリアゾール環上の1位又は3位の窒素原子と結合していることを示し、

ここで、 n^5 は、2~10の整数であり、好ましくは、2~5の整数である。

【 0 3 5 3】

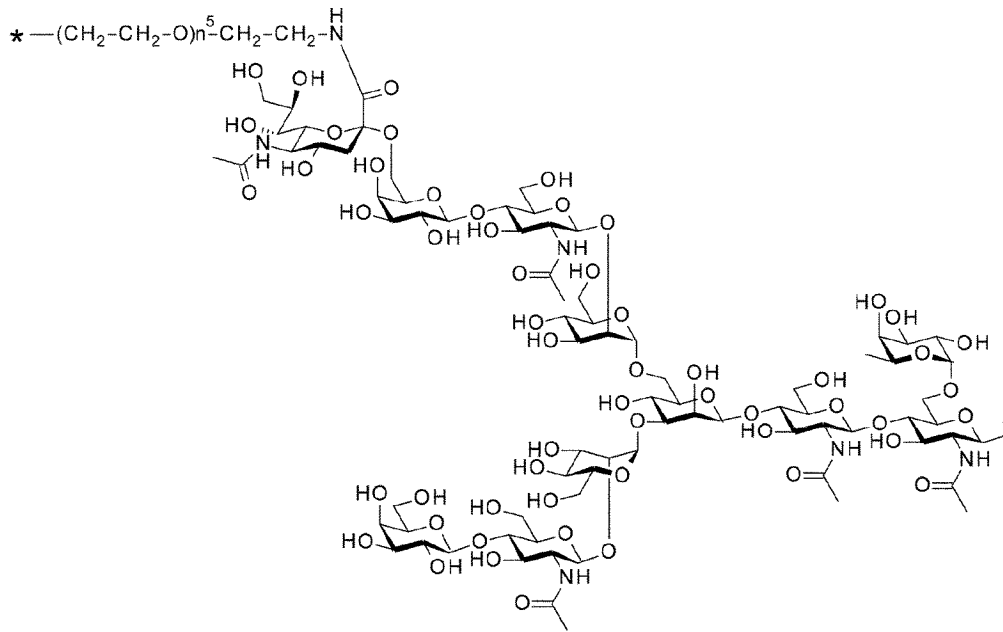
N297-(Fuc)MSG2は以下の構造式又は配列式で示される。

【 0 3 5 4】

40

50

【化 1 6 5】

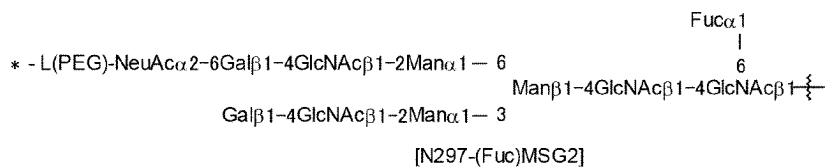


10

20

【 0 3 5 5】

【化 1 6 6】



【 0 3 5 6】

上記式中、波線は抗体の A s n 2 9 7 に結合していることを示し、

L (P E G) は、 $-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})^n-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-$ を示し、該 L (P E G) の右端のアミノ基が N 2 9 7 糖鎖の β -M a n の分岐鎖の 1-6 鎖側の非還元末端のシアル酸の 2 位のカルボキシル基とアミド結合していることを示し、

アスタリスクは、前記リンカー L、特にリンカー L における L b の 1, 2, 3-トリアゾール環上の 1 位又は 3 位の窒素原子と結合していることを示し、

ここで、 n^5 は 2 ~ 1 0 の整数であり、好ましくは、2 ~ 5 の整数である。

【 0 3 5 7】

本発明の抗体-免疫賦活化剤コンジュゲートにおける抗体の N 2 9 7 糖鎖が、N 2 9 7-(F u c) S G である場合、抗体は二量体であるため、抗体-免疫賦活化剤コンジュゲートは 4 つのリンカー L 及び 4 つの免疫賦活化剤 D が結合された分子 (上記 $m^2 = 2$) となる。

【 0 3 5 8】

本発明の抗体-免疫賦活化剤コンジュゲートにおける抗体の N 2 9 7 糖鎖が、N 2 9 7-(F u c) M S G 1 もしくは N 2 9 7-(F u c) M S G 2 又はそれらの混合物である場合、抗体は二量体であるため、抗体-免疫賦活化剤コンジュゲートは 2 つのリンカー L 及び 2 つの免疫賦活化剤 D が結合された分子 (上記 $m^2 = 1$) となる (図 1 9 参照)。

【 0 3 5 9】

N 2 9 7 糖鎖は、好ましくは、N 2 9 7-(F u c) S G もしくは N 2 9 7-(F u c) M S G 1 又は N 2 9 7-(F u c) M S G 2 であり、より好ましくは、N 2 9 7-(F

30

40

50

uc) SG又はN297-(Fuc)MSG1であり、さらに好ましくはN297-(Fuc)SGである。

【0360】

本発明の抗体-免疫賦活化剤コンジュゲートにおける抗体のN297糖鎖がN297-(Fuc)SGもしくはN297-(Fuc)MSG1又はN297-(Fuc)MSG2である場合、均一性の高いADCを取得することができる。

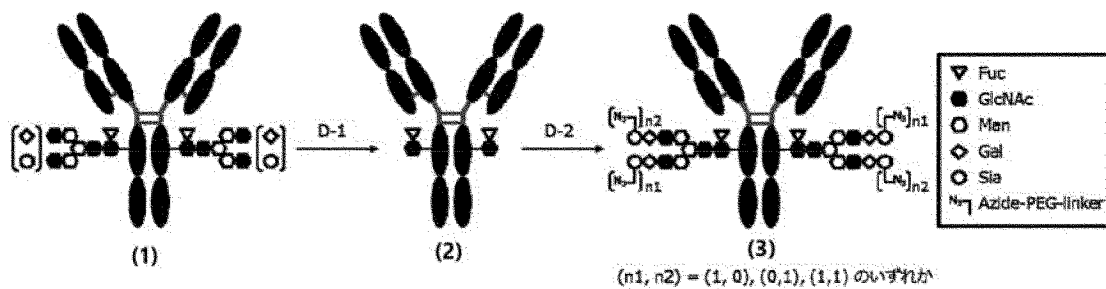
【0361】

<4-2. 糖鎖リモデリング抗体の製造>

糖鎖リモデリング抗体は、例えばWO2018/003983、WO2020/050406、WO2021/177438、PLOS ONE 2018, 13, e0193534などに記載の方法に準じて、次式に示す方法で製造することができる。

【0362】

【化167】



【0363】

(D-1工程)

本工程は、目的の抗体に対して、公知の酵素反応を用いて抗体のアミノ酸配列297番目のアスパラギンに結合するN結合型糖鎖(N297結合糖鎖)の還元末端キトビオース構造のGlcNAcβ1-4GlcNAc間のグリコシド結合を加水分解により切断し、糖鎖切断抗体を製造する工程である。目的の抗体(1)(10mg/mL)を緩衝液(リン酸緩衝液等)中、0℃から40℃までにおいて、野生型EndoS酵素等の加水分解酵素を用いて還元末端のキトビオース構造のGlcNAcβ1と4GlcNAc間のグリコシド結合の加水分解反応を実施した。反応時間は10分から72時間、好ましくは1時間から6時間である。野生型EndoS酵素は抗体(1)100mgに対して、0.1mgから10mg、好ましくは0.1mgから3mgを用いた。反応終了後、アフィニティークロマトグラフィー(HiTrap rProtein A FF(5ml)(GEヘルスケア製))及び/又はハイドロキシアパタイトカラム(Bio-Scale Mini CHT Type Iカートリッジ(5ml)(BIO-RAD製))で精製し、(Fucα1, 6)GlcNAc抗体(2)を得た。

【0364】

(D-2工程)

本工程は、D-1工程で得られた(Fucα1, 6)GlcNAc抗体(2)に対し、公知の酵素反応を用いてアジド基を含むPEGリンカーを有するSG型又はMSG(MSG1、MSG2)型糖鎖オキサゾリン体(以下、「アジド糖鎖オキサゾリン体」)を結合させ、糖鎖リモデリング抗体(3)を製造する工程である。

【0365】

抗体(2)を緩衝液(リン酸緩衝液等)中、0℃から40℃までにおいて、EndoS(D233Q/Q303L)等の糖転移酵素存在下、アジド糖鎖オキサゾリン体と反応させることで、糖鎖転移反応を実施した。反応時間は10分から72時間、好ましくは1時間から6時間である。EndoS酵素(D233Q/Q303L)は抗体100mgに対して、1mgから10mg、好ましくは1mgから3mgを用い、アジド糖鎖オキサゾリン

ン体は2当量から過剰当量、好ましくは4当量から20当量用いた。反応終了後、アフィニティークロマトグラフィー（HiTrap rProtein A FF（5ml）（GEヘルスケア製））及びハイドロキシアパタイトカラム（Bio-Scale Mini CHT Type Iカートリッジ（5ml）（BIO-RAD製））で精製し、糖鎖リモデリング抗体（3）を得た。

【0366】

上記の糖鎖リモデリング抗体の調製において、抗体水溶液の濃縮、濃度測定、並びにバッファー交換は、後述の共通操作AからCに従って行うことができる。

【0367】

なお、SG型のアジド糖鎖オキサゾリン体はWO2018／003983に記載の方法に準じて合成した。一例として $[N_3-PEG(3)]_2-SG(10)-Ox$ （WO2018／003983に記載の化合物1-10）の合成方法を次式に示す。

【0368】

10

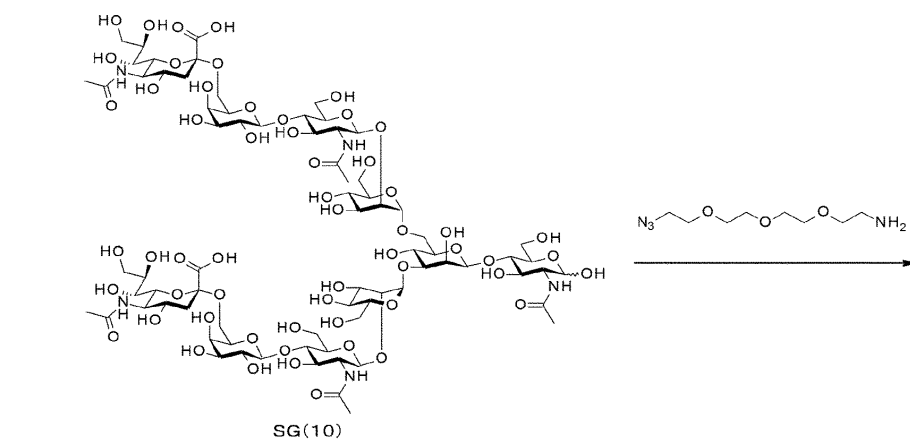
20

30

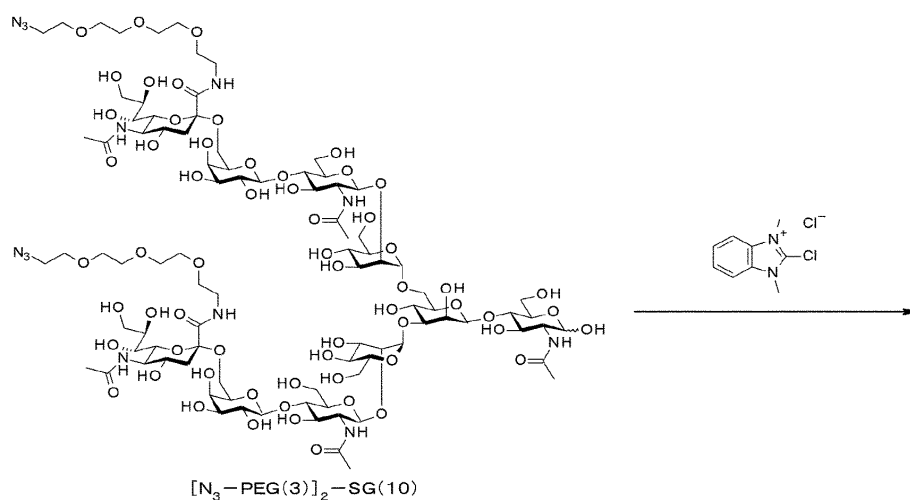
40

50

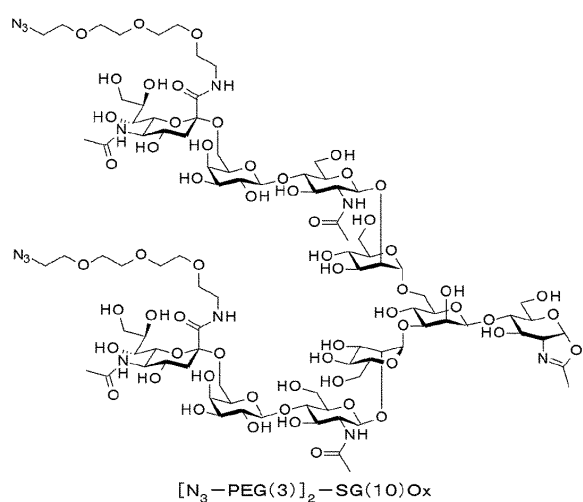
【化 1 6 8】



10



20



30

40

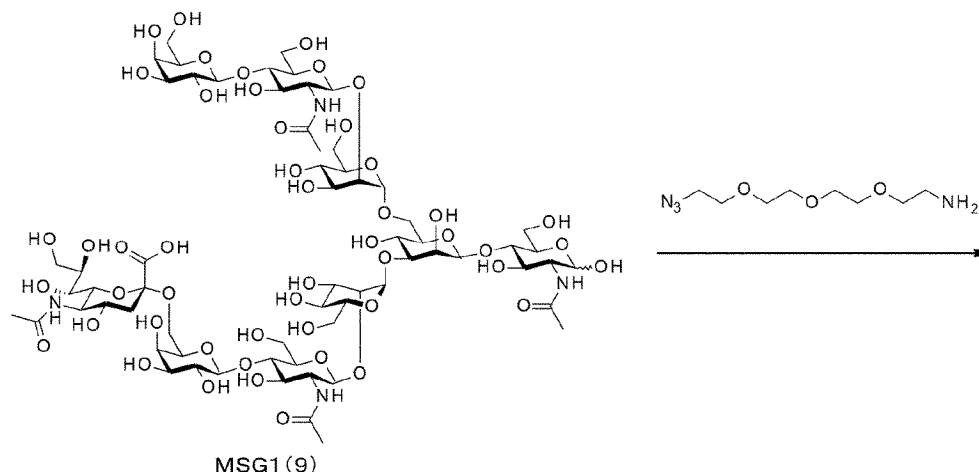
【0 3 6 9】

MSG型のアジド糖鎖オキサゾリン体もWO2018/003983に記載の方法に準じて合成した。一例として[N₃-PEG(3)]-MSG1(9)-Ox(WO2018/003983に記載の化合物1-11)の合成方法を次式に示す。

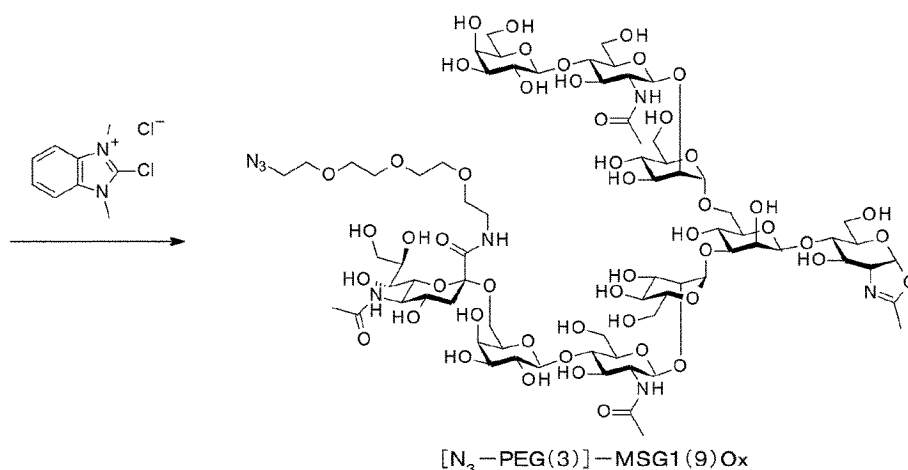
【0 3 7 0】

50

【化 1 6 9】



10



20

【0 3 7 1】

(D-3 工程)

30

本工程は、D-1 工程で得られた (Fuc α 1, 6) GlcNAc 抗体 (2) に対し、2 種類の Endo 酵素を使用した糖鎖転移反応により、糖鎖リモデリング抗体 (3) を製造する工程である。2 種類の酵素を同時に用いることで、還元末端が活性化されていない SGP や (SG) Asn などを糖鎖ドナーとして、抗体の N297 糖鎖へ、直接糖鎖転移させることができる。

使用する 2 種類の Endo 酵素に関して、酵素 A (EndoM 様酵素) 及び酵素 B (EndoS 様酵素) を適切に組合せることができる。

酵素 A としては、EndoM、EndoOm、EndoCC とその加水分解活性を低下させた EndoM 変異体、EndoOm 変異体、EndoCC 変異体などを例示できる。酵素 A として好ましいものは、EndoM N175Q、EndoCC N180H、EndoOm N194Q である。

40

酵素 B としては、EndoS、EndoS2 (EndoS49) 及びそれらの加水分解活性を低下させた EndoS 変異体、EndoS2 (EndoS49) 変異体などを例示できる。酵素 B として好ましいものは、EndoS D233Q、EndoS D233Q/Q303L、EndoS D233Q/E350A、EndoS D233Q/E350Q、EndoS D233Q/E350D、EndoS D233Q/E350N、EndoS D233Q/D405A、EndoS2 D184M、EndoS2 T138Q などである。

糖鎖ドナーとしては、([N₃-PEG(3)]₂-SG)-Asn-PEG(3)-N₃、[N₃-PEG(3)]-MSG1-Asn-PEG(3)-N₃、[N₃-PEG

50

(3)]-MSG2-Asn-PEG(3)-N₃などを用いることができる。

【0372】

抗体(2)を緩衝液(トリス緩衝液等)中、酵素A(EndoM様酵素)及び酵素B(EndoS様酵素)の糖転移酵素存在下、([N₃-PEG(3)]₂-SG)-Asn-PEG(3)-N₃と反応させることで、糖鎖転移反応を実施した。反応温度は、用いる酵素の至適温度に応じて適宜選択することができるが、通常15~50度であり、好ましくは、25~40度である。反応時間は、2時間~48時間の間で、適宜選択できる。反応終了後、反応スケールに適した精製方法(アフィニティークロマトグラフィー、ハイドロキシアパタイトカラムなど)や限外ろ過方法(限外ろ過膜)を選択し、糖鎖リモデリング抗体(3)を得た。

10

【0373】

上記の糖鎖リモデリング抗体の調製において、抗体水溶液の濃縮、濃度測定、並びにバッファー交換は、後述の共通操作AからCに従って行うことができる。

【0374】

なお、([N₃-PEG(3)]₂-SG)-Asn-PEG(3)-N₃は、WO2018/003983に記載の方法に準じて合成した。WO2018/003983に記載の工程1-2Aにおいて、Fmoc-(SG-)Asn(1S2S-11NC-Asn-Fmoc、糖鎖工学研究所製)から調製したFmoc-(SG-)Asnフリー体と11-アジド-3,6,9-トリオキサウンデカン-1-アミンと反応させて([N₃-PEG(3)]₂-SG)-Asn-PEG(3)-N₃(WO2018/003983に記載の化合物1-13)を得た。

20

【0375】

MSG型の糖鎖ドナー[N₃-PEG(3)]-MSG1-Asn-PEG(3)-N₃、[N₃-PEG(3)]-MSG2-Asn-PEG(3)-N₃もWO2019065964の実施例154の工程1から工程3に記載の方法に準じて合成できる。

【0376】

<4-3. 抗体と免疫賦活化剤のコンジュゲーション>

式(Rp, Rp-XIII)の抗体-免疫賦活化剤コンジュゲートは、以下の方法に従って製造することができる。

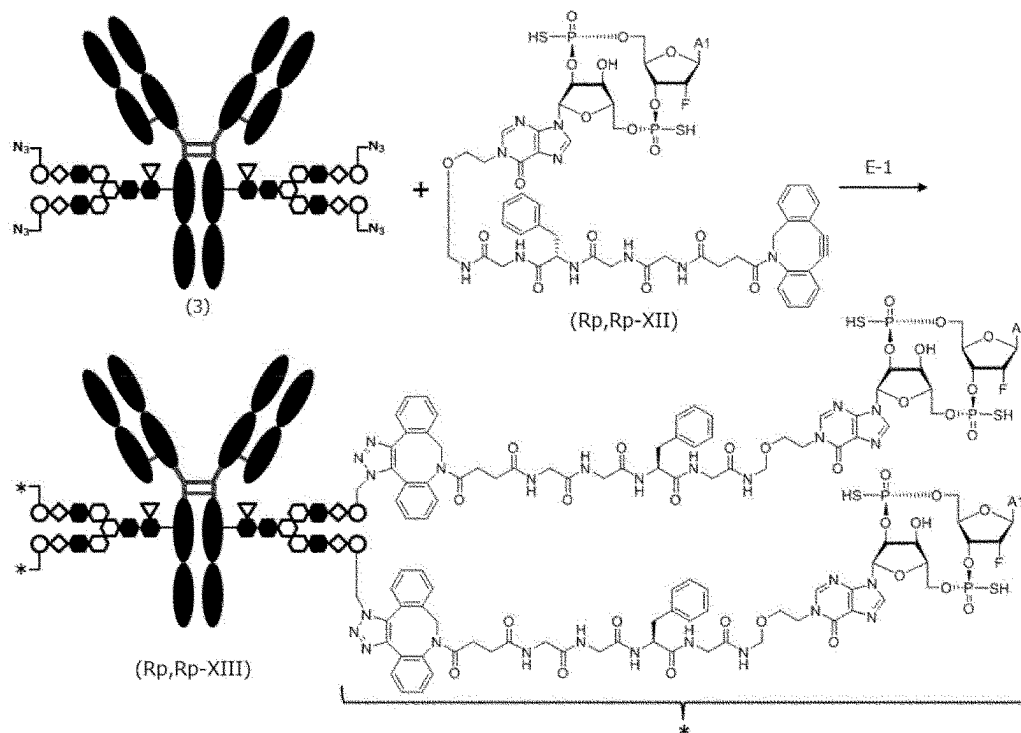
【0377】

30

40

50

【化 1 7 0】



10

20

(ここで、抗体-免疫賦活化剤コンジュゲート (Rp, Rp-XIII) の左側の2つのアスタリスク (*) は右側のアスタリスクで示されるCDN-リンカー部分を示す。)

【0378】

抗体-免疫賦活化剤コンジュゲート (Rp, Rp-XIII) は、糖鎖リモデリング抗体 (3) と CDN コンジュゲート前駆体 (Rp, Rp-XII) を環化付加反応により結合させ、製造することができる。環化付加反応としては、例えば Diels-Alder 反応、及び 1, 3-双極子環化付加反応が挙げられ、好ましくは 1, 3-双極子環化付加反応を用いて製造する。1, 3-双極子環化付加反応としては、例えば、アジドと末端アルキンとの環化付加反応、及び SPAAC (歪み促進型アジド-アルキン付加環化反応 strain-promoted azide-alkyne cycloaddition: J. Am. Chem. Soc. 2004, 126, 15046-15047) 反応が挙げられ、好ましくは SPAAC 反応を用いて製造する。

30

【0379】

本製造法は、上記の D-2 工程又は D-3 工程で得られた糖鎖リモデリング抗体 (3) と CDN コンジュゲート前駆体 (Rp, Rp-XII) を SPAAC 反応により結合させ、抗体-免疫賦活化剤コンジュゲート (Rp, Rp-XIII) を製造する方法である。

【0380】

(E-1 工程) (工程 a 9)

糖鎖リモデリング抗体 (3) の緩衝溶液 (リン酸緩衝液、酢酸緩衝液、ホウ酸緩衝液等) と、CDN コンジュゲート前駆体 (Rp, Rp-XII) を適当な溶媒 (ジメチルスルホキシド、N, N-ジメチルホルムアミド、N, N-ジメチルアセトアミド、N-メチルピロリドン、プロピレングリコール又はそれらの混合溶媒) に溶解させた溶液を混合することで、SPAAC 反応を実施した。CDN コンジュゲート前駆体 (Rp, Rp-XII) は、糖鎖リモデリング抗体 (3) 1 モルに対して、2 モルから過剰モル、好ましくは 4 モルから 30 モルであり、有機溶媒の比率は、抗体の緩衝溶液に対し 1 % から 200 % (v/v) が好ましい。反応温度は 0 °C から 37 °C、好ましくは 15 °C から 25 °C であり、反応時間は 1 時間から 150 時間、好ましくは 6 時間から 72 時間である。反応溶液の pH は 5 から 9 が好ましい。反応溶液を後述の共通操作 D に記載の方法に従って精製し、抗

40

50

体－免疫賦活化剤コンジュゲート（R p，R p－X I I I）を得た。

【0381】

抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートは、後述の共通操作DからGによってバッファー交換、精製、抗体濃度の測定及び抗体一分子あたりの免疫賦活化剤平均結合数の測定を行い、抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートの同定を行うことができる。

【0382】

共通操作A：抗体水溶液の濃縮

Amicon（登録商標）Ultra遠心式フィルターデバイス（50，000 NMWL，Merck Millipore Ltd.）に抗体又は抗体－免疫賦活化剤コンジュゲート溶液を入れ、遠心機（Allegra X-15R，Beckman Coulter，Inc.）を用いた遠心操作（2000Gから4000Gで5分間から20分間遠心）により、抗体及び抗体－免疫賦活化剤コンジュゲート溶液を濃縮した。

【0383】

共通操作B：抗体の濃度測定

UV測定器（Nanodrop 1000，Thermo Fisher Scientific，Inc.）を用いて、メーカー規定の方法に従い、抗体濃度の測定を行った。その際に、抗体ごとに異なる280nm吸光係数（ $1.3\text{ mL mg}^{-1}\text{ cm}^{-1}$ から $1.8\text{ mL mg}^{-1}\text{ cm}^{-1}$ ）を用いた。

【0384】

共通操作C：抗体のバッファー交換

抗体水溶液に緩衝液（リン酸緩衝生理食塩水（pH6.0）、リン酸緩衝液（pH6.0）等）を加え、共通操作Aに記載の方法に従って濃縮した。この操作を数回行った後、共通操作Bに記載の方法に従って抗体濃度を測定した。この抗体緩衝溶液に、適宜緩衝液（リン酸緩衝生理食塩水（pH6.0）、リン酸緩衝液（pH6.0）等）を加えて、目的の濃度（例えば、約 10 mg/mL ）の抗体緩衝溶液を調製した。

【0385】

共通操作D：抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートの精製（ゲル濾過クロマトグラフィー）

酢酸緩衝液（ 10 mM Acetate Buffer， 5% Sorbitol，pH5.5；本明細書ではABSと称する）又はそれ以外の適当な緩衝液でNAPカラム（NAP-5，NAP-10，NAP-25（GEヘルスケア製））を平衡化させた。このNAPカラムに、抗体－免疫賦活化剤コンジュゲート反応溶液をチャージし、メーカー規定量の緩衝液を自然流下させ、抗体画分を分取した。この画分を再度NAPカラムにチャージし、メーカー規定量の緩衝液を自然流下させ、抗体画分を分取した。この操作を合計2回から3回繰り返すことで、未結合の免疫賦活化剤リンカーやジメチルスルホキシド、プロピレングリコールを除いた抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートを得た。必要に応じて、共通操作A及びCにより抗体－免疫賦活化剤コンジュゲート溶液の濃度を調節した。

【0386】

共通操作E：抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートにおける抗体濃度及び抗体一分子あたりの免疫賦活化剤平均結合数の測定（UV法）

抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートにおける結合免疫賦活化剤濃度は、WO2020/050406、WO2021/177438に記載の方法に従って、吸光光度計（UV/VIS Spectrometer Lambda 25，PerkinElmer，Inc.）を用いて、抗体－免疫賦活化剤コンジュゲート水溶液の280nm及び250nmの二波長における吸光度を測定することにより算出することができる。

【0387】

共通操作F：抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートにおける抗体濃度及び抗体一分子あたりの免疫賦活化剤平均結合数の測定（逆相高速液体クロマトグラフィー法：RP-HPLC）

抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートにおける抗体濃度及び抗体一分子あたりの免疫賦活

10

20

30

40

50

化剤平均結合数は、前述の共通操作 E に加え、WO 2020 / 050406、WO 2021 / 177438 に記載の方法に準じて高速液体クロマトグラフィー分析によって求めることができる。

【0388】

共通操作 G：抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートにおける抗体濃度及び抗体一分子あたりの免疫賦活化剤平均結合数の測定（疎水性相互作用－高速液体クロマトグラフィー法：H I－H P L C）

抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートにおける抗体濃度及び抗体一分子あたりの免疫賦活化剤平均結合数は、前述の共通操作 E 及び F に加え、WO 2020 / 050406、WO 2021 / 177438 に記載の方法に準じて高速液体クロマトグラフィー分析によって求めることができる。

10

【0389】

本発明の方法により製造される抗体－免疫賦活化剤コンジュゲート又はその製造中間体には、立体異性体あるいは不斉炭素原子に由来する光学異性体、幾何異性体、互変異性体又は d 体、l 体、アトロプ異性体等の光学異性体が存在することもあるが、これらの異性体、光学異性体及びこれらの混合物のいずれも本発明に含まれる。

【0390】

本発明の方法により製造される抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートにおいて、抗体 1 分子への免疫賦活化剤の結合数は、その有効性、安全性に影響する重要因子である。抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートの製造は、免疫賦活化剤の結合数が一定の数となるよう、反応させる原料・試薬の使用量等の反応条件を規定して実施されるが、低分子化合物の化学反応とは異なり、異なる数の免疫賦活化剤が結合した混合物として得られるのが通常である。抗体 1 分子への免疫賦活化剤の結合数は平均値、すなわち、平均免疫賦活化剤結合数（D A R : D r u g t o A n t i b o d y R a t i o）として特定することができる。抗体分子への環状ジヌクレオチド誘導体の結合数はコントロール可能であり、1 抗体あたりの免疫賦活化剤平均結合数として、1 から 10 の範囲の環状ジヌクレオチド誘導体を結合させることができるが、好ましくは 1 から 8 個であり、より好ましくは 1 から 5 個である。

20

【0391】

本発明の方法により製造される抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートにおいて、抗体 A b が、抗体 A b のリモデリングされた糖鎖から L に結合している場合、抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートにおける抗体 1 分子あたりの免疫賦活化剤結合数 m^2 は 1 または 2 の整数である。当該糖鎖が N 297 糖鎖であり、糖鎖が N 297－(F u c) S G の場合、 m^2 は 2 であり、D A R は 3～5 の範囲（好ましくは、3.2～4.8 の範囲であり、より好ましくは、3.5～4.2 の範囲）である。N 297 糖鎖が N 297－(F u c) M S G 1、N 297－(F u c) M S G 2 又は N 297－(F u c) M S G 1 と N 297－(F u c) M S G 2 の混合物の場合、 m^2 は 1 であり、D A R は 1～3 の範囲（好ましくは、1.0～2.5 の範囲、より好ましくは、1.2～2.2 の範囲）である。

30

【0392】

なお、当業者であれば本願の実施例の記載から抗体に必要な数の免疫賦活化剤を結合させる反応を設計することができ、環状ジヌクレオチド誘導体の結合数をコントロールした抗体を取得することができる。

40

【0393】

なお、本発明の方法により製造される抗体－免疫賦活化剤コンジュゲート又はその製造中間体は、大気中に放置したり、又は再結晶することにより、水分を吸収し、吸着水がついたり、水和物になる場合があり、そのような水を含む化合物及び塩も本発明に含まれる。

【0394】

本発明の方法により製造される抗体－免疫賦活化剤コンジュゲート又はその製造中間体が、アミノ基等の塩基性基を有する場合、所望により医薬的に許容される塩とすることが

50

できる。そのような塩としては、例えば塩酸塩、ヨウ化水素酸塩等のハロゲン化水素酸塩；硝酸塩、過塩素酸塩、硫酸塩、リン酸塩等の無機酸塩；メタンスルホン酸塩、トリフルオロメタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩等の低級アルカンスルホン酸塩；ベンゼンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩等のアリールスルホン酸塩；ギ酸塩、酢酸塩、りんご酸塩、フマル酸塩、コハク酸塩、クエン酸塩、酒石酸塩、蔞酸塩、マレイン酸塩等の有機酸塩；及びオルニチン酸塩、グルタミン酸塩、アスパラギン酸塩等のアミノ酸塩を挙げることができる。

【0395】

本発明の方法により製造される抗体-免疫賦活化剤コンジュゲート又はその製造中間体が、リン酸基及び／又はチオリン酸基をその構造に含むため、一般的に塩基付加塩を形成することが可能である。また、その製造中間体が、カルボキシ基等の酸性基を有する場合も、一般的に塩基付加塩を形成することが可能である。医薬的に許容される塩としては、例えば、ナトリウム塩、カリウム塩、リチウム塩等のアルカリ金属塩；カルシウム塩、マグネシウム塩等のアルカリ土類金属塩；アンモニウム塩等の無機塩；ジベンジルアミン塩、モルホリン塩、フェニルグリシンアルキルエステル塩、エチレンジアミン塩、N-メチルグルカミン塩、ジエチルアミン塩、トリエチルアミン塩、tert-ブチルアミン塩、シクロヘキシルアミン塩、ジシクロヘキシルアミン塩、N,N'-ジベンジリエチレンジアミン塩、ジエタノールアミン塩、N-ベンジル-N-(2-フェニルエトキシ)アミン塩、ピペラジン塩、テトラメチルアンモニウム塩、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン塩等の有機アミン塩、等を挙げることができる。

【0396】

本発明の方法により製造される抗体-免疫賦活化剤コンジュゲート及びその製造中間体は、空気中の水分を吸収すること等により水和物として存在することもある。本発明の溶媒和物としては、医薬的に許容し得るものであれば特に限定されないが、具体的には、水和物、エタノール和物、2-プロパノール和物等が好ましい。また、本発明の抗体-免疫賦活化剤コンジュゲート及びその製造中間体中に窒素原子が存在する場合にはN-オキシド体となってもよく、これら溶媒和物及びN-オキシド体も本発明の範囲に含まれる。また、本発明の抗体-免疫賦活化剤コンジュゲート及びその製造中間体中に硫黄原子が存在する場合にはスルホキシド体となってもよく、これら溶媒和物及びスルホキシド体も本発明の範囲に含まれる。

【0397】

また、本発明の方法により製造される抗体-免疫賦活化剤コンジュゲート及びその製造中間体には、種々の放射性または非放射性同位体でラベルされた化合物も包含される。本発明の方法により製造される抗体-免疫賦活化剤コンジュゲート及びその製造中間体を構成する原子の1以上に、原子同位体の非天然割合も含有し得る。原子同位体としては、例えば、重水素(2H)、トリチウム(3H)、ヨウ素-125(125I)または炭素-14(14C)等を挙げることができる。また、本発明化合物は、例えば、トリチウム(3H)、ヨウ素-125(125I)または炭素-14(14C)のような放射性同位体で放射性標識され得る。放射性標識された化合物は、治療または予防剤、研究試薬、例えば、アッセイ試薬、及び診断剤、例えば、インビボ画像診断剤として有用である。本発明の抗体-免疫賦活化剤コンジュゲートの全ての同位体変異種は、放射性であると否とを問わず、本発明の範囲に包含される。

【0398】

<5. 医薬>

本発明の方法により製造される抗体-免疫賦活化剤コンジュゲートは、がん細胞に対して抗腫瘍免疫活性又は細胞傷害活性を示すことから、医薬として、特にがんに対する治療剤及び／又は予防剤、又は抗腫瘍剤として使用することができる。

【0399】

本発明の方法により製造される抗体-免疫賦活化剤コンジュゲートが適用されるがんの種類としては、肺がん(非小細胞肺がん、小細胞肺がん等)、腎がん、尿路上皮がん、大

腸がん、前立腺がん、多形神経膠芽腫、卵巣がん（表層上皮性腫瘍、間質性腫瘍、胚細胞腫瘍等）、膵がん、乳がん、メラノーマ、肝がん、膀胱がん、胃がん、食道がん、子宮体がん、精巣がん（セミノーマ、非セミノーマ）、子宮頸がん、胎盤絨毛がん、脳腫瘍、頭頸部がん、甲状腺がん、中皮腫、消化管間質腫瘍（Gastrointestinal Stromal Tumor、GIST）、胆のうがん、胆管がん、副腎がん、咽頭がん、舌がん、聴器がん、胸腺がん、小腸がん、有棘細胞がん、白血病、悪性リンパ腫、形質細胞腫、骨髄腫、肉腫等を挙げることができるが、抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートについては、治療対象となるがん細胞において抗体－免疫賦活化剤コンジュゲート中の抗体が認識できる蛋白質を発現しているがん細胞であればこれらには限定されることはない。

【0400】

10

本発明の方法により製造される抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートは、哺乳動物に対して好適に投与することができるが、より好ましくはヒトである。

【0401】

本発明の方法により製造される抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートが含まれる医薬組成物において使用される物質としては、投与量や投与濃度において、この分野において通常使用される製剤添加物その他から適宜選択して適用することができる。

【0402】

本発明の方法により製造される抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートは、1種以上の薬学的に適合性の成分を含む医薬組成物として投与され得る。例えば、上記医薬組成物は、代表的には、1種以上の薬学的キャリア（例えば、滅菌した液体（例えば、水および油（石油、動物、植物、または合成起源の油（例えば、ラッカセイ油、大豆油、鉱油、ごま油など））を含む））を含む。水は、上記医薬組成物が静脈内投与される場合に、より代表的なキャリアである。食塩水溶液、ならびにデキストロース水溶液およびグリセロール水溶液もまた、液体キャリアとして、特に、注射用溶液のために使用され得る。適切な薬学的賦形剤は、当該分野で公知である。上記組成物はまた、所望であれば、微量の湿潤剤もしくは乳化剤、またはpH緩衝化剤を含み得る。適切な薬学的キャリアの例は、E. W. Martinによる「Remington's Pharmaceutical Sciences」に記載される。その処方は、投与の態様に対応する。

20

【0403】

種々の送達システムが公知であり、本発明の抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートを投与するために使用され得る。導入方法としては、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、および皮下の経路が挙げられるが、これらに限定されない。投与は、例えば、注入またはボーラス注射によるものであり得る。特定の好ましい実施形態において、上記抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートの投与は、注入によるものである。非経口的投与は、好ましい投与経路である。

30

【0404】

代表的実施形態において、上記抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートを含む医薬組成物は、ヒトへの静脈内投与に適合した医薬組成物として、常習的手順に従って処方される。代表的には、静脈内投与のための組成物は、滅菌の等張性の水性緩衝液中の溶液である。必要である場合、上記医薬はまた、可溶化剤および注射部位での疼痛を和らげるための局所麻酔剤（例えば、リグノカイン）を含み得る。一般に、上記成分は、例えば、活性剤の量を示すアンプルまたはサシェなどに密封してシールされた容器中の凍結乾燥粉末または無水の濃縮物として、別個に、または単位剤形中で一緒に混合して、のいずれかで供給される。上記医薬組成物が注入によって投与される予定である場合、それは、例えば、滅菌の製薬グレードの水または食塩水を含む注入ボトルで投与され得る。上記医薬が注射によって投与される場合、注射用滅菌水または食塩水のアンプルは、例えば、上記成分が投与前に混合され得るように、提供され得る。上記医薬組成物は、溶液として提供される場合もある。

40

【0405】

本発明の方法により製造される抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートを含む医薬組成物は

50

本発明の方法により製造される抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートのみを含む医薬組成物であってもよいし、本発明の方法により製造される抗体－免疫賦活化剤コンジュゲート及び他の癌治療剤を含む医薬組成物であってもよい。本発明の方法により製造される抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートは、他の癌治療剤と共に投与することもでき、これによって抗腫瘍効果を増強させることができる。このような目的で使用される他の癌治療剤は、抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートと同時に、別々に、あるいは連続して個体に投与されてもよいし、それぞれの投与間隔を変えて投与してもよい。このような癌治療剤として、代謝拮抗剤、アルキル化剤、微小管阻害剤等の化学療法剤（abraxane、carboplatin、cisplatin、gemcitabine、irinotecan（CPT-11）、paclitaxel、docetaxel、pemetrexed、vinblastine又は国際公開第WO2003/038043号パンフレットに記載の薬剤等）、ホルモン調整薬（LH-RHアナログであるリュープロレリン等、ゴセリン、エストラムスチン、エストロジェン拮抗薬であるタモキシフェン、ラロキシフェン等）、アロマターゼ阻害剤（アナストロゾール、レトロゾール、エキセメスタン等）、キナーゼ阻害剤、PARP阻害剤、骨破壊抑制剤、骨形成促進剤、転移抑制剤、分子標的薬（抗EGFR抗体、抗VEGF抗体、抗VEGFR抗体等）、免疫チェックポイント阻害薬（抗PD-1抗体であるニボルマブ、ペンブロリズマブ等、抗PD-L1抗体であるアテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ等、抗PD-L2抗体、抗CTLA4抗体であるイピリムマブ等、抗A2aR抗体、A2a受容体アンタゴニスト、抗LAG3抗体、抗TIM3抗体等）、抗制御性T細胞薬（抗CTLA4抗体、抗CD25抗体、抗GITR抗体、抗GARP抗体、抗TIGIT抗体、抗CCR8抗体等）、免疫活性化剤（抗4-1BB抗体、抗OX40抗体、抗CD40抗体、抗CD3抗体、抗CD28抗体、IL-2アナログ、サイトカイン、TLRAゴニスト等）、免疫調節剤（抗CD47抗体、抗SIRPα抗体、抑制性ミエロイド調整剤等）、ADCC（Antibody Dependent Cellular Cytotoxicity）活性、ADCP（Antibody Dependent Cellular Phagocytosis）活性または補体活性をもつ抗体医薬、BiTE（Bispecific T-cell engagers）、Antibody-Drug-Conjugate（ADC）（例えば、Deruxtecan、DM1、Pyrrolobenzodiazepine、MMAF等を含む薬剤コンジュゲート（抗HER2-ADC、抗TROP2-ADC、抗HER3-ADC等））、光力学療法を組み合わせたADC等、さらに抗腫瘍ワクチン、抗腫瘍細胞治療（CAR-T、TCR-T、樹状細胞、NK細胞等）、抗腫瘍細菌治療、抗腫瘍ウイルス治療等を挙げることができるが、抗腫瘍活性を有する薬剤であれば限定されることはない。さらに、本発明の抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートは、本発明の他の抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートと共に投与することもでき、これによって抗腫瘍効果を増強させることができる。また、本発明の抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートは免疫賦活化剤だけでなく、抗腫瘍効果をもたらす治療、例えば放射線、重量子線、外科的手術、骨髄移植等との併用によって抗腫瘍効果を増強させることができるが、抗腫瘍効果を有する治療であれば限定されることはない。

【0406】

このような医薬組成物は、選択された組成と必要な純度を持つ製剤として、凍結乾燥製剤あるいは液状製剤として製剤化すればよい。凍結乾燥製剤として製剤化する際には、この分野において使用される適当な製剤添加物が含まれる製剤であってもよい。また液剤においても同様にして、この分野において使用される各種の製剤添加物を含む液状製剤として製剤化することができる。

【0407】

医薬組成物の組成及び濃度は投与方法によっても変化するが、本発明の方法により製造される抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートを含む医薬組成物に含まれる抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートは、抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートの抗原に対する親和性、すなわち、抗原に対する解離定数（Kd値）の点において、親和性が高い（Kd値が低い）ほど

10

20

30

40

50

、少量の投与量であっても薬効を発揮させることができる。したがって、抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートの投与量の決定に当たっては、抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートと抗原との親和性の状況に基づいて投与量を設定することもできる。本発明の抗体－免疫賦活化剤コンジュゲートをヒトに対して投与する際には、例えば、約0.001～100mg/kgを1回あるいは1～180日間に1回の間隔で複数回投与すればよい。

【0408】

以下本発明を実施例にて説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。なお、以下において、「化合物(I)」又は合成スキーム中の「(I)」は、「式(I)の化合物」に対応することを示し、それ以降の化合物番号についても同様である。

【実施例】

【0409】

以下の実施例において、別個の規定がある場合を除き、室温は15℃乃至35℃を示す。脱水ジクロロメタンは富士フィルム和光純薬から販売されているジクロロメタン（超脱水）を用いた。脱水アセトニトリルは、富士フィルム和光純薬から販売されているアセトニトリル（超脱水）を用いた。脱水ピリジンは、関東化学から販売されているピリジン（脱水）を用いた。シリカゲルクロマトグラフィーはBiotage Sfar HC D（20μm, Biotage製）、アミノシリカゲルカラムクロマトグラフィーはBiotage Sfar Amino D（50μm, Biotage製）、分取HPLCはAgilent Preparative HPLC System（Agilent Technology製）を用いて実施した。分取カラムは、XBridge Prep OBD（5μm, C18, 130Å, 250×30mm, Waters製）を用いた。

【0410】

各種スペクトルデータの測定には以下の機器を用いた。¹H-NMR及び³¹P-NMRスペクトルは、JEOL製ECZ500Rを用いて測定した。マスマスペクトルはShimadzu LCMS-2010及びLCMS-2020（島津製作所製）を用いて測定した。LC/MSの測定は、以下の条件で実施した〔カラム：XBridge C18, 3.5μm, 150×4.6mm（Waters製）, 移動相：10mM 酢酸アンモニウム／アセトニトリル、アセトニトリル：10%－97.5%（0分－42分）〕

【0411】

〔A. 環状ジヌクレオチド（CDN）の合成〕

A-1 CDN1の合成1

環状ジヌクレオチド（CDN1）を、以下の合成スキームA-1に従って合成した。合成スキームA-1において、A2=Bz-テトラアザベンゾ〔cd〕アズレン基、Q=チオール基、PG1=TBS、PG2=DMTr、PG3=Teoc、PG6=Acであり、(Rc-II)として、(3aR)-1-クロロテトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ〔1, 2-c〕〔1, 3, 2〕オキサザホスホールを使用した。

〔合成スキーム A-1〕

【0412】

10

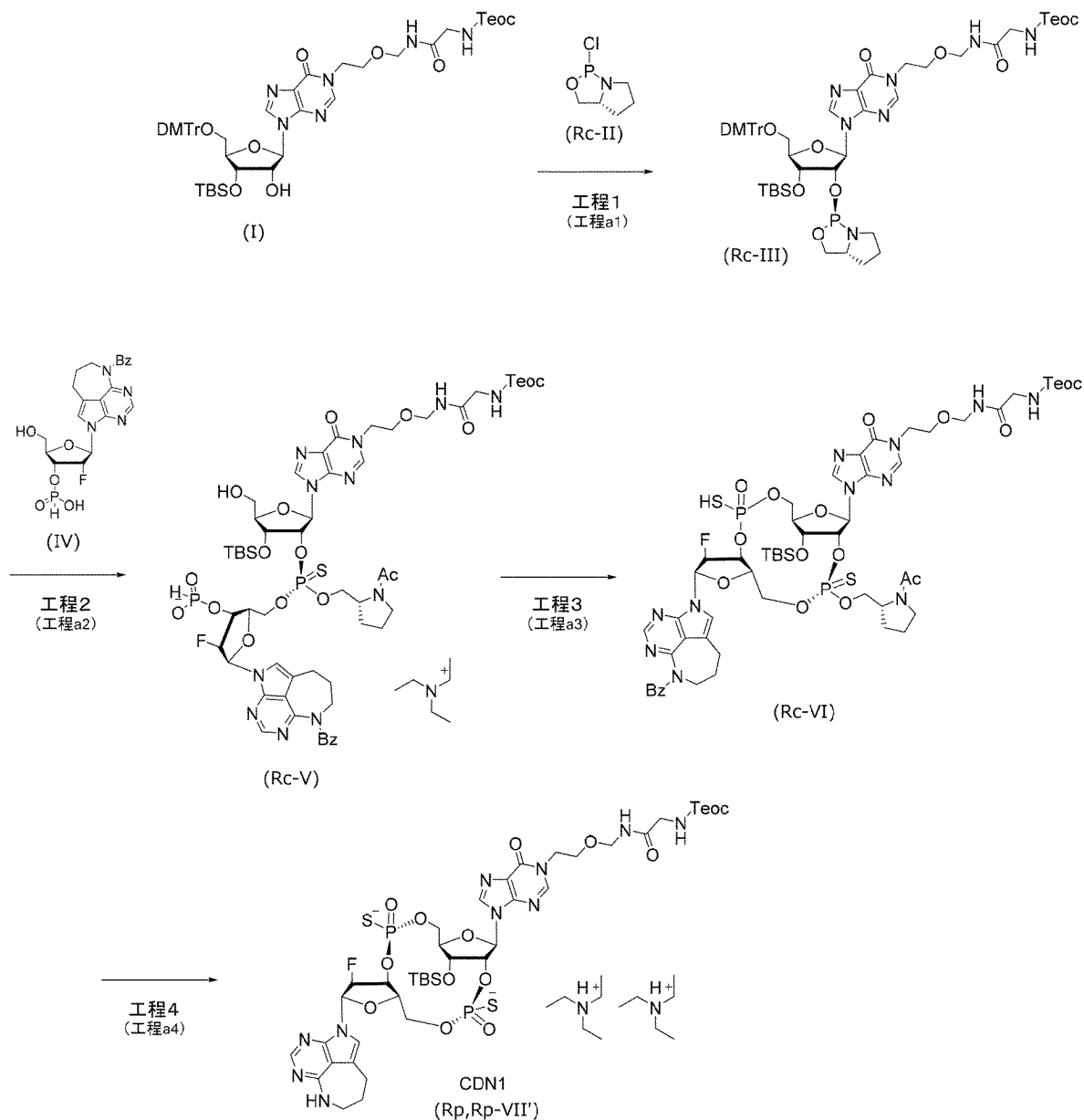
20

30

40

50

【化 1 7 1】



10

20

30

【0 4 1 3】

実施例 1：

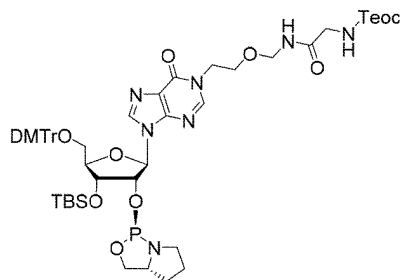
5'-O-[ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メチル]-3'-O-[tert-ブチル(ジメチル)シリル]-2'-O-[(1S,3aR)-テトラヒドロ-1H,3H-ピロロ[1,2-c][1,3,2]オキサザホスホール-1-イル]-1-(2-{[(N-{[2-(トリメチルシリル)エトキシ]カルボニル}グリシル)アミノ]メトキシ}エチル)イノシン (式(Rc-III)の化合物に相当)の合成

40

【0 4 1 4】

50

【化 172】



10

【0415】

(工程1)

5'-O-[ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メチル]-3'-O-[tert-ブチル(ジメチル)シリル]-1-(2-{[(N-{[2-(トリメチルシリル)エトキシ]カルボニル}グリシル)アミノ]メトキシ}エチル)イノシン(10.0g)に脱水ジクロロメタン(150mL)を加えて-5℃に冷却し、トリエチルアミン(1.73mL)を添加した。上記溶液に文献既知(Tetrahedron Letter, 1998, 39, 2491-2494)の(3aR)-1-クロロテトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ[1,2-c][1,3,2]オキサザホスホールの脱水ジクロロメタン(50mL)溶液を滴下し、同温度で30分間攪拌した。室温に昇温し、30分間攪拌後、反応液を濃縮した。濃縮した粗生成物をジクロロメタンで希釈溶解し、アミノシリカゲルクロマトグラフィー[ジクロロメタン/酢酸エチル]で精製し、目的化合物を得た(10.4g)。

20

【0416】

MS(ESI) m/z: 1088 (M+H)⁺, 1086 (M-H)⁻.

¹H-NMR(MeCN-d₃) δ: 7.94(1H, s), 7.93(1H, s), 7.44-7.42(3H, m), 7.31(4H, d, J=9.0Hz), 7.27(2H, t, J=7.0Hz), 7.21(1H, t, J=7.0Hz), 6.84(4H, d, J=7.0Hz), 5.88(1H, d, J=6.5Hz), 5.83(1H, br m), 4.94(1H, m), 4.56(2H, m), 4.33(1H, m), 4.17-4.02(6H, m), 3.74(6H, s), 3.69(2H, m), 3.61-3.57(3H, m), 3.43(1H, dd, J=5.0Hz), 3.28-3.19(3H, m), 2.48-2.44(1H, m), 1.65-1.49(3H, m), 1.26-1.17(1H, m), 0.94-0.90(2H, m), 0.87(9H, s), 0.10(3H, s), 0.06(3H, s), 0.00(9H, s).

30

³¹P-NMR(MeCN-d₃) δ: 151.93.

【0417】

実施例2:

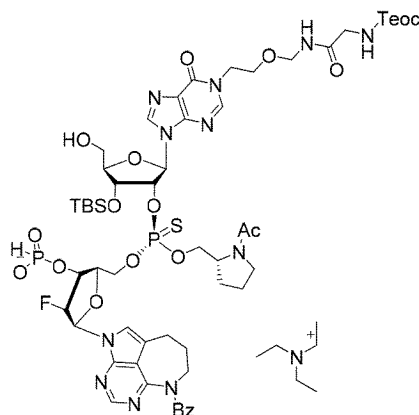
N,N-ジエチルエタンアミニウム(2R, 3R, 4R, 5R)-2-({[(R)-{(2R)-1-アセチルピロリジン-2-イル]メトキシ}{[(2R, 3R, 4R, 5R)-4-{[tert-ブチル(ジメチル)シリル]オキシ}-2-[1-(2,2-ジメチル-6,9-ジオキソ-5,12-ジオキサ-7,10-ジアザ-2-シラテトラデカン-14-イル)-6-オキソ-1,6-ジヒドロ-9H-プリン-9-イル]-5-(ヒドロキシメチル)オキソラン-3-イル]オキシ}ホスホロチオイル]オキシ}メチル)-5-(6-ベンゾイル-6,7,8,9-テトラヒドロ-2H-2,3,5,6-テトラアザベンゾ[c,d]アズレン-2-イル)-4-フルオロオキソラン-3-イルホスフェート(式(Rc-V)の化合物に相当)の合成

40

【0418】

50

【化 1 7 3】



10

【0 4 1 9】

(工程 2)

6-ベンゾイル-2- {2-デオキシ-2-フルオロ-3-O- [ヒドロキシ (オキソ) - λ^5 -ホスファニル] - β -D-リボフラノシル} -6, 7, 8, 9-テトラヒドロ-2H-2, 3, 5, 6-テトラアザベンゾ [cd] アズレンのトリエチルアミン塩 (260 mg) を脱水アセトニトリル (2.7 mL) に溶解させ、モレキュラーシーブ 4A (12.5 mg) を添加し、30分間攪拌した。別の容器で、実施例 1 で得られた化合物 (540 mg) を脱水アセトニトリル (2.7 mL) に溶解し、モレキュラーシーブ 4A (25 mg) を添加し、30分間攪拌し、先に調製した 6-ベンゾイル-2- {2-デオキシ-2-フルオロ-3-O- [ヒドロキシ (オキソ) - λ^5 -ホスファニル] - β -D-リボフラノシル} -6, 7, 8, 9-テトラヒドロ-2H-2, 3, 5, 6-テトラアザベンゾ [cd] アズレンのトリエチルアミン塩のアセトニトリル溶液を添加した。0.4 mol/L に調製した 1-フェニルイミダゾリウムトリフレート脱水アセトニトリル溶液 (2.7 mL) を添加し、室温で 30分間攪拌した。続いて、1 mol/L に調製した無水酢酸脱水アセトニトリル溶液 (0.45 mL) を添加し、その後トリエチルアミン (55 mg) を添加して 30分間攪拌した。続いて、キサンタンヒドリド (74 mg) を添加し、30分間攪拌し、反応液を濾過することでモレキュラーシーブを濾去した。濾液を 0℃ に冷却し、20% 食塩水 (2.7 mL) を添加し、塩酸にて pH 2.5 に調整し、同温度で終夜攪拌を行った。反応液を分液し、得られた有機層に 20% 食塩水 (2.7 mL) を添加し、トリエチルアミンで pH 7 になるように中和した。その後、分液により得られた有機層を濃縮し、シリカゲルクロマトグラフィー [アセトニトリル/メタノール] で粗精製し、濃縮乾固し、目的化合物を得た。反応時に生成するリン原子上のジアステレオマーは HPLC 測定の結果、98.5 : 1.5 であった。

20

30

【0 4 2 0】

MS (ESI) m/z : 1336 ($M+H$)⁺, 1334 ($M-H$)⁻.

³¹P-NMR (MeCN- d_3) δ : 69.41, 2.13 (Rotamer δ : 68.23, 1.91).

40

³¹P-NMR データは逆相 HPLC [10 mM 酢酸アンモニウム水溶液/アセトニトリル] にて得た単離品を用いて測定した。

【0 4 2 1】

実施例 3 :

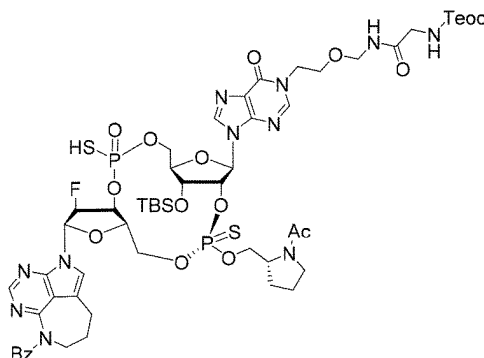
2-(トリメチルシリル)エチル (2- { [(2- {9- [(5R, 7R, 8R, 10R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R) -10- { [(2R) -1-アセチルピロリジン-2-イル] メトキシ} -14- (6-ベンゾイル-6, 7, 8, 9-テトラヒドロ-2H-2, 3, 5, 6-テトラアザベンゾ [cd] アズレン-2-イル) -16- { [tert-ブチル (ジメチル) シリル] オキシ} -15-フルオロ-2-オキソ-2-スルファニル-10-スルファニリデンオクタヒドロ-2H, 10H, 12H-5,

50

8-メタノ-2λ⁵, 10λ⁵-フロ[3, 2-l][1, 3, 6, 9, 11, 2, 10]ペンタオキサジホスファシクロテトラデシン-7-イル]-6-オキソ-6, 9-ジヒドロ-1H-プリン-1-イル}エトキシ)メチル]アミノ}-2-オキソエチル)カーバメート (式(Rc-VI)の化合物に相当)の合成

【0422】

【化174】



10

【0423】

(工程3)

実施例2で得られた化合物(320mg)を脱水ピリジン(50mL)で共沸脱水し、16mLのピリジン溶液を調製し、-20℃に冷却した。別の容器に2-クロロ-2-オキソ-1, 3, 2-ジオキサホスホラン(171mg)を秤量し、-20℃に冷却した。上記ピリジン溶液を2-クロロ-1, 3, 2-ジオキサホスホラン-2-オキシドの容器へ添加し、-20℃で1時間攪拌した。環化時に発生するリン原子上のジアステレオマー比は75:25であった。水(43mg)を添加し、10分間同温度で攪拌後、キサンタンヒドリド(40mg)を添加し、室温まで昇温し、1時間攪拌した。得られた反応液を5%重曹水(3mL)でクエンチし、酢酸エチル(12mL)と20%食塩水(3mL)を加えて分液した。水層を酢酸エチル(3mL)で再抽出し、1度目の分液で得られた有機層と再抽出して得られた有機層を合致し、20%食塩水(1.5mL)と5%重曹水(1mL)の混合液で洗浄した。続いて、有機層を濃縮乾固し、メタノール(30mL)を添加し、再度濃縮乾固して、目的化合物を得た。

20

30

【0424】

MS(ESI)m/z: 1350 (M+H)⁺, 1348 (M-H)⁻.

³¹P-NMR(MeCN-d₃)δ: 65.93, 56.60 (Rotamer δ: 65.51, 57.12).

³¹P-NMRデータは逆相HPLC[10mM酢酸トリエチルアンモニウム水溶液/アセトニトリル]にて得た単離品を用いて測定した。

【0425】

実施例4:

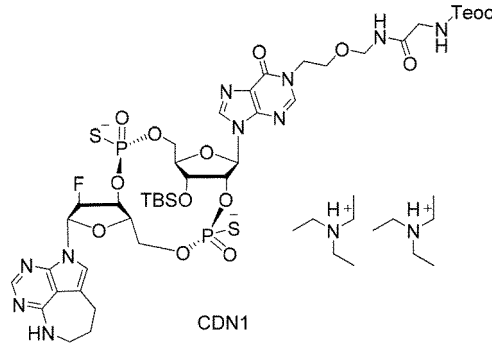
ビス(N, N-ジエチルエタンアミニウム)(2R, 5R, 7R, 8R, 10R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-16-{[tert-ブチル(ジメチル)シリル]オキシ}-15-フルオロ-2, 10-ジオキソ-7-[6-オキソ-1-(2-{[(N-{[2-(トリメチルシリル)エトキシ]カルボニル}グリシル)アミノ]メトキシ]エチル)-1, 6-ジヒドロ-9H-プリン-9-イル]-14-(6, 7, 8, 9-テトラヒドロ-2H-2, 3, 5, 6-テトラアザベンゾ[cd]アズレン-2-イル)オクタヒドロ-2H, 10H, 12H-5, 8-メタノ-2λ⁵, 10λ⁵-フロ[3, 2-l][1, 3, 6, 9, 11, 2, 10]ペンタオキサジホスファシクロテトラデシン-2, 10-ビス(チオラート) (式(Rp, Rp-VII')の化合物に相当)の合成

40

【0426】

50

【化 1 7 5】



10

【0 4 2 7】

【工程 4】

実施例 2 で得られた化合物にメタノール（12 mL）を添加したメタノール溶液に 28 % アンモニア水（4.5 mL）添加し、60 °C で 30 時間攪拌した。得られた反応液を濃縮し、残留物を分取 HPLC [10 mM 酢酸トリエチルアンモニウム水溶液 / アセトニトリル] で精製し、リン原子上の単一のジASTEレオマー（Rp, Rp 体）として目的化合物を 84 mg 得た。なお単離した化合物の HPLC 純度は 92.4 % であった。

【0 4 2 8】

20

MS (ESI) m/z : 1121 ($M+H$)⁺, 1119 ($M-H$)⁻.

¹H-NMR (MeCN-d₃) δ : 8.61 (1H, s), 8.10 (1H, s), 8.07 (1H, brs), 7.84–7.82 (1H, m), 7.50 (1H, brs), 7.03 (1H, brs), 6.37 (1H, dd, $J=16.5, 3.0$ Hz), 6.10 (1H, d, $J=8.0$ Hz), 6.06 (1H, brm), 5.51 (1H, dt, $J=52.5, 4.0$ Hz), 5.37 (1H, m), 5.31 (1H, m), 4.57 (2H, d, $J=7.0$ Hz), 4.52 (1H, d, $J=3.5$ Hz), 4.28 (2H, m), 4.19 (3H, m), 4.07 (3H, m), 3.91 (1H, ddd, $J=12.0, 5.0, 2.0$ Hz), 3.84 (1H, ddd, $J=12.0, 5.0, 2.0$ Hz), 3.70 (2H, m), 3.62 (2H, m), 3.46 (2H, m), 2.99 (6H, q, $J=7.0$ Hz), 2.86 (1H, m), 2.73 (1H, m), 1.95 (2H, m), 1.17 (18H, t, $J=7.0$ Hz), 0.95–0.92 (2H, m), 0.94 (9H, s), 0.23 (3H, s), 0.20 (3H, s), 0.00 (9H, s).

30

³¹P-NMR (MeCN-d₃) δ : 58.31, 57.22.

【0 4 2 9】

A-2 化合物 (IV) (A2 = Bz-テトラアザベンゾ [cd] アズレン基) の合成
上記の合成スキーム A-1 に用いる原料化合物 (IV) を、以下のスキームに従って、合成した。

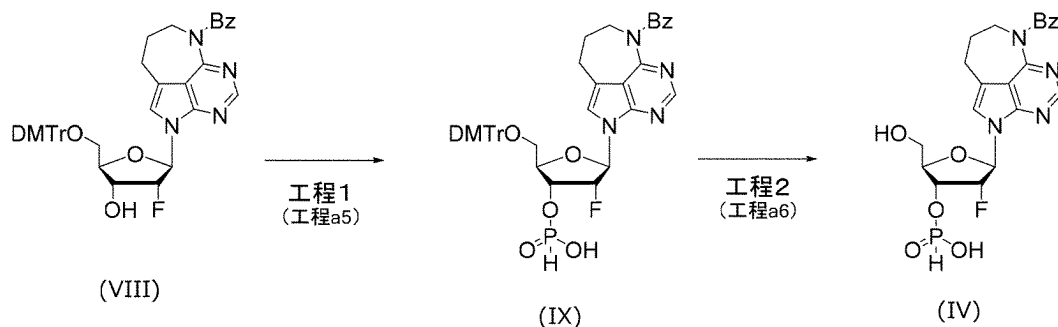
【合成スキーム A-2】

40

【0 4 3 0】

50

【化 1 7 6】



10

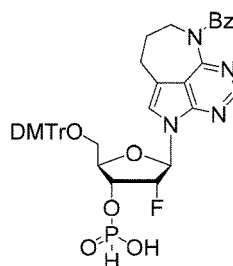
【0 4 3 1】

実施例 5：

6-ベンゾイル-2-〔5-O-〔ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メチル〕-2-デオキシ-2-フルオロ-3-O-〔ヒドロキシ(オキソ)-λ⁵-ホスファニル〕-β-D-リボフラノシル〕-6, 7, 8, 9-テトラヒドロ-2H-2, 3, 5, 6-テトラアザベンゾ〔c d〕アズレン (式 (IX) の化合物に相当) の合成

【0 4 3 2】

【化 1 7 7】



20

【0 4 3 3】

(工程 1)

6-ベンゾイル-2-〔5-O-〔ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メチル〕-2-デオキシ-2-フルオロ-β-D-リボフラノシル〕-6, 7, 8, 9-テトラヒドロ-2H-2, 3, 5, 6-テトラアザベンゾ〔c d〕アズレン (800 mg) をピリジン (6 mL) に溶解させ 0℃ に冷却した。亜リン酸ジフェニル (1.31 g) を添加し、冷却下 1 時間攪拌した。続いて、水 (3 mL) を加えた後にトリエチルアミン (3 mL) を加え、室温下で 2 時間攪拌した。反応液にジクロロメタン (8 mL) と 5% 重曹水 (2 mL) を加えて分液した。5% 重曹水 (4 mL) で有機層を 2 回洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、目的化合物を得た。

30

【0 4 3 4】

MS (ESI) m/z : 779 (M+H)⁺, 777 (M-H)⁻.

40

【0 4 3 5】

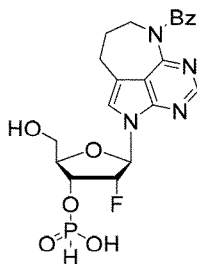
実施例 6：

6-ベンゾイル-2-〔2-デオキシ-2-フルオロ-3-O-〔ヒドロキシ(オキソ)-λ⁵-ホスファニル〕-β-D-リボフラノシル〕-6, 7, 8, 9-テトラヒドロ-2H-2, 3, 5, 6-テトラアザベンゾ〔c d〕アズレン (式 (IV) の化合物に相当) の合成

【0 4 3 6】

50

【化 1 7 8】



10

【0 4 3 7】

(工程 2)

実施例 5 で得た化合物の溶液を 0 °C に冷却しジクロロ酢酸 (1 2 m L) を加え、冷却下 2 4 時間の攪拌を行った。反応液をシリカゲルクロマトグラフィー [アセトニトリル / メタノール] で精製し、濃縮によりアセトニトリル溶液に調製し、目的化合物を得た (N M R による 2 工程通算定量値 3 5 8 m g)。

【0 4 3 8】

M S (E S I) m / z : 4 7 7 (M + H) ⁺, 4 7 5 (M - H) ⁻.

【0 4 3 9】

A - 3 C D N 2 の合成

20

環状ジヌクレオチド (C D N 2) を、以下の合成スキーム A - 3 に従って合成した。合成スキーム A - 3 において、A 2 = B z - アデニン基、Q = チオール基、P G 1 = T B S、P G 2 = D M T r、P G 3 = T e o c、P G 6 = A c である。

[合成スキーム A - 3]

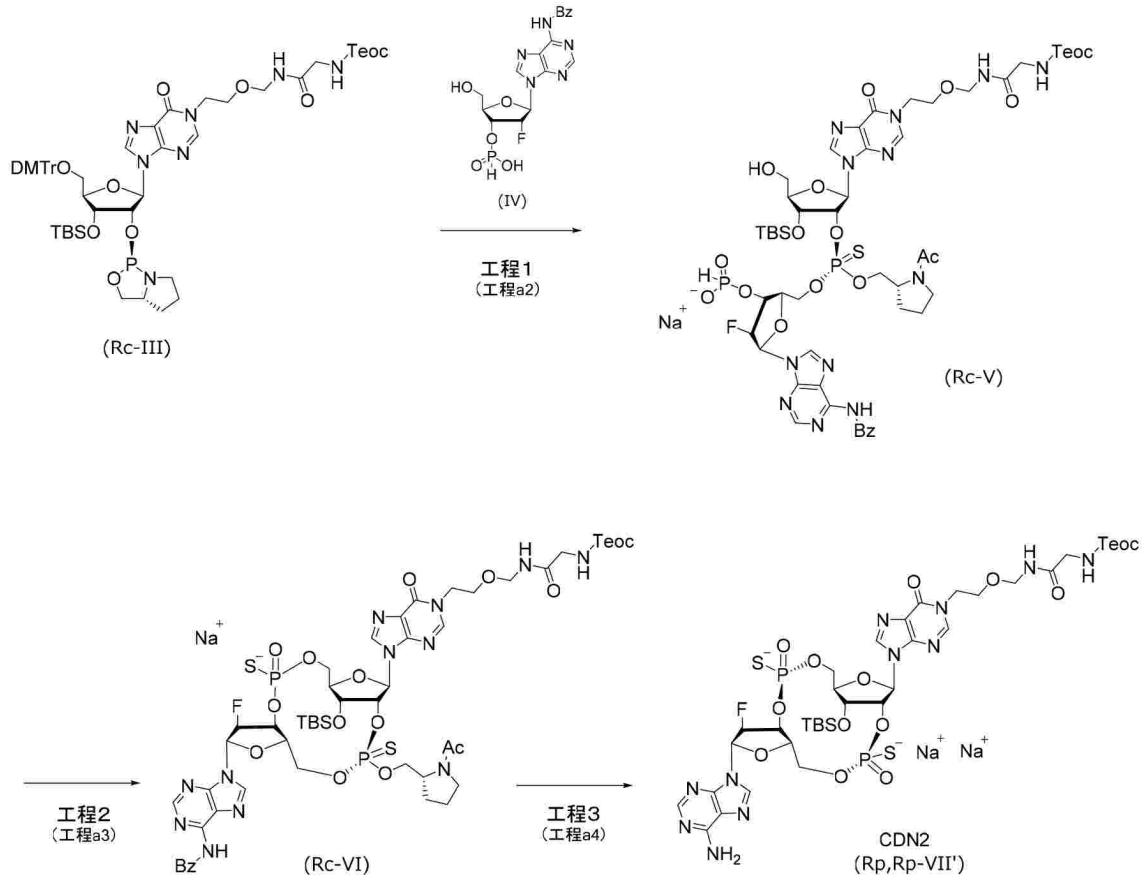
【0 4 4 0】

30

40

50

【化 1 7 9】



10

20

【 0 4 4 1】

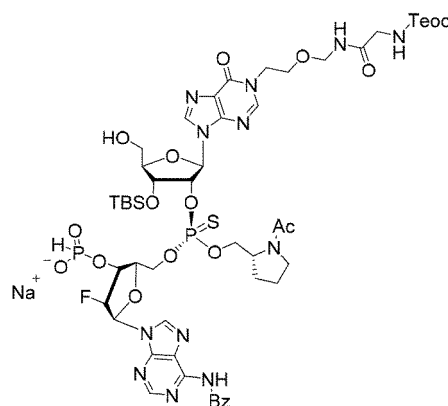
実施例 7：

ナトリウム (2R, 3R, 4R, 5R) - 2 - ({ [(R) - { [(2R) - 1 - アセチルピロリジン - 2 - イル] メトキシ } { [(2R, 3R, 4R, 5R) - 4 - { [t e r t - ブチル (ジメチル) シリル] オキシ } - 2 - [1 - (2, 2 - ジメチル - 6, 9 - ジオキソ - 5, 12 - ジオキサ - 7, 10 - ジアザ - 2 - シラテトラデカン - 14 - イル) - 6 - オキソ - 1, 6 - ジヒドロ - 9H - プリン - 9 - イル] - 5 - (ヒドロキシメチル) オキソラン - 3 - イル] オキシ } ホスホロチオイル] オキシ } メチル) - 5 - (6 - ベンズアミド - 9H - プリン - 9 - イル) - 4 - フルオロオキソラン - 3 - イル ホスホネート (式 (Rc - V) の化合物に相当) の合成

30

【 0 4 4 2】

【化 1 8 0】



40

50

【0443】

(工程1)

特許文献 WO2015/185565に記載の(2R, 3R, 4R, 5R)-5-(6-ベンズアミド-9H-プリン-9-イル)-4-フルオロ-2-(ヒドロキシメチル)テトラヒドロフラン-3-イル水素ホスホネート(400mg)を脱水アセトニトリル(4mL)に溶解させ、トリエチルアミン(97mg)とモレキュラーシーブ4A(20mg)を添加し、30分間攪拌した。別の容器で、実施例1で得られた化合物(1.1g)を脱水アセトニトリル(5.5mL)に溶解し、モレキュラーシーブ4A(25mg)を添加し、30分間攪拌し、先に調製した(2R, 3R, 4R, 5R)-5-(6-ベンズアミド-9H-プリン-9-イル)-4-フルオロ-2-(ヒドロキシメチル)テトラヒドロフラン-3-イル水素ホスホネートのトリエチルアミン塩のアセトニトリル溶液を添加した。0.4mol/Lに調製した1-フェニルイミダゾリウムトリフレーートの脱水アセトニトリル溶液(5.5mL)を添加し、室温で30分間攪拌した。続いて、1mol/Lに調製した無水酢酸の脱水アセトニトリル溶液(1.14mL)を添加し、その後トリエチルアミン(139mg)を添加して30分間攪拌した。続いて、キサンタンヒドリド(154mg)を添加し、30分間攪拌し、反応液を濾過することでモレキュラーシーブを濾去した。濾去したモレキュラーシーブを脱水アセトニトリル(5mL)で洗浄し、濾液と洗浄液を合致した後に0℃に冷却し、20%食塩水(6mL)を添加し、塩酸にてpH2.5に調整し、同温度で終夜攪拌を行った。反応液を分液し、得られた有機層に20%食塩水(6mL)を添加し、トリエチルアミンでpH7になるように中和した。その後、分液により得られた有機層を濃縮し、シリカゲルクロマトグラフィー〔酢酸エチル/メタノール/0.4%トリエチルアミン〕で粗精製した。回収したフラクションを濃縮し、分取HPLC〔10mM酢酸アンモニウム水溶液/アセトニトリル〕で精製し、アセトニトリルを濃縮除去した。得られた水溶液に食塩を添加し、テトラヒドロフランで抽出し、濃縮乾固により目的化合物を取得した(776mg)。反応時に生成するリン原子上のジアステレオマーはHPLC測定の結果、98.5:1.5であった。

10

20

【0444】

MS(ESI) m/z: 1297 (M+H)⁺, 1295 (M-H)⁻.

³¹P-NMR (MeOH-d₃) δ: 70.20, 4.17.

30

【0445】

実施例8:

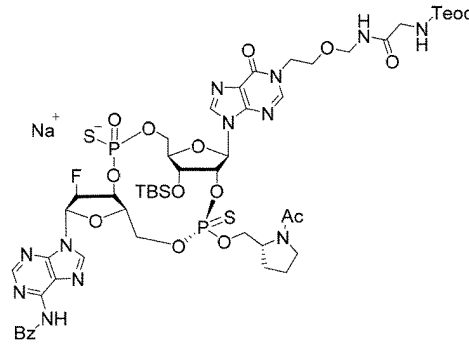
ナトリウム(5R, 7R, 8R, 10R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-10-{[(2R)-1-アセチルピロリジン-2-イル]メトキシ}14-(6-ベンズアミド-9H-プリン-9-イル)-16-{[tert-ブチル(ジメチル)シリル]オキシ}-15-フルオロ-2-オキソ-7-[6-オキソ-1-(2-{[(N-{[2-(トリメチルシリル)エトキシ]カルボニル}グリシル)アミノ]メトキシ}エチル)-1,6-ジヒドロ-9H-プリン-9-イル]-10-スルファニリデンオクタヒドロ-2H, 10H, 12H-5, 8-メタノ-2λ⁵, 10λ⁵-フロ[3.2-l][1, 3, 6, 9, 11, 2, 10]ペンタオキサジホスファシクロテトラデシン-2-チオラート(式(Rc-VI)の化合物に相当)の合成

40

【0446】

50

【化 1 8 1】



10

【0 4 4 7】

(工程 2)

実施例 7 で得られた化合物 (18 mg) を脱水ピリジン (1 mL) に溶解し、モレキュラーシーブ 4 A (3 mg) を添加した。環化時に発生するリン原子上のジアステレオマー比は 70 : 30 であった。続いて、2-クロロ-5, 5-ジメチル-1, 3, 2-ジオキサホスホリナン 2-オキシド (5.7 mg) を添加し、30 分間攪拌し、モレキュラーシーブを濾去した。濾液に水 (10 mg) を添加し、5 分間攪拌後、キサンタンヒドリド (2.6 mg) を添加し 30 分間攪拌した。反応液に 5 % 重曹水 (2 mL) を加えて反応を停止し、酢酸エチルを加えて分液抽出を行った。有機層を濃縮乾固し、分取 HPLC [10 mM 酢酸アンモニウム水溶液 / アセトニトリル] で精製し、アセトニトリルを濃縮除去した。得られた水溶液に食塩を添加し、テトラヒドロフランで抽出し、濃縮乾固により単一のリン上のジアステレオマーとして目的化合物を取得した (4 mg)。

20

MS (ESI) m/z : 1311 ($M+H$)⁺, 1309 ($M-H$)⁻.

³¹P-NMR (MeOH-d₃) δ : 66.89, 58.93.

【0 4 4 8】

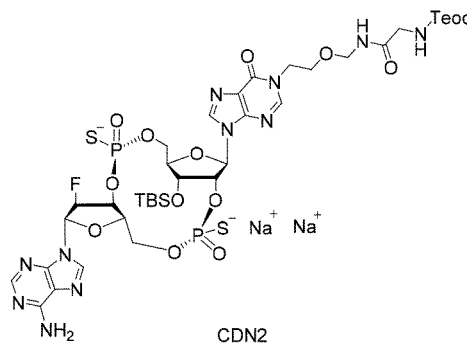
実施例 9:

二ナトリウム (2R, 5R, 7R, 8R, 10R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R) - 14 - (6-アミノ-9H-プリン-9-イル) - 16 - { [tert-ブチル (ジメチル) シリル] オキシ } - 15 - フルオロ-2, 10-ジオキサソ-7 - [6-オキサソ-1 - (2 - { [(N - { [2 - (トリメチルシリル) エトキシ] カルボニル } グリシル) アミノ] メトキシ } エチル) - 1, 6-ジヒドロ-9H-プリン-9-イル] オクタヒドロ-2H, 10H, 12H-5, 8-メタノ-2λ⁵, 10λ⁵-フロ [3.2-l] [1, 3, 6, 9, 11, 2, 10] ペンタオキサジホスファシクロテトラデシン-2-ビスチオラート (式 (Rp, Rp-VII') の化合物に相当) の合成

30

【0 4 4 9】

【化 1 8 2】



CDN2

40

【0 4 5 0】

(工程 3)

50

実施例 8 で得られた化合物 (1.6 mg) を MeOH (0.1 mL) に溶解し、28% アンモニア水 (0.05 mL) を添加し、50℃で24時間撹拌した。得られた反応液を LC-MS 分析し、リン原子上の単一のジアステレオマー (Rp, Rp 体) として目的化合物が生成していることを確認した。

【0451】

MS (ESI) m/z : 1121 ($M+H$)⁺, 1119 ($M-H$)⁻.

【0452】

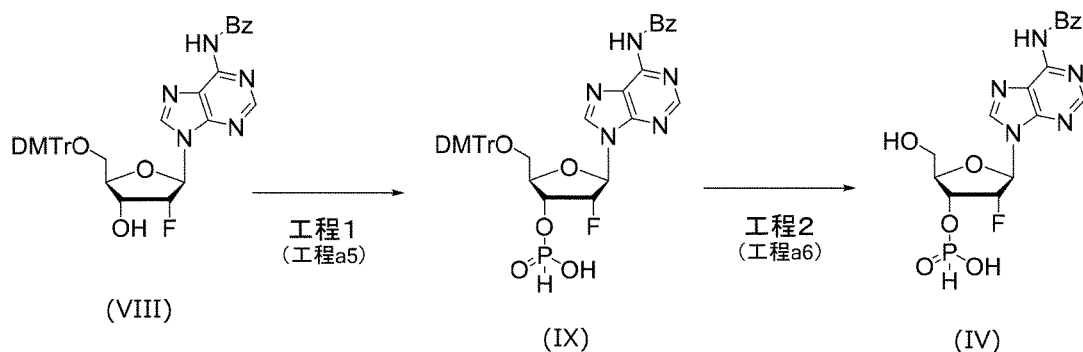
A-4 化合物 (IV) (A2 = Bz-アデニン基) の合成

上記の合成スキーム A-3 に用いる原料化合物 (IV) を、以下のスキームに従って、合成した。

[合成スキーム A-4]

【0453】

【化183】



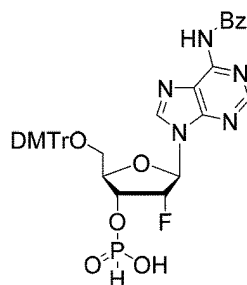
【0454】

実施例 10:

N-ベンゾイル-5'-O-[ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メチル]-2'-デオキシ-2'-フルオロ-3'-O-[ヒドロキシ(オキソ)- λ^5 -ホスファニル]アデノシン (式 (IX) の化合物に相当) の合成

【0455】

【化184】



【0456】

(工程 1)

市販の N-ベンゾイル-5'-O-[ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メチル]-2'-デオキシ-2'-フルオロアデノシン (1 g) をピリジン (7.5 mL) に溶解させ、0℃に冷却した。亜リン酸ジフェニル (1.73 g) を添加し、冷却下1時間撹拌した。続いて、水 (3.7 mL) を加え、その後トリエチルアミン (3.7 mL) を加え、室温下2時間撹拌した。反応液を5 mL になるまで濃縮し、目的化合物を得た。

【0457】

MS (ESI) m/z : 740 ($M+H$)⁺, 738 ($M-H$)⁻.

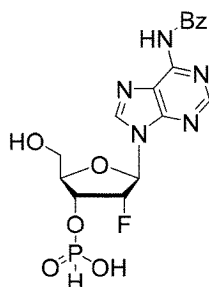
【0458】

実施例 11：

N-ベンゾイル-2'-デオキシ-2'-フルオロ-3'-O-[ヒドロキシ(オキソ)-λ⁵-ホスファニル]アデノシン (式(IV)の化合物に相当)の合成

【0459】

【化185】



10

【0460】

(工程2)

実施例10で得られた溶液にジクロロメタン(10mL)を加え、0℃に冷却した。冷却下、ジクロロ酢酸をpH3になるまで添加し、24時間攪拌した。反応液をシリカゲルクロマトグラフィー[酢酸エチル/メタノール]で精製し、濃縮によりアセトニトリル溶液に調製し、濃塩酸を用いてpH2以下に調整した。pH調整とともに析出した白色結晶を濾過し、80%アセトニトリル水溶液で結晶を洗浄し、乾燥し目的化合物を取得した(収量0.24g、収率37%)。

20

【0461】

MS(ESI) m/z: 438 (M+H)⁺, 436 (M-H)⁻.

¹H-NMR(DMSO-d₆) δ: 11.29(1H, brs), 8.78(1H, s), 8.73(1H, s), 8.05(2H, m), 7.65(2H, t, J=7.5Hz), 7.60(1H, d, J=1.5Hz), 7.56(2H, t, J=7.5Hz), 6.45(1H, dd, J=16.5, 3.5Hz), 6.24(1H, d, J=1.5Hz), 5.88-5.76(1H, m), 5.22(1H, m), 4.25(1H, m), 3.80(1H, dd, J=12.5, 4.0Hz), 3.67(1H, dd, J=12.5, 4.0Hz).

30

【0462】

A-5 CDN1の合成2

環状ジヌクレオチド(CDN1)を、以下の合成スキームA-5に従って合成した。合成スキームA-5において、A2=Teoc-テトラアザベンゾ[c,d]アズレン基、Q=チオール基、PG1=TBS、PG2=DMTr、PG3=Teoc、PG6=TFAcであり、(Rc-II)として、(3aR)-1-クロロテトラヒドロ-1H,3H-ピロロ[1,2-c][1,3,2]オキサザホスホールを使用した。

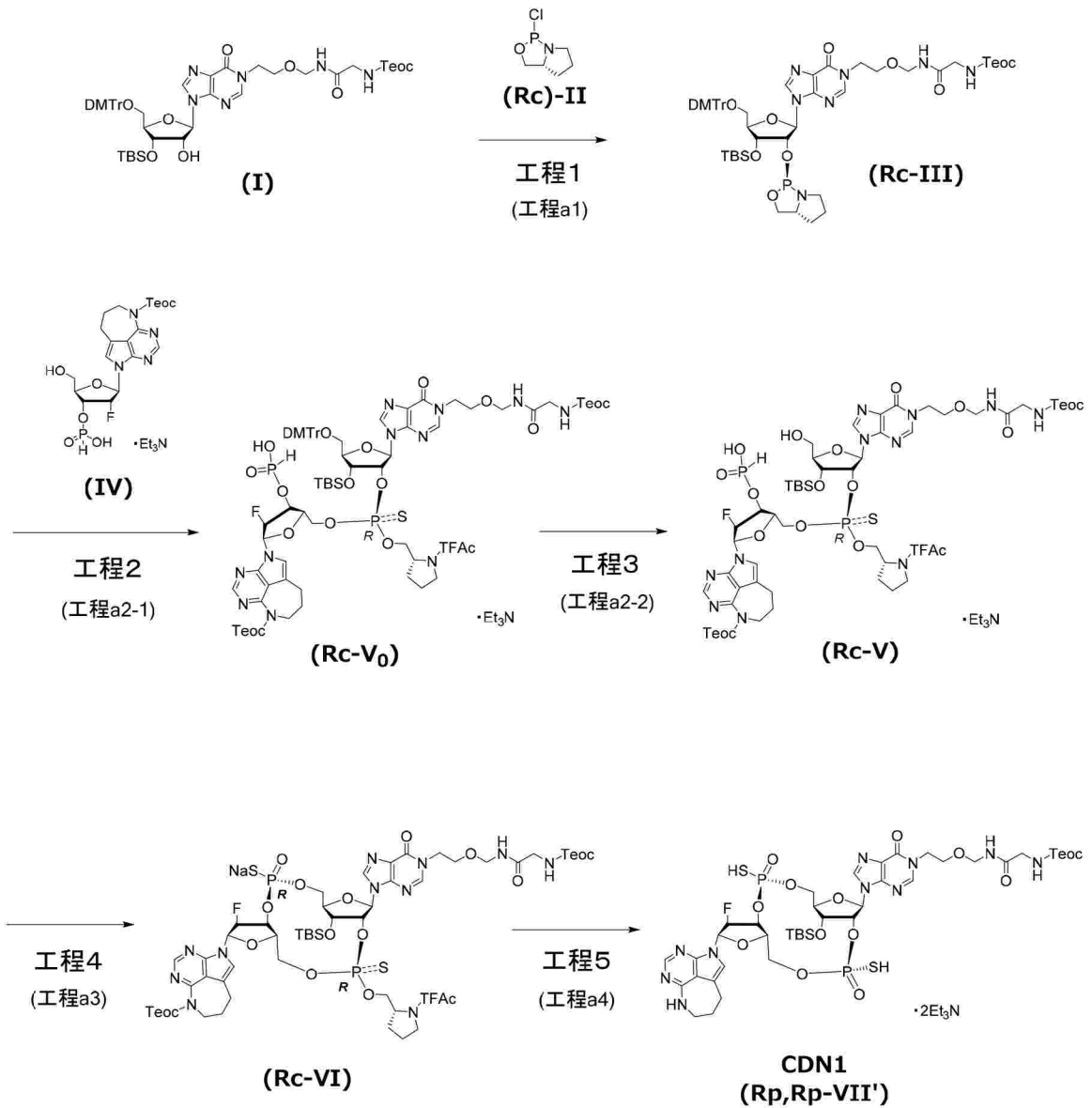
[合成スキーム A-5]

【0463】

40

50

【化 1 8 6】



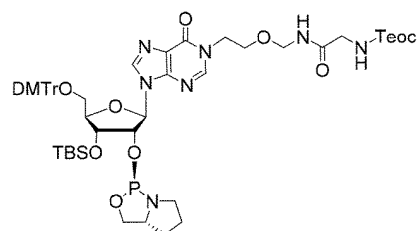
【0464】

実施例 A 5 - 1 :

5'-O-[ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メチル]-3'-O-[tert-ブチル(ジメチル)シリル]-2'-O-[(1S,3aR)-テトラヒドロ-1H,3H-ピロロ[1,2-c][1,3,2]オキサザホスホール-1-イル]-1-(2-{[(N-{[2-(トリメチルシリル)エトキシ]カルボニル}グリシル)アミノ]メトキシ}エチル)イノシン (式(Rc-III)の化合物に相当)の合成

【0465】

【化 1 8 7】



(工程 1)

5'-O-[ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メチル]-3'-O-(2,3,3-トリメチルブタン-2-イル)-1-(2-{[(N-{[2-(トリメチルシリル)エトキシ]カルボニル}グリシル)アミノ]メトキシ}エチル)イノシン(372.7mg、0.39mmol)、モルキュラーシーブ3A(80mg)のジクロロメタン(0.8mL)溶液を窒素下室温で2時間攪拌した後、0℃に冷却してトリエチルアミン(58.7μL、0.42mmol)を添加し、文献既知(Tetrahedron Letter, 1998, 39, 2491-2494)の(3aR)-1-クロロテトラヒドロ-1H,3H-ピロロ[1,2-c][1,3,2]オキサザホスホール(64.3mg、0.39mmol)のジクロロメタン(0.6mL)溶液を添加した。室温で1.5時間攪拌して目的化合物のジクロロメタン溶液を得た。

10

【0466】

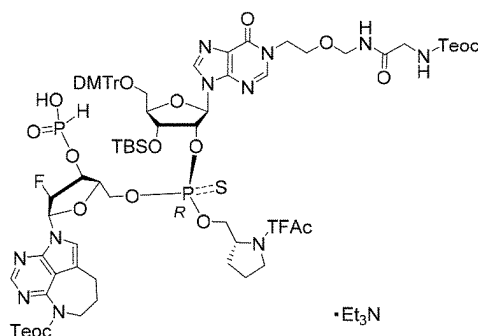
実施例A5-2:

N,N-ジエチルエタンアミニウム(2R,3R,4R,5R)-2-({[(R)-{ (2R,3R,4R,5R)-5-{ [ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メトキシ]メチル}-4-{ [tert-ブチル(ジメチル)シリル]オキシ}-2-[1-(2,2-ジメチル-6,9-ジオキソ-5,12-ジオキサ-7,10-ジアザ-2-シラテトラデカン-14-イル)-6-オキソ-1,6-ジヒドロ-9H-プリン-9-イル]オキソラン-3-イル}オキシ} {[(2R)-1-(トリフルオロアセチル)ピロリジン-2-イル]メトキシ}ホスホロチオイル]オキシ}メチル)-5-(6-{ [2-[トリメチルシリル)エトキシ]カルボニル]-6,7,8,9-テトラヒドロ-2H-2,3,5,6-テトラアザベンゾ[c,d]アズレン-2-イル)-4-フルオロオキソラン-3-イル)ホスホネート(式(Rc-V0)の化合物に相当)の合成

20

【0467】

【化188】



30

(工程 2)

N,N-ジエチルエタンアミニウム 2-(トリメチルシリル)エチル 2-{2-デオキシ-2-フルオロ-3-O-[オキシド(オキソ)-λ5-ホスファニル]-β-D-リボフラノシル}-2,7,8,9-テトラヒドロ-6H-2,3,5,6-テトラアザベンゾ[c,d]アズレン-6-カルボキシレート(200mg、0.32mmol)のアセトニトリル(2.0mL)溶液にモルキュラーシーブ3A(60mg)を添加して室温で2時間攪拌した。該溶液を-10℃に冷却後、トリエチルアミン(18.1μL、0.13mmol)を添加して、実施例A5-1で得た化合物のジクロロメタン溶液を滴下し、0.2mLのジクロロメタンで洗い込んだ。0.8mol/Lの1-メチルベンゾイミダゾリウムトリフラートのアセトニトリル溶液(809.4μL、0.65mmol)を添加し、1.5時間攪拌後、0.8mol/Lの1-メチルベンゾイミダゾリウムトリフラートのアセトニトリル溶液(121.4μL、0.10mmol)を追加した。反応終了を確認後、-10℃でトリエチルアミン(158.0μL、1.13mmol)、1-(トリフルオロアセチル)イミダゾール(66.3μL、0.58mmol)を添加し

40

50

、室温まで昇温した。約30分攪拌後、キサンタンヒドリド（63.2mg、0.42mmol）を添加して、室温で15分攪拌した。反応液を約2.5mLまで濃縮し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー（0.4%トリエチルアミン入りの0-12%メタノールアセトニトリル）で精製し、目的化合物を微黄色固体（536.0mg、収率90%）として得た。反応時に生成するリン原子上のジアステレオマーはHPLC測定の結果、94.7:5.3であった。

【0468】

MS (ESI) m/z : 1734 ($M+H$)⁺, 1732 ($M-H$)⁻.

¹H-NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ : 9.22 (1H, s), 9.10-9.02 (1H, m), 8.50 (1H, s), 8.45 (1H, s), 8.39 (1H, s), 7.37-7.28 (4H, m), 7.26-7.16 (7H, m), 6.85-6.80 (4H, m), 6.42 (1H, dd, $J=18.6, 2.0$ Hz), 6.25 (1H, d, $J=3.4$ Hz), 6.16 (1H, s), 5.53-5.45 (1H, m), 5.42-5.28 (1H, m), 4.89-4.78 (1H, m), 4.73-4.67 (1H, m), 4.57-4.49 (2H, m), 4.42-4.33 (1H, m), 4.28-4.19 (3H, m), 4.18-4.03 (6H, m), 4.02-3.84 (5H, m), 3.72 (6H, s), 3.69-3.56 (4H, m), 3.53-3.41 (2H, m), 3.16-3.04 (7H, m), 2.89-2.72 (2H, m), 1.97-1.89 (2H, m), 1.84-1.65 (4H, m), 1.17 (9H, t, $J=7.2$ Hz), 0.98-0.94 (2H, m), 0.92-0.86 (2H, m), 0.71 (9H, s), 0.03--0.09 (マイナス0.09) (24H, m).

³¹P-NMR (DMSO-d₆) δ : 69.43, 1.45.

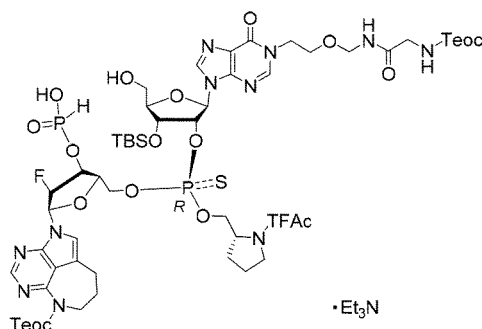
【0469】

実施例A5-3:

N,N-ジエチルエタンアミニウム(2R, 3R, 4R, 5R)-2-({[(R)-{[(2R, 3R, 4R, 5R)-4-{[tert-ブチル(ジメチル)シリル]オキシ}-2-[1-(2,2-ジメチル-6,9-ジオキソ-5,12-ジオキサ-7,10-ジアザ-2-シラテトラデカン-14-イル)-6-オキソ-1,6-ジヒドロ-9H-プリン-9-イル]-5-(ヒドロキシメチル)オキソラン-3-イル]オキシ}({2-[(2R)-1-(トリフルオロアセチル)ピロリジン-2-イル]メトキシ}ホスホロチオイル]オキシ}メチル)-5-(6-{[2-(トリメチルシリル)エトキシ]カルボニル}-6,7,8,9-テトラヒドロ-2H-2,3,5,6-テトラアザベンゾ[c,d]アズレン-2-イル)-4-フルオロオキソラン-3-イル)ホスホネート(式(Rc-V)の化合物に相当)の合成

【0470】

【化189】



(工程3)

実施例A5-2で得た化合物(4.1g、2.25mmol)のジクロロメタン(10

0 mL) 溶液に、アセトニトリル (15 mL)、エタノール (4.1 g、89.84 mmol) を室温で添加した。ジクロロ酢酸 (0.9 g、6.74 mmol) を添加して、室温で15時間攪拌した。トリエチルアミン (0.91 g、8.98 mmol)、水 (50 mL) を添加し、攪拌した。水層を廃棄し、アセトニトリル (22.5 mL)、エタノール (6.2 g、134.8 mmol)、水 (50 mL) を添加した。水層を廃棄し、減圧下で約15 mLまで溶媒を留去した。アセトニトリル (100 mL) を添加し、減圧下で約15 mLまで溶媒を留去する操作を2回実施し、目的化合物のアセトニトリル溶液 (13.95 g) を得た。

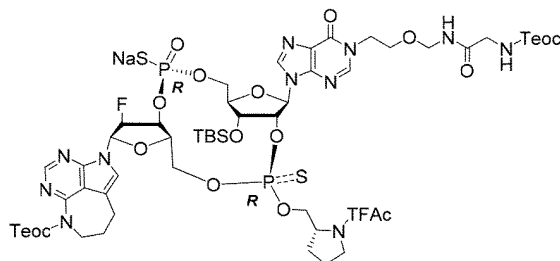
【0471】

実施例 A5-4:

ナトリウム (2R, 5R, 7R, 8R, 10R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R) - 16 - { [tert-ブチル (ジメチル) シリル] オキシ } - 15 - フルオロ - 2 - オキソ - 7 - [6 - オキソ - 1 - (2 - { [(N - { [2 - (トリメチルシリル) エトキシ] カルボニル } グリシル) アミノ] メトキシ } エチル) - 1, 6 - ジヒドロ - 9H - プリン - 9 - イル] - 10 - スルファニリデン - 14 - (6 - { [2 - (トリメチルシリル) エトキシ] カルボニル } - 6, 7, 8, 9 - テトラヒドロ - 2H - 2, 3, 5, 6 - テトラアザベンゾ [cd] アズレン - 2 - イル) - 10 - { [(2R) - 1 - (トリフルオロアセチル) ピロリジン - 2 - イル] メトキシ } オクタヒドロ - 2H, 10H, 12H - 5, 8 - メタノ - 2λ⁵, 10λ⁵ - フロ [3, 2-l] [1, 3, 6, 9, 11, 2, 10] ペンタオキサジフォスファシクロテトラデシン - 2 - チオラート (式 (Rc-VI) の化合物に相当) の合成

【0472】

【化190】



(工程 4)

ピリジン (42 mL)、ジクロロメタン (42 mL) の混合溶液に T3P のアセトニトリル溶液 (1.7 mol/L、4.9 mL、8.30 mmol) を添加して -20℃ に冷却した。実施例 A5-3 で得た化合物のアセトニトリル溶液 (13.67 g) を滴下し、-20℃ で1時間攪拌した。環化時に発生するリン原子上のジアステレオマー比は 85 : 15 であった。キサンタンヒドリド (0.62 g、4.15 mmol) を添加し、約 0℃ まで加温し、3時間攪拌した。5% 炭酸水素ナトリウム水溶液 (22.5 mL)、酢酸エチル (40 mL)、食塩 (1.2 g) を添加し、攪拌した。水層を廃棄し、水 (22.5 mL)、炭酸水素ナトリウム (1.1 g)、食塩 (2.4 g) の溶液で洗浄した。得られた有機層を減圧下で約15 mLまで溶媒を留去し、目的化合物のピリジン溶液を得た。

【0473】

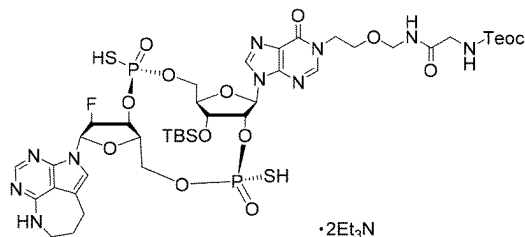
実施例 A5-5:

ビス (N, N - ジエチルエタンアミニウム) (2R, 5R, 7R, 8R, 10R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R) - 16 - { [tert-ブチル (ジメチル) シリル] オキシ } - 15 - フルオロ - 2, 10 - ジオキソ - 7 - [6 - オキソ - 1 - (2 - { [(N - { [2 - (トリメチルシリル) エトキシ] カルボニル } グリシル) アミノ] メトキシ } エチル) - 1, 6 - ジヒドロ - 9H - プリン - 9 - イル] - 14 - (6, 7, 8, 9) - テトラヒドロ - 2H - 2, 3, 5, 6 - テトラアザベンゾ [cd] アズレン - 2

ーイル) オクタヒドロ-2H, 10H, 12H-5, 8-メタノ-2λ⁵, 10λ⁵-フ
ロ[3, 2-l][1, 3, 6, 9, 11, 2, 10]ペンタオキサジホスファシクロテ
トラデシン-2, 10-ビス(チオラート) (式(R_p, R_p-VII'))の化合物に
相当)の合成

【0474】

【化191】



10

(工程5)

実施例A5-4で得た化合物のピリジン溶液に28%アンモニア水(35mL)を添加し、約45℃で15時間攪拌した。室温に冷却後、ヘプタン(35mL)を添加して攪拌した。有機層を廃棄し、得られた水層をヘプタン(35mL)で洗浄した。水層を分取HPLC[10mM酢酸トリエチルアミン水溶液/アセトニトリル]で精製し、得られた分画を水で希釈した。この溶液に対し、シルカゲルを用いた固相抽出を行い、0.1%トリエチルアミン/アセトニトリル溶液で溶出させ、得られた分画を減圧下で約15mLまで溶媒を留去した。酢酸エチル(100mL)を添加し、減圧下で約15mLまで溶媒を留去する操作を2回繰り返し、酢酸エチル(10mL)を添加した。この酢酸エチル溶液を室温下でヘプタン(175mL)に滴下して30分攪拌した。得られた懸濁液から固体を濾取して、ヘプタン(25mL)で洗浄した。固体を40℃で終夜乾燥して、目的化合物を白色粉末(1.9g、収率55%、HPLC:>99%)として得た。

20

【0475】

A-6 化合物(IV)(A2=Teoc-テトラアザベンゾ[cd]アズレン基)の合成

30

上記の合成スキームA-5に用いる原料化合物(IV)を、以下のスキームに従って合成した。

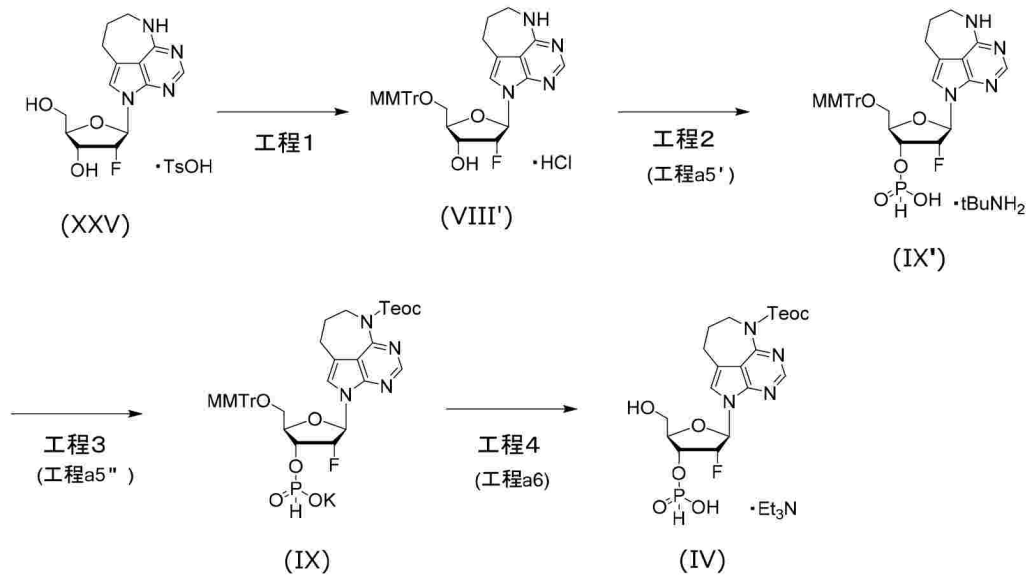
【合成スキーム A-6】

【0476】

40

50

【化 1 9 2】



10

【0 4 7 7】

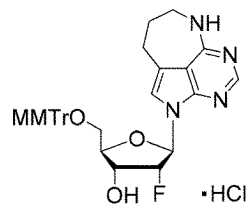
参考例 A 6 - 1 :

2 - {2 - デオキシ - 2 - フルオロ - 5 - O - [(4 - メトキシフェニル) (ジフェニル) メチル] - β - D - リボフラノシル} - 6, 7, 8, 9 - テトラヒドロ - 2 H - 2, 3, 5, 6 - テトラアザベンゾ [c d] アズレン・塩酸塩 (式 (V I I I ')) の化合物の塩酸塩に相当) の合成

20

【0 4 7 8】

【化 1 9 3】



30

(工程 1)

実施例 2 5 - 2 で得られた化合物の p - トルエンスルホン酸塩 (3 4 . 2 g、7 1 . 2 mmol) のピリジン (1 7 1 mL) 溶液に、室温で 4 - メトキシトリチルクロリド (2 6 . 4 g、8 5 . 4 mmol) を添加した。室温で約 2 4 時間攪拌した後、5 % 炭酸水素ナトリウム水溶液 (1 7 1 mL) を滴下した。トルエン (6 8 4 mL) を添加して、攪拌後に水層を廃棄した。得られた有機層を 1 0 % 食塩水 (1 7 1 mL) で洗浄し、有機層を得た。ピリジン塩酸塩 (8 . 2 g、7 1 . 2 mmol) を添加し、1 時間攪拌した。さらにピリジン塩酸塩 (1 2 . 3 g、1 0 6 . 8 mmol) を添加して約 2 3 時間攪拌した。得られた懸濁液から結晶を濾取して、トルエン (1 0 3 mL) で結晶を洗浄して、目的化合物の塩酸塩の湿結晶を取得した。

40

【0 4 7 9】

実施例 A 6 - 1 :

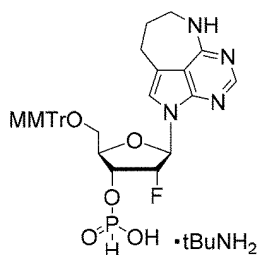
2 - メチルプロパン - 2 - アミニウム 2 - {2 - デオキシ - 2 - フルオロ - 5 - O - [(4 - メトキシフェニル) (ジフェニル) メチル] - 3 - O - [オキシド (オキソ) - λ 5 - ホスファニル] - β - D - リボフラノシル} - 2, 7, 8, 9 - テトラヒドロ - 6 H - 2, 3, 5, 6 - テトラアザベンゾ [c d] アズレン - 6 - カルボキシレート (式 (

50

IX') の化合物の *tert*-ブチルアミン塩に相当) の合成

【0480】

【化194】



10

(工程2)

参考例A6-1で得た塩酸塩の湿結晶に酢酸エチル(342mL)、5%炭酸水素ナトリウム(342mL)を添加して室温で攪拌した。水層を廃棄し、得られた有機層を10%食塩水(171mL)で洗浄した。有機層にアセトニトリル(171mL)を添加し、減圧下で約170mLまで溶媒を留去した。アセトニトリル(342mL)を追加して、減圧下で約170mLまで溶媒を留去して、トリエチルアミン(61.2g、605.2mmol)を添加した。亜りん酸ジフェニル(43.4g、185.1mmol)を滴下して、室温で47時間攪拌した。水(34.2mL)を添加後、約5時間攪拌した。酢酸エチル(513mL)、23%炭酸水素カリウム(239mL)を添加し、攪拌した後、水層を廃棄した。有機層を20%炭酸水素カリウム(239mL)で2回洗浄し、得られた有機層を減圧下、約170mLまで溶媒を留去した。アセトニトリル(342mL)を添加して、減圧下で約170mLまで溶媒を留去する操作を2回実施後、アセトニトリル(342mL)を添加した。*tert*-ブチルアミン(2.3mL、21.4mmol)を添加後、目的化合物の*tert*-ブチルアミン塩の種結晶(34.2mg)を添加して終夜攪拌した。さらに*tert*-ブチルアミン(42.8mL、405.8mmol)を3回に分けて滴下した(5.3mL、15.0mL、22.5mL)。室温で攪拌した後、-1℃に冷却した。-1℃で約6時間攪拌して得られた懸濁液から結晶を濾取して、アセトニトリル(102mL)で洗浄した。結晶を40℃で終夜乾燥して、目的化合物の*tert*-ブチルアミン塩を白色結晶(35.7g、収率70%)として得た。

20

30

【0481】

MS(ESI)m/z: 645 (M+H)⁺, 643 (M-H)⁻.

¹H-NMR(500MHz, DMSO-d₆) δ: 8.04(1H, s), 7.84(2H, brs), 7.60(1H, t, J=3.4Hz), 7.42-7.37(4H, m), 7.32-7.23(8.5H, m), 7.07(1H, s), 6.88(2H, td, J=6.0, 3.4Hz), 6.35(1H, dd, J=17.2, 2.3Hz), 6.07(0.5H, d, J=1.7Hz), 5.30(0.5H, q, J=2.1Hz), 5.20(0.5H, q, J=2.3Hz), 4.90-4.79(1H, m), 4.16-4.13(1H, m), 3.74(3H, s), 3.31-3.26(2H, m), 2.66-2.53(2H, m), 1.87-1.82(2H, m), 1.22(9H, s).

40

【0482】

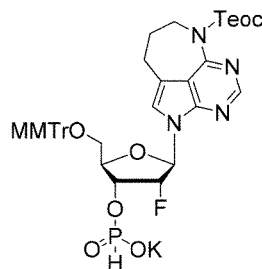
実施例A6-2:

カリウム 2-(トリメチルシリル)エチル 2-{2-デオキシ-2-フルオロ-5-O-[(4-メトキシフェニル)(ジフェニル)メチル]-3-O-[オキシド(オキソ)-λ⁵-ホスファニル]-β-D-リボフラノシル}-2,7,8,9-テトラヒドロ-6H-2,3,5,6-テトラアザベンゾ[c,d]アズレン-6-カルボキシレート (式IX)の化合物のカリウム塩に相当)の合成

【0483】

50

【化 1 9 5】



10

(工程 3)

4- [2- (トリメチルシリル) エトキシカルボニルオキシ] ニトロベンゼン (59.2 g、209.0 mmol)、N, N-ジイソプロピルエチルアミン (36.0 g、278.6 mmol) のアセトニトリル (125 mL) 溶液を 60℃ に加温し、実施例 A 6-1 で得た tert-ブチルアミン塩 (25.0 g、34.8 mmol) を 3 回に分けて添加した。60℃ で約 2 日間攪拌した後、室温まで冷却し、イソプロピルアミン (10.3 g、174.2 mmol) を滴下後、2.5 時間攪拌した。酢酸イソプロピル (250 mL)、10% 塩化アンモニウム水溶液 (250 mL) を添加して攪拌後、水層を廃棄した。有機層を 10% 塩化アンモニウム水溶液 (250 mL) で洗浄後、10% 炭酸カリウム水溶液 (500 mL) で 2 回洗浄した。さらに 10% 塩化カリウム水溶液 (250 mL) で洗浄した有機層を減圧下、約 125 mL まで溶媒を留去し、目的化合物のカリウム塩のアセトニトリル溶液 (123.9 g) を得た。

20

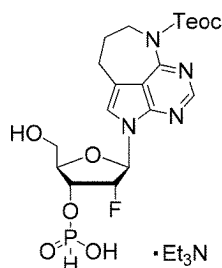
【0484】

実施例 A 6-3:

N, N-ジエチルエタンアミニウム 2- (トリメチルシリル) エチル 2- {2-デオキシ-2-フルオロ-3-O- [オキシド (オキソ) -λ⁵-ホスファニル] -β-D-リボフラノシル} -2, 7, 8, 9-テトラヒドロ-6H-2, 3, 5, 6-テトラアザベンゾ [c d] アズレン-6-カルボキシレート (式 (I V) の化合物に相当) の合成

【0485】

【化 1 9 6】



30

(工程 4)

実施例 A 6-2 で得たカリウム塩のアセトニトリル溶液 (121.2 g) にジクロロメタン (417 mL)、メタノール (55.4 mL) を添加後、室温でジクロロ酢酸 (22.0 g、170.7 mmol) を滴下した。約 27 時間攪拌後、トリエチルアミン (20.7 g、204.8 mmol) を滴下して目的化合物の溶液 (658.1 g) を得た。その目的化合物の溶液 (26.9 g) を減圧下、約 5 mL まで溶媒を留去し、アセトニトリル (3 mL)、水 (10 mL)、n-ヘプタン (10 mL) を添加して、攪拌後に水層を得た。水層を n-ヘプタン (10 mL) で洗浄し、ジクロロメタン (20 mL) を添加後、トリエチルアミン (97 μL) で pH を 8.5 に調整した。トリエチルアミン塩酸塩 (500 mg) を添加し、攪拌後に有機層を得た。有機層に水 (10 mL)、トリエチルアミン塩酸塩 (500 mg) を添加し、攪拌後に水層を廃棄した。得られた有機層を減圧下

40

50

、約 5 mL まで溶媒を留去した。アセトニトリル (10 mL) を添加して、減圧下で約 5 mL まで溶媒を留去する操作を 2 回実施して目的化合物のトリエチルアミン塩のアセトニトリル溶液を得た (632.6 mg、収率 74%)。

【0486】

MS (ESI) m/z : 517 ($M+H$)⁺, 515 ($M-H$)⁻.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8.51 (1H, s), 7.56 (1H, s), 7.30 (0.5H, s), 6.42 (1H, dd, $J=17.8, 1.7$ Hz), 6.12 (0.5H, s), 5.80 (1H, br s), 5.31–5.30 (0.5H, m), 5.20–5.19 (0.5H, m), 4.81–4.72 (1H, m), 4.27–4.23 (2H, m), 4.02–3.91 (3H, m), 3.72–3.63 (2H, m), 3.07 (6H, s), 2.89 (2H, t, $J=6.30$ Hz), 1.99 (2H, t, $J=4.6$ Hz), 1.17 (9H, t, $J=7.5$ Hz), 1.00–0.97 (2H, m), –0.01 (9H, s).

10

【0487】

A-7 CDN-リンカーの合成

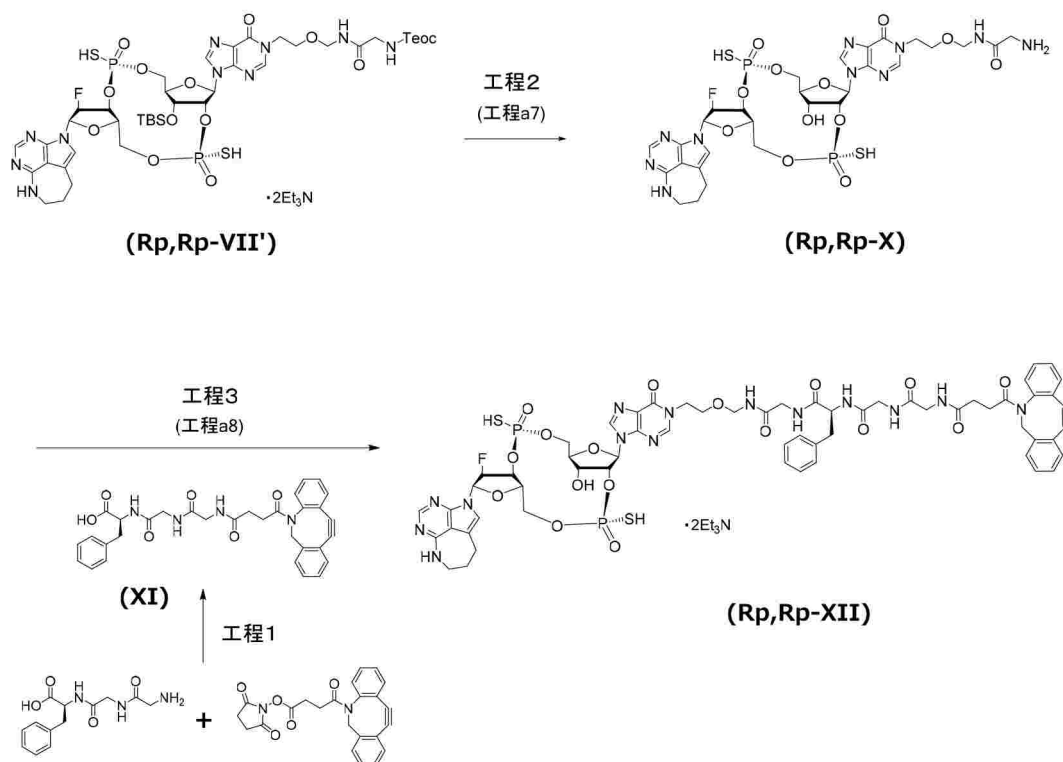
CDN-リンカーを、以下のスキームに従って合成した。

【合成スキーム A-7】

【0488】

【化197】

20



30

40

【0489】

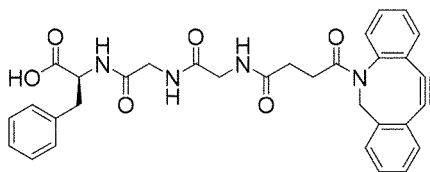
参考例 A7-1:

N-[4-(11,12-ジデヒドロジベンゾ[b,f]アゾシン-5(6H)-イル)-4-オキソブタノイル]グリシルグリシル-L-フェニルアラニン (式(XI)の化合物に相当)の合成

【0490】

50

【化 1 9 8】



(工程 1)

1 - { [4 - (1 1 , 1 2 - ジデヒドロジベンゾ [b , f] アゾシン - 5 (6 H) - イル) - 4 - オキソブタノイル] オキシ } ピロリジン - 2 , 5 - ジオン (5 . 0 g 、 1 2 . 4 m m o l) 、 グリシルグリシル - L - フェニルアラニン (4 . 2 g 、 1 4 . 9 m m o l) のアセトニトリル (5 0 m L) 、 水 (5 0 m L) 懸濁液に室温でトリエチルアミン (2 . 3 m L 、 1 6 . 1 m m o l) を添加して、約 4 時間攪拌した。1 m o l / L の塩酸水溶液 (1 6 . 2 m L) を添加後、目的化合物の種結晶 (4 . 6 m g) を添加した。室温で終夜攪拌し、得られた懸濁液に水 (1 0 0 m L) を 2 時間かけて滴下した。4 0 ° C で約 1 . 5 時間攪拌後、1 m o l / L の塩酸水溶液 (1 6 . 2 m L) を添加した。3 0 分攪拌後、室温に冷却して、さらに 2 時間攪拌した。懸濁液から結晶を濾取して、アセトニトリル / 水 (1 / 3 、 5 0 m L) で洗浄した。結晶を 3 0 ° C で終夜乾燥して、目的化合物を白色結晶 (6 . 7 g 、 収率 9 5 %) として得た。

【 0 4 9 1 】

¹H-NMR (5 0 0 M H z , D M S O - d ₆) δ : 1 2 . 8 (1 H , b r s) , 8 . 1 5 - 7 . 9 5 (3 H , m) , 7 . 6 8 - 7 . 1 7 (1 3 H , m) , 5 . 0 1 (1 H , J = 1 4 . 2 H z) , 4 . 4 1 - 4 . 3 7 (1 H , m) , 3 . 7 4 - 3 . 5 7 (5 H , m) 3 . 0 5 - 3 . 0 1 (1 H , m) , 2 . 8 7 (1 H , d d , J = 1 4 . 2 , 9 . 3 H z) , 2 . 6 8 - 2 . 5 9 (1 H , m) 、 2 . 3 2 - 2 . 2 5 (1 H , m) , 2 . 0 9 - 2 . 0 3 (1 H , m) , 1 . 8 2 - 1 . 7 6 (1 H , m) .

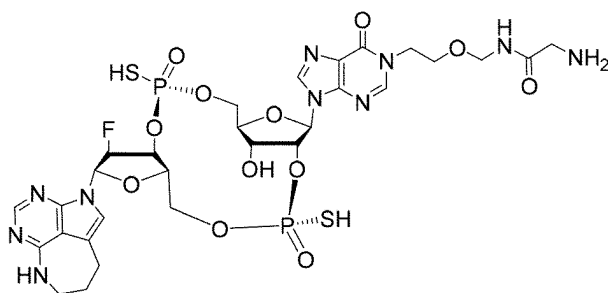
【 0 4 9 2 】

実施例 A 7 - 1 :

N - [(2 - { 9 - [(2 R , 5 R , 7 R , 8 R , 1 0 R , 1 2 a R , 1 4 R , 1 5 R , 1 5 a R , 1 6 R) - 1 5 - フルオロ - 1 6 - ヒドロキシ - 2 , 1 0 - ジオキソ - 2 , 1 0 - ビス (スルファニル) - 1 4 - (6 , 7 , 8 , 9 - テトラヒドロ - 2 H - 2 , 3 , 5 , 6 - テトラアザベンゾ [c d] アズレン - 2 - イル) オクタヒドロ - 2 H , 1 0 H , 1 2 H - 5 , 8 - メタノ - 2 λ⁵ , 1 0 λ⁵ - フロ [3 , 2 - l] [1 , 3 , 6 , 9 , 1 1 , 2 , 1 0] ペンタオキサジホスファシクロテトラデシン - 7 - イル] - 6 - オキソ - 6 , 9 - ジヒドロ - 1 H - プリン - 1 - イル } エトキシ) メチル] グリシンアミド (式 (R p , R p - X) の化合物に相当) の合成 1

【 0 4 9 3 】

【化 1 9 9】



(工程 2)

実施例 A 5 - 5 で得た化合物 (1 g 、 0 . 7 6 m m o l) のジメチルスルホキシド (3

mL) 溶液に室温下で70%テトラブチルアンモニウムフルオリド水溶液(3 mL)を添加し、30℃で2日間攪拌した。アセトニトリル(12 mL)、塩化カルシウム(0.59 g、5.32 mmol)を添加して室温で14時間攪拌した。トリエチルアミン(1 mL)、水(2 mL)を添加して、室温で2時間攪拌後、5 mol/Lの塩酸水(1.2 mL)を6回に分けて添加した。トリエチルアミン(60 μL)を添加し、不溶物を濾別した。得られた濾液を減圧下で約10 mLまで溶媒を留去した。アセトニトリル(20 mL)を添加して、減圧下で約10 mLまで溶媒を留去する操作を2回繰り返した後、アセトニトリル(50 mL)を添加して、減圧下で約10 mLまで溶媒を留去する操作を2回繰り返した。得られた溶液に5 mol/Lの塩酸水(165 μL)を添加し、アセトニトリル(50 mL)を添加後、0℃まで冷却して2時間攪拌した。得られた懸濁液から固体を濾取して、アセトニトリル(5 mL)で洗浄した。固体を25℃で終夜乾燥して、目的化合物を白色結晶(0.46 g、収率71%)として得た。

10

【0494】

MS (ESI) m/z : 863 (M+H)⁺, 861 (M-H)⁻.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ: 9.18 (1H, t, J=6.5 Hz), 9.02 (1H, br s), 8.69 (1H, s), 8.37 (1H, s), 8.20 (1H, s), 8.09 (2H, br s), 7.47 (1H, s), 6.40 (1H, dd, J=15.0, 2.0 Hz), 6.06 (1H, d, J=8.0 Hz), 5.42 (1H, d, J=52.5 Hz), 5.22 (1H, m), 5.09 (1H, m), 4.56 (1H, dd, J=10.0, 6.5 Hz), 4.43-4.40 (2H, m), 4.30 (2H, m), 4.19-4.08 (3H, m), 3.91 (2H, m), 3.77 (1H, dd, J=11.0, 3.5 Hz), 3.66 (2H, m), 3.54 (2H, m), 3.41 (2H, m), 2.58 (2H, m), 1.86 (2H, m).

20

³¹P-NMR (DMSO-d₆) δ: 55.36, 51.31.

【0495】

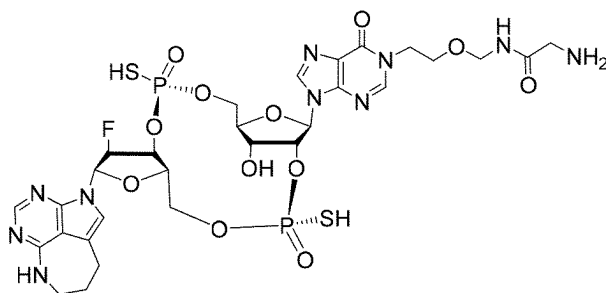
実施例 A7-2:

N-[(2-{9-[(2R, 5R, 7R, 8R, 10R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-15-フルオロ-16-ヒドロキシ-2, 10-ジオキソ-2, 10-ビス(スルファニル)-14-(6, 7, 8, 9-テトラヒドロ-2H-2, 3, 5, 6-テトラアザベンゾ[c,d]アズレン-2-イル)オクタヒドロ-2H, 10H, 12H-5, 8-メタノ-2λ⁵, 10λ⁵-フロ[3, 2-l][1, 3, 6, 9, 11, 2, 10]ペンタオキサジホスファシクロテトラデシン-7-イル]-6-オキソ-6, 9-ジヒドロ-1H-プリン-1-イル}エトキシ)メチル]グリシンアミド (式(Rp, Rp-X)の化合物に相当)の合成2

30

【0496】

【化200】



40

(工程2')

実施例 A5-5で得た化合物(0.8 g、0.60 mmol)のジメチルスルホキシド(2.4 mL)溶液に室温下で70%テトラブチルアンモニウムフルオリド水溶液(2.4 mL)を添加し、室温で4日間攪拌した。アセトニトリル(9.6 mL)、炭酸カルシウム(0.67 g、6.65 mmol)、DOWEX 50Wx8(2.24 g、2.4

50

2 mmol) を添加して室温で 1.5 時間撹拌した。反応液の減圧脱気操作を実施した後、トリエチルアミン (0.8 mL) を加えて 1 時間撹拌した。不溶物を濾別し、アセトニトリル (8.0 mL) で不溶物を洗浄した。得られた濾液を減圧下で約 4 mL まで溶媒を留去した。アセトニトリルを添加して 8 mL に調整し、溶液 (8 mL) に 5 mol/L の塩酸水 (280 μ L) を添加し、アセトニトリル (9.6 mL) を添加後、1 時間撹拌した。得られた懸濁液から固体を濾取して、アセトニトリル (4.0 mL) で洗浄した。固体を室温で終夜乾燥して、目的化合物を白色結晶 (0.48 g、収率 91%) として得た。

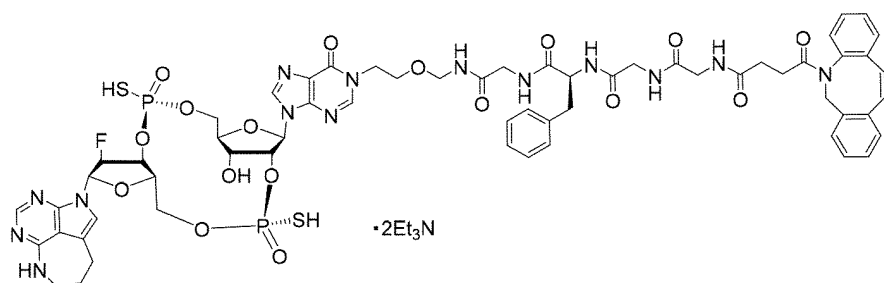
【0497】

実施例 A7-3:

ビス (N, N-ジエチルエタンアミニウム) N- [4- (11, 12-ジデヒドロジベンゾ [b, f] アゾシン-5 (6H) -イル) -4-オキソブタノイル] グリシルグリシル-L-フェニルアラニル-N- [(2- {9- [(2R, 5R, 7R, 8R, 10R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R) -15-フルオロ-16-ヒドロキシ-2, 10-ジオキソ-2, 10-ジスルフィド-14- (6, 7, 8, 9-テトラヒドロ-2H-2, 3, 5, 6, -テトラアザベンゾ [c d] アズレン-2-イル) オクタヒドロ-2H, 10H, 12H-5, 8-メタノ-2 λ^5 , 10 λ^5 -フコ [3, 2-l] [1, 3, 6, 9, 11, 2, 10] ペンタオキサジホスファシクロテトラデシン-7-イル] -6-オキソ-6, 9-ジヒドロ-1H-プリン-1-イル} エトキシ) メチル] グリシンアミド (式 (Rp, Rp-XII) の化合物に相当) の合成

【0498】

【化201】



(工程 3)

参考例 A7-1 で得た化合物 (132.6 mg、0.23 mmol) のアセトニトリル (1.8 mL)、水 (0.44 mL) の懸濁液にトリエチルアミン (52.6 mg、0.52 mmol) を添加後、実施例 A7-2 で得た化合物 (222.0 mg、0.26 mmol) を添加した。室温で 4- (4, 6-ジメトキシ-1, 3, 5-トリアジン-2-イル) -4-メチルモルホリニウムクロリド (93.5 mg、0.34 mmol) を添加し、室温で 18 時間撹拌した。反応液にアセトニトリル (2.2 mL)、シクロペンチルメチルエーテル (2.2 mL)、13.8% 硫酸ナトリウム水溶液 (3.3 mL) を添加し、撹拌した。水層を廃棄し、得られた有機層を減圧下、溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、目的化合物を白色固体として得た (222 mg、収率 59%)。

【0499】

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ : 8.58 (1H, s), 8.09 (1H, s), 8.04 (1H, s), 7.57-7.49 (2H, m), 7.43-7.34 (3H, m), 7.32-7.08 (9H, m), 6.47 (1H, d, $J=16.9$ Hz), 6.23 (1H, d, $J=7.9$ Hz), 5.56-5.37 (2H, m), 5.31-5.17 (1H, m), 5.03 (1H, d, $J=13.9$ Hz), 4.79 (1H, d, $J=4.2$ Hz), 4.64-4.38 (6H, m), 4.36-4.21 (4H, m), 4.05-3.60 (10H, m), 3.53-3.42 (3H, m), 3.

1.8 (12 H, q, $J = 7.3 \text{ Hz}$), 3.01–2.92 (1 H, m), 2.86–2.73 (1 H, m), 2.70–2.54 (2 H, m), 2.37–2.16 (2 H, m), 2.06–1.77 (3 H, m), 1.28 (18 H, t, $J = 7.3 \text{ Hz}$).

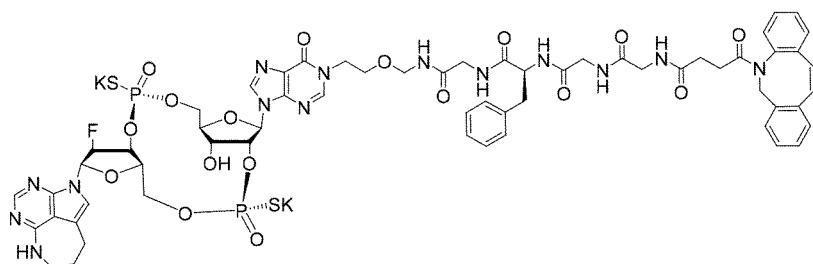
【0500】

実施例 A 7-4:

ニカリウム N- [4- (11, 12-ジデヒドロジベンゾ [b, f] アゾシン-5 (6 H)-イル)-4-オキソブタノイル] グリシルグリシル-L-フェニルアラニル-N- [(2- {9- [(2 R, 5 R, 7 R, 8 R, 10 R, 12 a R, 14 R, 15 R, 15 a R, 16 R)-15-フルオロ-16-ヒドロキシ-2, 10-ジオキソ-2, 10-ジスルフィド-14- (6, 7, 8, 9-テトラヒドロ-2 H-2, 3, 5, 6, -テトラアザベンゾ [c d] アズレン-2-イル) オクタヒドロ-2 H, 10 H, 12 H-5, 8-メタノ-2 λ^5 , 10 λ^5 -フロ [3, 2-l] [1, 3, 6, 9, 11, 2, 10] ペンタオキサジホスファシクロテトラデシン-7-イル]-6-オキソ-6, 9-ジヒドロ-1 H-プリン-1-イル} エトキシ) メチル] グリシニアミド (式 (Rp, Rp-XII) の化合物に相当) の合成

【0501】

【化202】



(工程 3')

参考例 A 7-1 で得られた化合物 (177.3 mg、0.31 mmol) のアセトニトリル (3.9 mL)、水 (0.78 mL) の懸濁液にトリエチルアミン (70.8 mg、0.70 mmol) を添加後、実施例 A 7-2 で得た化合物 (300.0 mg、0.35 mmol) を添加した。室温で 4- (4, 6-ジメトキシ-1, 3, 5-トリアジン-2-イル)-4-メチルモルホリニウムクロリド (125.1 mg、0.45 mmol) を添加し、室温で 5.5 時間攪拌した。反応液にアセトニトリル (3.9 mL)、シクロペンチルメチルエーテル (2.0 mL)、13.8% 硫酸ナトリウム水溶液 (5.8 mL) を添加し、攪拌後に水層を廃棄して有機層を得た。2-エチルヘキサン酸カリウム (380.4 mg、2.09 mmol) の 2-プロパノール (19.5 mL) 溶液に有機層を室温で滴下後、1 時間攪拌した。シクロペンチルメチルエーテル (7.8 mL) を添加し、約 15 時間攪拌した。得られた懸濁液から固体を濾取し、2-プロパノール/アセトニトリル/シクロペンチルメチルエーテル (5/2/2、3 mL) で洗浄した。減圧下、室温で約 8 時間乾燥し、目的化合物を白色固体として得た (384.6 mg、収率 74%)。

【0502】

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.68 (brs, 1 H), 8.61 (dd, $J = 13.2, 6.3 \text{ Hz}$, 1 H), 8.35 (dt, $J = 10.9, 5.7 \text{ Hz}$, 1 H), 8.25 (brs, 1 H), 8.17 (dt, $J = 16.6, 5.7 \text{ Hz}$, 1 H), 8.13–7.99 (m, 3 H), 7.70–7.62 (m, 1 H), 7.60–7.55 (m, 2 H), 7.50–7.46 (m, 1 H), 7.46–7.41 (m, 2 H), 7.38–7.27 (m, 3 H), 7.26–7.20 (m, 4 H), 7.18–7.13 (m, 1 H), 7.11 (brs, 1 H), 6.37 (dd, $J = 14.6, 3.7 \text{ Hz}$, 1 H), 6.03 (d, $J = 8.0 \text{ Hz}$, 1 H), 5.48 (dt, $J = 51.0, 3.9 \text{ Hz}$, 1 H), 5.22–5.16 (m, 1 H), 5.12–5.0

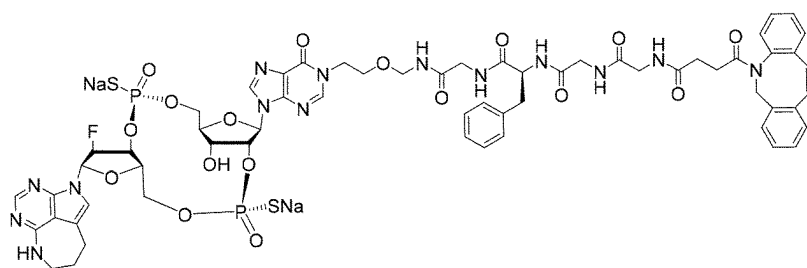
4 (m, 1H), 5.00 (d, $J=13.7$ Hz, 1H), 4.93 (brs, 1H), 4.62–4.57 (m, 1H), 4.56–4.50 (m, 2H), 4.49–4.43 (m, 1H), 4.36 (brs, 1H), 4.26–4.17 (m, 3H), 4.06–3.96 (m, 3H), 3.82–3.51 (m, 11H), 3.04 (dd, $J=13.7, 4.6$ Hz, 1H), 2.79 (dd, $J=13.7, 9.7$ Hz, 1H), 2.70–2.57 (m, 3H), 2.29 (dt, $J=15.5, 7.7$ Hz, 1H), 2.12–2.02 (m, 1H), 1.91–1.74 (m, 3H), 1.59–1.52 (m, 1H).

【0503】

実施例 A7-5:

二ナトリウム N-[4-(11, 12-ジデヒドロジベンゾ [b, f] アゾシン-5 (6H)-イル)-4-オキソブタノイル]グリシルグリシル-L-フェニルアラニル-N-[(2-{9-[(2R, 5R, 7R, 8R, 10R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-15-フルオロ-16-ヒドロキシ-2, 10-ジオキソ-2, 10-ジスルフィド-14-(6, 7, 8, 9-テトラヒドロ-2H-2, 3, 5, 6, -テトラアザベンゾ [cd] アズレン-2-イル)オクタヒドロ-2H, 10H, 12H-5, 8-メタノ-2λ⁵, 10λ⁵-フロ [3, 2-l] [1, 3, 6, 9, 11, 2, 10]ペンタオキサジホスファシクロテトラデシン-7-イル)-6-オキソ-6, 9-ジヒドロ-1H-プリン-1-イル}エトキシ)メチル]グリシニアミド (式 (Rp, Rp-XII) の化合物に相当) の合成

【化203】



(工程 3'')

参考例 A7-1 で得られた化合物 (18.1 mg、0.03 mmol) のアセトニトリル (0.5 mL) の懸濁液に、トリエチルアミン (12.1 μL、0.09 mmol)、4-(4, 6-ジメトキシ-1, 3, 5-トリアジン-2-イル)-4-メチルモルホリニウムクロリド (10.4 mg、0.04 mmol) を室温で添加した。実施例 A7-2 で得た化合物 (25.0 mg、0.03 mmol) を室温で添加し、2 時間攪拌した。反応液に減圧下で濃縮し、得られた残渣に酢酸エチル (0.75 mL)、5% 炭酸ナトリウム水溶液 (0.25 mL) を添加した。2 層溶液からオイル成分を分離し、オイル成分にアセトニトリル (1 mL) を添加して室温で 6 時間攪拌した。得られた懸濁液から上澄み成分を除去して、固体を得た。固体を減圧下で 5 時間乾燥して、目的化合物を白色固体として得た (38.2 mg、収率 91%)。

【0504】

MS (ESI) m/z : 1411 ($M+H$)⁺, 1409 ($M-H$)⁻.

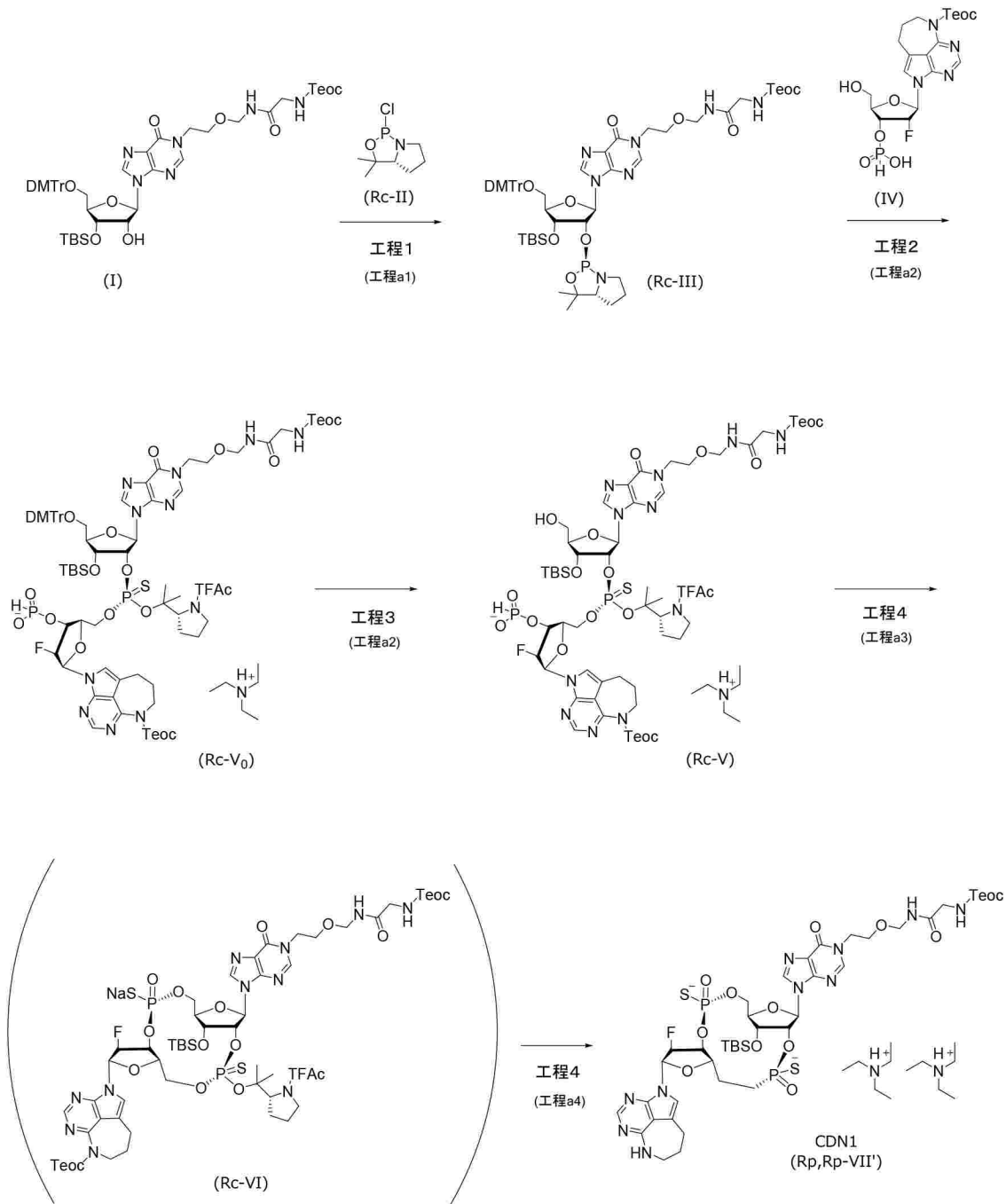
【0505】

A-8 CDN1 の合成 3

環状ジヌクレオチド (CDN1) を、以下の合成スキーム A-8 に従って合成した。合成スキーム A-8 において、A2 = Teoc-テトラアザベンゾ [cd] アズレン基、Q = チオール基、PG1 = TBS、PG2 = DMTr、PG3 = Teoc、PG6 = TFAc であり、(Rc-II) として、(3aR)-1-クロロ-3, 3-ジメチルテトラヒドロ-1H, 3H-ピロロ [1, 2-c] [1, 3, 2] オキサザホスホールを使用した

°

【合成スキーム A-8】
 【0506】
 【化204】



【0507】

以下の実施例 A8-1～A8-4において、分取 HPLC は Agilent Preparative HPLC System (Agilent Technology 製) を用いて実施した。分取カラムは YMC-Actus Triart C18 (250 × 20 mm I. D. S-5 μm, 12 nm) を用いた。

【0508】

各種スペクトルデータの測定には以下の機器を用いた。マスペクトルは Shimadzu LCMS-2020 (島津製作所製) を用いて測定した。LC/MS の測定は、以下の条件で実施した [カラム: XBridge C18, 3.5 μm, 150 × 4.6 mm]

m (W a t e r s 製) , 移動相 : 1 0 m M 酢酸アンモニウム (あるいは酢酸トリエチルアミン) / アセトニトリル]

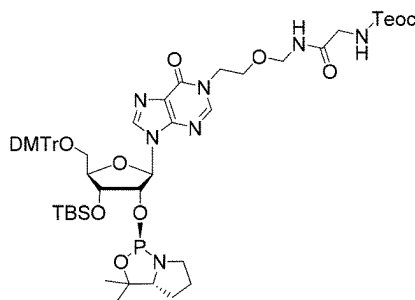
【 0 5 0 9 】

実施例 A 8 - 1 :

5'-O-[ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メチル]-3'-O-[tert-ブチル(ジメチル)シリル]-2'-O-3,3-ジメチルテトラヒドロ-1H,3H-ピロロ[1,2-c][1,3,2]オキサザホスホール-1-イル]-1-(2-{[(N-{[2-[トリメチルシリル)エトキシ]カルボニル}グリシル)アミノ]メトキシ}エチル)イノシン (式(Rc-III)の化合物に相当)の合成

【 0 5 1 0 】

【 化 2 0 5 】



10

20

【 0 5 1 1 】

(工程 1)

5'-O-[ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メチル]-3'-O-[tert-ブチル(ジメチル)シリル]-1-(2-{[(N-{[2-(トリメチルシリル)エトキシ]カルボニル}グリシル)アミノ]メトキシ}エチル)イノシン (1.00 g) に脱水ジクロロメタン (14 mL) とモレキュラーシーブ 3 A (200 mg) を加えて 2 時間攪拌した。その後反応系を -10℃ に冷却し、トリエチルアミン (0.58 mL) を添加した。上記溶液に文献既知 (Angewandte Chemie International Edition, 2009, 48, 496-499) の (3aR)-1-クロロ-3,3-ジメチルテトラヒドロ-1H,3H-ピロロ[1,2-c][1,3,2]オキサザホスホール (0.504 g) の脱水ジクロロメタン (6 mL) 溶液を滴下し、室温で 1 時間攪拌した後、反応液を濃縮した。濃縮した粗生成物をジクロロメタンで希釈溶解し、アミノシリカゲルクロマトグラフィー [ジクロロメタン/酢酸エチル] で精製し、目的化合物を得た (1.06 g)。

30

【 0 5 1 2 】

MS (ESI) m/z : 1148 (M+H)⁺, 1146 (M-H)⁻.

³¹P-NMR (MeCN-d₃) δ : 149.68.

【 0 5 1 3 】

実施例 A 8 - 2 :

N,N-ジエチルエタンアミニウム (2R,3R,4R,5R)-2-({[(R)- ({ (2R,3R,4R,5R)-5-{ [ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メトキシ]メチル} -4-{ [tert-ブチル(ジメチル)シリル]オキシ} -2-[1-(2,2-ジメチル-6,9-ジオキソ-5,12-ジオキサ-7,10-ジアサ-2-シラテトラデカン-14-イル)-6-オキソ-1,6-ジヒドロ-9H-プリン-9-イル]オキソラン-3-イル}オキシ) ({2-[(2R)-1-(トリフルオロアセチル)ピロリジン-2-イル]プロパン-2-イル}オキシ)ホスホロチオイル]オキシ}メチル)-4-フルオロ-5-(6-{[2-[トリメチルシリル)エトキシ]カルボニル]-6,7,8,9-テトラヒドロ-2H-2,3,5,6-テトラアザベンゾ[c,d]アズレン-2-イル)-3-イルホスホネート (式(Rc-V₀)の化合物に相

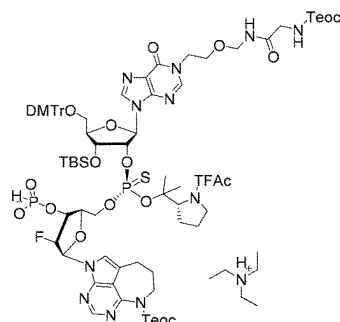
40

50

当) の合成

【0514】

【化206】



10

【0515】

(工程2)

2-(トリメチルシリル)エチル-2-{2-デオキシ-2-フルオロ-3-O-[ヒドロキシ(オキソ)-λ⁵-ホスファニル]-β-D-リボフラノシル}-2,7,8,9-テトラヒドロ-6H-2,3,5,6-テトラアザベンゾ[c,d]アズレンのトリエチルアミン塩(250mg)を脱水アセトニトリル(2.5mL)に溶解させ、モレキュラーシーブ3A(75mg)を添加し、1時間攪拌した。別の容器に、実施例A8-1で得た化合物(497mg)を脱水アセトニトリル(2.5mL)に溶解し、モレキュラーシーブ3A(50mg)を添加し、1時間攪拌した後、-10℃に冷やした先に調製した2-(トリメチルシリル)エチル-2-{2-デオキシ-2-フルオロ-3-O-[ヒドロキシ(オキソ)-λ⁵-ホスファニル]-β-D-リボフラノシル}-2,7,8,9-テトラヒドロ-6H-2,3,5,6-テトラアザベンゾ[c,d]アズレンのトリエチルアミン塩のアセトニトリル溶液に添加した。0.8mol/Lに調製した1-メチルベンゾイミダゾールトリフレーットの脱水アセトニトリル溶液(1.01mL)を添加し、-10℃で1時間攪拌した。続いて、トリエチルアミン(164mg)を添加し、その後1-トリフルオロアセチルイミダゾール(119mg)を添加して1時間攪拌した。続いて、キサンタンヒドリド(58mg)を添加し、1時間攪拌し、反応液を濾過することでモレキュラーシーブを濾去した。濾液を濃縮し、シリカゲルクロマトグラフィー[メタノール/アセトニトリル(0.4%トリエチルアミン)]で精製し、目的化合物を得た。反応時に生成するリン原子上のジアステレオマーはHPLC測定の結果、>99:1であった。

20

30

【0516】

MS(ESI)m/z:1762(M+H)⁺,1760(M-H)⁻.

³¹P-NMR(MeCN-d₃)δ:61.43,2.03.

【0517】

実施例A8-3:

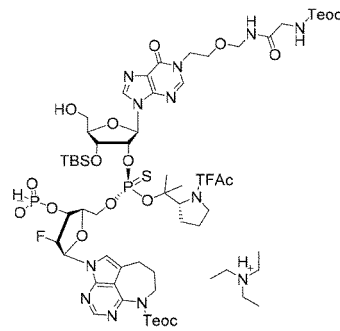
N,N-ジエチルエタンアミニウム(2R,3R,4R,5R)-2-({[(R)-{ [(2R,3R,4R,5R)-4-{[tert-ブチル(ジメチル)シリル]オキシ}-2-[1-(2,2-ジメチル-6,9-ジオキソ-5,12-ジオキサ-7,10-ジアザ-2-シラテトラデカン-14-イル)-6-オキソ-1,6-ジヒドロ-9H-プリン-9-イル]-5-(ヒドロキシメチル)オキソラン-3-イル]オキシ} ({2-[(2R)-1-(トリフルオロアセチル)ピロリジン-2-イル]プロパン-2-イル]オキシ)ホスホロチオイル]オキシ}メチル)-5-(6-{[2-(トリメチルシリル)エトキシ]カルボニル}-6,7,8,9-テトラヒドロ-2H-2,3,5,6-テトラアザベンゾ[c,d]アズレン-2-イル)-4-フルオロオキソラン-3-イルホスホネート(式(Rc-V)の化合物に相当)の合成

40

50

【 0 5 1 8 】

【 化 2 0 7 】



10

【 0 5 1 9 】

(工程 3)

実施例 A 8 - 2 で得た化合物 (180 mg) を脱水アセトニトリル (0.54 mL) とジクロロメタン (3.6 mL) に溶解させ、エタノール (0.23 mL) とジクロロ酢酸 (38.0 mg) を添加し、室温下終夜攪拌を行った。続いて、トリエチルアミン (39.7 mg) を添加して 5 分間攪拌した後、水 (1.8 mL) を加えて分液した。有機層に水 (1.8 mL) とアセトニトリル (0.54 mL) とエタノール (0.23 mL) を加えて再び分液した。続いて、有機層を濃縮乾固した後、アセトニトリル (4 mL) を添加し、再度濃縮乾固して、目的化合物を得た。

20

【 0 5 2 0 】

MS (ESI) m/z : 1459 (M+H)⁺, 1457 (M-H)⁻.

³¹P-NMR (MeCN-d₃) δ: 60.77, 1.72.

【 0 5 2 1 】

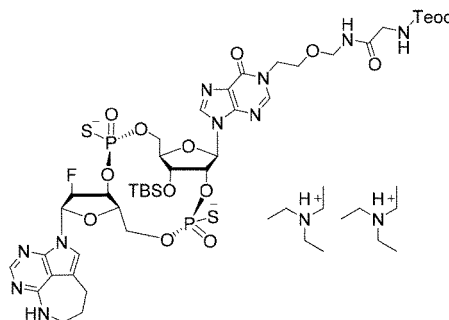
実施例 A 8 - 4 :

ビス (N, N-ジエチルエタンアミニウム) (2R, 5R, 7R, 8R, 10R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R) - 16 - { [tert-ブチル (ジメチル) シリル] オキシ } - 15 - フルオロ - 2, 10 - ジオキソ - 7 - [6 - オキソ - 1 - (2 - { [(N - { [2 - (トリメチルシリル) エトキシ] カルボニル } グリシル) アミノ] メトキシ } エチル) - 1, 6 - ジヒドロ - 9H - プリン - 9 - イル] - 14 - (6, 7, 8, 9 - テトラヒドロ - 2H - 2, 3, 5, 6 - テトラアザベンゾ [cd] アズレン - 2 - イル) オクタヒドロ - 2H, 10H, 12H - 5, 8 - メタノ - 2 λ⁵, 10 λ⁵ - フロ [3, 2 - l] [1, 3, 6, 9, 11, 2, 10] ペンタオキサジホスファシクロテトラデシン - 2, 10 - ビス (チオラート) (式 (Rp, Rp-VII') の化合物に相当) の合成

30

【 0 5 2 2 】

【 化 2 0 8 】



40

【 0 5 2 3 】

50

(工程 4)

実施例 A 8-3 で得た粗生成物に脱水アセトニトリル (0.54 mL) を加えて、-15℃に冷却した。別の容器に脱水ピリジン (1.53 mL) とジクロロメタン (1.53 mL) とプロピルホスホン酸無水物の 50% アセトニトリル溶液 (176 μ L) を加え、-15℃に冷却した。上記アセトニトリル溶液をプロピルホスホン酸無水物溶液の容器へ添加し、-15℃で 1 時間攪拌した。その後、キサンタンヒドリド (23 mg) を添加し、0℃まで昇温し、1 時間攪拌した。得られた反応液に重曹 (43 mg) と食塩 (43 mg) の水 (0.8 mL) 溶液と酢酸エチル (1.6 mL) を加えて分液した。有機層を重曹 (43 mg) と食塩 (43 mg) の水 (0.8 mL) 溶液で洗浄した。続いて、有機層を濃縮乾固して、ナトリウム (2 R, 5 R, 7 R, 8 R, 10 R, 12 a R, 14 R, 15 R, 15 a R, 16 R) -16- { [tert-ブチル (ジメチル) シリル] オキシ} -15-フルオロ-2-オキソ-7- [6-オキソ-1- (2- { [(N- { [2- (トリメチルシリル) エトキシ] カルボニル} グリシル) アミノ] メトキシ} エチル) -1, 6-ジヒドロ-9H-プリン-9-イル] -10-スルファニリデン-14- (6- { [2- (トリメチルシリル) エトキシ] カルボニル} -6, 7, 8, 9-テトラヒドロ-2H-2, 3, 5, 6-テトラアザベンゾ [c d] アズレン-2イル) -10- ({2- [(2 R) -1- (トリフルオロアセチル) ピロリジン-2-イル] プロパン-2-イル} オキシ) オクタヒドロ-2H, 10H, 12H-5, 8-メタノ-2 λ^5 , 10 λ^5 -フロ [3, 2-l] [1, 3, 6, 9, 11, 2, 10] ペンタオキサジフォスファシクロテトラデシン-2-チオラート (式 (VI) の化合物に相当) を得た。得られた化合物に、ピリジン (0.48 mL) と 28% アンモニア水 (1.01 mL) を添加し、53℃で 15 時間攪拌した。得られた反応液を n-ヘプタンで二回洗浄した後、水層を濃縮し、残留物を分取 HPLC [10 mM 酢酸トリエチルアミン水溶液 / アセトニトリル] で精製し、リン原子上の単一のジアステレオマー (Rp, Rp 体) として目的化合物を 66.1 mg 得た。なお単離した化合物の HPLC 純度は 99.8% であった。

【0524】

MS (ESI) m/z : 1121 (M+H)⁺, 1119 (M-H)⁻.

¹H-NMR (MeCN-d₃) δ : 8.61 (1H, s), 8.10 (1H, s), 8.07 (1H, brs), 7.84-7.82 (1H, m), 7.50 (1H, brs), 7.03 (1H, brs), 6.37 (1H, dd, J=16.5, 3.0 Hz), 6.10 (1H, d, J=8.0 Hz), 6.06 (1H, brm), 5.51 (1H, dt, J=52.5, 4.0 Hz), 5.37 (1H, m), 5.31 (1H, m), 4.57 (2H, d, J=7.0 Hz), 4.52 (1H, d, J=3.5 Hz), 4.28 (2H, m), 4.19 (3H, m), 4.07 (3H, m), 3.91 (1H, ddd, J=12.0, 5.0, 2.0 Hz), 3.84 (1H, ddd, J=12.0, 5.0, 2.0 Hz), 3.70 (2H, m), 3.62 (2H, m), 3.46 (2H, m), 2.99 (6H, q, J=7.0 Hz), 2.86 (1H, m), 2.73 (1H, m), 1.95 (2H, m), 1.17 (9H, t, J=7.0 Hz), 0.95-0.92 (2H, m), 0.94 (9H, s), 0.23 (3H, s), 0.20 (3H, s), 0.00 (9H, s).

³¹P-NMR (MeCN-d₃) δ : 58.31, 57.22.

【0525】

A-9 CDN3 の合成

環状ジヌクレオチド (CDN3) を、以下の合成スキーム A-9 に従って合成した。合成スキーム A-9 において、A2=Teoc-テトラアザベンゾ [c d] アズレン基、Q=ヒドロキシ基、PG1=TBS、PG3=Teoc、PG6=TFAc である。

[合成スキーム A-9]

【0526】

10

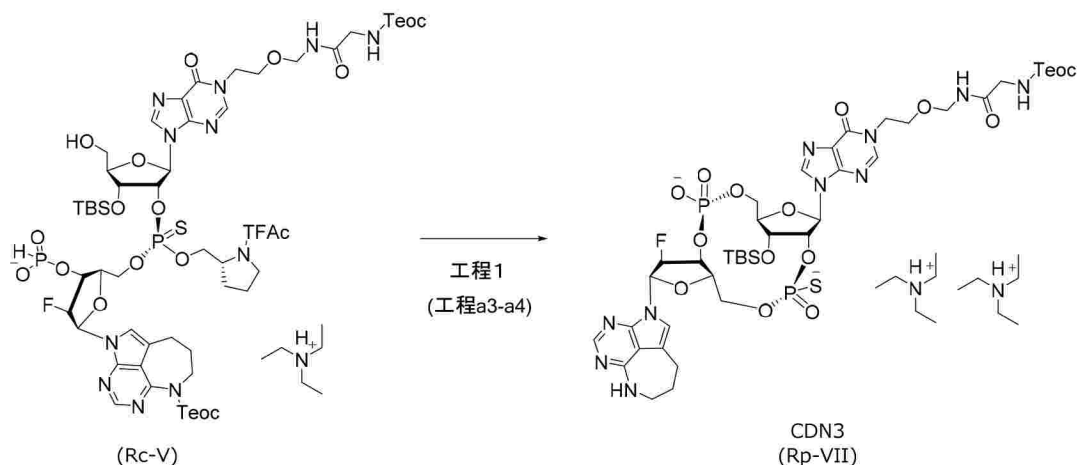
20

30

40

50

【化 2 0 9】



10

【0 5 2 7】

以下の実施例 A 9-1 において、分取カラムは YMC-Actus Triart C 18 (250×20mm I.D. S-5 μm, 12 nm) を用いた。

【0 5 2 8】

各種スペクトルデータの測定には以下の機器を用いた。マスペクトルは Shimadzu LCMS-2020 (島津製作所製) を用いて測定した。LC/MS の測定は、以下の条件で実施した [カラム: XBridge C18, 3.5 μm, 150×4.6 mm (Waters 製), 移動相: 10 mM 酢酸アンモニウム (あるいは酢酸トリエチルアミン) / アセトニトリル]

20

【0 5 2 9】

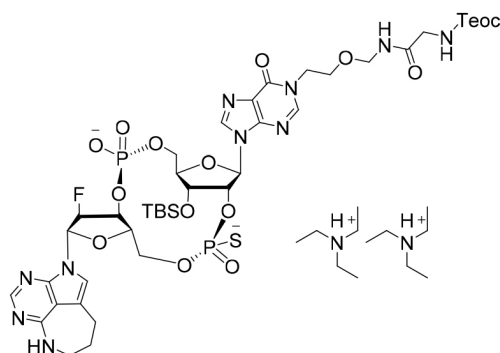
実施例 A 9-1:

ビス (N, N-ジエチルエタンアミニウム) (5R, 7R, 8R, 10R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R) -16- { [tert-ブチル (ジメチル) シリル] オキシ} -15-フルオロ-2, 10-ジオキソ-7- [6-オキソ-1- (2- { [(N- { [2- (トリメチルシリル) エトキシ] カルボニル} グリシル) アミノ] メトキシ} エチル) -1, 6-ジヒドロ-9H-プリン-9-イル] -10-スルフィド-14- (6, 7, 8, 9-テトラヒドロ-2H-2, 3, 5, 6-テトラアザベンゾ [cd] アズレン-2-イル) オクタヒドロ-2H, 10H, 12H-5, 8-メタノ-2 λ⁵, 10 λ⁵-フロ [3, 2-l] [1, 3, 6, 9, 11, 2, 10] ペンタオキサジホスファシクロテトラデシン-2-オレート (式 (Rp-VII) の化合物に相当) の合成

30

【0 5 3 0】

【化 2 1 0】



40

【0 5 3 1】

50

(工程 1)

N, N-ジエチルエタンアミニウム (2 R, 3 R, 4 R, 5 R) - 2 - ({ [(R) - { [(2 R) - 1 - アセチルピロリジン - 2 - イル] メトキシ } { [(2 R, 3 R, 4 R, 5 R) - 4 - { [t e r t - ブチル (ジメチル) シリル] オキシ } - 2 - [1 - (2, 2 - ジメチル - 6, 9 - ジオキソ - 5, 1 2 - ジオキサ - 7, 1 0 - ジアザ - 2 - シラテトラデカン - 1 4 - イル) - 6 - オキソ - 1, 6 - ジヒドロ - 9 H - プリン - 9 - イル] - 5 - (ヒドロキシメチル) オキソラン - 3 - イル] オキシ } ホスホロチオイル] オキシ } メチル) - 5 - (6 - ベンゾイル - 6, 7, 8, 9 - テトラヒドロ - 2 H - 2, 3, 5, 6 - テトラアザベンゾ [c d] アズレン - 2 - イル) - 4 - フルオロオキソラン - 3 - イル ホスホネート (1 7 0 m g) の脱水ピリジン溶液 (1 . 7 m L) に脱水アセトニトリル (0 . 5 4 m L) を加えて、 - 1 5 ° C に冷却した。別の容器に脱水ジクロロメタン (1 . 7 m L) とプロピルホスホン酸無水物の 5 0 % アセトニトリル溶液 (1 9 2 μ L) を加え、 - 1 5 ° C に冷却した。上記の脱水ピリジン-アセトニトリル溶液をプロピルホスホン酸無水物溶液の容器へ添加し、 - 1 5 ° C で 1 時間攪拌した。その後、ヨウ素 (8 5 m g) を添加し、室温まで昇温し、1 時間攪拌した。得られた反応液に水 (0 . 5 m L) を加えて 1 0 分間攪拌し、亜硫酸ナトリウム飽和溶液を加えてヨウ素をクエンチした後、酢酸エチル (1 . 8 m L) を加えて分液し、有機層を 2 0 % 食塩水 (1 . 0 m L) で洗浄した。続いて、有機層を濃縮乾固し、ピリジン (0 . 6 m L) と 2 8 % アンモニア水 (1 . 2 6 m L) を添加し、5 3 ° C で 1 5 時間攪拌した。得られた反応液を n - ヘプタンで二回洗浄した後、水層を濃縮し、残留物を分取 H P L C [1 0 m M 酢酸トリエチルアミン水溶液 / アセトニトリル] で精製し、リン原子上の単一のジアステレオマー (R p 体) として目的化合物を 5 2 m g 得た。なお単離した化合物の H P L C 純度は 9 8 . 7 % であった。

10

20

【 0 5 3 2 】

MS (ESI) m/z : 1 1 0 5 (M+H)⁺, 1 1 0 3 (M-H)⁻.

¹H-NMR (MeCN-d₃) δ : 8 . 6 3 (1H, b r s), 8 . 1 8 (1H, b r s), 8 . 0 8 (2H, s), 7 . 1 8 (1H, b r s), 6 . 3 5 (1H, d, J = 2 1 . 5 H z), 6 . 1 1 (1H, d, J = 5 . 0 H z), 6 . 1 0 (1H, b r m), 5 . 4 2 (1H, b r m), 5 . 1 7 (1H, m), 4 . 5 6 - 4 . 4 7 (3H, m), 4 . 2 9 - 4 . 1 8 (4H, m), 4 . 0 7 (3H, m), 3 . 9 7 (1H, m), 3 . 9 4 (1H, m), 3 . 8 3 (1H, d d, 3 . 5, 1 0 . 0 H z), 3 . 6 9 - 3 . 6 6 (3H, m), 3 . 4 6 (2H, b r s), 2 . 9 0 (9H, q, J = 7 . 5 H z), 2 . 6 7 (2H, b r m), 1 . 9 3 (5H, m), 1 . 1 1 (15H, t, J = 7 . 5 H z), 0 . 9 5 (9H, s), 0 . 9 2 - 0 . 9 1 (2H, m), 0 . 2 5 (3H, s), 0 . 2 2 (3H, s), 0 . 0 0 (9H, s).

30

³¹P-NMR (MeCN-d₃) δ : 5 5 . 0 8, - 1 . 4 4.

【 0 5 3 3 】

A - 1 0 C D N 4 の合成

環状ジヌクレオチド (CDN4) を、以下の合成スキーム A - 1 0 に従って合成した。合成スキーム A - 1 0 において、A 2 = T e o c - テトラアザベンゾ [c d] アズレン基、Q = チオール基、P G 1 = T B S、P G 2 = D M T r、P G 3 = T e o c、P G 6 = T F A c であり、(S c - I I) として、(3 a S) - 1 - クロロテトラヒドロ - 1 H, 3 H - ピロロ [1, 2 - c] [1, 3, 2] オキサザホスホールを使用した。

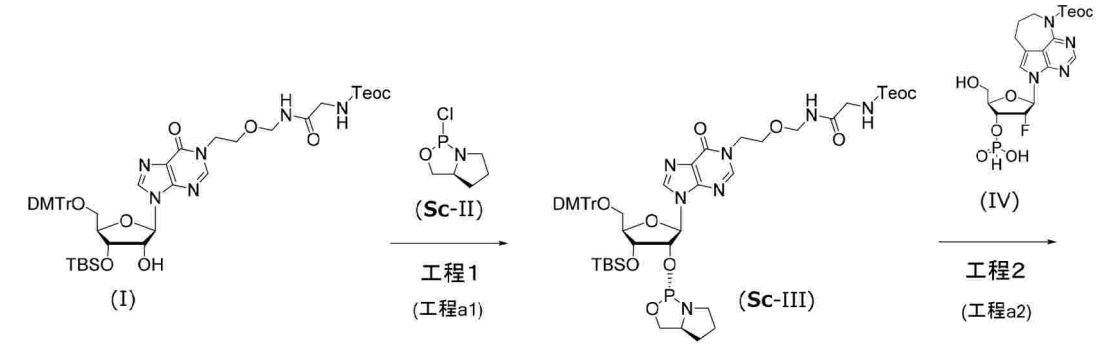
40

[合成スキーム A - 1 0]

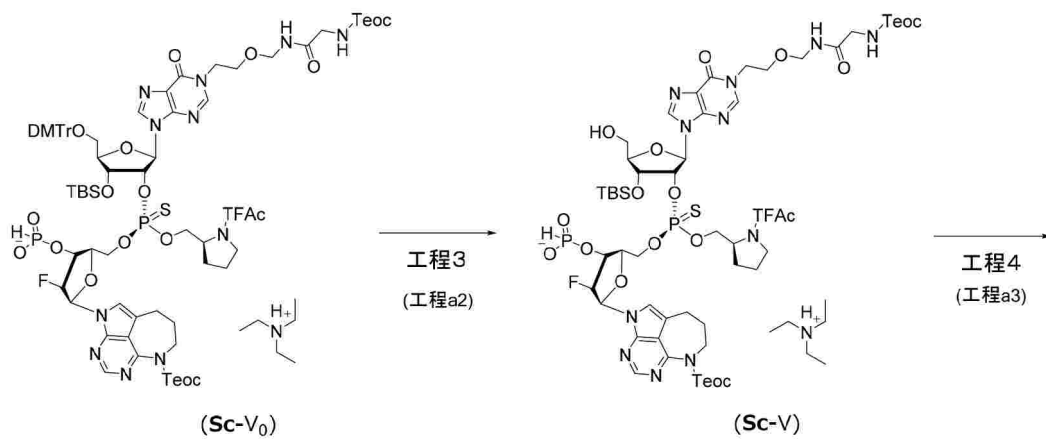
【 0 5 3 4 】

50

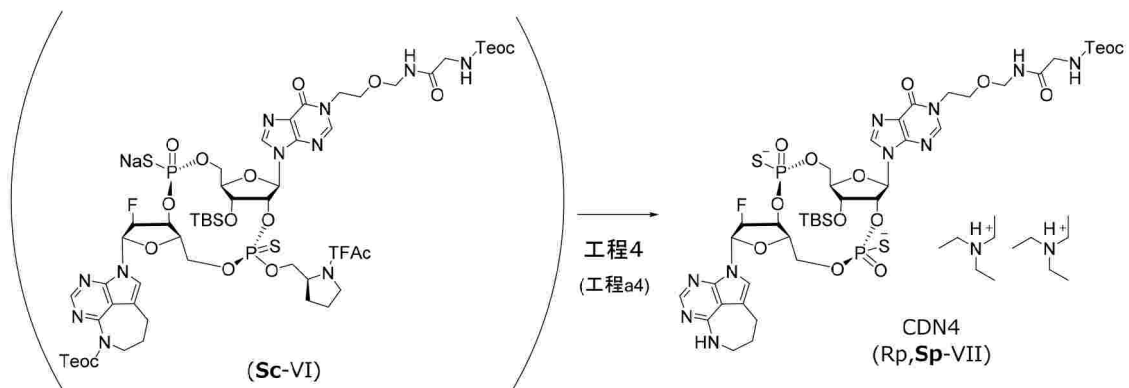
【化 2 1 1】



10



20



30

【0535】

40

以下の実施例 A 10-1 ~ A 10-4 において、分取カラムは YMC-Actus Triart C18 (250*20mm I. D. S-5 μm, 12 nm) を用いた。

【0536】

各種スペクトルデータの測定には以下の機器を用いた。LC/MSの測定は、以下の条件で実施した [カラム: XBridge C18, 3.5 μm, 150×4.6 mm (Waters 製), 移動相: 10 mM 酢酸アンモニウム (あるいは酢酸トリエチルアミン) / アセトニトリル]

【0537】

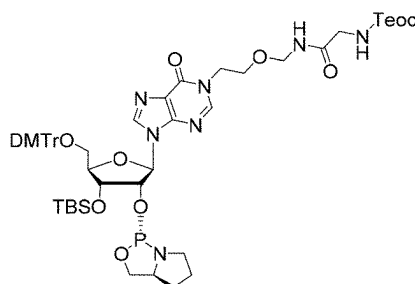
実施例 A 10-1 :

5'-O-[ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メチル]-3'-O-[tert 50

ーブチル（ジメチル）シリル]－2'－O－[(1R, 3aS)－テトラヒドロ－1H, 3H－ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オキサザホスホール－1－イル]－1－(2－{[(N－{[2－(トリメチルシリル)エトキシ]カルボニル}グリシル)アミノ]メトキシ}エチル)イノシン（式(S c－III)の化合物に相当)の合成

【0538】

【化212】



10

【0539】

(工程1)

5'－O－[ビス(4－メトキシフェニル)(フェニル)メチル]－3'－O－[tert－ブチル(ジメチル)シリル]－1－(2－{[(N－{[2－(トリメチルシリル)エトキシ]カルボニル}グリシル)アミノ]メトキシ}エチル)イノシン(3.00g)に脱水ジクロロメタン(42mL)とモレキュラーシーブ3A(600mg)を加えて2時間攪拌した。その後反応系を－10℃に冷却し、トリエチルアミン(0.575mL)を添加した。上記溶液に文献既知(Tetrahedron Letter, 1998, 39, 2491－2494)の(3aS)－1－クロロテトラヒドロ－1H, 3H－ピロロ[1, 2-c][1, 3, 2]オキサザホスホールの脱水ジクロロメタン(9mL)溶液を滴下し、室温で1時間攪拌した後、反応液を濃縮した。濃縮した粗生成物をジクロロメタンで希釈溶解し、アミノシリカゲルクロマトグラフィー[ジクロロメタン／酢酸エチル]で精製し、目的化合物を得た(3.37g)。

20

【0540】

MS(ESI) m/z: 1088 (M+H)⁺, 1086 (M-H)⁻.

30

¹H-NMR(MeCN-d₃) δ: 7.93(2H, s), 7.43－7.41(2H, m), 7.31－7.26(7H, m), 7.22－7.21(1H, m), 6.84(4H, d, J=8.5Hz), 5.88(1H, m), 5.72(1H, br m), 4.97(1H, m), 4.55－4.53(2H, m), 4.37(1H, s), 4.17－4.02(6H, m), 3.74(6H, s), 3.69(2H, s), 3.58－3.56(2H, m), 3.44－3.42(2H, m), 3.31－3.22(3H, m), 2.71－2.70(1H, m), 1.67－1.61(2H, m), 1.48－1.46(1H, m), 1.31－1.30(1H, m), 0.94－0.91(2H, m), 0.86(9H, s), 0.08(3H, s), 0.03(3H, s), 0.00(9H, s).

40

³¹P-NMR(MeCN-d₃) δ: 154.01.

【0541】

実施例A10－2:

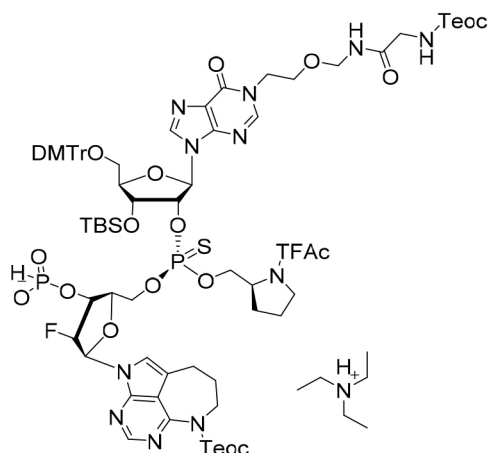
N, N－ジエチルエタンアミニウム(2R, 3R, 4R, 5R)－2－({[(S)－{ (2R, 3R, 4R, 5R)－5－{ [ビス(4－メトキシフェニル)(フェニル)メトキシ]メチル}－4－{ [tert－ブチル(ジメチル)シリル]オキシ}－2－[1－(2, 2－ジメチル－6, 9－ジオキソ－5, 12－ジオキサ－7, 10－ジアザ－2－シラテトラデカン－14－イル)－6－オキソ－1, 6－ジヒドロ－9H－プリン－9－イル]オキソラン－3－イル}オキシ) {[(2S)－1－(トリフルオロアセチル)ピロリジン－2－イル]メトキシ}ホスホロチオイル]オキシ]メチル)－5－(6－{

50

〔2-〔トリメチルシリル〕エトキシ〕カルボニル}-6,7,8,9-テトラヒドロ-2H-2,3,5,6-テトラアザベンゾ〔cd〕アズレン-2-イル)-4-フルオロオキソラン-3-イル ホスホネート (式(S c-V₀)の化合物に相当)の合成

【0542】

【化213】



10

【0543】

(工程2)

2-((トリメチルシリル)エチル)-2-〔2-デオキシ-2-フルオロ-3-O-〔ヒドロキシ(オキソ)-λ⁵-ホスファニル〕-β-D-リボフラノシル〕-2,7,8,9-テトラヒドロ-6H-2,3,5,6-テトラアザベンゾ〔cd〕アズレンのトリエチルアミン塩(200mg)を脱水アセトニトリル(1.0mL)に溶解させ、モレキュラーシーブ3A(60mg)を添加し、1時間攪拌した。別の容器に、実施例A10-1で得た化合物(388mg)を脱水アセトニトリル(1.0mL)で溶解し、モレキュラーシーブ3A(40mg)を添加し、1時間攪拌した後、-10℃に冷やした、上記の2-((トリメチルシリル)エチル)-2-〔2-デオキシ-2-フルオロ-3-O-〔ヒドロキシ(オキソ)-λ⁵-ホスファニル〕-β-D-リボフラノシル〕-2,7,8,9-テトラヒドロ-6H-2,3,5,6-テトラアザベンゾ〔cd〕アズレンのトリエチルアミン塩のアセトニトリル溶液に添加した。0.4mol/Lに調製したN-フェニルイミダゾリウムトリフレーートの脱水アセトニトリル溶液(1.21mL)を添加し、-10℃で1時間攪拌した。続いて、トリエチルアミン(131mg)を添加し、その後1-トリフルオロアセチルイミダゾール(96mg)を添加して30分間攪拌した。続いて、キサンタンヒドリド(58mg)を添加し、30分間攪拌し、反応液を濾過することでモレキュラーシーブを濾去した。濾液を濃縮し、シリカゲルクロマトグラフィー〔メタノール/アセトニトリル(0.4%トリエチルアミン)〕で精製し、濃縮乾固し、目的化合物を得た。反応時に生成するリン原子上のジアステレオマーはHPLC測定の結果、78.6:21.3であり、取得した目的物のジアステレオマー選択性は84.7:15.3であった。

30

40

【0544】

MS(ESI)m/z:1734(M+H)⁺,1732(M-H)⁻.

³¹P-NMR(MeCN-d₃)δ:69.19(Major),68.11(Minor),1.55.

【0545】

実施例A10-3:

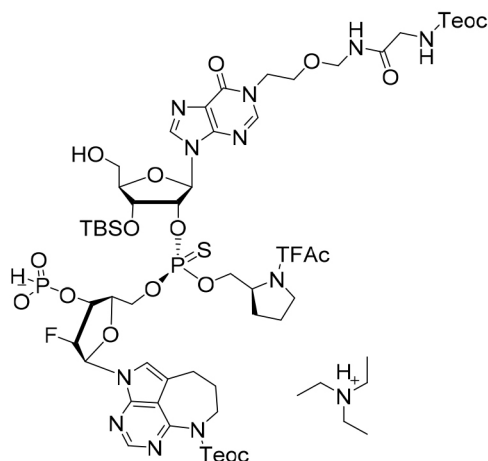
N,N-ジエチルエタンアミニウム(2R,3R,4R,5R)-2-({[(S)-{(2R,3R,4R,5R)-4-〔tert-ブチル(ジメチル)シリル〕オキシ}-2-[1-(2,2-ジメチル-6,9-ジオキソ-5,12-ジオキサ-7,10

50

ージアザー２－シラテトラデカン－１４－イル）－６－オキソ－１，６－ジヒドロ－９Ｈ－プリン－９－イル］－５－（ヒドロキシメチル）オキソラン－３－イル］オキシ} { [(２Ｓ)－１－（トリフルオロアセチル）ピロリジン－２－イル］メトキシ} ホスホロチオイル］オキシ} メチル）－５－（６－{ [２－（トリメチルシリル）エトキシ] カルボニル}－６，７，８，９－テトラヒドロ－２Ｈ－２，３，５，６－テトラアザベンゾ [c d] アズレン－２－イル）－４－フルオロオキソラン－３－イル ホスホネート （式（S c－V）の化合物に相当）の合成

【０５４６】

【化２１４】



10

20

【０５４７】

（工程３）

実施例 A 10－２で得た化合物（１８０ｍｇ）を脱水アセトニトリル（０．５４ｍＬ）とジクロロメタン（３．６ｍＬ）に溶解させ、エタノール（０．２３ｍＬ）とジクロロ酢酸（３８．０ｍｇ）を添加し、室温下終夜撹拌を行った。続いて、トリエチルアミン（３９．７ｍｇ）を添加して５分間撹拌した後、水（１．８ｍＬ）を加えて分液した。有機層に水（１．８ｍＬ）とアセトニトリル（０．５４ｍＬ）とエタノール（０．２３ｍＬ）を加えて再び分液した。続いて、有機層を濃縮乾固し、アセトニトリル（４ｍＬ）を添加し、再度濃縮乾固し、目的化合物を得た。

30

【０５４８】

MS (ESI) m/z : 1430 (M+H)⁺, 1428 (M-H)⁻.

³¹P-NMR (MeCN-d₃) δ : 69.30 (Major), 68.80 (Minor), 1.39.

【０５４９】

実施例 A 10－４：

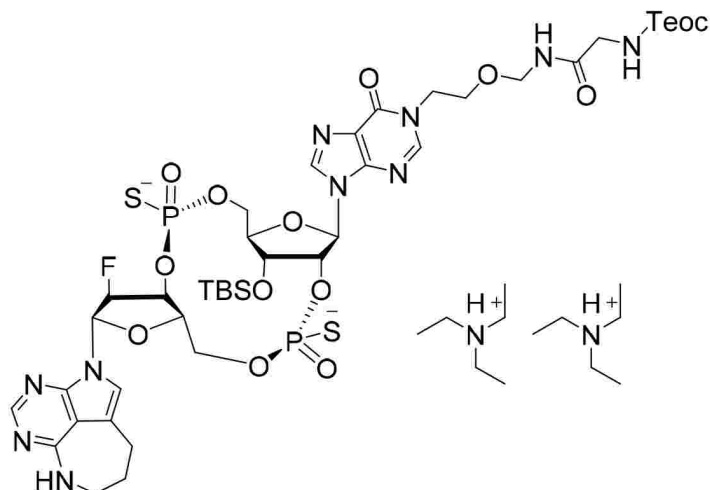
ビス（N，N－ジエチルエタンアミニウム）（２R，５R，７R，８R，１０S，１２a R，１４R，１５R，１５a R，１６R）－１６－{ [tert－ブチル（ジメチル）シリル］オキシ}－１５－フルオロ－２，１０－ジオキソ－７－[６－オキソ－１－（２－{ [(N－{ [２－[トリメチルシリル）エトキシ] カルボニル} グリシル）アミノ]メトキシ]エチル）－１，６－ジヒドロ－９H－プリン－９－イル］－１４－（６，７，８，９－テトラヒドロ－２H－２，３，５，６－テトラアザベンゾ [c d] アズレン－２－イル）オクタヒドロ－２H，１０H，１２H－５，８－メタノ－２λ⁵，１０λ⁵－フロ [3，２－l] [1，3，6，9，11，2，10] ペンタオキサジホスファシクロテトラデシン－２，１０－ビス（チオレート） （式（Rp，Sp－VII'）の化合物に相当）の合成

40

【０５５０】

50

【化 2 1 5】



10

【0 5 5 1】

(工程 4)

実施例 A 1 0 - 3 で得た粗生成物に脱水アセトニトリル (0.54 mL) を加えて、-15℃に冷却した。別の容器に脱水ピリジン (1.53 mL) とジクロロメタン (1.53 mL) とプロピルホスホン酸無水物の 50% アセトニトリル溶液 (172 μL) を加え、-15℃に冷却した。上記の実施例 A 1 0 - 3 の化合物のアセトニトリル溶液をプロピルホスホン酸無水物溶液の容器へ添加し、-15℃で 1 時間攪拌した。その後、キサンタンヒドリド (23 mg) を添加し、0℃まで昇温し、終夜攪拌した。得られた反応液に重曹 (43 mg) と食塩 (43 mg) の水 (0.8 mL) 溶液と酢酸エチル (1.6 mL) を加えて分液した。有機層を重曹 (43 mg) と食塩 (43 mg) の水 (0.8 mL) 溶液で洗浄した。続いて、有機層を濃縮乾固して、ナトリウム (2 R, 5 R, 7 R, 8 R, 10 R, 12 a R, 14 R, 15 R, 15 a R, 16 R) - 16 - { [tert-ブチル (ジメチル) シリル] オキシ} - 15 - フルオロ - 2 - オキソ - 7 - [6 - オキソ - 1 - (2 - { [(N - { [2 - (トリメチルシリル) エトキシ] カルボニル} グリシル) アミノ] メトキシ} エチル) - 1, 6 - ジヒドロ - 9 H - プリン - 9 - イル] - 10 - スルファニリデン - 14 - (6 - { [2 - (トリメチルシリル) エトキシ] カルボニル} - 6, 7, 8, 9 - テトラヒドロ - 2 H - 2, 3, 5, 6 - テトラアザベンゾ [c d] アズレン - 2 イル) - 10 - { [(2 R) - 1 - (トリフルオロアセチル) ピロリジン - 2 - イル] メトキシ} オクタヒドロ - 2 H, 10 H, 12 H - 5, 8 - メタノ - 2 λ⁵, 10 λ⁵ - フロ [3, 2 - l] [1, 3, 6, 9, 11, 2, 10] ペンタオキサジフオスファシクロテトラデシン - 2 - チオラート (式 (VI) の化合物に相当) を得た。得られた化合物に、ピリジン (0.48 mL) と 28% アンモニア水 (1.01 mL) を添加し、53℃で 15 時間攪拌した。得られた反応液を n-ヘプタンで二回洗浄した後、水層を濃縮し、残留物を分取 HPLC [10 mM 酢酸トリエチルアミン水溶液 / アセトニトリル] で精製し、リン原子上の単一のジアステレオマー (Rp, Sp 体) として目的化合物を 47.6 mg 得た。なお単離した化合物の HPLC 純度は 95.9% であった。

20

30

40

【0 5 5 2】

MS (ESI) m/z : 1121 (M+H)⁺, 1119 (M-H)⁻.

¹H-NMR (MeCN-d₃) δ : 8.94 (1H, brs), 8.22 (1H, brs), 8.08 (1H, s), 7.57 (1H, brs), 7.25 (1H, brs), 6.30 (1H, dd, J=13, 5.0 Hz), 6.11 (1H, d, J=8.0 Hz), 6.03 (1H, brm), 5.61 (1H, brm), 5.40 (1H, m), 4.56 (2H, d, J=6.5 Hz), 4.90 (2H, d, J=4.0 Hz), 4.31 (1H, m), 4.21-4.05 (7H, m), 3.97 (1H, dd, J=1

50

1.0, 5.5 Hz), 3.78 (1H, m), 3.74–3.59 (4H, m), 3.50 (2H, m), 3.01 (10H, q, $J=7.5$ Hz), 2.76 (2H, br m), 1.95 (2H, m), 1.19 (15H, t, $J=7.5$ Hz), 0.95–0.92 (2H, m), 0.95 (9H, s), 0.20 (3H, s), 0.19 (3H, s), 0.00 (9H, s)

$^3\text{1P-NMR}$ (MeCN- d_3) δ : 58.74, 56.83.

【0553】

[B 原料化合物 (I) の合成]

B-1 化合物 (XV) ($X = Br$) の合成

次の合成スキーム B-2 に用いる原料化合物 (XV) を、以下のスキームに従って、合

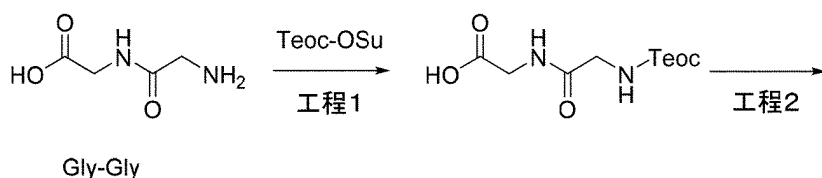
10

成した。

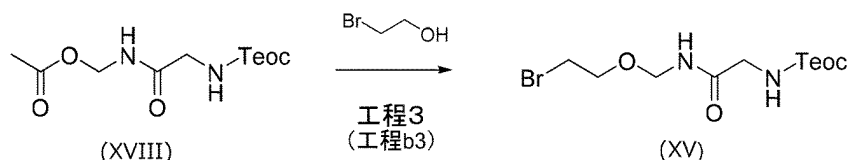
[合成スキーム B-1]

【0554】

【化216】



20



【0555】

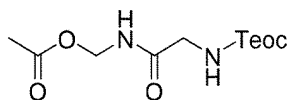
参考例 1:

[N- { [2- (トリメチルシリル) エトキシ] カルボニル} グリシル) アミノ] メチル アセレート (式 (XVII) の化合物に相当) の合成

30

【0556】

【化217】



【0557】

(工程 1)

グリシルグリシン (60 g、0.45 mol)、トリエチルアミン (69 g、0.68 mol)、水 (600 mL)、テトラヒドロフラン (600 mL) の溶液を 0℃ に冷却後、N- [2- (トリメチルシリル) エトキシカルボニルオキシ] スクシンイミド (130 g、0.50 mol) を添加し、25℃ で 22 時間攪拌した。反応液を減圧下、900 mL まで濃縮後、酢酸エチル (600 mL) を添加した。トリエチルアミン (69 g、0.68 mol) を添加、攪拌した後、有機層を廃棄した。得られた水層に酢酸エチル (600 mL) を添加し、濃塩酸 (116 g) を添加した。水層を除去したのち、得られた有機層を 10 wt % 食塩水 (600 mL) で 2 回洗浄した。有機層を減圧下で濃縮し、N- { [2- (トリメチルシリル) エトキシ] カルボニル} グリシルグリシンの酢酸エチル溶液 (120 mL) を得た。

40

【0558】

(工程 2)

50

四酢酸鉛（302 g、0.68 mol）、酢酸（360 mL）、テトラヒドロフラン（600 mL）の溶液を35℃に加熱後、N-〔〔2-（トリメチルシリル）エトキシ〕カルボニル〕グリシルグリシンの酢酸エチル溶液（120 mL）にテトラヒドロフラン（600 mL）を添加した溶液を滴下した。35℃で1時間攪拌した後、析出物を濾取して、酢酸エチル（600 mL）で洗浄した。ろ液を20 wt%くえん酸三ナトリウム二水和物水溶液（300 mL）で7回洗浄した。得られた有機層に20 wt%食塩水（180 mL）を添加後、25 wt%水酸化ナトリウム水溶液を適量添加してpHを6.5とした。水層を廃棄し、得られた有機層を減圧下、約600 mLまで濃縮した。1,2-ジメトキシエタン（1200 mL）を添加し、減圧下で約600 mLまで濃縮した。この操作を再度実施し、目的化合物の1,2-ジメトキシエタン溶液（約600 mL）を得た。

10

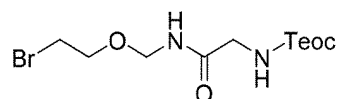
【0559】

実施例12：

N-〔（2-ブロモエトキシ）メチル〕-N²-〔〔2-（トリメチルシリル）エトキシ〕カルボニル〕グリシンアミド（式（XV）の化合物に相当）の合成

【0560】

【化218】



20

【0561】

（工程3）

参考例1で得た化合物の1,2-ジメトキシエタン溶液（約600 mL）に1,2-ジメトキシエタン（300 mL）を添加し、室温下で2-ブロモエタノール（114 g、0.91 mol）を添加した。0℃に冷却した後、10 mol/L水酸化ナトリウム水溶液（66 g、0.50 mol）を添加し、3.5時間攪拌した。反応液に酢酸（41 g、0.68 mol）を添加した。さらに水（300 mL）を添加して、目的化合物（60 mg）の種結晶を加えて、水（600 mL）を添加した。得られた懸濁液から結晶を濾取し、50%含水1,2-ジメトキシエタン（360 mL）で結晶を洗浄した。結晶を40℃で終夜攪拌して、目的化合物を白色結晶（15 g、収率80%）として得た。

30

【0562】

¹H-NMR（500 MHz, DMSO-d₆）δ 8.66（1H, t, J=6.6 Hz）, 7.23（1H, t, J=6.0 Hz）, 4.58（2H, d, J=6.9 Hz）, 4.06-4.01（2H, m）, 3.69（2H, t, J=6.0 Hz）, 3.58（2H, d, J=6.3 Hz）, 3.56（2H, t, J=5.7 Hz）, 0.95-0.90（2H, m）, 0.02（9H, s）。

【0563】

B-2 化合物（I）の合成1

上記の合成スキームA-1、A-5、A-8及びA-10に用いる原料化合物（I）を、以下のスキームに従って、合成した。

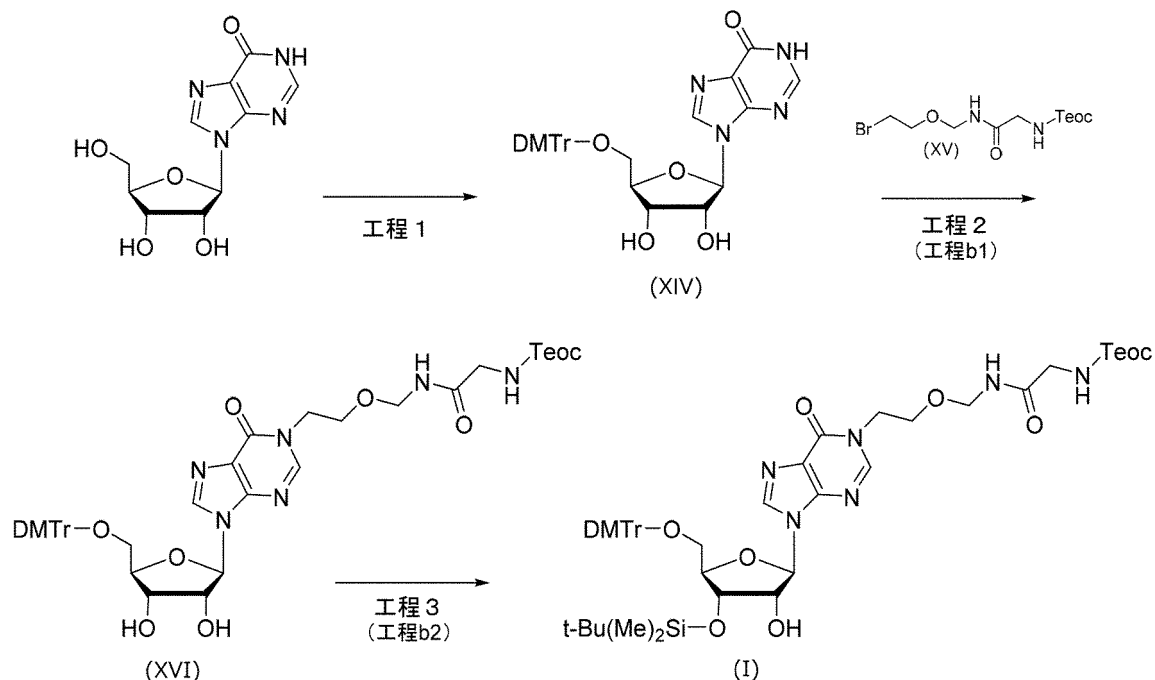
40

〔合成スキーム B-2〕

【0564】

50

【化 2 1 9】



10

20

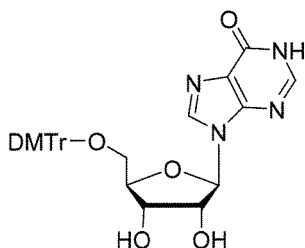
【0 5 6 5】

参考例 2：

5'-O-[ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メチル]イノシン (式(XI V)の化合物に相当)の合成

【0 5 6 6】

【化 2 2 0】



30

(工程 1)

イノシン (5.0 g、18.4 mmol)、ピリジン (30 mL)、ジメチルスルホキシド (20 mL) の溶液に窒素気流下、室温で 4,4'-ジメトキシトリチルクロリド (7.0 g、20.5 mmol) を添加した。2 時間攪拌後、4,4'-ジメトキシトリチルクロリド (1.3 g、3.7 mmol) を追加した。4 時間攪拌後、反応液に 5 wt% 炭酸水素ナトリウム水溶液 (50 mL)、トルエン (50 mL)、20 wt% 食塩水 (25 mL) を添加した。水層を廃棄し、有機層に 5 wt% 炭酸水素ナトリウム水溶液 (50 mL)、20 wt% 食塩水 (25 mL) を添加した。水層を廃棄後、有機層を 20 wt% 食塩水 (50 mL) で洗浄した。得られた有機層を減圧下、約 20 mL まで濃縮して得られた溶液に酢酸エチル (100 mL) を滴下した。50℃で 1 時間攪拌後、室温に冷却して終夜攪拌した。得られた懸濁液から結晶を濾取し、酢酸エチル (40 mL) で洗浄した。結晶を減圧下、40℃で乾燥して目的化合物を白色結晶 (9.0 g、収率 85%) として得た。

40

【0 5 6 7】

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 12.39 (1H, brs), 8.19 (1H, s), 8.00 (1H, s), 7.35 (2H, d, $J=7.4$ Hz), 7

50

・ 2.6 (2H, t, J=7.4 Hz), 7.24–7.18 (5H, m), 6.86–6.81 (4H, m), 5.91 (1H, d, J=4.6 Hz), 5.60 (1H, brs), 5.23 (1H, brs), 4.58 (1H, t, J=4.9 Hz), 4.24 (1H, t, J=5.2 Hz), 4.06 (1H, q, J=4.8 Hz), 3.73 (6H, s), 3.23–3.17 (2H, m).

【0568】

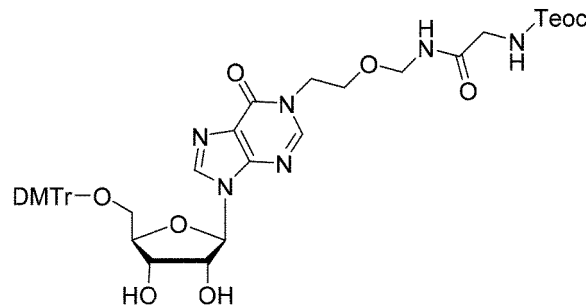
実施例 13:

5'-O-[ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メチル]-1-(2-{[(N-{[2-(トリメチルシリル)エトキシ]カルボニル}グリシル)アミノ]メトキシ}エチル)イノシンの1,3-ジメチル-2-イミダゾリジノン (式(XVI)の化合物に相当)の合成

10

【0569】

【化221】



20

【0570】

(工程2)

参考例2で得た化合物(3.0g、5.3mmol)、N-[(2-ブロモエトキシ)メチル]-N²-{[2-(トリメチルシリル)エトキシ]カルボニル}グリシンアミド(5.6g、15.7mmol)、1,3-ジメチル-2-イミダゾリジノン(30mL)の溶液を35–40℃に加熱した。1,1,3,3-テトラメチルグアニジン(1.5mL、11.8mmol)を滴下した。35–40℃で16時間攪拌した後、室温まで冷却した。トルエン(45mL)、10wt%食塩水(30mL)を添加して攪拌した後、水層を廃棄した。1,3-ジメチル-2-イミダゾリジノン(15mL)、10wt%食塩水(15mL)を添加して攪拌した後、水層を廃棄した。得られた有機層を10wt%食塩水(30mL)で2回洗浄し、減圧下、約15mLまで濃縮した。濃縮液に1,3-ジメチル-2-イミダゾリジノン(15mL)を添加、減圧下で濃縮して、目的化合物の1,3-ジメチル-2-イミダゾリジノン溶液(約24mL)を得た。

30

【0571】

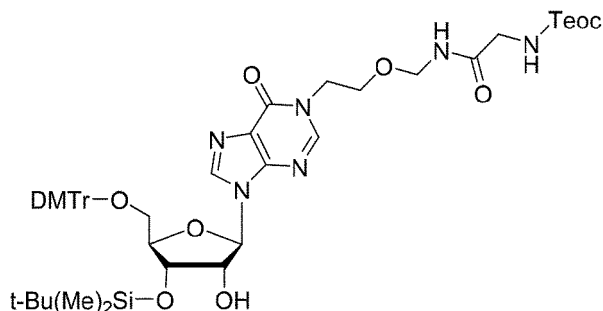
実施例 14:

5'-O-[ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メチル]-3'-O-(2,3,3-トリメチルブタン-2-イル)-1-(2-{[(N-{[2-(トリメチルシリル)エトキシ]カルボニル}グリシル)アミノ]メトキシ}エチル)イノシン (式(I)の化合物に相当)の合成

40

【0572】

【化 2 2 2】



10

【0 5 7 3】

(工程 3)

実施例 1 3 で得た化合物の 1, 3-ジメチル-2-イミダゾリジノン溶液 (約 24 mL) に 1, 3-ジメチル-2-イミダゾリジノン (15 mL) を添加し、1, 1, 3, 3-テトラメチルグアニジン (4.0 mL、31.5 mmol)、tert-ブチルジメチルクロロシラン (2.2 g、14.5 mmol) を添加した。55-60℃に加温し、7 時間攪拌した後、室温まで冷却した。反応液にトルエン (60 mL)、水 (30 mL) を添加し、攪拌した。水層を廃棄し、得られた有機層を減圧下、約 15 mL まで濃縮した。濃縮液にテトラヒドロフラン (30 mL) を添加し、減圧下、約 15 mL まで濃縮した。同様の操作を 2 回繰り返し、5'-O-[ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メチル]-3'-O-(2, 3, 3-トリメチルブタン-2-イル)-1-(2-{[(N-{[2-(トリメチルシリル)エトキシ]カルボニル}グリシル)アミノ]メトキシ}エチル)イノシン(目的化合物)と 5'-O-[ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メチル]-2'-O-(2, 3, 3-トリメチルブタン-2-イル)-1-(2-{[(N-{[2-(トリメチルシリル)エトキシ]カルボニル}グリシル)アミノ]メトキシ}エチル)イノシンの混合物 (6:4) のテトラヒドロフラン溶液 (約 15 mL) を得た。テトラヒドロフラン (30 mL)、1, 1, 3, 3-テトラメチルグアニジン (0.07 mL、0.5 mmol)、目的化合物の結晶 (1.0 mg) を添加した。25℃で 30 分攪拌した後、n-ヘプタン (30 mL) を添加し、25℃で終夜攪拌した。得られた懸濁液から結晶を濾取し、テトラヒドロフラン/n-ヘプタン (1/1、30 mL) で結晶を洗浄した。結晶を減圧下で乾燥し、目的化合物を白色結晶 (3.7 g、収率 73%) として得た。

20

30

【0 5 7 4】

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.99 (1H, s), 7.93 (1H, s), 7.42 (2H, d, J=7.7 Hz), 7.33-7.29 (4H, m), 7.29-7.24 (3H, m), 7.23-7.19 (1H, m), 7.08-7.01 (1H, m), 6.83-6.78 (4H, m), 5.92 (1H, d, J=5.2 Hz), 5.46 (1H, br s), 4.70-4.65 (1H, m), 4.64 (2H, d, J=6.9 Hz), 4.50 (1H, dd, J=5.4, 3.7 Hz), 4.19 (2H, t, J=4.9 Hz), 4.18-4.12 (3H, m), 3.81-3.76 (8H, m), 3.73 (2H, d, J=5.7 Hz), 3.48 (1H, dd, J=10.9, 3.4 Hz), 3.26 (1H, dd, J=10.9, 4.0 Hz), 3.16 (1H, d, J=6.9 Hz), 0.99-0.93 (2H, m), 0.89 (9H, s), 0.09 (3H, s), 0.02 (9H, s), 0.01 (3H, s)。

40

【0 5 7 5】

B-3 化合物 (XV) (X=I) の合成

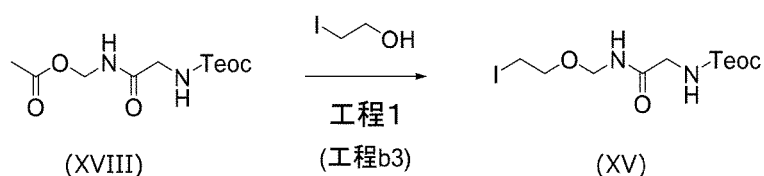
次の合成スキーム B-4 に用いる原料化合物 (XV) を、以下のスキームに従って合成した。

[合成スキーム B-3]

50

【 0 5 7 6 】

【 化 2 2 3 】



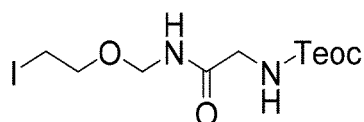
【 0 5 7 7 】

実施例 B 3 - 1 :

N - [(2 - ヨードエトキシ) メチル] - N² - { [2 - (トリメチルシリル) エトキシ] カルボニル } グリシンアミド (式 (X V) の化合物に相当) の合成

【 0 5 7 8 】

【 化 2 2 4 】



【 0 5 7 9 】

(工 程 1)

[(N - { [2 - (トリメチルシリル) エトキシ] カルボニル } グリシル) アミノ] メチル アセテート (1 5 . 0 g 、 5 1 . 7 m m o l) 、 2 - ヨードエタノール (8 . 1 m L 、 1 0 3 . 3 m m o l) に 1 , 2 - ジメトキシエタン (2 2 5 m L) を加えた溶液を 0 °C に冷却した後、1 0 m o l / L 水酸化ナトリウム水溶液 (5 . 2 m L 、 5 1 . 7 m m o l) を添加し、1 時間攪拌した。反応液に酢酸 (4 . 4 m L 、 7 7 . 5 m o l) を添加した。さらに水 (7 5 m L) を添加して目的化合物の種結晶 (1 5 m g) を加えて、水 (3 0 0 m L) を添加した。さらに種結晶 (1 5 m g) 、水 (4 5 m L) を添加後、種結晶 (1 5 m g) と水 (7 5 m L) を追加した。0 °C で 1 時間攪拌して、得られた懸濁液から結晶を濾取し、5 0 % 含水 1 , 2 - ジメトキシエタン (1 5 0 m L) で結晶を洗浄した。結晶を 4 0 °C で終夜乾燥して、目的化合物を白色結晶 (1 6 . 0 g 、 収率 7 7 %) として得た。

【 0 5 8 0 】

¹H - NMR (5 0 0 M H z , C D C l ₃) δ : 6 . 7 8 (1 H , b r s) , 5 . 1 9 (1 H , b r s) , 4 . 8 2 (2 H , d , J = 6 . 9 H z) , 4 . 2 2 - 4 . 1 8 (2 H , m) , 3 . 8 8 (2 H , d , J = 6 . 3 H z) , 3 . 7 8 (2 H , t , J = 6 . 6 H z) , 3 . 2 5 (2 H , t , J = 6 . 6 H z) , 1 . 0 3 - 0 . 9 8 (2 H , m) , 0 . 0 5 (9 H , s) .

【 0 5 8 1 】

B - 4 化合物 (I) の合成 2

上記の合成スキーム A - 1 、 A - 5 、 A - 8 及び A - 1 0 に用いる原料化合物 (I) を、以下のスキームに従って合成した。

[合成スキーム B - 4]

【 0 5 8 2 】

10

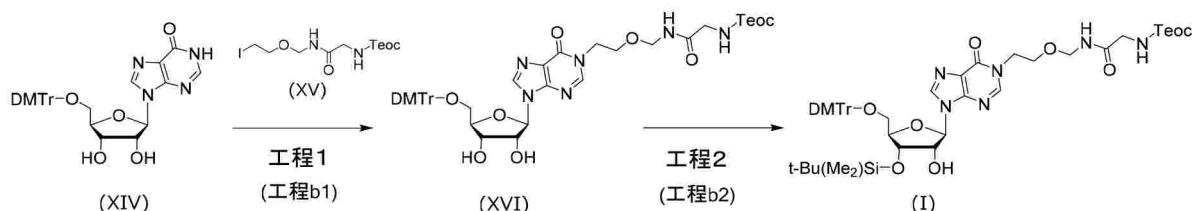
20

30

40

50

【化 2 2 5】



【0583】

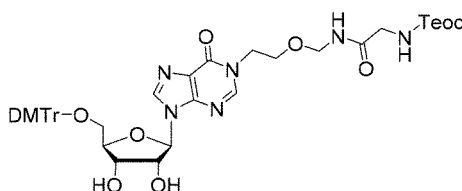
10

実施例 B 4-1:

5'-O-[ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メチル]-1-(2-{[(N-{[2-(トリメチルシリル)エトキシ]カルボニル}グリシル)アミノ]メトキシ}エチル)イノシン (式(XVI)の化合物に相当)の合成

【0584】

【化 2 2 6】



20

【0585】

(工程 1)

5'-O-[ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メチル]イノシン(500mg、0.88mmol)、N-[(2-ヨードエトキシ)メチル]-N2-{[2-(トリメチルシリル)エトキシ]カルボニル}グリシンアミド(529mg、1.31mmol)、ジメチルホルムアミド(2mL)の溶液を室温で25時間攪拌した。トルエン(10mL)、2.5%炭酸水素ナトリウム水溶液(5mL)を添加し、15分攪拌した。水層を廃棄し、得られた有機層を10%食塩水(5mL)で洗浄して、有機層を減圧下濃縮した残渣にトルエン(5mL)を加えて再度、減圧下濃縮して目的化合物の粗体を得た。

30

【0586】

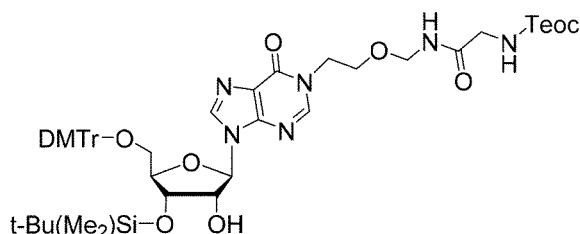
実施例 B 4-2:

5'-O-[ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メチル]-3'-O-(2,3,3-トリメチルブタン-2-イル)-1-(2-{[(N-{[2-(トリメチルシリル)エトキシ]カルボニル}グリシル)アミノ]メトキシ}エチル)イノシン (式(I)の化合物に相当)の合成

40

【0587】

【化 2 2 7】



50

【0588】

〔工程2〕

実施例B4-1で得た化合物の5分の1量に1, 3-ジメチル-2-イミダゾリジノン (1 mL)、2, 6-ルチジン (41 μ L、0.35 mmol)、トリフルオロメタンスルホン酸tert-ブチルジメチルシリル (11 μ L、0.15 mmol)を添加して、約2時間攪拌した。その後、2, 6-ルチジン (12 μ L、0.10 mmol)、トリフルオロメタンスルホン酸tert-ブチルジメチルシリル (11 μ L、0.05 mmol)を追加し、約19時間攪拌した。その後、さらに2, 6-ルチジン (3 μ L、0.02 mmol)、トリフルオロメタンスルホン酸tert-ブチルジメチルシリル (3 μ L、0.01 mmol)を追加し、2時間攪拌した。トルエン (2 mL)、2.5%炭酸水素ナトリウム水溶液 (1 mL)を添加し、攪拌した。水層を廃棄し、得られた有機層を20%食塩水 (1 mL)で洗浄し、有機層を得た。減圧下で濃縮し、得られた残渣にテトラヒドロフラン (1 mL)を添加して溶解させた後、ヘプタン (0.3 mL)を添加した。目的化合物の種結晶を添加し、ヘプタン (0.3 mL)を2回添加した。得られた懸濁液から結晶を濾取し、テトラヒドロフラン／n-ヘプタン (11／14、0.5 mL)で洗浄した。結晶を減圧下で乾燥し、目的化合物を白色結晶 (80 mg、収率48%)として得た。

10

【0589】

〔C 原料化合物 (VII) の合成〕

【0590】

20

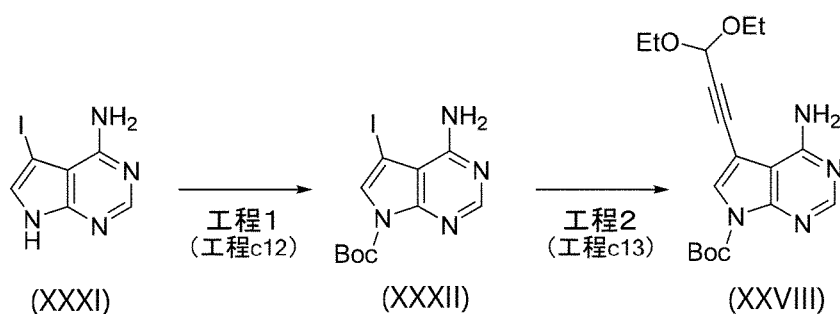
C-1 化合物 (XIII) の合成

次の合成スキームC-2用いる原料化合物 (XIII)を、以下のスキームに従って、合成した。

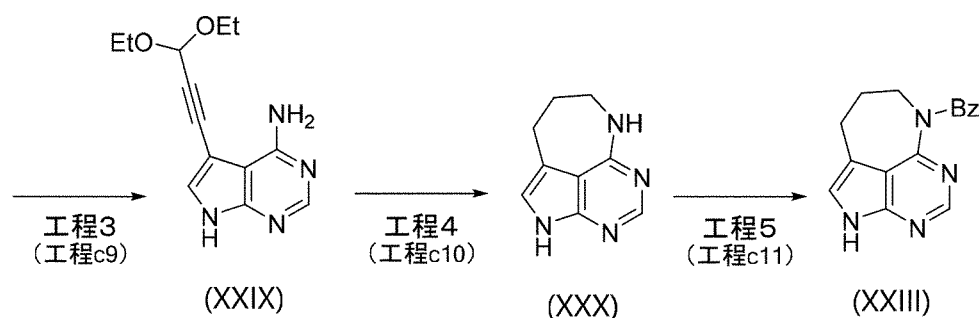
〔合成スキーム C-1〕

【0591】

【化228】



30



40

【0592】

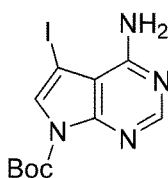
実施例15:

tert-ブチル-4-アミノ-5-ヨード-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-7-カルボキシレート (式(XXXII)の化合物に相当)の合成

50

【 0 5 9 3 】

【 化 2 2 9 】



【 0 5 9 4 】

(工程 1)

10

5-ヨード-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-4-アミン(318.5g, 1.225mol)のトルエン(1750mL)溶液に二炭酸ジ-tert-ブチル(294.1g, 1.347mol)、1-メチルイミダゾール(50.28g, 0.612mol)を加え、室温で6時間攪拌した。反応液にヘプタン(7000mL)を滴下し、室温で10分間攪拌した後、0℃まで冷却し、1時間攪拌した。析出した結晶をろ過し、トルエン/ヘプタン(280mL/1120mL)混合液で洗浄後、40℃にて減圧乾燥し目的化合物(415.7g, 1.154mol, 収率94.2%)を得た。

【 0 5 9 5 】

MS (ESI) m/z : 361 [M+H]⁺.

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 8.46 (1H, s), 7.55 (1H, s), 5.81 (2H, brs), 1.65 (9H, s).

20

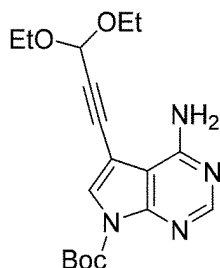
【 0 5 9 6 】

実施例 16 :

tert-ブチル-4-アミノ-5-(3,3-ジエトキシプロパー-1-イン-1-イル)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-7-カルボキシレート (式(XXVII I)の化合物に相当)の合成

【 0 5 9 7 】

【 化 2 3 0 】



30

【 0 5 9 8 】

(工程 2)

実施例 15 で得られた化合物(285.4g, 0.792mol)のN,N-ジメチルホルムアミド(1500mL)溶液を減圧下にて脱気操作を行った後、ヨウ化銅(I)(1.51g, 0.0079mol)、ビス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(II)ジクロリド(3.89g, 0.0055mol)、プロパルギルアルデヒドジエチルアセタール(182.8g, 1.426mol)、トリエチルアミン(240.5g, 2.377mol)を加え、室温で18.5時間攪拌した。反応液にトルエン(6000mL)、10%塩化アンモニウム水溶液(1500mL)を加えて攪拌し、分液して水層を取り除いた。得られた有機層を10%塩化アンモニウム水溶液(1500mL)で2回、20%塩化ナトリウム水溶液(1500mL)で1回洗浄した。活性炭(30g)を加えて室温で約2時間攪拌した後、活性炭をろ別し、活性炭をトルエン(600mL)で洗浄してろ液を合致し、1500mLまで減圧濃縮した。ヘプタン(6000mL)を滴下し、室

40

50

温で約 10 分間攪拌した後、0℃まで冷却し、1 時間攪拌した。析出した結晶をろ過し、トルエン／ヘプタン（240 mL／960 mL）混合液で洗浄後、40℃にて減圧乾燥し目的化合物（269.9 g，0.749 mol，収率 94.6%）を得た。

【0599】

MS (ESI) m/z : 361 [M+H]⁺.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.47 (1H, s), 7.60 (1H, s), 5.71 (2H, br s), 5.49 (1H, s), 3.81 (2H, dq, J = 9.5, 7.5 Hz), 3.67 (2H, dq, J = 9.5, 7.5 Hz), 1.65 (9H, s), 1.28 (6H, t, J = 7.5 Hz).

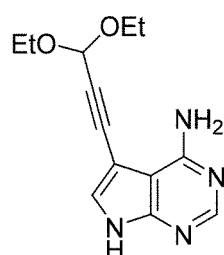
【0600】

実施例 17:

5-(3,3-ジエトキシプロパー-1-イン-1-イル)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリジン-4-アミン (式 (XXIX) の化合物に相当) の合成

【0601】

【化 231】



【0602】

(工程 3)

実施例 16 で得られた化合物（250.0 g，0.694 mol）のエタノール（1500 mL）溶液に 4 mol/L 水酸化ナトリウム溶液（260.1 mL，1.040 mol）を加え、室温で約 1.5 時間攪拌した。反応液に水（1500 mL）を加えた後、2 M 塩酸で pH を 7.5 に調整し、室温で約 45 分間攪拌した。続いて、水（3000 mL）を滴下し、室温で 2 時間攪拌した。析出した結晶をろ過し、エタノール／水（250 mL／750 mL）混合液、0℃に冷却したアセトニトリル（1000 mL）で洗浄した。得られた結晶を 40℃にて減圧乾燥し目的化合物（152.5 g，0.586 mol，収率 84.4%）を得た。

【0603】

MS (ESI) m/z : 261 [M+H]⁺.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 12.01 (1H, br s), 8.09 (1H, s), 7.55 (1H, s), 6.50 (2H, br s), 5.58 (1H, s), 3.68 (2H, dq, J = 10.0, 7.5 Hz), 3.58 (2H, dq, J = 10.0, 7.5 Hz), 1.16 (6H, t, J = 7.5 Hz).

【0604】

実施例 18:

6,7,8,9-テトラヒドロ-2H-2,3,5,6-テトラアザベンゾ[c,d]アズレン (式 (XXX) の化合物に相当) の合成

【0605】

10

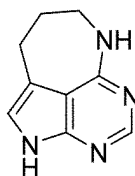
20

30

40

50

【化 2 3 2】



【0 6 0 6】

(工程 4)

実施例 17 で得られた化合物 (63.0 g, 0.242 mol) の 1-メチルピロリドン (189 mL) 混合物に、5%パラジウム炭素 (13.4 g, 水分 53.2%) を加え、水素雰囲気下 (300 kPa)、40℃で約 2 時間攪拌した。反応系内を窒素置換し、酢酸 (630 mL)、水 (32 mL) 及び 5%パラジウム炭素 (13.4 g, 水分 53.2%) を加え、水素雰囲気下 (300 kPa)、50℃で約 21 時間攪拌した。反応系内を窒素置換し、水 (300 mL) を加えてからパラジウム炭素をろ別し、パラジウム炭素を酢酸 (150 mL)、水 (150 mL) の混合液で洗浄後、ろ液を 550 mL まで減圧濃縮した。50℃で水 (620 mL) 及び 48%水酸化カリウム水溶液 20 mL を滴下し、0~5℃に冷却して約 20 時間攪拌した。析出物をろ過し、ろ別した結晶を冷却した 1-メチルピロリドン/水 (36 mL/144 mL) 混合液で洗浄し、さらに水 (320 mL) で洗浄した。得られた結晶を減圧下 50℃で乾燥し、目的化合物 (37.0 g, 0.212 mol, 収率 87.8%) を得た。

10

20

【0 6 0 7】

MS (ESI) m/z : 175 $[M+H]^+$.

^1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 11.24 (1H, s), 7.34 (1H, s), 6.86 (1H, s) 3.34-3.38 (2H, m), 2.80 (2H, br t, $J=6.0$ Hz), 2.49-2.51 (2H, m), 1.85-1.91 (2H, m).

【0 6 0 8】

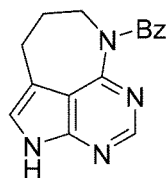
実施例 19:

フェニル (2, 7, 8, 9-テトラヒドロ-6H-2, 3, 5, 6-テトラアザベンゾ [c d] アズレン-6-イル) メタノン (式 (XXIII) の化合物に相当) の合成

30

【0 6 0 9】

【化 2 3 3】



【0 6 1 0】

(工程 5)

実施例 18 で得られた化合物 (4.0 g, 23.0 mmol) の 1,3-ジメチル-2-イミダゾリジノン (40 mL) の混合物に、トリエチルアミン (10.6 mL, 75.9 mmol)、4-ジメチルアミノピリジン (280 mg, 2.3 mmol) を室温で加えた後、0~5℃に冷却してベンゾイルクロリド (8.3 mL, 72.0 mmol) を加えた。約 21 時間攪拌した後、反応液にメタノール (20 mL)、トリエチルアミン (12.0 mL) を加え、約 23 時間攪拌した。酢酸 (6.7 mL)、水 (102 mL) を添加し、0~5℃で約 2 時間攪拌した。析出物をろ過し、ろ別した粉末を冷却したアセトニトリル/水 (2 mL/18 mL) 混合溶液で洗浄した。得られた粉末をアセトニトリル (40 mL) に懸濁させ、0~5℃で約 1 時間攪拌した。析出物をろ過し、ろ別した粉末を冷

40

50

アセトニトリル（10 mL）で洗浄した。得られた粉末を減圧下50℃で乾燥し、目的化合物（5.13 g, 18.4 mmol, 収率80.0%）を得た。

【0611】

MS (ESI) m/z : 279 [M+H]⁺.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 11.99 (1H, s), 7.93 (1H, s), 7.32–7.39 (4H, m), 4.18 (2H, m), 2.98 (2H, t, J = 6.3 Hz), 2.12–2.18 (2H, m).

【0612】

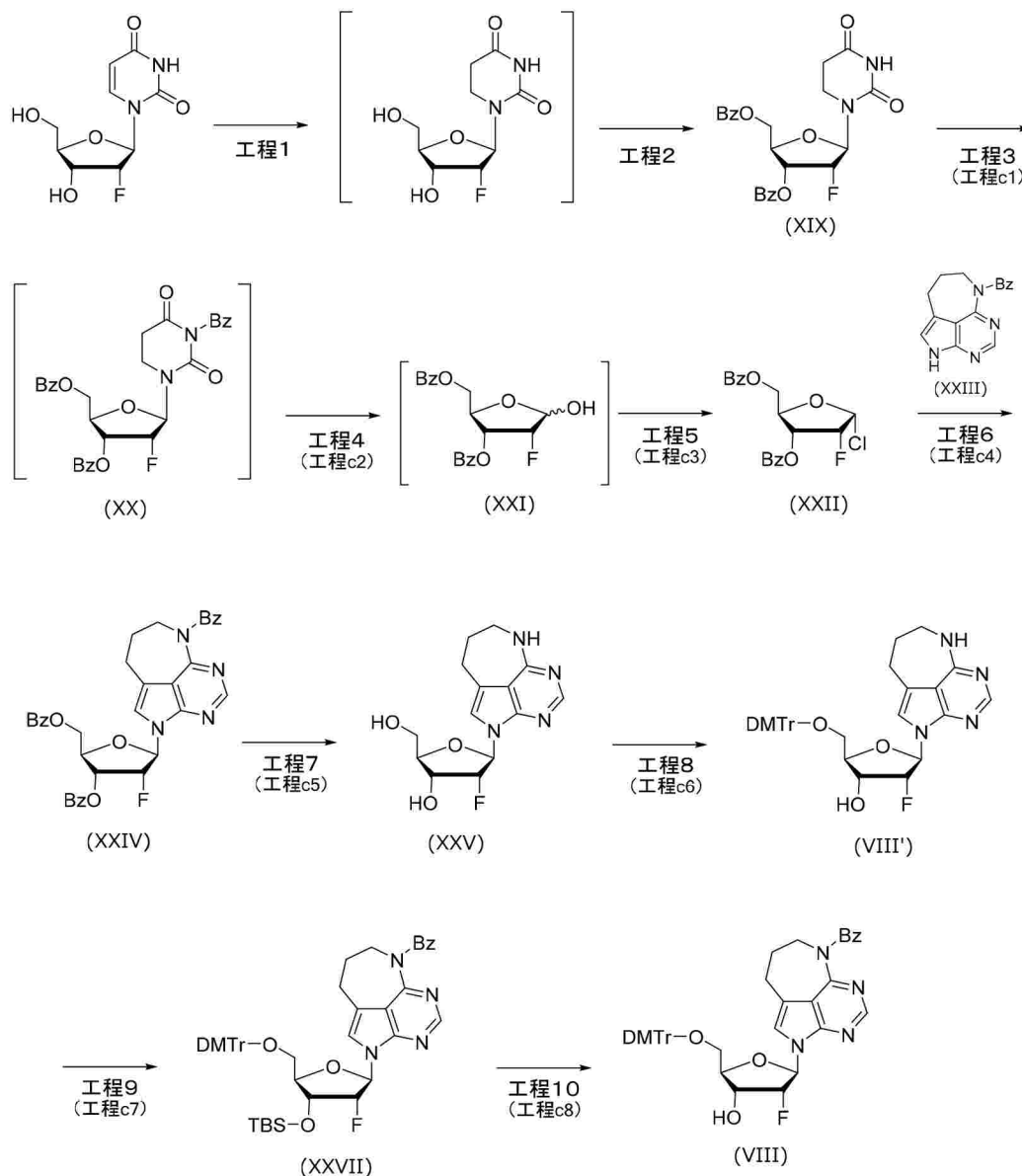
C-2 化合物 (VIIII) の合成

上記の合成スキームA-2に用いる原料化合物 (VIIII) を、以下のスキームに従って、合成した。

10

【合成スキーム C-2】

【化234】



20

30

40

【0613】

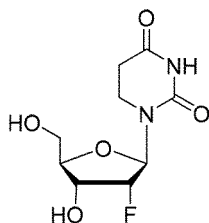
参考例3:

2'-デオキシ-2'-フルオロ-3,4,5,6-テトラヒドロウリジンの合成

【0614】

50

【化 2 3 5】



【0 6 1 5】

10

(工程 1)

1 L オートクレープに 2'-デオキシ-2'-フルオロウリジン (70.0 g, 28.4 mmol)、メタノール (420 mL) を加え、5% パラジウム炭素 (13.57 g, 水分 52.2%) を添加し、水素雰囲気下 (300 kPa)、50℃ で 7 時間攪拌した。反応系内を窒素置換後、パラジウム炭素をろ過し、メタノール/水 (189 mL / 21 mL) 混合液で洗浄した。ろ液を 210 mL 以下まで減圧濃縮し、N,N-ジメチルアセトアミド (350 mL)、トルエン (350 mL) を加えて 350 mL まで減圧濃縮した。その後トルエン (350 mL) を加えて再び 350 mL まで減圧濃縮した。同様の操作をさらに 2 回繰返し、目的化合物を得た。

【0 6 1 6】

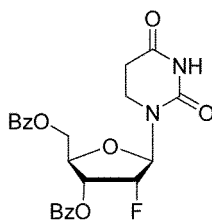
20

参考例 4:

3', 5'-ジ-ベンゾイル-2'-デオキシ-2'-フルオロ-3, 4, 5, 6-テトラヒドロウリジン (式 (XIX) の化合物に相当) の合成

【0 6 1 7】

【化 2 3 6】



30

【0 6 1 8】

(工程 2)

参考例 3 で得られた N,N-ジメチルアセトアミド溶液 (340 mL) に、ピリジン (76.5 g, 96.7 mmol) を加え、氷冷下にて、塩化ベンゾイル (85.4 g, 60.5 mmol) を滴下後、混合物を室温下にて 2.5 時間攪拌した。反応混合物に水 (6.8 mL)、2-プロパノール (408 mL) を添加後、50℃ に昇温し、水 (102 mL) を滴下した。同温度で 30 分攪拌後、水 (136 mL) を添加し 30 分攪拌した後、室温まで冷却して 22 時間攪拌した。0℃ に冷却し 1 時間攪拌した後析出した結晶をろ過し、2-プロパノール/水 (204 mL / 122 mL) 混合液で洗浄後、40℃ にて減圧乾燥し目的化合物 (117.2 g, 25.7 mmol, 収率 93.0%) を白色固体として得た。

40

【0 6 1 9】

MS (ESI) m/z : 457 [M+H]⁺.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.05 (4H, dd, J = 23.5, 8.0 Hz), 7.62-5.56 (2H, m), 7.48-7.41 (4H, m), 7.38-7.32 (1H, m), 5.85 (1H, dd, J = 22.3, 2.3 Hz), 5.54-5.37 (2H, m), 4.81 (1H, dd, J = 12.0, 2.9 Hz), 4.59-4.49 (2H, m), 3.53-3.44 (2H, m), 2.69-2

50

. 58 (2H, m) .

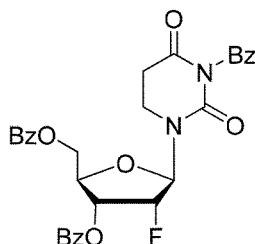
【0620】

実施例20:

3-ベンゾイル-3', 5'-ジ-*O*-ベンゾイル-2'-デオキシ-2'-フルオロ-3, 4, 5, 6-テトラヒドロウリジン (式(X X)の化合物に相当)の合成1

【0621】

【化237】



10

【0622】

(工程3)

参考例4で得られた化合物(67.0g, 14.7mmol)のアセトニトリル(402mL)懸濁液に、4-ジメチルアミノピリジン(18.0g, 14.7mmol)、トリエチルアミン(26.8g, 26.5mmol)を添加後、氷冷した。塩化ベンゾイル(33.1g, 23.5mmol)を滴下し、室温に昇温後、1時間攪拌した。反応液を氷冷し、シクロペンチルメチルエーテル(670mL)を加えて希釈後、10%食塩水(670mL)を加えて5分間攪拌し、分液した。有機層を0.5Mトシル酸水溶液(670mL)で洗浄後、さらに水(335mL)で洗浄した。得られた有機層にシクロペンチルメチルエーテル(670mL)を加えて670mLまで減圧濃縮し、目的化合物を得た。

20

【0623】

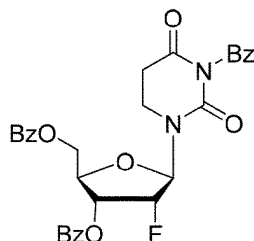
実施例21:

3-ベンゾイル-3', 5'-ジ-*O*-ベンゾイル-2'-デオキシ-2'-フルオロ-3, 4, 5, 6-テトラヒドロウリジン (式(X X)の化合物に相当)の合成2

30

【0624】

【化238】



40

【0625】

(工程3')

参考例4で得られた化合物(200mg, 0.44mmol)のN, N-ジメチルアセトアミド(2mL)溶液に、室温下で4-ジメチルアミノピリジン(5.35mg, 0.04mmol)、トリエチルアミン(70.9mg, 0.70mmol)を添加後、塩化ベンゾイル(80.1mg, 0.57mmol)を滴下し3時間攪拌した。4-ジメチルアミノピリジン(5.35mg, 0.04mmol)、トリエチルアミン(70.9mg, 0.70mmol)を添加後、塩化ベンゾイル(80.1mg, 0.57mmol)を追加し、さらに17時間攪拌し、4-ジメチルアミノピリジン(5.35mg, 0.04mmol)、トリエチルアミン(70.9mg, 0.70mmol)を添加後、塩化

50

ベンゾイル（80.1 mg, 0.57 mmol）を追加して2時間攪拌した。反応液に酢酸エチル（4 mL）を加えて希釈後、5%食塩水（4 mL）を加えて5分間攪拌し、分液した。有機層を5%食塩水（4 mL）で洗浄後、減圧濃縮し残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン／酢酸エチル＝70／30, 60／40）にて精製し、目的化合物（226 mg, 0.40 mmol, 収率91.6%）を白色泡状物質として得た。

【0626】

MS (ESI) m/z : 561 $[M+H]^+$.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 8.02 (4H, dt, $J=16.6$, 4.3 Hz), 7.89–7.87 (2H, m), 7.64–7.54 (3H, m), 7.49–7.38 (6H, m), 5.82 (1H, dd, $J=21.8$, 2.3 Hz), 5.53–5.42 (2H, m), 4.78–4.76 (1H, m), 4.57–4.51 (2H, m), 3.67–3.62 (2H, m), 2.90–2.76 (2H, m).

10

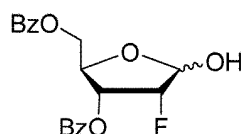
【0627】

実施例22:

3, 5-ジ-*O*-ベンゾイル-2-デオキシ-2-フルオロ-D-リボフラノース（式（XXI）の化合物に相当）の合成

【0628】

【化239】



20

【0629】

（工程4）

実施例20で得られたシクロペンチルメチルエーテル溶液（670 mL）に、p-トルエンスルホン酸一水和物（139.8 g, 73.5 mmol）の水溶液（134 mL）を加え、混合物を加熱し60℃にて6時間攪拌した。反応混合物を室温まで冷却したのち分液し、水層をシクロペンチルメチルエーテル（335 mL）で抽出した。有機層を合わせて8%炭酸水素ナトリウム水溶液（503 mL）で2回洗浄、水（335 mL）で洗浄したのち、有機層を335 mLまで減圧濃縮し、目的化合物を得た。

30

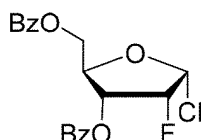
【0630】

実施例23:

3, 5-ジ-*O*-ベンゾイル-2-デオキシ-2-フルオロ- α -D-リボフラノシルクロリド（式（XXII）の化合物に相当）の合成

【0631】

【化240】



40

【0632】

（工程5）

実施例22で得られたシクロペンチルメチルエーテル溶液（50 mL）に、ジクロロメタン（50 mL）を加え、氷冷下、トリクロロイソシアヌル酸（1.55 g, 6.66 mmol）、トリス（2, 4-ジ-*tert*-ブチルフェニル）ホスファイト（8.64 g, 13.35 mmol）を加えた。同温度で1時間攪拌しトリクロロイソシアヌル酸（1.55 g, 6.66 mmol）、トリス（2, 4-ジ-*tert*-ブチルフェニル）ホス

50

ファイト (8.64 g, 13.35 mmol) を加え 1 時間攪拌した。反応液にシクロペンチルメチルエーテル (100 mL) を加えて 150 mL 以下まで減圧濃縮したのち 2 M 水酸化ナトリウム水溶液 (50 mL)、10% チオ硫酸ナトリウム水溶液 (50 mL) を加えて 20 分間攪拌した。反応混合物を分液し、有機層を 2 M 水酸化ナトリウム水溶液 (100 mL) で 2 回、6% 炭酸水素ナトリウム水溶液 (100 mL)、水 (100 mL) で 2 回分液洗浄した。有機層を 30 mL 以下まで減圧濃縮し、ヘプタン (100 mL) を加えて 30 mL 以下まで減圧濃縮した。ヘプタン (100 mL)、アセトニトリル (100 mL) を加えて分液、アセトニトリル層をヘプタン (100 mL) でさらに分液洗浄した。アセトニトリル層に活性炭 (0.5 g) を加えて 30 分間攪拌し、その後、シクロペンチルメチルエーテル (50 mL) で洗浄した。ろ液を 50 mL まで減圧濃縮し、CPME (100 mL) を加えて 50 mL まで減圧濃縮した。50°C に加温し、ヘプタン (50 mL) を加えて 50 mL まで減圧濃縮後、ヘプタン (50 mL) を滴下した。同温度で 30 分間攪拌し、その後 50 mL まで減圧濃縮後、ヘプタン (50 mL) を加えた。同じ操作をさらに 2 回繰り返した後、シクロペンチルメチルエーテル (10 mL) を加え、0°C に冷却後、析出した結晶をろ過し、ヘプタン/シクロペンチルメチルエーテル (45 mL/5 mL) 混合液で洗浄後、室温下にて減圧乾燥し目的化合物 (6.2 g, 16.4 mmol, 収率 61.3%) を白色固体として得た。

10

【0633】

MS (ESI) m/z : 396 $[M + NH_3 + H]^+$.

^1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.13 (2H, d, $J = 7.4$ Hz), 8.01 (2H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.63–7.58 (2H, m), 7.49–7.43 (4H, m), 6.38 (1H, d, $J = 4.0$ Hz), 5.61–5.59 (1H, m), 5.26 (1H, ddd, $J = 50.4, 6.9, 4.6$ Hz), 4.86–4.84 (1H, m), 4.73 (1H, dd, $J = 12.6, 2.9$ Hz), 4.62 (1H, dd, $J = 12.0, 4.0$ Hz).

20

【0634】

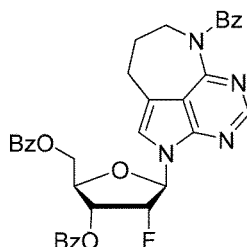
実施例 24-1:

6-ベンゾイル-2-(3,5-ジ-*O*-ベンゾイル-2-デオキシ-2-フルオロ- β -D-リボフラノシル)-6,7,8,9-テトラヒドロ-2H-2,3,5,6-テトラアザベンゾ [c,d] アズレン (式 (XXIV) の化合物に相当) の合成 1

30

【0635】

【化 241】



40

【0636】

(工程 6)

実施例 19 で得た化合物 (2.51 g, 9.02 mmol) のジメチルスルホキシド (25 mL) 溶液に炭酸セシウム (8.72 g, 26.78 mmol) を加え 10 分攪拌した後、実施例 23 で得た化合物 (6.82 g, 18.01 mmol) を加え、室温で 2 時間攪拌した。トルエン (25 mL)、水 (25 mL) 及び活性炭 (0.50 g) を添加し、30 分攪拌した後にろ過した。活性炭をトルエン (12.5 mL) で洗浄後、ろ液を分液し、有機層に 1 M 塩酸 (25 mL) および活性炭 (0.49 g) を添加し、30 分攪拌した後にろ過した。活性炭をトルエン (12.5 mL) で洗浄後、ろ液を分液し、有機層を 10% リン酸水素二カリウム水溶液 (12.5 mL)、水 (12.5 mL) で 2 回

50

分液洗浄した。得られた有機層を40℃で減圧下濃縮し、溶液量を12.5 mLとした。溶液を40℃で攪拌し、目的物の析出を確認した後に、50℃に昇温し、トルエン(12.5 mL)および2-プロパノール(50.0 mL)を加えた。溶液を0℃に徐冷した後、ろ過を行い、ろ物をトルエン(2.0 mL)/2-プロパノール(8.0 mL)混合液で洗浄し40℃にて減圧乾燥し目的化合物(3.15 g, 5.08 mmol, 収率56.4%)を白色固体として得た。

【0637】

MS (ESI) m/z : 621 $[M+H]^+$.

^1H -NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.11–8.08 (3 H, m), 8.03–8.00 (2 H, m), 7.64–7.55 (2 H, m), 7.50–7.44 (2 H, m), 7.42–7.34 (5 H, m), 7.27–7.23 (2 H, m), 7.09 (1 H, s), 6.47 (1 H, dd, $J=19.5, 2.3$ Hz), 5.93–5.74 (2 H, m), 4.86 (2 H, dd, $J=12.6, 3.4$ Hz), 4.75 (1 H, ddd, $J=7.4, 4.0, 3.4$ Hz), 4.61 (1 H, dd, $J=12.6, 4.0$ Hz), 4.31–4.22 (2 H, m), 2.88 (2 H, dd, $J=6.9, 6.9$ Hz), 2.24–2.17 (2 H, m).

10

【0638】

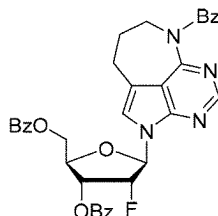
実施例24-2:

6-ベンゾイル-2-(3,5-ジ-*O*-ベンゾイル-2-デオキシ-2-フルオロ- β -D-リボフラノシル)-6,7,8,9-テトラヒドロ-2H-2,3,5,6-テトラアザベンゾ[*c**d*]アズレン (式(XXIV)の化合物に相当)の合成2

20

【0639】

【化242】



30

【0640】

(工程6')

実施例19で得た化合物(1.0 g, 3.59 mmol)のジメチルスルホキシド(8 mL)溶液に炭酸セシウム(3.51 g, 10.77 mmol)を加え10分攪拌した後、実施例23で得た化合物(2.72 g, 7.18 mmol)を3分割で加え、添加に用いた器具をジメチルスルホキシド(2 mL)で洗いこみ、室温で3時間攪拌した。酢酸(1.19 g, 19.75 mmol)、アセトニトリル(15 mL)、メタノール(5 mL)を添加した。40℃に加温し、水(5 mL)を滴下した。約40℃で目的化合物の種結晶(0.5 mg)を添加し、水(7 mL)を1時間かけて滴下した。滴下後、室温まで戻し、終夜攪拌した。得られた懸濁液から結晶を濾取し、アセトニトリル/水(7/3、25 mL)、次いでエタノール(5 mL)で洗浄した。結晶にエタノール(20 mL)を添加して、室温下で約30分攪拌した。懸濁液から結晶を濾取し、エタノール(5 mL)で洗浄した。結晶を40℃で終夜乾燥して、目的化合物を白色結晶(1.4 g、収率63%)として得た。

40

【0641】

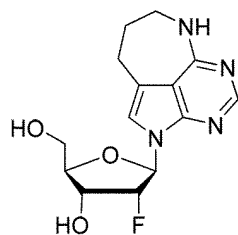
実施例25-1:

2-(2-デオキシ-2-フルオロ- β -D-リボフラノシル)-6,7,8,9-テトラヒドロ-2H-2,3,5,6-テトラアザベンゾ[*c**d*]アズレン (式(XXV)の化合物に相当)の合成

50

【 0 6 4 2 】

【 化 2 4 3 】



10

【 0 6 4 3 】

(工程 7)

実施例 2 4 で得られた化合物 (6.50 g, 10.47 mmol) のテトラヒドロフラン溶液 (52 mL) に水 (26 mL) 及び 4 M 水酸化ナトリウム水溶液 (10.5 mL) を添加し、室温下 21 時間攪拌した。反応液の pH を濃塩酸を用いて pH 9.6 に調整した後、食塩 (8.15 g) 及びシクロペンチルメチルエーテル (26 mL) を添加し分液した。水層をテトラヒドロフラン (52 mL) 及びシクロペンチルメチルエーテル (26 mL) の混合溶液で 3 回抽出した。有機層を混合し、20% 食塩水 (26 mL) で洗浄した。得られた有機層を濃縮後、残渣に 1-プロパノール (130 mL) を添加して濃縮する操作を 3 回繰り返し、溶液量を 33 mL に調整した。溶液を 80 °C に加温し、ヘプタン (130 mL) を添加後、ゆっくりと 5 °C に冷却し、2 時間攪拌した。析出した結晶をろ過し、1-プロパノール／ヘプタン (6.5 mL／26 mL) 混合液及びヘプタン (13 mL) で洗浄後、室温下にて減圧乾燥し目的化合物 (2.88 g, 9.34 mmol, 収率 89.2%) を白色固体として得た。

20

【 0 6 4 4 】

MS (ESI) m/z : 309 [M+H]⁺.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.04 (1H, s), 6.97 (1H, d, J=12.0 Hz), 6.76 (1H, s), 5.97–5.83 (2H, m), 5.74 (1H, brs), 4.68 (1H, d, J=4.6 Hz), 4.32 (1H, dd, J=1.1, 1.1 Hz), 3.95 (1H, dd, J=13.2, 1.1 Hz), 3.74 (1H, ddd, J=13.2, 12.0, 1.1 Hz), 3.59–3.50 (2H, m), 2.95–2.84 (2H, m), 2.40 (1H, brs), 2.12–2.00 (2H, m).

30

【 0 6 4 5 】

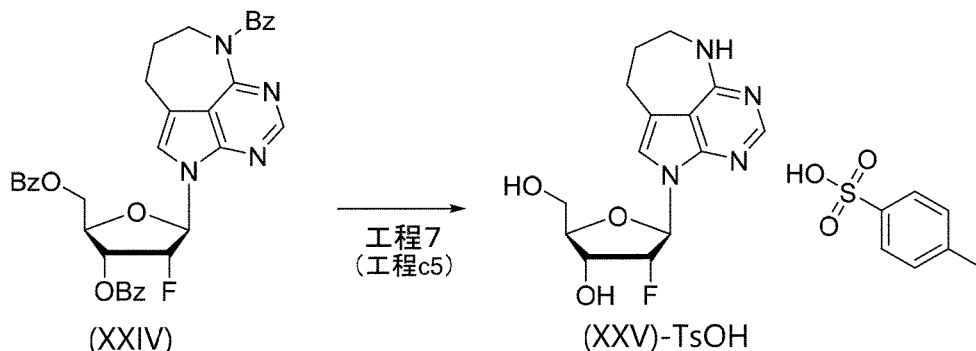
実施例 2 5 – 2 :

2-(2-デオキシ-2-フルオロ-β-D-リボフラノシル)-6,7,8,9-テトラヒドロ-2H-2,3,5,6-テトラアザベンゾ[c,d]アズレン・p-トルエンスルホン酸塩 (式 (XXV) の化合物の p-トルエンスルホン酸塩に相当) の合成 (別法)

【 0 6 4 6 】

【 化 2 4 4 】

40



50

【0647】

(工程7')

実施例24で得られた化合物(300mg, 0.48mmol)のエタノール(1.5mL)溶液にナトリウムエトキシドのエタノール溶液(20%, 0.012mL, 0.03mmol)を添加し、65℃で6時間攪拌した。室温まで冷却後、p-トルエンスルホン酸一水和物(184mg, 0.97mmol)、エタノール(0.6mL)を加え、室温で30分間攪拌した。その後、トルエン(6.3mL)を加え、室温で終夜攪拌した後、0℃まで冷却した。0℃で4時間攪拌した後、析出した結晶をろ過し、0℃に冷却したエタノール／トルエン(0.3mL／0.9mL)混合液で洗浄した。得られた結晶を40℃にて減圧乾燥し目的化合物(215.9mg, 0.45mmol, 収率93.0%)を得た。

10

【0648】

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, DMSO- d_6) δ 9.02 (1H, brs), 8.37 (1H, s), 7.56 (1H, brs), 7.48 (2H, dd, $J=10.3, 1.8$ Hz), 7.12 (2H, d, $J=7.5$ Hz), 6.40 (1H, dd, $J=16.1, 4.0$ Hz), 5.24 (1H, m), 4.34 (1H, dt, $J=13.0, 5.2$ Hz), 3.98 (1H, brs), 3.69–3.58 (4H, m), 2.87 (2H, t, $J=5.2$ Hz), 2.29 (3H, s), 2.00–1.98 (2H, m).

【0649】

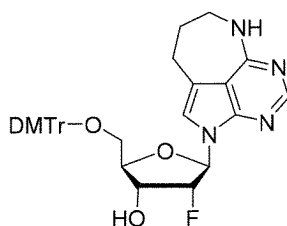
20

実施例26:

2-{5-O-[ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メチル]-2-デオキシ-2-フルオロ- β -D-リボフラノシル}-6,7,8,9-テトラヒドロ-2H-2,3,5,6-テトラアザベンゾ[c,d]アズレン (式(VIII'))の化合物に相当)の合成

【0650】

【化245】



30

【0651】

(工程8)

実施例25で得られた化合物(2.80g, 9.08mmol)のピリジン(8.4mL)溶液に4,4-ジメトキシトリチルクロリド(3.98g)を添加し、室温で7時間攪拌した。反応液にトルエン(56mL)及び水(15mL)を添加後分液し、有機層を水(15mL)で2回洗浄した。有機層を減圧濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン／酢酸エチル)にて精製し、目的化合物(5.65g, 9.25mmol, 収率101.9%)を得た。

40

【0652】

MS (ESI) m/z : 611 $[M+H]^+$.

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 8.22 (1H, s), 7.45–7.42 (2H, m), 7.34–7.30 (4H, m), 7.29–7.25 (2H, m), 7.24–7.19 (1H, m), 6.97 (1H, s), 6.83–6.79 (2H, m), 6.46 (1H, dd, $J=18.3, 2.3$ Hz), 5.65 (1H, dd, $J=4.0, 2.3$ Hz), 5.35 (1H, ddd, $J=53.3, 4.6, 2.3$ Hz).

50

z), 4.73 (1H, ddd, J=17.8, 6.9, 5.2 Hz), 4.14–4.10 (1H, m), 3.79 (3H, s), 3.78 (3H, s), 3.57 (1H, dd, J=10.9, 2.9 Hz), 3.52–3.49 (1H, m), 3.42 (1H, dd, J=10.9, 3.4 Hz), 2.76–2.66 (2H, m), 2.04–1.96 (2H, m).

【0653】

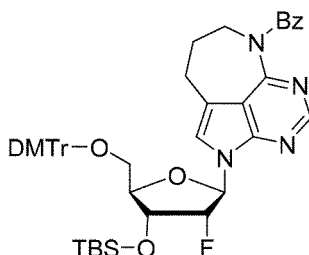
実施例 27:

6-ベンゾイル-2-{5-O-[ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メチル]-3-O-[tert-ブチル(ジメチル)シリル]-2-デオキシ-2-フルオロ-β-D-リボフラノシル}-6,7,8,9-テトラヒドロ-2H-2,3,5,6-テトラアザベンゾ[c,d]アズレン (式(XXVII)の化合物に相当)の合成

10

【0654】

【化246】



20

【0655】

(工程9)

実施例 26 で得られた化合物 (50.0 mg, 0.0819 mmol) のピリジン (0.15 mL) 溶液にトリフルオロメタンスルホン酸 tert-ブチルジメチルシリル (0.038 mL, 0.165 mmol) を添加し、30 分攪拌した後、塩化ベンゾイル (0.019 mL, 0.165 mmol) を添加し、2 時間攪拌した。トルエン (0.5 mL) および水 (0.5 mL) を添加後分液し、得られた有機層を水 (0.5 mL) で 2 回洗浄を行なった後に減圧下で濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル) にて精製し、目的化合物 (56.4 mg, 0.0680 mmol, 収率 83.1%) を得た。

30

【0656】

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.11 (1H, s), 7.42–7.39 (2H, m), 7.35 (1H, s), 7.32–7.20 (10H, m), 7.16–7.12 (2H, m), 6.82–6.77 (4H, m), 6.46 (1H, dd, J=16.0, 2.9 Hz), 5.34 (1H, ddd, J=52.7, 4.6, 2.9 Hz), 4.77 (1H, ddd, J=16.0, 6.3, 4.6 Hz), 4.28–4.24 (2H, m), 4.18–4.14 (1H, m), 3.78 (3H, s), 3.78 (3H, s), 3.59 (1H, dd, J=10.9, 2.9 Hz), 3.24 (1H, dd, J=10.9, 3.4 Hz), 2.88–2.75 (2H, m), 2.21–2.15 (2H, m).

40

【0657】

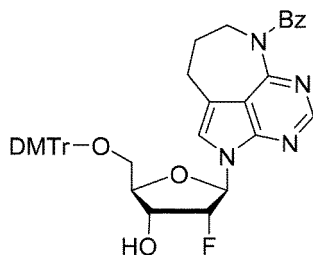
実施例 28:

6-ベンゾイル-2-{5-O-[ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メチル]-2-デオキシ-2-フルオロ-β-D-リボフラノシル}-6,7,8,9-テトラヒドロ-2H-2,3,5,6-テトラアザベンゾ[c,d]アズレン (式(VIII)の化合物に相当)の合成

【0658】

50

【化 2 4 7】



10

【0 6 5 9】

(工程 1 0)

実施例 2 7 で得られた化合物 (15.0 mg, 0.0181 mmol) のテトラヒドロフラン (0.075 mL) 溶液にテトラブチルアンモニウムフルオリドのテトラヒドロフラン溶液 (1 M, 0.0090 mL, 0.009 mmol) を添加し、室温で 1.5 時間攪拌した。トルエン (0.3 mL)、飽和塩化アンモニウム水溶液 (0.3 mL) を加え、分液し、得られた有機層を飽和塩化アンモニウム水溶液 (0.3 mL) にて洗浄し、有機層を減圧下濃縮することで目的化合物 (12.2 mg, 0.0171 mmol, 収率 94.5%) を得た。

20

【0 6 6 0】

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 8.09 (1H, s), 7.44–7.41 (2H, m), 7.35–7.18 (13H, m), 6.84–6.80 (4H, m), 6.52 (1H, dd, $J=17.2, 2.3$ Hz), 5.40 (1H, ddd, $J=53.3, 4.0, 2.3$ Hz), 4.77 (1H, ddd, $J=16.6, 6.3, 4.6$ Hz), 4.30–4.22 (2H, m), 4.18–4.14 (1H, m), 3.79 (3H, s), 3.78 (3H, s), 3.59 (1H, dd, $J=10.9, 2.9$ Hz), 3.24 (1H, dd, $J=10.9, 3.4$ Hz), 2.85–2.75 (2H, m), 2.21–2.14 (2H, m).

【0 6 6 1】

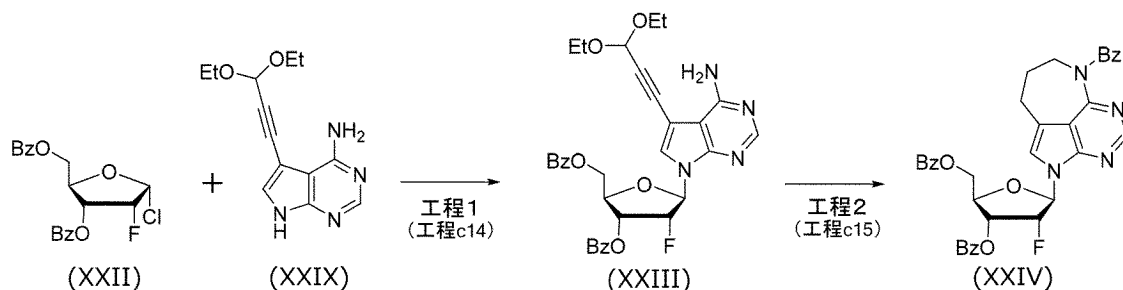
C-3 化合物 (XXIV) の合成

30

上記の合成スキーム C-2 中の化合物 (XXIV) は、以下のスキームに従って合成することもできる。

【合成スキーム C-3】

【化 2 4 8】



40

【0 6 6 2】

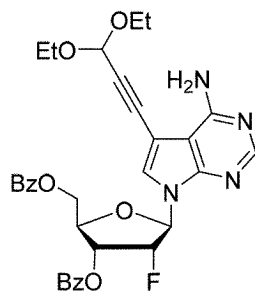
実施例 2 9 :

7-(3,5-ジエトキシベンゾイル-2-デオキシ-2-フルオロ-β-D-リボフラノシル)-5-(3,3-ジエトキシプロパ-1-イン-1-イル)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-4-アミン (式 (XXXXII) の化合物に相当) の合成

【0 6 6 3】

50

【化 2 4 9】



10

【0 6 6 4】

(工程 1)

実施例 17 で得た化合物 (132.2 mg, 0.508 mmol) のアセトニトリル (2 mL) 溶液に炭酸セシウム (210.1 mg, 0.595 mmol) を添加し、15 分攪拌した後に、実施例 23 で得た化合物 (100.0 mg, 0.264 mmol) を添加し、17 時間攪拌した。反応液に酢酸 (50 μ L) を添加後、酢酸エチル (1 mL) 及び水 (1 mL) を加えて分液した。水層を酢酸エチル (1 mL) で抽出後、得られた有機層を合致し、減圧下で濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル) にて精製し、目的化合物 (78.7 mg, 0.131 mmol, 収率 49.5%) を得た。

20

【0 6 6 5】

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 8.28 (1H, s), 8.10–8.07 (2H, m), 8.01–7.97 (2H, m), 7.64–7.59 (1H, m), 7.58–7.53 (1H, m), 7.49–7.44 (2H, m), 7.44–7.39 (2H, m), 7.31 (1H, s), 6.31 (1H, dd, $J=20.0, 1.7$ Hz), 5.97–5.79 (3H, m), 5.60 (2H, br s), 5.48 (1H, s), 4.79 (1H, dd, $J=12.0, 3.4$ Hz), 4.76–4.72 (1H, m), 4.64 (1H, dd, $J=12.0, 4.0$ Hz), 3.83–3.75 (2H, m), 3.69–3.62 (2H, m), 1.30–1.25 (6H, m)。

【0 6 6 6】

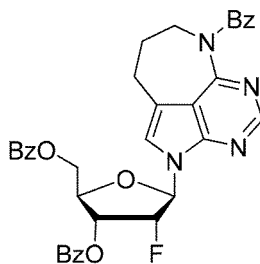
30

実施例 30:

6-ベンゾイル-2-(3,5-ジ-*O*-ベンゾイル-2-デオキシ-2-フルオロ- β -D-リボフラノシル)-6,7,8,9-テトラヒドロ-2H-2,3,5,6-テトラアザベンゾ[*cd*]アズレン (式 (XXIV) の化合物に相当) の合成

【0 6 6 7】

【化 2 5 0】



40

【0 6 6 8】

(工程 2)

実施例 29 で得られた化合物 (78.7 mg, 0.131 mmol) のエタノール (3.5 mL) 溶液に 10% パラジウム炭素 (34.4 mg, 水分 48%) を加え、水素雰囲気下 (300 kPa)、室温で 23 時間攪拌後、反応液をさらに、水素雰囲気下 (500

50

kPa)、40℃で10時間攪拌した。反応系を窒素置換後、パラジウム炭素をろ過し、エタノール(1mL)で洗浄した。ろ液を減圧下濃縮後、酢酸(1.4mL)、水(70μL)および10%パラジウム炭素(34.4mg, 水分48%)を加え、水素雰囲気下(500kPa)、50℃で14時間攪拌した。反応系を窒素置換後、パラジウム炭素をろ過し、酢酸エチル(1mL)で洗浄した。ろ液を減圧下濃縮後、酢酸エチル(1.5mL)、水(1.5mL)、リン酸カリウム(0.15g)を加え分液し、有機層を減圧下濃縮した。残渣にピリジン(1.5mL)、塩化ベンゾイル(60μL, 0.51mmol)および4-ジメチルアミノピリジン(3.0mg, 0.025mmol)を加え、50℃で2時間攪拌した後、塩化ベンゾイル(30μL, 0.26mmol)および4-ジメチルアミノピリジン(8.5mg, 0.070mmol)を加え、70℃で1時間攪拌した。反応液を室温に冷却し、16時間攪拌した後、酢酸エチル(2mL)及び水(2mL)を添加して分液し、有機層を10%リン酸カリウム水溶液(1mL)で2回洗浄した。有機層を減圧濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン/酢酸エチル)にて精製し、目的化合物(50.8mg, 0.0819mmol, 収率62.5%)を得た。

10

20

30

40

50

【0669】

参考例5：抗CD70抗体1の作製

抗CD70抗体1はWO2004/073656を参照して作製した。実施例で使用した抗CD70抗体1は、アイソタイプがIgG1であり、LALA変異を有する。本実施例で使用した抗CD70抗体1の軽鎖アミノ酸配列(配列番号1)及び重鎖アミノ酸配列(配列番号2)を図2に示す。配列番号1(図2)に示される軽鎖配列中で、1~112番目のアミノ酸残基からなるアミノ酸配列は軽鎖可変領域であり、配列番号2(図2)に示される重鎖配列中で、1~118番目のアミノ酸残基からなるアミノ酸配列は重鎖可変領域である。当該抗体のCDRL1のアミノ酸配列(配列番号13)、CDRL2のアミノ酸配列(配列番号14)、CDRL3のアミノ酸配列(配列番号15)、CDRH1のアミノ酸配列(配列番号16)、CDRH2のアミノ酸配列(配列番号17)、及びCDRH3のアミノ酸配列(配列番号18)を図8に示す。

【0670】

参考例6：抗CD70抗体2の作製

抗CD70抗体2はWO2007/038637を参照して作製した。本実施例で使用した抗CD70抗体2は、アイソタイプがIgG1であり、LALA変異を有する。本実施例で使用した抗CD70抗体2の軽鎖アミノ酸配列(配列番号3)及び重鎖アミノ酸配列(配列番号4)を図3に示す。配列番号3(図3)に示される軽鎖配列中で、1~108番目のアミノ酸残基からなるアミノ酸配列は軽鎖可変領域であり、配列番号4(図3)に示される重鎖配列中で、1~118番目のアミノ酸残基からなるアミノ酸配列は重鎖可変領域である。当該抗体のCDRL1のアミノ酸配列(配列番号19)、CDRL2のアミノ酸配列(配列番号20)、CDRL3のアミノ酸配列(配列番号21)、CDRH1のアミノ酸配列(配列番号22)、CDRH2のアミノ酸配列(配列番号23)、及びCDRH3のアミノ酸配列(配列番号24)を図9に示す。

【0671】

参考例7：抗TROP2抗体1の作製

抗TROP2抗体1はWO2015/098099を参照して作製した。本実施例で使用した抗TROP2抗体1は、アイソタイプがIgG1である。本実施例で使用した抗TROP2抗体1の軽鎖アミノ酸配列(配列番号5)及び重鎖アミノ酸配列(配列番号6)を図4に示す。配列番号5(図4)に示される軽鎖配列中で、1~108番目のアミノ酸残基からなるアミノ酸配列は軽鎖可変領域であり、配列番号6(図4)に示される重鎖配列中で、1~121番目のアミノ酸残基からなるアミノ酸配列は重鎖可変領域である。当該抗体のCDRL1のアミノ酸配列(配列番号25)、CDRL2のアミノ酸配列(配列番号26)、CDRL3のアミノ酸配列(配列番号27)、CDRH1のアミノ酸配列(配列番号28)、CDRH2のアミノ酸配列(配列番号29)、及びCDRH3のアミノ

酸配列（配列番号30）を図10に示す。

【0672】

参考例8：抗TROP2抗体2の作製

抗TROP2抗体2はWO2015/098099を参照して作製した。本実施例で使用した抗TROP2抗体2は、アイソタイプがIgG1である。抗TROP2抗体2は、抗TROP2抗体1にLALA変異を導入した。本実施例で使用した抗TROP2抗体2の軽鎖アミノ酸配列（配列番号7）及び重鎖アミノ酸配列（配列番号8）を図5に示す。配列番号7（図5）に示される軽鎖配列中で、1～108番目のアミノ酸残基からなるアミノ酸配列は軽鎖可変領域であり、配列番号8（図5）に示される重鎖配列中で、1～121番目のアミノ酸残基からなるアミノ酸配列は重鎖可変領域である。当該抗体のCDRL1のアミノ酸配列（配列番号31）、CDRL2のアミノ酸配列（配列番号32）、CDRL3のアミノ酸配列（配列番号33）、CDRH1のアミノ酸配列（配列番号34）、CDRH2のアミノ酸配列（配列番号35）、及びCDRH3のアミノ酸配列（配列番号36）を図11に示す。

10

【0673】

参考例9：抗EGFR抗体1の作製

抗EGFR抗体1は、ベクティビックス点滴静注100mg審査結果報告書（平成22年3月5日 医薬食品局審査管理課）を参照して作製した。本実施例で使用した抗EGFR抗体1は、アイソタイプがIgG1であり、LALA変異を有する。本実施例で使用した抗EGFR抗体1の軽鎖アミノ酸配列（配列番号9）及び重鎖アミノ酸配列（配列番号10）を図6に示す。配列番号9（図6）に示される軽鎖配列中で、1～108番目のアミノ酸残基からなるアミノ酸配列は軽鎖可変領域であり、配列番号10（図6）に示される重鎖配列中で、1～119番目のアミノ酸残基からなるアミノ酸配列は重鎖可変領域である。当該抗体のCDRL1のアミノ酸配列（配列番号37）、CDRL2のアミノ酸配列（配列番号38）、CDRL3のアミノ酸配列（配列番号39）、CDRH1のアミノ酸配列（配列番号40）、CDRH2のアミノ酸配列（配列番号41）、及びCDRH3のアミノ酸配列（配列番号42）を図12に示す。CDR配列はWO1998/050433を参照した。

20

【0674】

参考例10：抗EGFR抗体2の作製

抗EGFR抗体2はWO2002/092771を参照して作製した。本実施例で使用した抗EGFR抗体2は、アイソタイプがIgG1であり、LALA変異を有する。本実施例で使用した抗EGFR抗体2の軽鎖アミノ酸配列（配列番号11）及び重鎖アミノ酸配列（配列番号12）を図7に示す。配列番号11（図7）に示される軽鎖配列中で、1～108番目のアミノ酸残基からなるアミノ酸配列は軽鎖可変領域であり、配列番号12（図7）に示される重鎖配列中で、1～116番目のアミノ酸残基からなるアミノ酸配列は重鎖可変領域である。当該抗体のCDRL1のアミノ酸配列（配列番号43）、CDRL2のアミノ酸配列（配列番号44）、CDRL3のアミノ酸配列（配列番号45）、CDRH1のアミノ酸配列（配列番号46）、CDRH2のアミノ酸配列（配列番号47）、及びCDRH3のアミノ酸配列（配列番号48）を図13に示す。

30

40

【0675】

参考例11：抗HER2抗体の作製

本明細書において、「トラスツズマブ」はHERCEPTIN（登録商標）、huMAb4D5-8、rhumaB4D5-8と呼ばれることもあり、配列番号49に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖及び配列番号50に記載のアミノ酸配列からなる重鎖を有するヒト化IgG1抗体である。アミノ酸配列はUS5821337を参照した。トラスツズマブの軽鎖アミノ酸配列（配列番号49）及び重鎖アミノ酸配列（配列番号50）を図14に示す。

【0676】

抗HER2抗体は、トラスツズマブの重鎖アミノ酸配列のEUインデックス234番目

50

及び 235 番目のロイシン（L）をアラニン（A）に変異（本明細書中、LALA 変異ともいう）させた、トラスツズマブの定常領域改変 IgG1 抗体（本明細書中、改変抗 HER2 抗体ともいう）を設計し、作製することができる。改変抗 HER2 抗体の軽鎖アミノ酸配列（配列番号 49）及び重鎖アミノ酸配列（配列番号 51）を図 15 に示す。

【0677】

参考例 12：抗 HER2 抗体 2 の作製

「ペルツズマブ」は PERJETA（登録商標）と呼ばれることもあり、配列番号 52 に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖及び配列番号 53 に記載のアミノ酸配列からなる重鎖を有するヒト化 IgG1 抗体である。アミノ酸配列は WO2004/008099 を参照した。本明細書では抗 HER2 抗体 2 ともいう。ペルツズマブの軽鎖アミノ酸配列（配列番号 52）及び重鎖アミノ酸配列（配列番号 53）を図 16 に示す。

10

【0678】

抗 HER2 抗体 2 は、LALA 変異に加え、重鎖アミノ酸配列の EU インデックス 214 番目のリシン（K）をアルギニン（R）に変異させた G1m3 アロタイプの定常領域を有する抗 HER2 抗体 2 を設計し、作製することができる（本明細書中、改変抗 HER2 抗体 2 ともいう）。本実施例で使用した改変抗 HER2 抗体 2 の軽鎖アミノ酸配列（配列番号 52）及び重鎖アミノ酸配列（配列番号 54）を図 17 に示す。当該抗体の CDR L1 のアミノ酸配列（配列番号 57）、CDR L2 のアミノ酸配列（配列番号 58）、CDR L3 のアミノ酸配列（配列番号 59）、CDRH1 のアミノ酸配列（配列番号 60）、CDRH2 のアミノ酸配列（配列番号 61）、及び CDRH3 のアミノ酸配列（配列番号 62）を図 20 に示す。

20

【0679】

参考例 13：抗 CDH6 抗体の作製

抗 CDH6 抗体は WO2018/212136 を参照して作製することができる。本実施例で使用した抗 CDH6 抗体は、アイソタイプが IgG1 であり、LALA 変異に加え、重鎖アミノ酸配列の EU インデックス 329 番目のプロリン（P）をグリシン（G）にした変異を有する。本実施例で使用した抗 CDH6 抗体の軽鎖アミノ酸配列（配列番号 55）及び重鎖アミノ酸配列（配列番号 56）を図 18 に示す。配列番号 55（図 18）に示される軽鎖配列中で、1～107 番目のアミノ酸残基からなるアミノ酸配列は軽鎖可変領域であり、配列番号 56（図 18）に示される重鎖配列中で、1～122 番目のアミノ酸残基からなるアミノ酸配列は重鎖可変領域である。当該抗体の CDR L1 のアミノ酸配列（配列番号 63）、CDR L2 のアミノ酸配列（配列番号 64）、CDR L3 のアミノ酸配列（配列番号 65）、CDRH1 のアミノ酸配列（配列番号 66）、CDRH2 のアミノ酸配列（配列番号 67）、及び CDRH3 のアミノ酸配列（配列番号 68）を図 21 に示す。

30

【手続補正 2】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

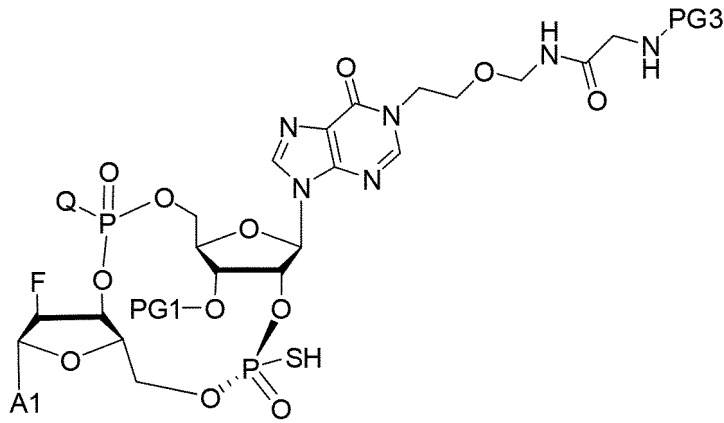
40

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式（Rp-VII）：

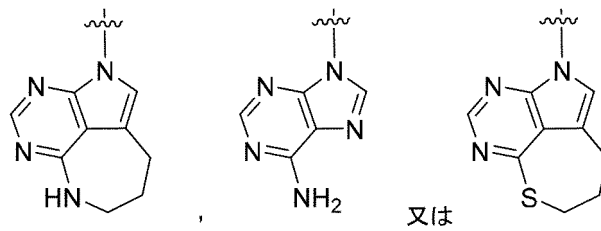
【化 1】



10

(Rp-VII)

【式中、
A 1 は、
【化 2】



20

であり、

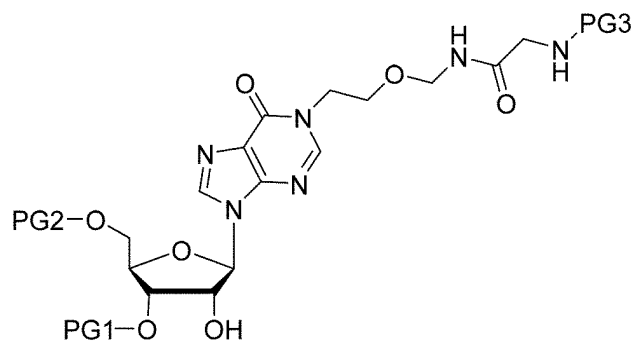
Q は、チオール基又はヒドロキシ基であり、
PG 1 は、ヒドロキシ基の保護基であり、及び
PG 3 は、アミノ基の保護基である。]

で表される化合物又はその塩の製造方法であって、

30

(工程 a 1) 式 (I) :

【化 3】



40

(I)

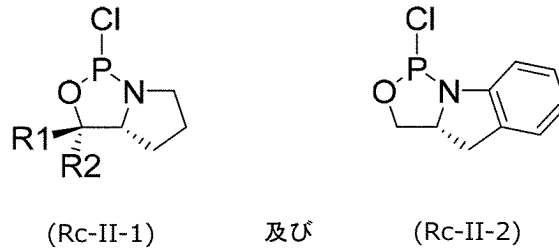
【式中、

PG 1 及び PG 3 は、上に定義したとおりであり、及び
PG 2 はヒドロキシ基の保護基である。]

で表される化合物を、以下の式 (Rc-III-1) 及び (Rc-III-2) からなる群から選択される光学活性なホスフィチル化剤 (Rc-III) :

50

【化 4】



【式中、

10

R 1 は、水素又はメチルであり、

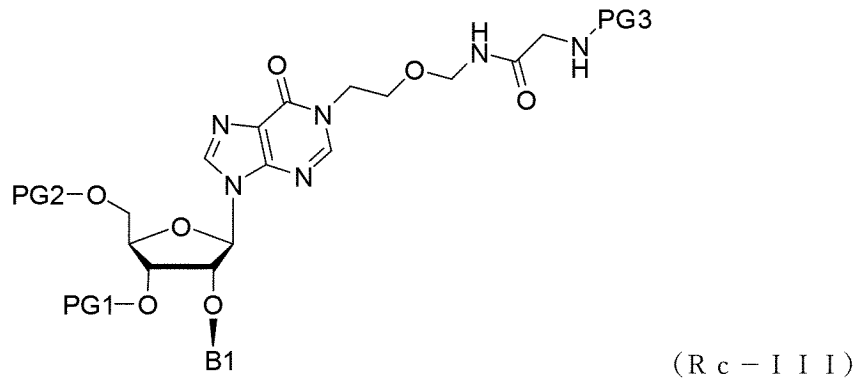
R 2 は、水素、炭素数 1 ～ 3 のアルキル又はフェニルであり、

ここで、前記アルキルは、非置換であるか、又は 1 つ以上のフェニル、トシル若しくはジフェニルメチルシリルで置換されており、及び、

前記フェニルは、非置換であるか、ニトロ若しくはメトキシで置換されている。]

と反応させて、式 (R c - I I I) :

【化 5】



20

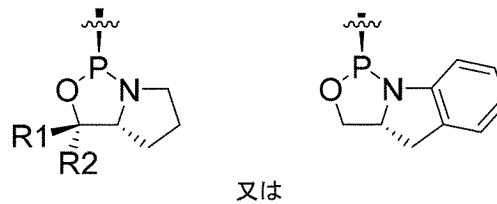
【式中、

P G 1 、 P G 2 及び P G 3 は、上に定義したとおりであり、及び

30

B 1 は、

【化 6】



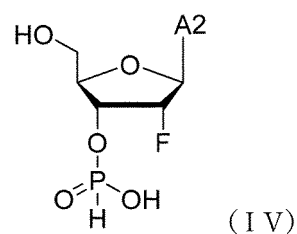
であり、R 1 及び R 2 は、上で定義したとおりである。]

40

で表される化合物を得る工程、

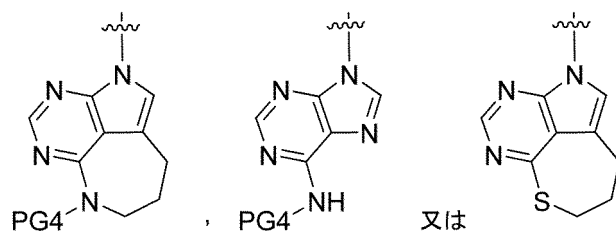
(工程 a 2) 得られた式 (R c - I I I) の化合物を、式 (I V) :

【化 7】



50

[式中、
A 2 は、
【化 8】



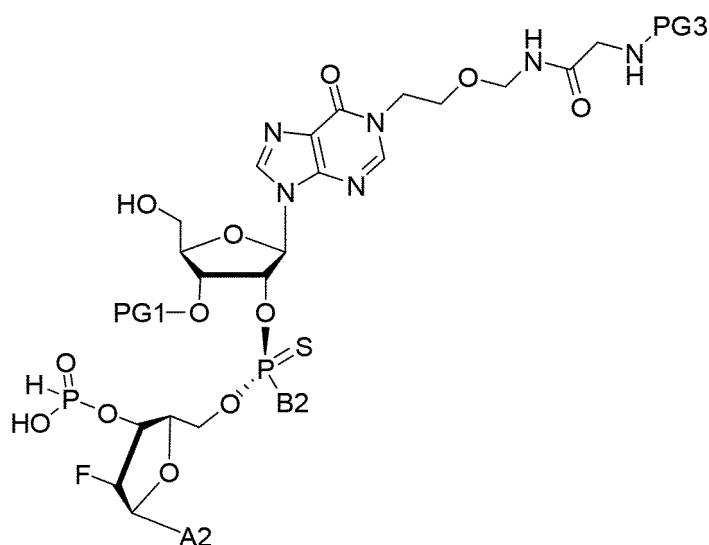
10

であり、及び

PG 4 は、アミノ基の保護基である。]

で表される化合物又はその塩と、活性化剤の存在下で反応させ、次いで、アシル化剤又はアルコキシカルボニル化剤で処理し、さらにチオ化剤と反応させ、続いて PG 2 を脱保護して、式 (R c - V) :

【化 9】



20

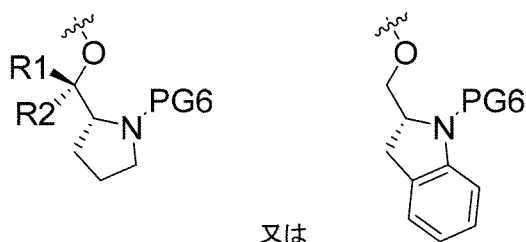
30

[式中、

A 2、PG 1 及び PG 3 は、上に定義したとおりであり、

B 2 は、

【化 10】



40

であり、及び

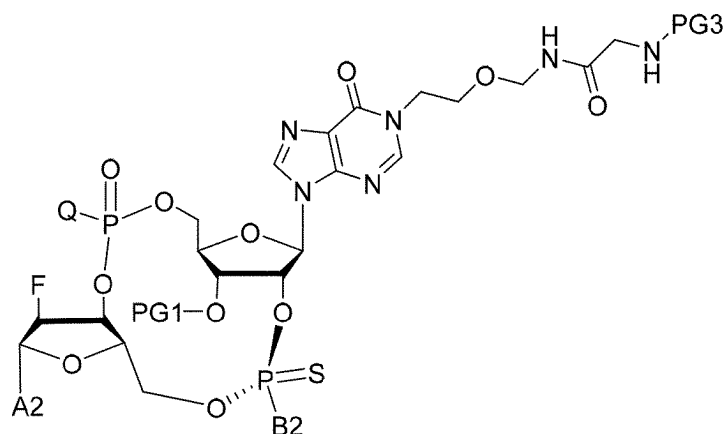
PG 6 は、アミノ基の保護基である。]

で表される化合物又はその塩を得る工程、

(工程 a 3) 得られた式 (R c - V) の化合物又はその塩を、縮合剤の存在下で環化させ、次いで、チオ化剤又は酸化剤と反応させて、式 (R c - V I) :

50

【化 1 1】



(Rc-VI)

10

【式中、

A 2、B 2、Q、PG 1 及び PG 3 は、上に定義したとおりである。】

で表される化合物又はその塩を得る工程、並びに

(工程 a 4) 得られた式 (Rc-VI) の化合物のチオリン酸部位の保護基である B 2、及び A 2 中の保護基である PG 4 を脱保護して、式 (Rp-VII) の化合物又はその塩を得る工程

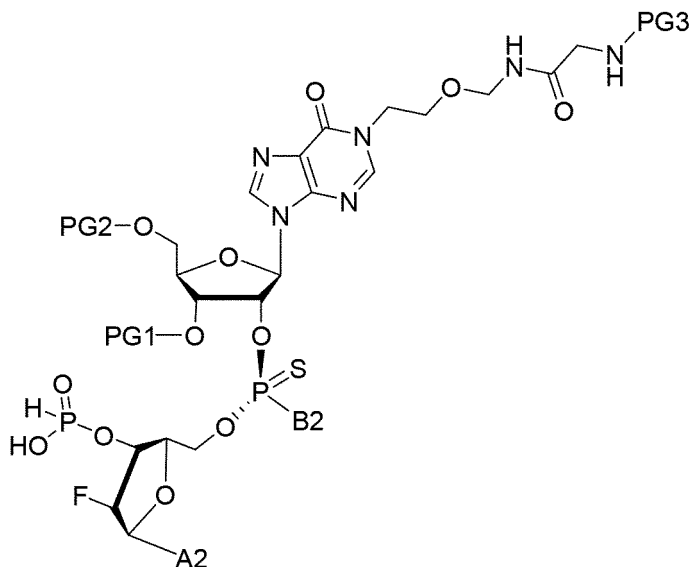
20

を含む、方法。

【請求項 2】

工程 a 2 において、チオ化剤と反応させた後で、PG 2 を脱保護する前に得られる中間体が、式 (Rc-V0) :

【化 1 2】



(Rc-V0)

30

40

【式中、

A 2、B 2、PG 1、PG 2 及び PG 3 は、請求項 1 に定義したとおりである。】

で表される化合物又はその塩である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

工程 a 2 における活性化剤が、1-フェニルイミダゾール、ベンゾイミダゾール、1-メチルベンゾイミダゾール、1-シアノメチルピペリジン、1-ピロリジンアセトニトリル、1-(シアノメチル)イミダゾール、及びそれらの塩からなる群から選択される少なくとも 1 つである、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

50

【請求項 4】

工程 a 2 におけるアシル化剤又はアルコキシカルボニル化剤が、無水酢酸、N-スクシンイミジルアセテート、ペンタフルオロフェニルアセテート、エチルトリフルオロアセテート、メチルトリフルオロアセテート、ペンタフルオロフェニルトリフルオロアセテート、トリフルオロアセチルベンゾトリアゾール、1-トリフルオロアセチルイミダゾール、無水安息香酸、ペンタフルオロフェニルベンゾエート、1-tert-ブトキシカルボニル-1, 2, 4-トリアゾール、N-tert-ブトキシカルボニルイミダゾール、ジ-tert-ブチルジカーボネート、9-フルオレニルメチルペンタフルオロフェニルカーボネート、1-[(9H-フルオレン-9-イルメトキシ)カルボニロキシ]ベンゾトリアゾール、N-[(9H-フルオレン-9-イルメトキシ)カルボニロキシ]スクシンイミド、N-(2, 2, 2-トリクロロエトキシカルボニロキシ)スクシンイミド、N-カルボベンジロキシスクシンイミド、ジベンジルジカーボネート、2-(トリメチルシリル)エチル-3-ニトロ-1H-1, 2, 4-トリアゾール-1-カルボキシレート、N-[2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニロキシ]スクシンイミド、N-エトキシカルボニルフタルイミド、及びメチルイミダゾール-1-カルボキシレートからなる群から選択される少なくとも1つであり、及び／又は

10

工程 a 2 におけるチオ化剤が、キサンタンヒドリド、ビス(フェニルアセチル)ジスルフィド、3H-1, 2-ベンゾジチオール-3-オン-1, 1-ジオキシド、5-フェニル-3H-1, 2, 4-ジチアゾール-3-オン及び[(N, N-ジメチルアミノメチリデン)アミノ]-3H-1, 2, 4-ジチアゾリン-3-チオンからなる群から選択される少なくとも1つであり、及び／又は

20

工程 a 3 における縮合剤が、2-クロロ-5, 5-ジメチル-1, 3, 2-ジオキサホスホリナン 2-オキシド、ジメチルクロロホスフェート、ジエチルクロロホスフェート、2-クロロ-2-オキソ-1, 3, 2-ジオキサホスホラン、1H-ベンゾトリアゾール-1-イルオキシトリピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスフェート、クロロトリピロリジノヘキサフルオロホスフェート、プロモトリピロリジノヘキサフルオロホスフェート、及びプロピルホスホン酸無水物からなる群から選択される少なくとも1つであり、及び／又は

工程 a 3 におけるチオ化剤が、キサンタンヒドリド、ビス(フェニルアセチル)ジスルフィド、3H-1, 2-ベンゾジチオール-3-オン-1, 1-ジオキシド、5-フェニル-3H-1, 2, 4-ジチアゾール-3-オン及び[(N, N-ジメチルアミノメチリデン)アミノ]-3H-1, 2, 4-ジチアゾリン-3-チオンからなる群から選択される少なくとも1つであり、及び／又は

30

工程 a 3 における酸化剤が、ヨウ素、tert-ブチルヒドロペルオキシド、3-クロロ過安息香酸、過酸化水素、過ヨウ素酸、過マンガン酸カリウム及び酸素からなる群から選択される少なくとも1つである、請求項 1～3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5】

PG 4 が、ベンジル、ベンゾイル、tert-ブトキシカルボニル、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル、アリルオキシカルボニル、2, 2, 2-トリクロロエトキシカルボニル、ベンジルオキシカルボニル、2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニル、又はエトキシカルボニルであり、及び／又は

40

PG 6 が、アセチル、トリフルオロアセチル、ベンゾイル、tert-ブトキシカルボニル、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル、アリルオキシカルボニル、2, 2, 2-トリクロロエトキシカルボニル、ベンジルオキシカルボニル、2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニル、メトキシカルボニル、又はエトキシカルボニルである、請求項 1～4 のいずれか 1 項に記載の方法。

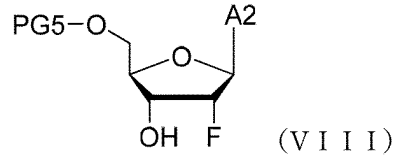
【請求項 6】

前記式 (I V) の化合物又はその塩が、以下の工程：

(工程 a 5) 式 (V I I I)：

50

【化 1 3】



〔式中、

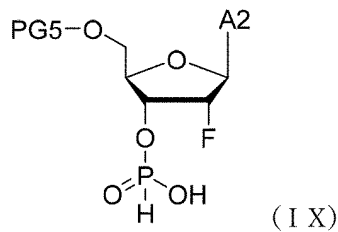
A 2 は、請求項 1 に定義したとおりであり、及び

P G 5 は、ヒドロキシ基の保護基である。〕

10

で表される化合物又はその塩を、亜リン酸エステルと反応させて、式 (IX) :

【化 1 4】



20

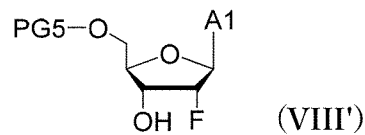
〔式中、A 2 及び P G 5 は、上に定義したとおりである。〕

で表される化合物又はその塩を得る工程、

或いは、

(工程 a 5 ') 式 (VIII') :

【化 1 5】



30

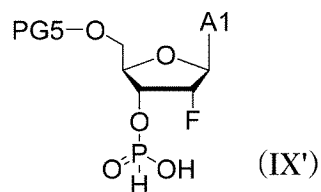
〔式中、

A 1 は請求項 1 に定義したとおりであり、及び

P G 5 は上に定義したとおりである。〕

で表される化合物又はその塩を、亜リン酸エステルと反応させて、式 (IX') :

【化 1 6】



40

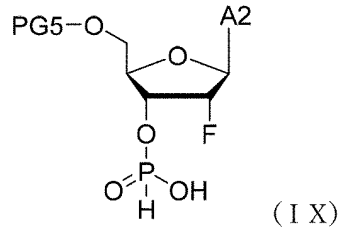
〔式中、A 1 及び P G 5 は、上に定義したとおりである。〕

で表される化合物又はその塩を得る工程、及び

(工程 a 5 ' ') 得られた式 (IX') の化合物又はその塩を、アシル化剤又はアルコキシカルボニル化剤と反応させて、式 (IX) :

50

【化 17】



〔式中、A2及びPG5は、上に定義したとおりである。〕

10

で表される化合物又はその塩を得る工程
並びに

（工程a6）工程a5又は工程a5'で得られた式（IX）の化合物の5'水酸基の保護基であるPG5を脱保護して、式（IV）の化合物又はその塩を得る工程
によって製造される、請求項1～5のいずれか1項に記載の方法。

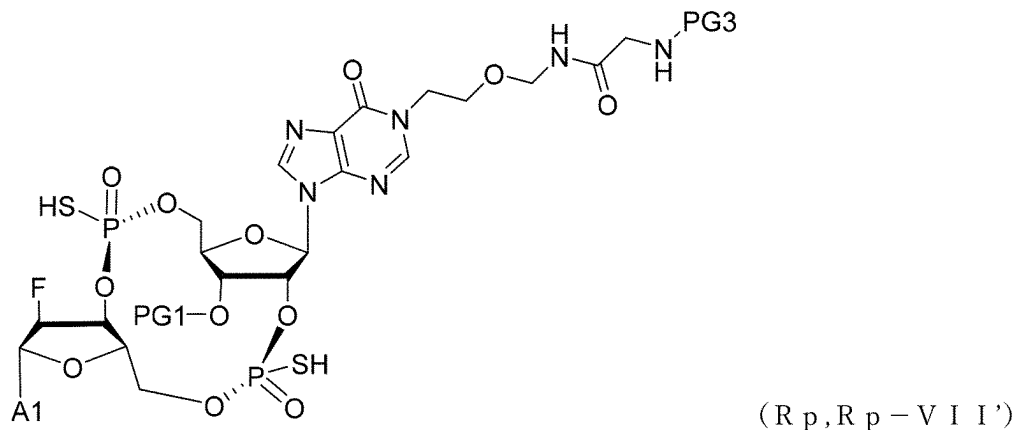
【請求項7】

請求項1に記載の工程a3において、前記チオ化剤を用いることによって、式（Rp-VII）の化合物（式中、Qがチオール基である。）又はその塩を得る工程、

請求項1に記載の工程a4において、得られた式（Rp-VII）の化合物（式中、Qはチオール基である。）を、その塩に変換する前に、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで処理するか、及び／又は、その塩に変換した後に、結晶化して、式（Rp, Rp-VII'）：

20

【化 18】



30

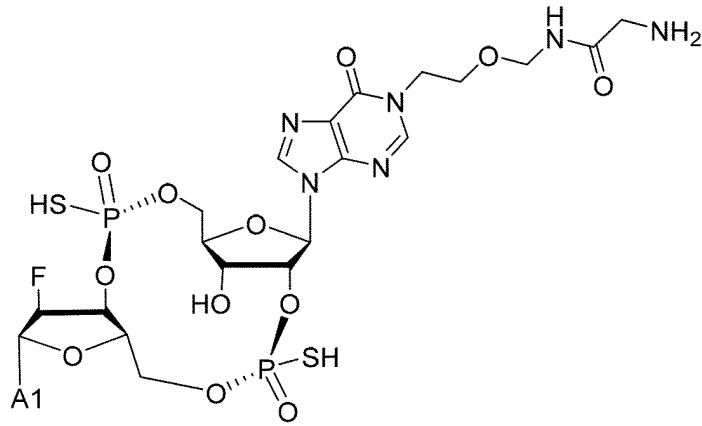
の化合物又はその塩を得る工程、

（工程a7）得られた式（Rp, Rp-VII'）の化合物の保護基であるPG1及びPG3を脱保護して、式（Rp, Rp-X）：

40

50

【化 1 9】

(R_p, R_p - X)

10

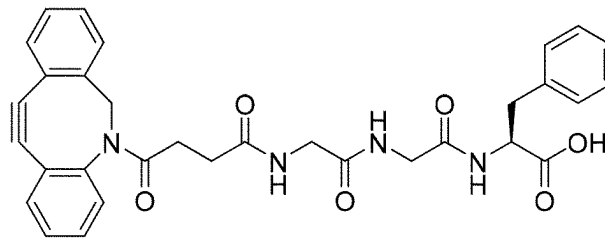
【式中、

A 1 は、請求項 1 に定義したとおりである。】

で表される化合物又はその塩を得る工程、

(工程 a 8) 得られた式 (R_p, R_p - X) の化合物又はその塩を、
式 (X I) :

【化 2 0】

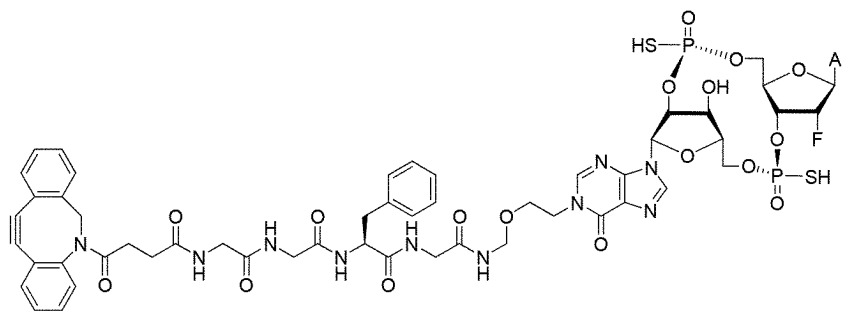


(X I)

20

で表される化合物又はその活性エステル体と縮合して、式 (R_p, R_p - X I I) :

【化 2 1】

(R_p, R_p - X I I)

30

40

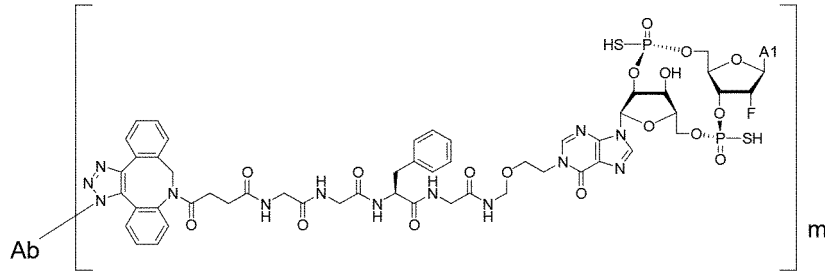
【式中、A 1 は、上に定義したとおりである。】

で表される化合物又はその塩を得る工程、及び

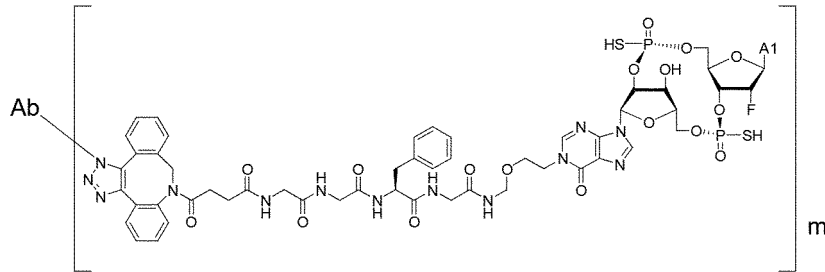
(工程 a 9) 得られた式 (R_p, R_p - X I I) の化合物又はその塩と、抗体又は該抗体の機能性断片 (以下、A b という。) とを結合させて、式 (R_p, R_p - X I I I) :

50

【化 2 2】



又は

(R_p, R_p-X I I I)

10

【式中、

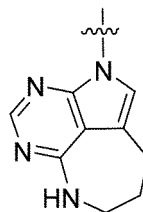
mは1から10の範囲であり、

Abの糖鎖は、任意にリモデリングされており、

Abは、修飾されていてもよいアミノ酸残基の側鎖から直接式(R_p, R_p-X I I I)の化合物に結合するか、又はAbの糖鎖又はリモデリングされた糖鎖から式(R_p, R_p-X I I I)の化合物に結合しており、

A1は、

【化 2 3】



30

である。]

で表される抗体-免疫賦活化剤コンジュゲート、又はそれらの混合物を得る工程を含む、請求項1～5のいずれか一項に記載の方法。

【請求項8】

抗体が、抗HER2抗体、抗HER3抗体、抗DLL3抗体、抗FAP抗体、抗CDH11抗体、抗CDH6抗体、抗A33抗体、抗CanAg抗体、抗CD19抗体、抗CD20抗体、抗CD22抗体、抗CD30抗体、抗CD33抗体、抗CD56抗体、抗CD70抗体、抗CD98抗体、抗TROP2抗体、抗CEA抗体、抗Crypto抗体、抗EphA2抗体、抗G250抗体、抗MUC1抗体、抗GPNMB抗体、抗Integrin抗体、抗PSMA抗体、抗Tenascin-C抗体、抗SLC44A4抗体、抗Mesothelin抗体、抗ENPP3抗体、抗CD47抗体、抗EGFR抗体、抗GPR20抗体、及び抗DR5抗体からなる群から選択される抗体である、請求項7に記載の方法。

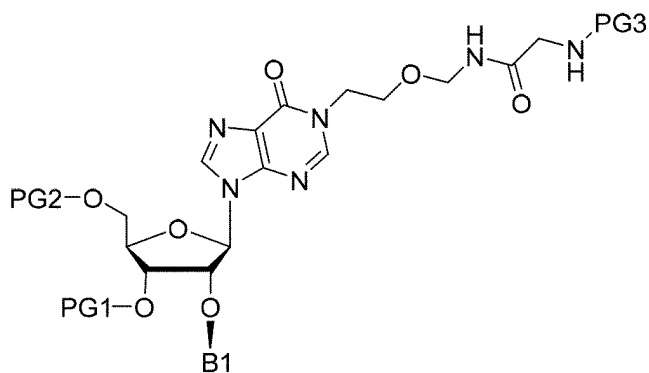
40

【請求項9】

式(R_c-I I I)：

50

【化 2 4】



(R c - I I I)

10

[式中、

B 1 は、請求項 1 に定義したとおりであり、

P G 1 は、tert-ブチルジメチルシリル、トリメチルシリル、トリエチルシリル、トリスプロピルシリル、又はtert-ブチルジフェニルシリルであり、

P G 2 は、4, 4'-ジメトキシトリチル、4-メトキシトリチル、2-クロロトリチル、又はトリチルであり、

P G 3 は、2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニル、tert-ブトキシカルボニル、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル、アリルオキシカルボニル、2, 2, 2-トリクロロエトキシカルボニル、又はベンジルオキシカルボニルである。]

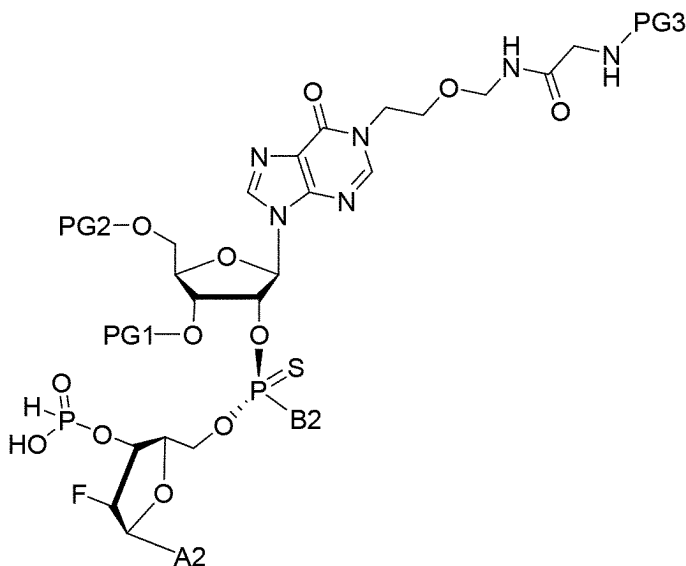
20

で表される化合物。

【請求項 1 0】

式 (R c - V 0) :

【化 2 5】



(R c - V 0)

30

40

[式中、

A 2 及び B 2 は、請求項 1 に定義したとおりであり、

P G 1 は、tert-ブチルジメチルシリル、トリメチルシリル、トリエチルシリル、トリスプロピルシリル、又はtert-ブチルジフェニルシリルであり、

P G 2 は、4, 4'-ジメトキシトリチル、4-メトキシトリチル、2-クロロトリチル、又はトリチルであり、

P G 3 は、2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニル、tert-ブトキシカルボニル、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル、アリルオキシカルボニル、2, 2, 2

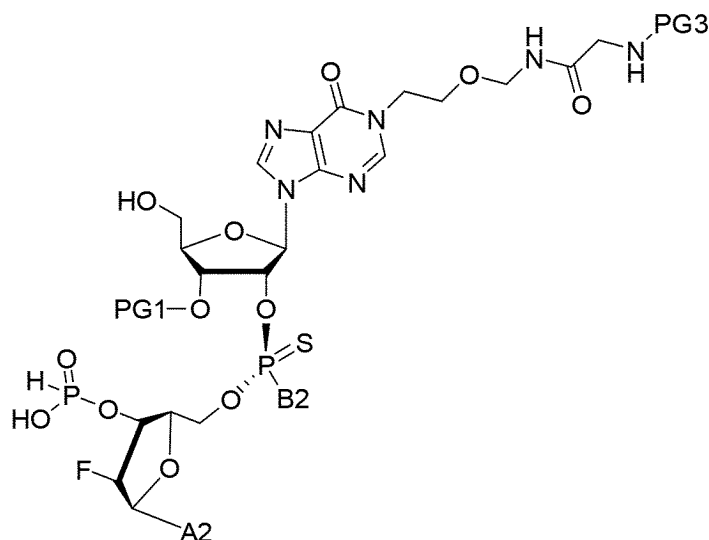
50

ートリクロロエトキシカルボニル、又はベンジルオキシカルボニルである。]
で表される化合物又はその塩。

【請求項 1 1】

式 (R c - V) :

【化 2 6】



(R c - V)

【式中、

A 2 及び B 2 は、請求項 1 に定義したとおりであり、

PG 1 は、tert-ブチルジメチルシリル、トリメチルシリル、トリエチルシリル、トリスプロピルシリル、又はtert-ブチルジフェニルシリルであり、

PG 3 は、2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニル、tert-ブトキシカルボニル、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル、アリルオキシカルボニル、2,2,2-トリクロロエトキシカルボニル、又はベンジルオキシカルボニルである。]

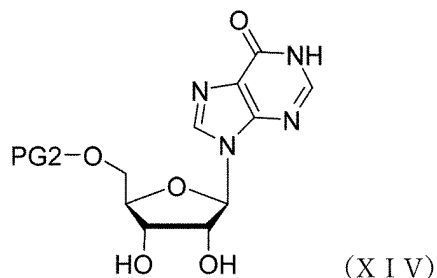
で表される化合物又はその塩。

【請求項 1 2】

前記式 (I) の化合物 (式中、PG 1 は、tert-ブチルジメチルシリルである。) が、以下の工程：

(工程 b 1) 式 (X I V) :

【化 2 7】



(X I V)

【式中、PG 2 は、請求項 1 に定義したとおりである。]

で表される化合物を、式 (X V) :

10

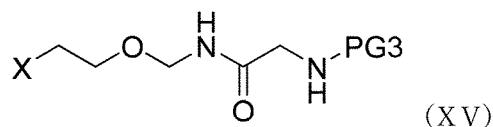
20

30

40

50

【化 2 8】



【式中、

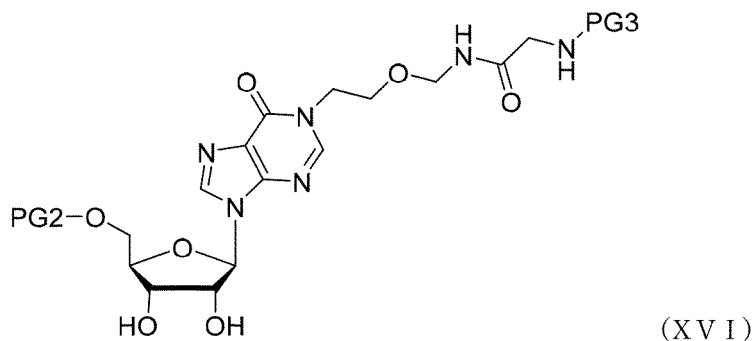
PG 3 は、請求項 1 に定義したとおりであり、及び

X は、Cl、Br、又は I である。】

で表される化合物と反応させて、式 (XVI) :

10

【化 2 9】



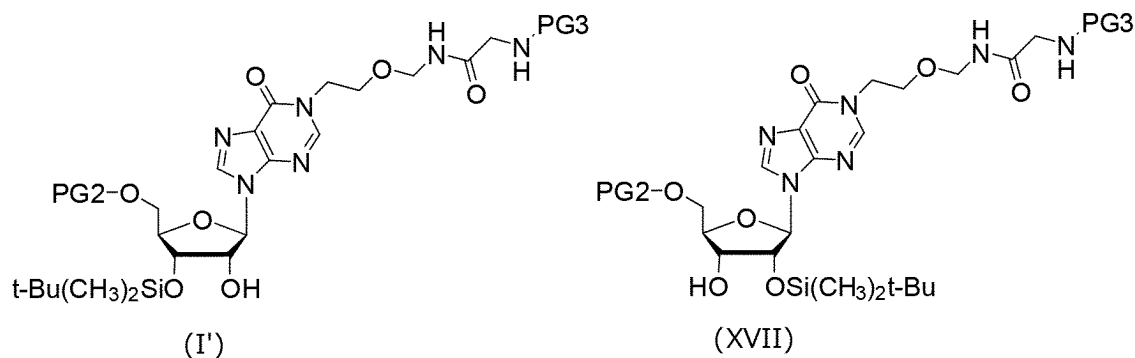
20

【式中、PG 2 及び PG 3 は、上に定義したとおりである。】

で表される化合物を得る工程、及び

(工程 b 2) 得られた式 (XVI) の化合物を、シリル化剤と反応させて、以下の式 (I') の化合物及び式 (XVII) の化合物との混合物 :

【化 3 0】



30

【式中、PG 2 及び PG 3 は、上に定義したとおりである。】

を得、次いで、塩基の存在下で、該混合物中の式 (XVII) の化合物を、式 (I') の化合物に変換して、式 (I') の化合物を得る工程

40

によって製造される、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 3】

工程 b 1 の反応が塩基の存在下で実施され、該塩基が、1, 1, 3, 3-テトラメチルグアニジン、トリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、又は 1, 8-ジアザビシクロ [5. 4. 0] -7-ウンデセンであり、及び／又は

工程 b 2 において、式 (XVI) の化合物とシリル化剤との反応を、第一の塩基の存在下で実施して、式 (I') の化合物と式 (XVII) の化合物との混合物を得、次いで、該混合物中の式 (XVII) の化合物を、第二の塩基の存在下で、式 (I') の化合物に変換して、式 (I') の化合物を得る工程を含む、請求項 2 に記載の方法。

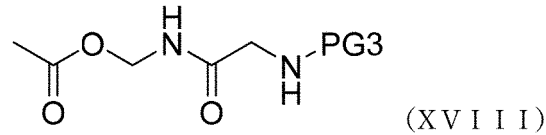
【請求項 1 4】

50

前記式 (XV) の化合物が、以下の工程：

(工程 b3) 式 (XVII)：

【化31】



【式中、PG3は、請求項1に定義したとおりである。】

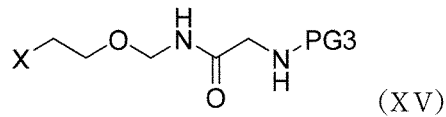
で表される化合物を、酸又は塩基の存在下で、2-ハロエタノールと反応させて、式 (XV) の化合物を得る工程

によって製造される、請求項12又は13に記載の方法。

【請求項15】

式 (XV)：

【化32】



【式中、

PG3が、2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニルであり、及び

Xは、Cl、Br、又はIである。】

で表される化合物。

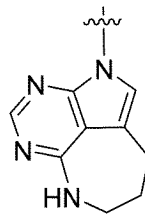
【請求項16】

前記式 (VIII') の化合物

【式中、

A1は、

【化33】



であり、及び

PG5は、4,4'-ジメトキシトリチル、4-メトキシトリチル、2-クロロトリチル又はトリチルである。】

が、以下の工程：

(工程 c1) 式 (XIX)：

10

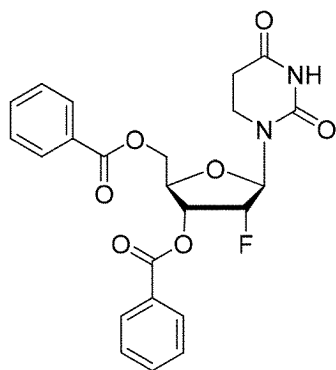
20

30

40

50

【化 3 4】

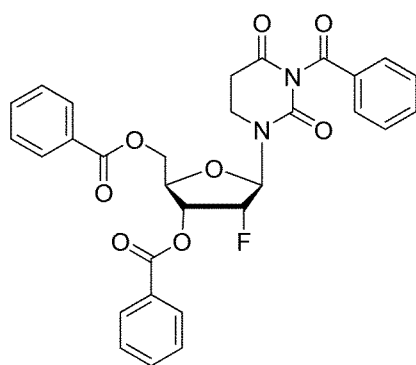


(XIX)

10

で表される化合物を、ベンゾイル化剤と反応させて、式 (XX) :

【化 3 5】



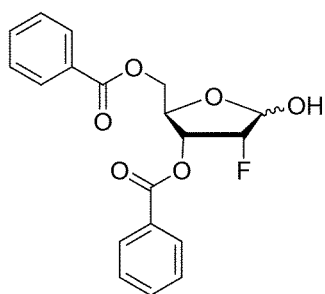
(XX)

20

で表される化合物を得る工程、

(工程 c 2) 得られた式 (XX) の化合物を、加水分解して、式 (XXI) :

【化 3 6】



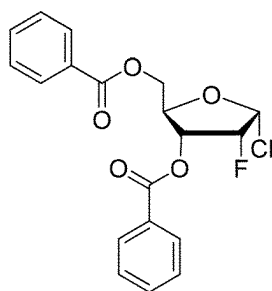
(XXI)

30

で表される化合物を得る工程、

(工程 c 3) 得られた式 (XXI) の化合物を、塩素化剤と反応させて、式 (XXII) :

【化 3 7】



(XXII)

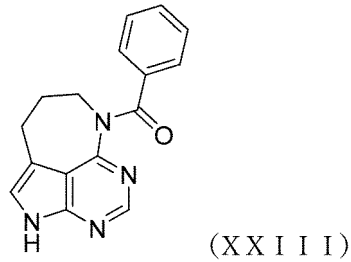
40

50

で表される化合物を得る工程、

(工程 c 4) 得られた式 (XXII) の化合物を、式 (XXIII) :

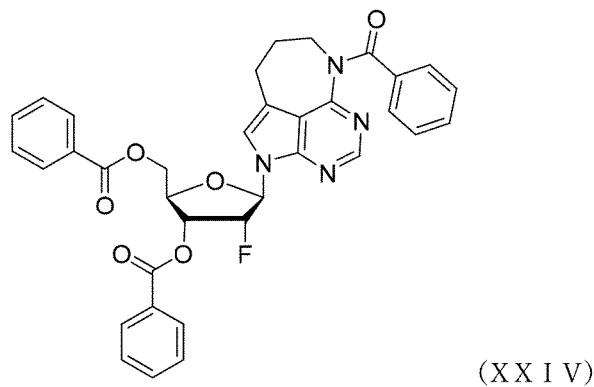
【化 38】



10

で表される化合物と反応させて、式 (XXIV) :

【化 39】

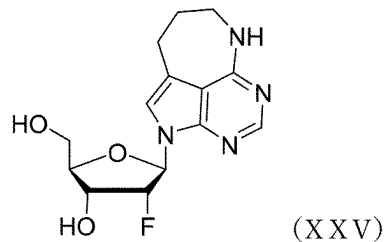


20

で表される化合物を得る工程、

(工程 c 5) 得られた式 (XXIV) の化合物からベンゾイル基を、脱保護して、式 (XXV) :

【化 40】



30

で表される化合物又はその塩を得る工程、

(工程 c 6) 得られた式 (XXV) の化合物又はその塩を、トリチル化剤と反応させて、式 (VII') の化合物 (式中、A1 及び PG5 は、上に定義したとおりである。) 又はその塩を得る工程

40

によって製造される、請求項 6 ~ 8 及び 12 ~ 14 のいずれか 1 項に記載の方法。

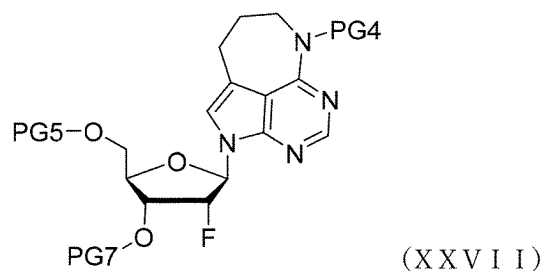
【請求項 17】

さらに、

(工程 c 7) 得られた式 (VII') の化合物 (式中、A1 及び PG5 は、請求項 6 に定義したとおりである。) 又はその塩を、シリル化剤と反応させ、次いで、アシル化剤又はアルコキシカルボニル化剤と反応させて、式 (XXVII) :

50

【化 4 1】



【式中、

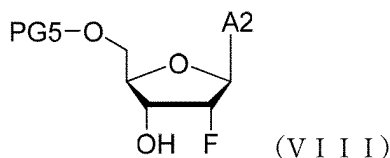
10

PG 4 は、ベンゾイル、2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニル、tert-ブトキシカルボニル、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル、アリルオキシカルボニル、2,2,2-トリクロロエトキシカルボニル、又はベンジルオキシカルボニルであり、PG 5 は、上に定義したとおりであり、及び PG 7 は、ヒドロキシ基の保護基である。]

で表される化合物を得る工程、並びに

(工程 c 8) 得られた式 (XXVII) の化合物の保護基である PG 7 を脱保護して、式 (VIII) :

【化 4 2】

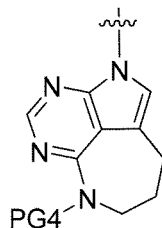


20

【式中、

A 2 は、

【化 4 3】



30

であり、及び

PG 4 及び PG 5 は、上に定義したとおりである。]

で表される化合物又はその塩を得る工程

を含む、請求項 16 に記載の方法。

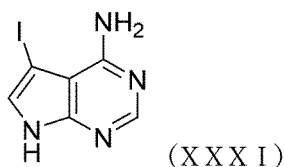
【請求項 18】

40

前記式 (XXII) の化合物が、以下の工程 :

(工程 c 12) 式 (XXXI) :

【化 4 4】

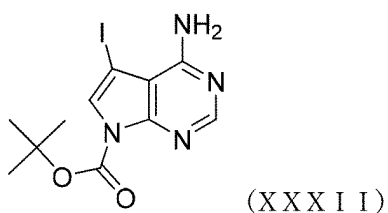


で表される化合物を、1-メチルイミダゾールの存在下、tert-ブトキシカルボニル

50

化剤と反応させて、式 (XXXII) :

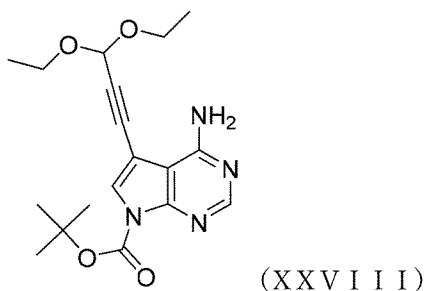
【化 4 5】



で表される化合物を得る工程、

(工程 c 1 3) 得られた式 (XXXII) の化合物を、プロパルギルアルデヒドジエチルアセタールと反応させて、式 (XXVII) :

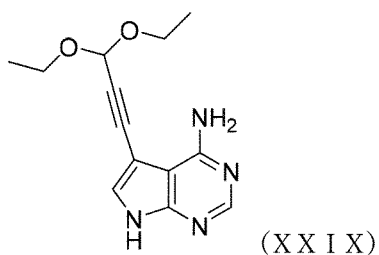
【化 4 6】



で表される化合物を得る工程、

(工程 c 9) 得られた式 (XXVII) の化合物から tert-ブトキシカルボニル基を、脱保護して、式 (XXIX) :

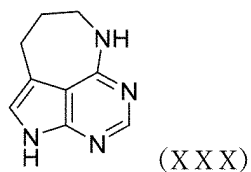
【化 4 7】



で表される化合物を得る工程、

(工程 c 1 0) 得られた式 (XXIX) の化合物を、触媒の存在下で、アルキンの還元反応、次いで還元的アミノ化反応を行って、式 (XXX) :

【化 4 8】



で表される化合物を得る工程、及び

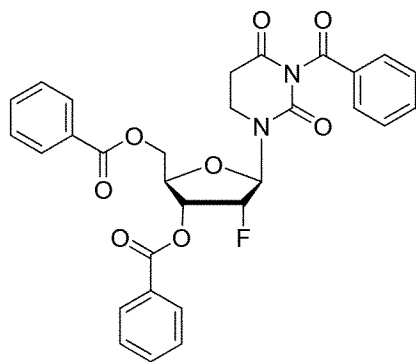
(工程 c 1 1) 得られた式 (XXX) の化合物を、ベンゾイル化剤と反応させて、式 (XXIII) の化合物を得る工程

によって製造される、請求項 1 6 又は 1 7 に記載の方法。

【請求項 1 9】

式 (XX) :

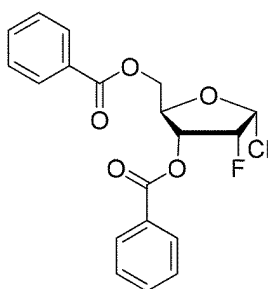
【化 4 9】



(XX)

10

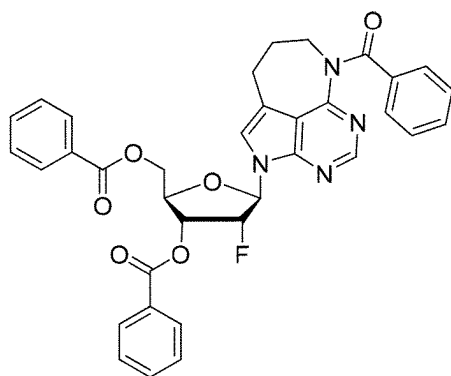
で表される化合物、又は
式 (XXII) :
【化 5 0】



(XXII)

20

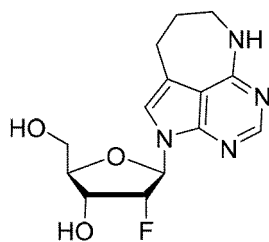
で表される化合物、又は
式 (XXIV) :
【化 5 1】



(XXIV)

30

で表される化合物、又は
式 (XXV) :
【化 5 2】



(XXV)

40

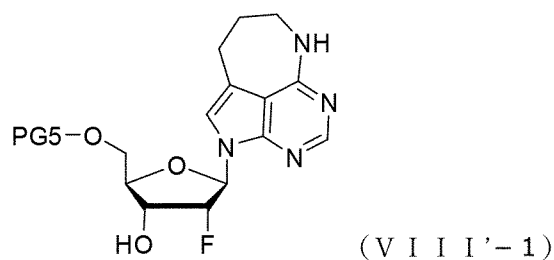
50

で表される化合物若しくはその塩。

【請求項 20】

式 (V I I I ' - 1) :

【化 5 3】



10

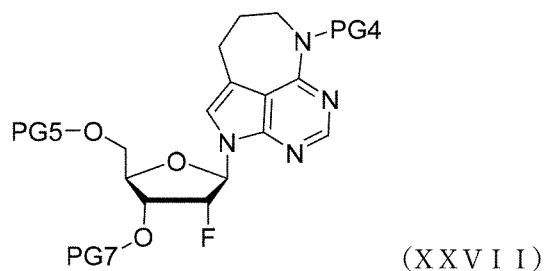
〔式中、P G 5 は、4 , 4 ' - ジメトキシトリチル、4 - メトキシトリチル、2 - クロロトリチル又はトリチルである。〕

で表される化合物又はその塩。

【請求項 21】

式 (X X V I I) :

【化 5 4】



20

〔式中、

P G 4 が、ベンゾイル、2 - (トリメチルシリル) エトキシカルボニル、t e r t - ブトキシカルボニル、9 - フルオレニルメチルオキシカルボニル、アリルオキシカルボニル、2 , 2 , 2 - トリクロロエトキシカルボニル、又はベンジルオキシカルボニルであり、
P G 5 が、4 , 4 ' - ジメトキシトリチル、4 - メトキシトリチル、2 - クロロトリチル又はトリチルであり、及び

30

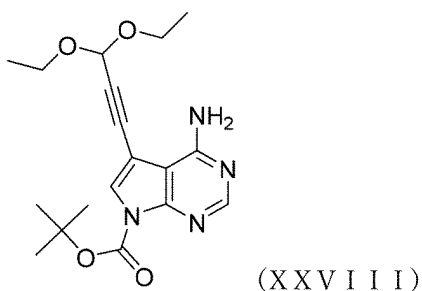
P G 7 が、トリメチルシリル、トリエチルシリル、トリイソプロピルシリル、t e r t - ブチルジメチルシリル、t e r t - ブチルジフェニルシリル、又はトリフェニルシリルである。〕

で表される化合物。

【請求項 22】

式 (X X V I I I) :

【化 5 5】



40

50

で表される化合物。

10

20

30

40

50