(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2020-503285
(P2020-503285A)
(43)公表日　令和2年1月30日(2020.1.30)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C07K 14/605	(2006.01)	C07K	14/605		4H045
C07K 1/06	(2006.01)	C07K	1/06	ZNA	
C07K 1/10	(2006.01)	C07K	1/10		

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 23 頁）

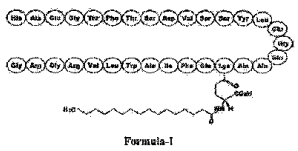
(21)出願番号　特願2019-531170 (P2019-531170)
(86)(22)出願日　平成29年12月9日 (2017.12.9)
(85)翻訳文提出日　令和1年8月7日 (2019.8.7)
(86)国際出願番号　PCT/IB2017/057763
(87)国際公開番号　WO2018/104922
(87)国際公開日　平成30年6月14日 (2018.6.14)
(31)優先権主張番号　201641042252
(32)優先日　平成28年12月10日 (2016.12.10)
(33)優先権主張国・地域又は機関
インド(IN)

(71)出願人　506292941
バイオコン・リミテッド
インド国、バンガロア　５６０１００、カルナータカ、エレクトロニク・シティ、トゥエンティース・ケイエム・ホスール・ロード
２０ｔｈ　ＫＭ，Ｈｏｓｕｒ　Ｒｏａｄ，Ｅｌｅｃｔｒｏｎｉｃ　Ｃｉｔｙ，Ｋａｒｎａｔａｋａ　Ｂａｎｇａｌｏｒｅ　５６０　１００，Ｉｎｄｉａ
(74)代理人　100102842
弁理士　葛和　清司

最終頁に続く

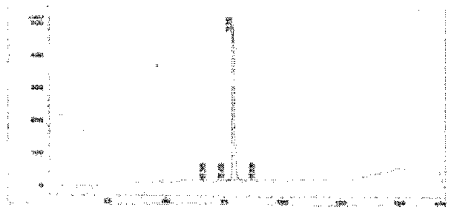
(54)【発明の名称】リラグルチドの合成

(57)【要約】
本発明は、式Ｉで表されるリラグルチドの効率的な固相合成に関する。本発明は、固相アプローチを採用する逐次カップリングによるリラグルチドの調製のための効率的なプロセスに関する。これは、リラグルチドの骨格を調製するための保護アミノ酸の逐次カップリングおよび線形配列の完成時にγ－グルタミン酸およびパルミチン酸を添加することによって合成をリジン側鎖から延長し、次いで保護基を除去し、固体担体からのペプチドの切断および得られた粗リラグルチドの精製を伴う。本発明はまた、カップリング中の無機塩の使用、ペプチドの凝集を抑制し、反応が確実に完了するようにするためのＦｍｏｃ脱保護工程の後のＤＭＦ溶液中のＨＯＢｔでの洗浄も伴い、よって、欠失配列が避けられ、プロセス収率が改善される。



Formula-I

Figure－2

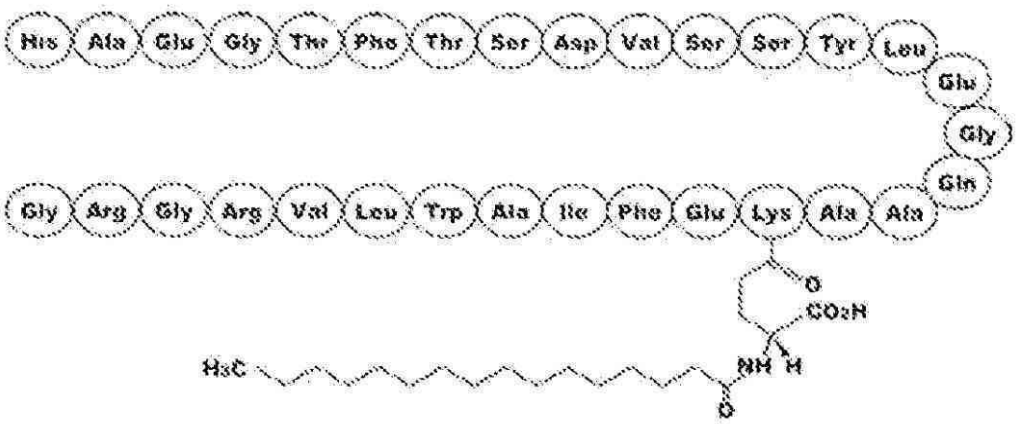


【特許請求の範囲】
【請求項１】
リラグルチドの調製のためのプロセスであって、
ａ）カップリング剤の存在下での、Ｃ末端グリシンのレジン固相担体へのローディング、
ｂ）未反応の官能部位のキャッピング、
ｃ）カップリング剤および無機塩の存在下での、リラグルチドの主鎖を調製するための、Ｎ$^{\alpha}$－および側鎖が保護されたアミノ酸の逐次カップリング、
ｄ）リジンの側鎖保護基の脱保護、
ｅ）カップリング剤および無機塩の存在下での、グルタミン酸およびパルミチン酸のリジンの側鎖へのカップリング、
ｆ）粗リラグルチドが、保護基の除去およびレジンからのペプチドの切断によって得られること、
ｇ）任意に、粗リラグルチドを精製すること
というステップを含む、前記方法。
【請求項２】
請求項１に記載のリラグルチドの調製のためのプロセスであって、
ａ）カップリング剤の存在下での、Ｃ末端グリシンのレジン固相担体へのローディング、
ｂ）未反応の官能部位のキャッピングが、無水酢酸および有機塩基を使用して行われること、
ｃ）カップリング剤および無機塩の存在下での、リラグルチドの主鎖を調製するための、Ｎ$^{\alpha}$－および側鎖が保護されたアミノ酸の逐次カップリング、
ｄ）リジンの側鎖保護基の脱保護、
ｅ）カップリング剤および無機塩の存在下での、グルタミン酸およびパルミチン酸のリジンの側鎖への逐次的なカップリング、
ｆ）粗リラグルチドが、保護基の除去およびレジンからのペプチドの切断によって得られること、
ｇ）任意に、粗リラグルチドを精製すること
というステップを含む、前記プロセス。
【請求項３】
リラグルチドの調製のためのプロセスであって、
ａ）カップリング剤の存在下での、Ｎ$^{\alpha}$－Ｆｍｏｃ－保護グリシン（Fmoc-Gly-OH）のレジン固相担体へのカップリング、
ｂ）カップリング剤および無機塩の存在下での、リラグルチドの主鎖を調製するための、Ｎ$^{\alpha}$－および側鎖が保護されたアミノ酸の逐次カップリング
ｃ）リジンの側鎖保護基の脱保護、
ｄ）カップリング剤および無機塩の存在下での、パルミトイル－グルタミン酸（Pal-Glu-O^{t}Bu）側鎖のリジンの側鎖へのカップリング、
ｅ）粗リラグルチドが、保護基の除去およびレジンからのペプチドの切断によって得られること、
ｆ）任意に、粗リラグルチドを精製すること
というステップを含む、前記プロセス。
【請求項４】
請求項３に記載のリラグルチドの調製のためのプロセスであって、
ａ）カップリング剤の存在下での、Ｎ$^{\alpha}$－Ｆｍｏｃ－保護グリシン(Fmoc-Gly-OH)のレジン固相担体へのカップリング、
ｂ）カップリング剤および無機塩の存在下での、リラグルチドの主鎖を調製するための、Ｎ$^{\alpha}$－および側鎖が保護されたアミノ酸の逐次カップリング、
ｃ）ジクロロメタン中のＴＦＡを使用する、リジンの側鎖メチルトリチル保護基の脱保

護、
ｄ）カップリング剤ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴ、ＤＩＣ、および添加剤oxymapure、ＨＯＢｔ、またはこれらのカップリング剤／添加剤の組み合わせ、および無機塩の存在下での、パルミトイル－グルタミン酸（Pal-Glu-O^{t}Bu）側鎖のリジンの側鎖へのカップリング、
ｅ）粗リラグルチドが、保護基の除去およびレジンからのペプチドの切断によって得られること、
ｆ）任意に、粗リラグルチドを精製すること
というステップを含む、前記プロセス。
【請求項５】
リラグルチドの調製のためのプロセスであって、
ａ）カップリング剤の存在下での、Ｎ$^{\alpha}$－Ｆｍｏｃ－保護グリシン（Fmoc-Gly-OH）のレジン固相担体へのカップリング、
ｂ）カップリング剤および無機塩の存在下での、リラグルチドの主鎖を調製するための、Ｎ$^{\alpha}$－および側鎖が保護されたアミノ酸の逐次カップリング、
ｃ）ＤＭＦ中のピペリジンまたはピペリジン／ＤＢＵ／ＤＭＦ混合物を使用するロードされた各アミノ酸のＦｍｏｃ基の脱保護、
ｄ）各Ｆｍｏｃ脱保護ステップの後の、ＤＭＦ中のＨＯＢｔを使用する洗浄ステップ、
ｅ）リジンのメチルトリチル保護基の脱保護、
ｆ）カップリング剤および無機塩の存在下での、パルミトイル－グルタミン酸エステル（Pal-Glu-O^{t}Bu）側鎖のリジンの側鎖へのカップリング、
ｇ）粗リラグルチドが、保護基の除去およびレジンからのペプチドの切断によって得られること、
ｈ）任意に、粗リラグルチドを精製すること
というステップを含む、前記プロセス。
【請求項６】
請求項５に記載のリラグルチドの調製のためのプロセスであって、
ａ）カップリング剤の存在下での、Ｎ$^{\alpha}$－Ｆｍｏｃ－保護グリシン（Fmoc-Gly-OH）のレジン固相担体へのカップリング、
ｂ）カップリング剤および無機塩の存在下での、リラグルチドの主鎖を調製するための、Ｎ$^{\alpha}$－および側鎖が保護されたアミノ酸の逐次カップリング、
ｃ）ＤＭＦ中のピペリジンまたはピペリジン／ＤＢＵ／ＤＭＦ混合物を使用する、ロードされた各アミノ酸のＦｍｏｃ基の脱保護、
ｄ）各Ｆｍｏｃ脱保護ステップの後の、ＤＭＦ中のＨＯＢｔを使用する洗浄ステップ、
ｅ）ＨＦＩＰ／ＴＥＳ／ＴＦＥ／ＭＤＣを使用する、リジンの側鎖メチルトリチル保護基の脱保護、
ｆ）カップリング剤および無機塩の存在下での、パルミトイル－グルタミン酸（Pal-Glu-O^{t}Bu）側鎖のリジンの側鎖へのカップリング、
ｇ）粗リラグルチドが、保護基の除去およびレジンからのペプチドの切断によって得られること、
ｈ）任意に、粗リラグルチドを精製すること
というステップを含む、前記プロセス。
【請求項７】
リラグルチドの調製のためのプロセスであって、
ａ）カップリング剤の存在下での、Ｎ$^{\alpha}$－Ｆｍｏｃ－保護グリシン（Fmoc-Gly-OH）のレジン固相担体へのカップリング、
ｂ）カップリング剤および無機塩の存在下での、リラグルチドの主鎖を調製するための、Ｎ$^{\alpha}$－および側鎖が保護されたアミノ酸の逐次カップリング、
ｃ）ＤＭＦ中のピペリジンまたはピペリジン／ＤＢＵ／ＤＭＦ混合物を使用するロードされた各アミノ酸のＦｍｏｃ基の脱保護、

ｄ）各Ｆｍｏｃ脱保護ステップの後の、ＤＭＦ中のＨＯＢｔを使用する洗浄ステップ、
ｅ）リジンのメチルトリチル保護基の脱保護、
ｆ）カップリング剤および無機塩の存在下での、保護されたグルタミン酸およびパルミチン酸の、リジンの側鎖への逐次的なカップリング、
ｇ）粗リラグルチドが、保護基の除去およびレジンからのペプチドの切断によって得られること、
ｈ）任意に、粗リラグルチドを精製すること
というステップを含む、前記プロセス。
【請求項８】
請求項７に記載のリラグルチドの調製のためのプロセスであって、
ａ）カップリング剤の存在下での、Ｎ$^{\alpha}$－Ｆｍｏｃ－保護グリシン（Fmoc-Gly-OH）のレジン固相担体へのカップリング、
ｂ）カップリング剤および無機塩の存在下での、リラグルチドの主鎖を調製するための、Ｎ$^{\alpha}$－および側鎖が保護されたアミノ酸の逐次カップリング、
ｃ）ＤＭＦ中のピペリジンまたはピペリジン／ＤＢＵ／ＤＭＦ混合物を使用する、ロードされた各アミノ酸のＦｍｏｃ基の脱保護、
ｄ）各Ｆｍｏｃ脱保護ステップの後の、ＤＭＦ中のＨＯＢｔを使用する洗浄ステップ、
ｅ）ＨＦＩＰ／ＴＥＳ／ＴＦＥ／ＭＤＣを使用する、リジンのメチルトリチル保護基の脱保護、
ｆ）カップリング剤および無機塩の存在下での、保護されたγ－グルタミン酸およびパルミチン酸の、リジンの側鎖への逐次的なカップリング、
ｇ）粗リラグルチドが、保護基の除去およびレジンからのペプチドの切断によって得られること、
ｈ）任意に、粗リラグルチドを精製すること
というステップを含む、前記プロセス。
【請求項９】
ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴ、ＤＩＣまたはこれらのいずれかの組み合わせから選択されるカップリング剤を伴う、請求項１～８のいずれか一項に記載のリラグルチドの調製のためのプロセス。
【請求項１０】
oxymapure、ＨＯＢｔまたはこれらのいずれかの組み合わせから選択されるカップリング添加剤を伴う、請求項１～９のいずれか一項に記載のリラグルチドの調製のためのプロセス。
【請求項１１】
ＨＢＴＵ－oxyma pure、ＣＯＭＵ－oxyma pure、ＤＥＰＢＴ－oxyma pureまたはＤＩＣ－oxyma pureから選択されるカップリング剤混合物を使用するＢｏｃ－ヒスチジンのカップリングを含む、リラグルチドの調製のためのプロセス。
【請求項１２】
ＤＥＰＢＴ－oxyma pureを使用するBoc－ヒスチジンのカップリングを含む、請求項１１に記載のリラグルチドの調製のためのプロセス。
【請求項１３】
ＨＦＩＰ／ＴＥＳ／ＴＦＥ／ＭＤＣを使用する、リジンのメチルトリチル保護基の脱保護を含む、リラグルチドの調製のためのプロセス。
【請求項１４】
高温を使用するアミノ酸９～１３のカップリングを含む、リラグルチドの調製のためのプロセス。
【請求項１５】
３０から４５℃までの温度でのアミノ酸９～１３のカップリングを含む、請求項１４に記載のリラグルチドの調製のためのプロセス。
【発明の詳細な説明】

【技術分野】
【０００１】
本発明の技術分野
本発明は、式Ｉによって表されるリラグルチドの効率的な固相合成に関する。
【化１】



式Ｉ

リラグルチド（VICTOZA（登録商標））は、２型糖尿病の成人において血糖コントロールを改善するための食事および運動の補助として適応されているグルカゴン様ペプチド１（ＧＬＰ－１）受容体アゴニストである。
【背景技術】
【０００２】
本発明の背景
リラグルチドは、天然のヒトグルカゴン様ペプチド１（ＧＬＰ－１（７－３７））の長時間作用型類似体であるが、３４位のリジンはアルギニンで置き換えられ、パルミトイル基はグルタモイルスペーサーを介して２６位のリジンへ付着されている。
Novo Nordiskによって開発されたリラグルチド（VICTOZAR）は、皮下注射剤として2010年に米国で最初の承認を得た。
【０００３】
米国特許第6,268,343号は、リラグルチドおよびその調製プロセスを開示している。ここで組み換え技術は、Arg^{34}-GLP-1(7-37)-OHを調製し、続いてN^{α}-ヘキサデカノイル-Glu(ONSu)-$O^{t}Bu$と反応させることに関与する。
US 7,273,921 B2およびUS 6,451,974 B1は、リラグルチドを得るためのArg^{34}-GLP-1(7-37)-OHのアシル化プロセスを開示している。
【０００４】
US 9,260,474 B2は、ａ）リラグルチドのペプチド主鎖の配列に基づくＮ末端保護および側鎖保護をもつアミノ酸の逐次カップリング、ここでFmoc-Lys(Alloc)-OHがリジンに採用される；
ｂ）リジンの側鎖上のAllocの脱保護；
ｃ）パルミトイル-Glu-$O^{t}Bu$のカップリング、またはグルタミン酸と塩化パルミトイルのリジン側鎖への逐次カップリング；
ｄ）粗リラグルチドを得るための保護基の除去およびレジンの切断
を含むことを特徴とする、リラグルチドの固相合成を開示する。
【０００５】
WO 2014/199397 A2は、逐次カップリングアプローチおよびフラグメントアプローチを使用するリラグルチドの固相合成を開示しており、ここでFmoc-Lys(dde)-OHがリジンに採用されている。

WO 2016/059609 A1は、リラグルチドを得るための銅剤を使用するArg^{34}-GLP-1(7-37)-OHのアシル化のためのプロセスを開示している。

【０００６】

リラグルチドを調製するための先行のプロセスは欠点を有する。当該方法は、複雑な技術および高コストに起因してリラグルチドの大量生産に好適ではない；Allocが、リジン側鎖保護基として採用されるプロセスにおいて、Allocの脱保護は、Ｐｄ（ＰＰｈ$_3$）$_4$などのむしろ高価な金属触媒を必要とする。さらに、触媒は感湿性であり、反応は制御された条件で行われなければならず、最終製品中の重金属含有量は考慮されるべきである。ゆえに、当該プロセスは商業的に実行可能ではないか、または実行上の問題(execution problems)が根強く残る。

【０００７】

固相合成の間、採用された条件でペプチドが凝集しやすいという揺るぎない傾向があることが観察される。これは以下の理由による。

ａ）成長しているペプチド配列は、β－シート種の構造を形成しやすいが、これによってペプチジルレジンの崩壊がもたらされること、および

ｂ）折り畳まれるペプチド鎖を引き起こす疎水性アミノ酸が存在する。

かかる条件下では、ペプチジルレジン中への試薬の分散が制限され、カップリングおよび脱保護の反応が鈍くかつ不完全であろう。そしてこれによって、精製の困難性に繋がりおよび低収率をもたらすペプチド不純物が生成される。ゆえに、度重なる煩わしく冗長な精製ステップを回避することによって、高収率で、拡張可能で、コスト効率が高く、環境に優しく、商業的に実行可能である、リラグルチドの調製のための効率的なプロセスを提供するニーズが依然としてある。

【０００８】

本発明の目的

本発明の目的は、無機塩、新規かつ効率的なカップリング条件を活用して式Ｉで表されるリラグルチドの調製のための簡便で、堅固なおよび商業的に実行可能な逐次プロセスを開発することである。

【図面の簡単な説明】

【０００９】

図面の簡単な記載

【図１－１】本発明に従うリラグルチド（式Ｉ）の固相合成のためのプロセスのフローチャート。

【図１－２】本発明に従うリラグルチド（式Ｉ）の固相合成のためのプロセスのフローチャート。

【図２】図２は、リラグルチドのＨＰＬＣクロマトグラムを説明する。

【発明の概要】

【００１０】

本発明の概要

本発明の態様は、以下のステップを含むリラグルチドの調製のための合成プロセスを伴う：

ａ）カップリング剤の存在下での、Ｃ末端グリジンのレジン固相担体へのローディング。

ｂ）カップリング剤および無機塩の存在下での、リラグルチドの主鎖を調製するための、Ｎα－および側鎖が保護されたアミノ酸の逐次カップリング。

ｃ）リジンの側鎖保護基の脱保護。

ｄ）カップリング剤および無機塩の存在下での、リジンの側鎖へのγ－グルタミン酸およびパルミチン酸の逐次的なカップリング。

ｅ）粗リラグルチドが、保護基の除去およびレジンからのペプチドの切断によって得られること。

ｆ）粗リラグルチドの精製。

当該プロセスの概略図を図１に示す。

【００１１】

採用されるアプローチは、逐次アプローチによるリラグルチドの固相ペプチド合成であり、カップリング中、通常のカップリング剤および添加剤と共に無機塩を伴う。当該方法は、カップリングおよび脱保護反応の完了ならびにラセミ化の低減を供給し、これによって、標的分子に極めて近い異性体不純物を抑制し、同様にペプチドの精製ステップを軽減する。

本発明をさらに改善するために、該ステップａ）において、ワングレジン(wang resin)がレジン固相担体として採用され、ＤＩＣをカップリング剤としておよびＭＤＣを溶媒として使用してFmoc-Gly-OHへカップリングさせる。

【００１２】

２－クロロトリチルレジン（ＣＴＣ）の固相担体としての使用は制限されていた。なぜなら、カップリングは鈍く、１５アミノ酸配列の後には完成することがなく(not going for completion)、ＣＴＣレジンへ付着されたペプチドは不安定であり、カップリング／洗浄サイクル中に採用される穏やかな酸性条件において浸出しやすいからであった。リラグルチドの合成はマルチステップを伴うので、各ステージにて部分的な浸出が起こり、全体の収率の低下に繋がる。

【００１３】

本発明をさらに改善するために、該ステップｂ）において、以下のステップを含む：

Ｂ１）H-Gly-レジンを入手するためのピペリジン／ＤＭＦまたはピペリジン、ＤＢＵ、ＤＭＦ混合物を使用するFmoc-Gly-レジンからのFmoc保護基の脱保護。

Ｂ２）ロードされたレジンを洗浄すること。

Ｂ３）カップリング剤、カップリング添加剤、無機塩および塩基の存在下での、Fmoc-Arg(Pbf)-OHのH-Gly-レジンへのカップリング。

Ｂ４）ステップＢ１、Ｂ２およびＢ３を繰り返すことによって、リラグルチド主鎖が合成されること、ここでステップＢ３において、保護されたアミノ酸は、リラグルチド主鎖を入手するために逐次的にカップリングされる。

本発明をさらに改善するために、該ステップｂ）およびｄ）において、カップリング剤は、ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴまたはＤＩＣからなる群から選択された。

【００１４】

カップリング添加剤は、oxyma pureまたはＨＯＢｔからなる群から選択され、塩基は、ＤＩＰＥＡ、ＮＭＭまたはＴＭＰから選択され、無機塩は、塩化マグネシウム、塩化亜鉛または塩化銅からなる群から選択された。

ステップＢ２）において述べられたとおり、ロードされたレジンは、ＤＭＦまたはイソプロパノール中０．０１～０．１ＭのＨＯＢｔで洗浄された。

【００１５】

本発明をさらに改善するために、ステップｂ）において述べられたとおり、Ｍｔｔがリジンの保護基として使用され、ステップｃ）において述べられたとおり、保護基Ｍｔｔがリジンの側鎖からＴＦＡ／ＭＤＣまたはＨＦＩＰ／ＴＥＳ／ＴＦＥ／ＭＤＣを使用することによって除去された。

【００１６】

本発明をさらに改善するために、該ステップｄ）において、パルミトイル－グルタミン酸（Pal-Glu）側鎖が、ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴまたはＤＩＣからなる群から選択されるカップリング剤；oxyma pureまたはＨＯＢｔからなる群から選択されるカップリング添加剤；ＤＩＰＥＡ、ＮＭＭまたはＴＭＰから選択される塩基；および塩化マグネシウム、塩化亜鉛または塩化銅からなる群から選択される無機塩の存在下でカップリングさせられた。

【００１７】

本発明の別の態様は、以下のステップを含むリラグルチドの調製のための合成プロセスを伴う：

ａ）カップリング剤の存在下での、Ｎα－Ｆｍｏｃ－保護グリジン（Fmoc-Gly-OH）のレジン固相担体へのカップリング。

ｂ）カップリング剤および無機塩の存在下での、リラグルチドの主鎖を調製するための、Ｎα－および側鎖が保護されたアミノ酸の逐次カップリング。

ｃ）リジンの側鎖保護基の脱保護。

ｄ）カップリング剤および無機塩の存在下での、パルミトイル－グルタミン酸（Pal-Glu）側鎖のリジン側鎖へのカップリング。

ｅ）粗リラグルチドが、保護基の除去およびレジンからのペプチドの切断によって得られること。

ｆ）粗リラグルチドの精製。

【００１８】

本発明をさらに改善するために、該ステップｄ）において、パルミトイル－グルタミン酸（Pal-Glu）側鎖が、ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴまたはＤＩＣからなる群から選択されるカップリング剤；oxyma pureまたはＨＯＢｔからなる群から選択されるカップリング添加剤；ＤＩＰＥＡ、ＮＭＭまたはＴＭＰから選択される塩基；および塩化マグネシウム、塩化亜鉛または塩化銅からなる群から選択される無機塩の存在下でカップリングさせられた。

【００１９】

本発明の更なる別の態様は、以下のステップを含むリラグルチドの調製のための合成プロセスを伴う：

ｉ）カップリング剤の存在下での、Ｎα－Ｆｍｏｃ－保護グリシン（Fmoc-Gly-OH）のレジン固相担体へのカップリング。

ｉｉ）カップリング剤および無機塩の存在下での、リラグルチドの主鎖を調製するための、Ｎα－および側鎖が保護されたアミノ酸の逐次カップリング。

ｉｉｉ）ＤＭＦ中のピペリジンまたはピペリジン／ＤＢＵ／ＤＭＦ混合物を使用する、ロードされたアミノ酸のＦｍｏｃ脱保護。

ｉｖ）各Ｆｍｏｃ脱保護ステップの後の、ＤＭＦ中のＨＯＢｔを使用する洗浄ステップ。

ｖ）リジンの側鎖保護基の脱保護。

ｖｉ）カップリング剤および無機塩の存在下での、パルミトイル－グルタミン酸（Pal-Glu）側鎖のリジン側鎖へのカップリング。

ｖｉｉ）粗リラグルチドが、保護基の除去およびレジンからのペプチドの切断によって得られること。粗リラグルチドの精製。

【００２０】

さらに、上の態様への改善として、９～１３の番号が付されたアミノ酸［すなわち、Fmoc-Glu(O^{t}Bu)^{9}、Fmoc-Gly^{10}、Fmoc-Thr(^{t}Bu)^{11}、Fmoc-Phe^{12}、Fmoc-Thr(^{t}Bu)^{13}］が、およそ３０～４５℃の高温にてカップリングされることで、リラグルチド主鎖が形成される。

【発明を実施するための形態】

【００２１】

本発明の詳細な記載

本発明は、固相アプローチを採用する逐次カップリングによるリラグルチドの調製のための効率的なプロセスに関する。これは、リラグルチドの主鎖を調製するための、保護されたアミノ酸の逐次カップリングを伴い、および線状配列の完成の際に、合成が、γ－グルタミン酸およびパルミチン酸を加えることによって、リジン側鎖から延長され、保護基の除去、固体担体からのペプチドの切断、および得られた粗リラグルチドの精製が続いた。本発明はまた、カップリングの間の無機塩の利用も伴い、ペプチドの凝集を抑えかつ反応を確実にするためのＦｍｏｃ脱保護ステップ後のＤＭＦ溶液中ＨＯＢｔを用いる洗浄によって完成し、よって欠失配列が避けられ、プロセスの収率が改善される。

【００２２】

略語：
ＡＣＮ：アセトニトリル
Ｂｏｃ：ｔｅｒｔ－ブチルオキシカルボニル
ＣＯＭＵ：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－モルフォリノ－ヘキサフルオロホスファート
$CuCl_2$：塩化銅
ＤＢＵ：１，８－ジアザビシクロ［５．４．０］ウンデカ－７－エン
ＤＥＰＢＴ：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
ＤＩＣ：Ｎ，Ｎ’－ジイソプロピルカルボジイミド
ＤＭＡＰ：ジメチルアミノピリジン
ＤＭＦ：Ｎ，Ｎ’－ジメチルホルムアミド
ＤＩＰＥＡ：ジイソプロピルエチルアミン
Ｆｍｏｃ：９－フルオレニルメトキシカルボニル
ＨＢＴＵ：Ｏ－ベンゾトリアゾール－Ｎ，Ｎ，Ｎ’，Ｎ’－テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスファート
ＨＯＢｔ：Ｎ－ヒドロキシベンゾトリアゾール
ＨＦＩＰ：１，１，１，３，３，３－ヘキサフルオロ－２－プロパノール
Ｍｔｔ：メチルトリチル
ＭｅＯＨ：メタノール
$MgCl_2$：塩化マグネシウム
ＮＭＭ：Ｎ－メチルモルホリン
ＮＭＰ：Ｎ－メチル－２－ピロリドン
ＴＥＳ：トリエチルシラン
ＴＦＥ：トリフルオロエタノール
ＴＦＡ：トリフルオロ酢酸
Ｐｂｆ：２，２，４，６，７－ペンタメチルジヒドロベンゾフラン
$Pd(PPh_3)_4$：テトラキス（トリフェニルホスフィン）パラジウム（０）
ＲＴ：室温
^{t}Bu：ｔｅｒｔ－ブチル
ＴＩＳ：トリイソプロピルシラン
Ｔｒｔ：トリチル
ＴＭＰ：２，４，６－トリメチルピリジン
$ZnCl_2$：塩化亜鉛
本発明は以下の例に代表される。これらの例は説明のためだけのものであり、ゆえに本発明の範囲を制限するものとして解釈されるべきではない。
【００２３】
例１：$MgCl_2$を使用するリラグルチドの合成
ステージ１：Fmoc-Gly^{37}-ワングレジンの合成
ワングレジン（０．３～０．６ｍｍｏｌ／ｇ、ローディング容量）をペプチド合成容器にロードし、１０ｖのＭＤＣで２度洗浄し、その洗浄した液をデカントし、１０ｖのＭＤＣを添加し、１時間膨潤させ続けた。Fmoc-Gly-OH（３．０～５．０当量）をＭＤＣに溶解し、最小量のＤＭＦを加えて透明な溶液を得て、混合物を反応容器に移した。反応容器にＤＩＰＣ（３．０～６．０当量）、続いてＤＭＡＰ（０．０１～０．１当量）を加え、ｒｔにて１．０～３．０時間撹拌した。反応塊を排出し、アミノ酸がロードされたレジンを、ＭＤＣに続いてＤＭＦで２度洗浄した。未反応官能部位のキャッピングを、無水酢酸およびＤＩＰＥＡを使用して行った。
【００２４】
ステージ２：Fmoc-$Arg(Pbf)^{36}$-Gly^{37}-ワングレジンの合成
ロードされたアミノ酸のＦｍｏｃ脱保護を、ＤＭＦ中１５～２５％ピペリジンを用いて

５分間および１０分間の２回、レジンを洗浄することによって行い、続いてレジンを３～５×８ｖ、０．０１～０．１MのＨＯＢｔ／ＤＭＦで洗浄した。Fmoc-Arg(Pbf)-OH（２．０～４．０当量）を、ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴおよびＤＩＣ、好ましくはＤＥＰＢＴ（２．０～４．０当量）などのカップリング剤と、oxymapure、ＨＯＢｔ、好ましくはoxymapure（２．０～４．０当量）と、ＤＩＰＥＡ、ＮＭＭ、ＴＭＰ、好ましくはＤＩＰＥＡ（５．０～８．０当量）と、$MgCl_2$、$ZnCl_2$、好ましくは$MgCl_2$（０．０１～０．１当量）と、溶媒としてＤＭＦ／ＮＭＰ混合物を使用してカップリングさせた。反応は窒素雰囲気および室温で行なった。カイザーテストによって確認されたアミノ酸のカップリングが完了した際に、過剰の試薬を排出しペプチジルレジンを３×１０ｖのＤＭＦで洗浄した。

【００２５】

ステージ３：Fmoc-Gly^{35}-Arg(Pbf)^{36}-Gly^{37}-ワングレジンの合成

ロードされたアミノ酸のＦｍｏｃ脱保護を、ＤＭＦ中１５～２５％ピペリジンを使用して５分間および１０分間の２回、レジンを洗浄することによって行った。続いてレジンを３～５×８ｖ、０．０１～０．１MのＨＯＢｔ／ＤＭＦで洗浄した。Fmoc-Gly-OH（２．０～４．０当量）を、ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴ、およびＤＩＣ、好ましくはＤＥＰＢＴ（２．０～４．０当量）などのカップリング剤と、oxymapure、ＨＯＢｔ、好ましくはoxymapure（２．０～４．０当量）と、ＤＩＰＥＡ、ＮＭＭ、ＴＭＰ、好ましくはＤＩＰＥＡ（５．０～８．０当量）と、$MgCl_2$、$ZnCl_2$、好ましくは$MgCl_2$（０．０１～０．１当量）と、溶媒としてＤＭＦ／ＮＭＰ混合物を使用してカップリングさせた。反応は窒素雰囲気およびｒ．ｔ．で行なった。カイザーテストによって確認されたアミノ酸のカップリングが完了した際に、過剰の試薬を排出し、ペプチジルレジンを３×１０ｖのＤＭＦで洗浄した。

【００２６】

ステージ４：Fmoc-Arg(Pbf)^{34}-Gly^{35}-Arg(Pbf)^{36}-Gly^{37}-ワングレジンの合成

ロードされたアミノ酸のＦｍｏｃ脱保護を、ＤＭＦ中１５～２５％ピペリジンを使用して５分間および１０分間の２回、レジンを洗浄することによって行った。続いてレジンを３～５×８ｖ、０．０１～０．１MのＨＯＢｔ／ＤＭＦで洗浄した。Fmoc-Arg(Pbf)-OH（２．０～４．０当量）を、ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴ、およびＤＩＣ、好ましくはＤＥＰＢＴ（２．０～４．０当量）などのカップリング剤と、oxymapure、ＨＯＢｔ、好ましくはoxymapure（２．０～４．０当量）と、ＤＩＰＥＡ、ＮＭＭ、ＴＭＰ、好ましくはＤＩＰＥＡ（５．０～８．０当量）と、$MgCl_2$、$ZnCl_2$、好ましくは$MgCl_2$（０．０１～０．１当量）と、溶媒としてＤＭＦ／ＮＭＰ混合物を使用してカップリングさせた。反応は窒素雰囲気およびｒ．ｔ．で行なった。カイザーテストによって確認されたアミノ酸のカップリングが完了した際に、過剰の試薬を排出し、ペプチジルレジンを３×１０ｖのＤＭＦで洗浄した。

【００２７】

ステージ５：Fmoc-Val^{33}-Arg(Pbf)^{34}-Gly^{35}-Arg(Pbf)^{36}-Gly^{37}-ワングレジンの合成

ｖ）ロードされたアミノ酸のＦｍｏｃ脱保護を、ＤＭＦ中１５～２５％ピペリジンを使用して５分間および１０分間の２回、レジンを洗浄することにより行った。続いてレジンを３～５×８ｖ、０．０１～０．１MのＨＯＢt／ＤＭＦで洗浄した。Fmoc-Val-OH（２．０～４．０当量）を、ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴ、およびＤＩＣ、好ましくはＤＥＰＢＴ（２．０～４．０当量）などのカップリング剤と、oxymapure、ＨＯＢｔ、好ましくはoxymapure（２．０～４．０）当量）と、ＤＩＰＥＡ、ＮＭＭ、ＴＭＰ、好ましくはＤＩＰＥＡ（５．０～８．０当量）と、$MgCl_2$、$ZnCl_2$、好ましくは$MgCl_2$（０．０１～０．１当量）と、溶媒としてＤＭＦ／ＮＭＰ混合物を使用してカップリングさせた。反応は窒素雰囲気およびｒ．ｔ．で行なった。カイザーテストによって確認されたアミノ酸のカップリングが完了した際に、過剰の試薬を排出し、ペプチジルレジンを３×１０ｖのＤＭＦで洗浄した。

【００２８】

ステージ６：Fmoc-Leu^{32}-Val^{33}-Arg(Pbf)^{34}-Gly^{35}-Arg(Pbf)^{36}-Gly^{37}-ワングレジンの合成

ロードされたアミノ酸のＦｍｏｃ脱保護を、ＤＭＦ中１５～２５％ピペリジンを使用して５分間および１０分間の２回、レジンを洗浄することによって行った。次いでレジンを３～５×８ｖ、０．０１～０．１ＭのＨＯＢｔ／ＤＭＦで洗浄した。Fmoc-Leu-OH（２．０～４．０当量）を、ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴ、およびＤＩＣ、好ましくはＤＥＰＢＴ（２．０～４．０当量）などのカップリング剤と、oxymapure、ＨＯＢｔ、好ましくはoxymapure（２．０～４．０）当量）と、ＤＩＰＥＡ、ＮＭＭ、ＴＭＰ、好ましくはＤＩＰＥＡ（５．０～８．０当量）と、$MgCl_2$、$ZnCl_2$、好ましくは$MgCl_2$（０．０１～０．１当量）と、溶媒としてＤＭＦ／ＮＭＰ混合物を使用してカップリングさせた。反応は窒素雰囲気およびｒ．ｔ．で行なった。カイザーテストによって確認されたアミノ酸のカップリングが完了した際に、過剰の試薬を排出し、ペプチジルレジンを３×１０ｖのＤＭＦで洗浄した。

【００２９】

ステージ７：Fmoc-Trp(Boc)^{31}-Leu^{32}-Val^{33}-Arg(Pbf)^{34}-Gly^{35}-Arg(Pbf)^{36}-Gly^{37}-ワングレジンの合成

ロードされたアミノ酸のＦｍｏｃ脱保護を、ＤＭＦ中１５～２５％ピペリジンを使用して５分間および１０分間の２回、レジンを洗浄することによって行った。続いてレジンを３～５×８ｖ、０．０１～０．１ＭのＨＯＢｔ／ＤＭＦで洗浄した。Fmoc-Trp(Boc)-OH（２．０～４．０当量）を、ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴ、およびＤＩＣ、好ましくはＤＥＰＢＴ（２．０～４．０当量）などのカップリング剤と、oxymapure、ＨＯＢｔ、好ましくはoxymapure（２．０～４．０当量）と、ＤＩＰＥＡ、ＮＭＭ、ＴＭＰ、好ましくはＤＩＰＥＡ（５．０～８．０当量）と、$MgCl_2$、$ZnCl_2$、好ましくは$MgCl_2$（０．０１～０．１当量）と、溶媒としてＤＭＦ／ＮＭＰ混合物を使用してカップリングさせた。反応は窒素雰囲気およびｒ．ｔ．で行なった。カイザーテストによって確認されたアミノ酸のカップリングが完了した際に、過剰の試薬を排出し、ペプチジルレジンを３×１０ｖのＤＭＦで洗浄した。

【００３０】

ステージ８：Fmoc-Ala^{30}-Trp(Boc)^{31}-Leu^{32}-Val^{33}-Arg(Pbf)^{34}-Gly^{35}-Arg(Pbf)^{36}-Gly^{37}-ワングレジンの合成

ロードされたアミノ酸のＦｍｏｃ脱保護を、ＤＭＦ中１５～２５％ピペリジンを使用して５分間および１０分間の２回、レジンを洗浄することによって行った。続いてレジンを３～５×８ｖ、０．０１～０．１ＭのＨＯＢｔ／ＤＭＦで洗浄した。Fmoc-Ala-OH（２．０～４．０当量）を、ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴおよびＤＩＣ、好ましくはＤＥＰＢＴ（２．０～４．０当量）などのカップリング剤と、oxymapure、ＨＯＢｔ、好ましくはoxymapure（２．０～４．０当量）と、ＤＩＰＥＡ、ＮＭＭ、ＴＭＰ、好ましくはＤＩＰＥＡ（５．０～８．０当量）と、$MgCl_2$、$ZnCl_2$、好ましくは$MgCl_2$（０．０１～０．１当量）と、溶媒としてＤＭＦ／ＮＭＰ混合物を使用してカップリングさせた。反応は窒素雰囲気およびｒ．ｔ．で行なった。カイザーテストによって確認されたアミノ酸のカップリングが完了した際に、過剰の試薬を排出し、ペプチジルレジンを３×１０ｖのＤＭＦで洗浄した。

【００３１】

ステージ９：Fmoc-Ile^{29}-Ala^{30}-Trp(Boc)^{31}-Leu^{32}-Val^{33}-Arg(Pbf)^{34}-Gly^{35}-Arg(Pbf)^{36}-Gly^{37}-ワングレジンの合成

ロードされたアミノ酸のＦｍｏｃ脱保護を、ＤＭＦ中１５～２５％ピペリジンを使用して５分間および１０分間の２回、レジンを洗浄することによって行った。続いてレジンを３～５×８ｖ、０．０１～０．１ＭのＨＯＢｔ／ＤＭＦで洗浄した。Fmoc-Ile-OH（２．０～４．０当量）を、ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴ、およびＤＩＣ、好ましくはＤＥＰＢＴ（２．０～４．０当量）などのカップリング剤と、oxymapure、ＨＯＢｔ、好ましくはoxymapure（２．０～４．０当量）と、ＤＩＰＥＡ、ＮＭＭ、ＴＭＰ、好ましくはＤ

ＩＰＥＡ（５．０～８．０当量）と、$MgCl_2$、$ZnCl_2$、好ましくは$MgCl_2$（０．０１～０．１当量）と、溶媒としてＤＭＦ／ＮＭＰ混合物を使用してカップリングさせた。反応は窒素雰囲気およびｒ．ｔ．で行なった。カイザーテストによって確認されたアミノ酸のカップリングが完了した際に、過剰の試薬を排出し、ペプチジルレジンを３×１０ｖのＤＭＦで洗浄した。

【００３２】

ステージ１０：Fmoc-Phe^{28}-Ile^{29}-Ala^{30}-Trp(Boc)^{31}-Leu^{32}-Val^{33}-Arg(Pbf)^{34}-Gly^{35}-Arg(Pbf)^{36}-Gly^{37}-ワングレジンの合成

ロードされたアミノ酸のＦｍｏｃ脱保護を、ＤＭＦ中１５～２５％ピペリジンを使用して５分間および１０分間の２回、レジンを洗浄することによって行った。続いてレジンを３～５×８ｖ、０．０１～０．１ＭのＨＯＢｔ／ＤＭＦで洗浄した。Fmoc-Phe-OH（２．０～４．０当量）を、ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴ、およびＤＩＣ、好ましくはＤＥＰＢＴ（２．０～４．０当量）などのカップリング剤と、oxymapure、ＨＯＢｔ、好ましくはoxymapure（２．０～４．０当量）と、ＤＩＰＥＡ、ＮＭＭ、ＴＭＰ、好ましくはＤＩＰＥＡ（５．０～８．０当量）と、$MgCl_2$、$ZnCl_2$、好ましくは$MgCl_2$（０．０１～０．１当量）と、溶媒としてＤＭＦ／ＮＭＰ混合物を使用してカップリングさせた。反応は窒素雰囲気およびｒ．ｔ．で行なった。カイザーテストによって確認されたアミノ酸のカップリングが完了した際に、過剰の試薬を排出し、ペプチジルレジンを３×１０ｖのＤＭＦで洗浄した。

【００３３】

ステージ１１：Fmoc-Glu(O^{t}Bu)^{27}-Phe^{28}-Ile^{29}-Ala^{30}-Trp(Boc)^{31}-Leu^{32}-Val^{33}-Arg(Pbf)^{34}-Gly^{35}-Arg(Pbf)^{36}-Gly^{37}-ワングレジンの合成

ｘｉ）ロードされたアミノ酸のＦｍｏｃ脱保護を、ＤＭＦ中１５～２５％ピペリジンを使用して５分間および１０分間の２回、レジンを洗浄することにより行った。続いてレジンを３～５×８ｖ、０．０１～０．１ＭのＨＯＢｔ／ＤＭＦで洗浄した。Fmoc-Glu(OtBu)-OH（２．０～４．０当量）を、ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴ、およびＤＩＣ、好ましくはＤＥＰＢＴ（２．０～４．０当量）などのカップリング剤と、oxymapure、ＨＯＢｔ、好ましくはoxymapure（２．０～４．０当量）と、ＤＩＰＥＡ、ＮＭＭ、ＴＭＰ、好ましくはＤＩＰＥＡ（５．０～８．０当量）と、$MgCl_2$、$ZnCl_2$、好ましくは$MgCl_2$（０．０１～０．１当量）と、溶媒としてＤＭＦ／ＮＭＰ混合物を使用してカップリングした。反応は窒素雰囲気およびｒ．ｔ．で行なった。カイザーテストによって確認されたアミノ酸のカップリングが完了した際に、過剰の試薬を排出し、ペプチジルレジンを３×１０ｖのＤＭＦで洗浄した。

【００３４】

ステージ１２：Fmoc-Lys(Mtt)^{26}-Glu(O^{t}Bu)^{27}-Phe^{28}-Ile^{29}-Ala^{30}-Trp(Boc)^{31}-Leu^{32}-Val^{33}-Arg(Pbf)^{34}-Gly^{35}-Arg(Pbf)^{36}-Gly^{37}-ワングレジンの合成

ロードされたアミノ酸のＦｍｏｃ脱保護を、ＤＭＦ中１５～２５％ピペリジンを使用して５分間および１０分間の２回、レジンを洗浄することによって行った。続いてレジンを３～５×８ｖ、０．０１～０．１ＭのＨＯＢｔ／ＤＭＦで洗浄した。Fmoc-Lys(Mtt)-OH（２．０～４．０当量）を、ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴ、およびＤＩＣ、好ましくはＤＥＰＢＴ（２．０～４．０当量）などのカップリング剤と、oxymapure、ＨＯＢｔ、好ましくはoxymapure（２．０～４．０当量）と、ＤＩＰＥＡ、ＮＭＭ、ＴＭＰ、好ましくはＤＩＰＥＡ（５．０～８．０当量）と、$MgCl_2$、$ZnCl_2$、好ましくは$MgCl_2$（０．０１～０．１当量）と、溶媒としてＤＭＦ／ＮＭＰ混合物を使用してカップリングさせた。反応は窒素雰囲気およびｒ．ｔ．で行なった。カイザーテストによって確認されたアミノ酸のカップリングが完了した際に、過剰の試薬を排出し、ペプチジルレジンを３×１０ｖのＤＭＦで洗浄した。

【００３５】

ステージ１３：Fmoc-Ala^{25}-Lys(Mtt)^{26}-Glu(O^{t}Bu)^{27}-Phe^{28}-Ile^{29}-Ala^{30}-Trp(Boc)^{31}-Leu^{32}-Val^{33}-Arg(Pbf)^{34}-Gly^{35}-Arg(Pbf)^{36}-Gly^{37}-ワングレジンの合成

ロードされたアミノ酸のＦｍｏｃ脱保護を、ＤＭＦ中１５～２５％ピペリジンを使用して５分間および１０分間の２回、レジンを洗浄することによって行った。続いてレジンを３～５×８ｖ、０．０１～０．１ＭのＨＯＢｔ／ＤＭＦで洗浄した。Fmoc-Ala-OH（２．０～４．０当量）を、ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴ、およびＤＩＣ、好ましくはＤＥＰＢＴ（２．０～４．０当量）などのカップリング剤と、oxymapure、ＨＯＢｔ、好ましくはoxymapure（２．０～４．０当量）と、ＤＩＰＥＡ、ＮＭＭ、ＴＭＰ、好ましくはＤＩＰＥＡ（５．０～８．０当量）と、$MgCl_2$、$ZnCl_2$、好ましくは$MgCl_2$（０．０１～０．１当量）と、溶媒としてＤＭＦ／ＮＭＰ混合物を使用してカップリングさせた。反応は窒素雰囲気およびｒ．ｔ．で行われた。カイザーテストによって確認されたアミノ酸のカップリングが完了した際に、過剰の試薬を排出し、ペプチジルレジンを３×１０ｖのＤＭＦで洗浄した。

【００３６】

ステージ１４：Fmoc-Ala^{24}-Ala^{25}-Lys(Mtt)^{26}-Glu(O^{t}Bu)^{27}-Phe^{28}-Ile^{29}-Ala^{30}-Trp(Boc)^{31}-Leu^{32}-Val^{33}-Arg(Pbf)^{34}-Gly^{35}-Arg(Pbf)^{36}-Gly^{37}-ワングレジンの合成

ロードされたアミノ酸のＦｍｏｃ脱保護を、ＤＭＦ中１５～２５％ピペリジンを使用して５分間および１０分間の２回、レジンを洗浄することによって行った。続いてレジンを３～５×８ｖ、０．０１～０．１ＭのＨＯＢｔ／ＤＭＦで洗浄した。Fmoc-Ala-OH（２．０～４．０当量）を、ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴ、およびＤＩＣ、好ましくはＤＥＰＢＴ（２．０～４．０当量）などのカップリング剤と、oxymapure、ＨＯＢｔ、好ましくはoxymapure（２．０～４．０当量）と、ＤＩＰＥＡ、ＮＭＭ、ＴＭＰ、好ましくはＤＩＰＥＡ（５．０～８．０当量）と、$MgCl_2$、$MgCl_2$、好ましくは$MgCl_2$（０．０１～０．１当量）と、溶媒としてＤＭＦ／ＮＭＰ混合物を使用してカップリングさせた。反応は窒素雰囲気およびｒ．ｔ．で行なった。カイザーテストによって確認されたアミノ酸のカップリングが完了した際に、過剰の試薬を排出し、ペプチジルレジンを３×１０ｖのＤＭＦで洗浄した。

【００３７】

ステージ１５：Fmoc-Gln(Trt)^{23}-Ala^{24}-Ala^{25}-Lys(Mtt)^{26}-Glu(O^{t}Bu)^{27}-Phe^{28}-Ile^{29}-Ala^{30}-Trp(Boc)^{31}-Leu^{32}-Val^{33}-Arg(Pbf)^{34}-Gly^{35}-Arg(Pbf)^{36}-Gly^{37}ワングレジンの合成

ロードされたアミノ酸のＦｍｏｃ脱保護を、ＤＭＦ中１５～２５％ピペリジンを使用して５分間および１０分間の２回、レジンを洗浄することによって行った。続いてレジンを３～５×８ｖ、０．０１～０．１ＭのＨＯＢｔ／ＤＭＦで洗浄した。Fmoc-Ala-OH（２．０～４．０当量）を、ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴ、およびＤＩＣ、好ましくはＤＥＰＢＴ（２．０～４．０当量）などのカップリング剤と、oxymapure、ＨＯＢｔ、好ましくはoxymapure（２．０～４．０当量）と、ＤＩＰＥＡ、ＮＭＭ、ＴＭＰ、好ましくはＤＩＰＥＡ（５．０～８．０当量）と、$MgCl_2$、$ZnCl_2$、好ましくは$MgCl_2$（０．０１～０．１当量）と、溶媒としてＤＭＦ／ＮＭＰ混合物を使用してカップリングさせた。反応は窒素雰囲気およびｒ．ｔ．で行なった。カイザーテストによって確認されたアミノ酸のカップリングが完了した際に、過剰の試薬を排出し、ペプチジルレジンを３×１０ｖのＤＭＦで洗浄した。

【００３８】

ステージ１６：Fmoc-Gly^{22}-Gln(Trt)^{23}-Ala^{24}-Ala^{25}-Lys(Mtt)^{26}-Glu(O^{t}Bu)^{27}-Phe^{28}-Ile^{29}-Ala^{30}-Trp(Boc)^{31}-Leu^{32}-Val^{33}-Arg(Pbf)^{34}-Gly^{35}-Arg(Pbf)^{36}-Gly^{37}-ワングレジンの合成

ロードされたアミノ酸のＦｍｏｃ脱保護を、ＤＭＦ中１５～２５％ピペリジンを使用して５分間および１０分間の２回、レジンを洗浄することによって行った。続いてレジンを３～５×８ｖ、０．０１～０．１ＭのＨＯＢｔ／ＤＭＦで洗浄した。Fmoc-Gly-OH（２．０～４．０当量）を、ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴおよびＤＩＣ、好ましくはＤＥＰＢＴ（２．０～４．０当量）などのカップリング剤と、oxymapure、ＨＯＢｔ、好ましくはoxymapure（２．０～４．０当量）と、ＤＩＰＥＡ、ＮＭＭ、ＴＭＰ、好ましくはＤＩＰＥＡ（５．０～８．０当量）と、$MgCl_2$、$ZnCl_2$、好ましくは$MgCl_2$（０

．０１～０．１当量）と、溶媒としてＤＭＦ／ＮＭＰ混合物を使用してカップリングさせた。反応は窒素雰囲気およびｒ．ｔ．で行なった。カイザーテストによって確認されたアミノ酸のカップリングが完了した際に、過剰の試薬を排出し、ペプチジルレジンを３×１０ｖのＤＭＦで洗浄した。

【００３９】

ステージ１７：Fmoc-Glu(O^tBu)^{21}-Gly^{22}-Gln(Trt)^{23}-Ala^{24}-Ala^{25}-Lys(Mtt)^{26}-Glu(O^tBu)^{27}-Phe^{28}-Ile^{29}-Ala^{30}-Trp(Boc)^{31}-Leu^{32}-Val^{33}-Arg(Pbf)^{34}-Gly^{35}-Arg(Pbf)^{36}-Gly^{37}-ワングレジンの合成

ロードされたアミノ酸のＦｍｏｃ脱保護を、ＤＭＦ中１５～２５％ピペリジンを使用して５分間および１０分間の２回、レジンを洗浄することによって行った。続いてレジンを３～５×８ｖ、０．０１～０．１ＭのＨＯＢｔ／ＤＭＦで洗浄した。Fmoc-Glu(O^tBu)-OH（２．０～４．０当量）を、ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴ、およびＤＩＣ、好ましくはＤＥＰＢＴ（２．０～４．０当量）などのカップリング剤と、oxymapure、ＨＯＢｔ、好ましくはoxymapure（２．０～４．０当量）と、ＤＩＰＥＡ、ＮＭＭ、ＴＭＰ、好ましくはＤＩＰＥＡ（５．０～８．０当量）と、$MgCl_2$、$ZnCl_2$、好ましくは$MgCl_2$（０．０１～０．１当量）と、溶媒としてＤＭＦ／ＮＭＰ混合物を使用してカップリングさせた。反応は窒素雰囲気およびｒ．ｔ．で行なった。カイザーテストによって確認されたアミノ酸のカップリングが完了した際に、過剰の試薬を排出し、ペプチジルレジンを３×１０ｖのＤＭＦで洗浄した。

【００４０】

ステージ１８：Fmoc-Leu^{20}-Glu(O^tBu)^{21}-Gly^{22}-Gln(Trt)^{23}-Ala^{24}-Ala^{25}-Lys(Mtt)^{26}-Glu(O^tBu)^{27}-Phe^{28}-Ile^{29}-Ala^{30}-Trp(Boc)^{31}-Leu^{32}-Val^{33}-Arg(Pbf)^{34}-Gly^{35}-Arg(Pbf)^{36}-Gly^{37}-ワングレジンの合成

ロードされたアミノ酸のＦｍｏｃ脱保護を、ＤＭＦ中１５～２５％ピペリジンを使用して５分間および１０分間の２回、レジンを洗浄することによって行った。続いてレジンを３～５×８ｖ、０．０１～０．１ＭのＨＯＢｔ／ＤＭＦで洗浄した。Fmoc-Leu-OH（２．０～４．０当量）を、ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴ、およびＤＩＣ、好ましくはＤＥＰＢＴ（２．０～４．０当量）などのカップリング剤と、oxymapure、ＨＯＢｔ、好ましくはoxymapure（２．０～４．０当量）と、ＤＩＰＥＡ、ＮＭＭ、ＴＭＰ、好ましくはＤＩＰＥＡ（５．０～８．０当量）と、$MgCl_2$、$ZnCl_2$、好ましくは$MgCl_2$（０．０１～０．１当量）と、溶媒としてＤＭＦ／ＮＭＰ混合物を使用してカップリングさせた。反応は窒素雰囲気およびｒ．ｔ．で行なった。カイザーテストによって確認されたアミノ酸のカップリングが完了した際に、過剰の試薬を排出し、ペプチジルレジンを３×１０ｖのＤＭＦで洗浄した。

【００４１】

ステージ１９：Fmoc-Tyr(^{t}Bu)^{19}-Leu^{20}-Glu(O^tBu)^{21}-Gly^{22}-Gln(Trt)^{23}-Ala^{24}-Ala^{25}-Lys(Mtt)^{26}-Glu(O^tBu)^{27}-Phe^{28}-Ile^{29}-Ala^{30}-Trp(Boc)^{31}-Leu^{32}-Val^{33}-Arg(Pbf)^{34}-Gly^{35}-Arg(Pbf)^{36}-Gly^{37}-ワングレジンの合成

ロードされたアミノ酸のＦｍｏｃ脱保護は、ＤＭＦ中１５～２５％ピペリジンを使用して５分間および１０分間の２回、レジンを洗浄することによって行った。続いてレジンを３～５×８ｖ、０．０１～０．１ＭのＨＯＢｔ／ＤＭＦで洗浄した。Fmoc-Tyr(^{t}Bu)-OH（２．０～４．０当量）を、ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴ、およびＤＩＣ、好ましくはＤＥＰＢＴ（２．０～４．０当量）などのカップリング剤と、oxymapure、ＨＯＢｔ、好ましくはoxymapure（２．０～４．０当量）と、ＤＩＰＥＡ、ＮＭＭ、ＴＭＰ、好ましくはＤＩＰＥＡ（５．０～８．０当量）と、$MgCl_2$、$ZnCl_2$、好ましくは$MgCl_2$（０．０１～０．１当量）と、溶媒としてＤＭＦ／ＮＭＰ混合物を使用してカップリングさせた。反応は窒素雰囲気およびｒ．ｔ．で行なった。カイザーテストによって確認されたアミノ酸のカップリングが完了した際に、過剰の試薬を排出し、ペプチジルレジンを３×１０ｖのＤＭＦで洗浄した。

【００４２】

ステージ２０：Fmoc-Ser(^{t}Bu)^{18}-Tyr(^{t}Bu)^{19}-Leu^{20}-Glu(O^{t}Bu)^{21}-Gly^{22}-Gln(Trt)^{23}-Ala^{24}-Ala^{25}-Lys(Mtt)^{26}-Glu(O^{t}Bu)^{27}-Phe^{28}-Ile^{29}-Ala^{30}-Trp(Boc)^{31}-Leu^{32}-Val^{33}-Arg(Pbf)^{34}-Gly^{35}-Arg(Pbf)^{36}-Gly^{37}-ワングレジンの合成

ロードされたアミノ酸のＦｍｏｃ脱保護を、ＤＭＦ中１５～２５％ピペリジンを使用して５分間および１０分間の２回、レジンを洗浄することによって行った。続いてレジンを３～５×８ｖ、０．０１～０．１ＭのＨＯＢｔ／ＤＭＦで洗浄した。Fmoc-Ser(^{t}Bu)-OH（２．０～４．０当量）を、ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴ、およびＤＩＣ、好ましくはＤＥＰＢＴ（２．０～４．０当量）などのカップリング剤と、oxymapure、ＨＯＢｔ、好ましくはoxymapure（２．０～４．０当量）と、ＤＩＰＥＡ、ＮＭＭ、ＴＭＰ、好ましくはＤＩＰＥＡ（５．０～８．０当量）と、$MgCl_2$、$ZnCl_2$、好ましくは$MgCl_2$（０．０１～０．１当量）と、溶媒としてＤＭＦ／ＮＭＰ混合物を使用してカップリングさせた。反応は窒素雰囲気およびｒ．ｔ．で行なった。カイザーテストによって確認されたアミノ酸のカップリングが完了した際に、過剰の試薬を排出し、ペプチジルレジンを３×１０ｖのＤＭＦで洗浄した。

【００４３】

ステージ２１：Fmoc-Ser(^{t}Bu)^{17}-Ser(^{t}Bu)^{18}-Tyr(^{t}Bu)^{19}-Leu^{20}-Glu(O^{t}Bu)^{21}-Gly^{22}-Gln(Trt)^{23}-Ala^{24}-Ala^{25}-Lys(Mtt)^{26}-Glu(O^{t}Bu)^{27}-Phe^{28}-Ile^{29}-Ala^{30}-Trp(Boc)^{31}-Leu^{32}-Val^{33}-Arg(Pbf)^{34}-Gly^{35}-Arg(Pbf)^{36}-Gly^{37}-ワングレジンの合成

ロードされたアミノ酸のＦｍｏｃ脱保護を、ＤＭＦ中１５～２５％ピペリジンを使用して５分間および１０分間の２回、レジンを洗浄することによって行った。続いてレジンを３～５×８ｖ、０．０１～０．１ＭのＨＯＢｔ／ＤＭＦで洗浄した。Fmoc-Ser(^{t}Bu)-OH（２．０～４．０当量）を、ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴ、およびＤＩＣ、好ましくはＤＥＰＢＴ（２．０～４．０当量）などのカップリング剤と、oxymapure、ＨＯＢｔ、好ましくはoxymapure（２．０～４．０当量）と、ＤＩＰＥＡ、ＮＭＭ、ＴＭＰ、好ましくはＤＩＰＥＡ（５．０～８．０当量）と、$MgCl_2$、$ZnCl_2$、好ましくは$MgCl_2$（０．０１～０．１当量）と、溶媒としてＤＭＦ／ＮＭＰ混合物を使用してカップリングさせた。反応は窒素雰囲気およびｒ．ｔ．で行なった。カイザーテストによって確認されたアミノ酸のカップリングが完了した際に、過剰の試薬を排出し、ペプチジルレジンを３×１０ｖのＤＭＦで洗浄した。

【００４４】

ステージ２２：Fmoc-Val^{16}-Ser(^{t}Bu)^{17}-Ser(^{t}Bu)^{18}-Tyr(^{t}Bu)^{19}-Leu^{20}-Glu(O^{t}Bu)^{21}-Gly^{22}-Gln(Trt)^{23}-Ala^{24}-Ala^{25}-Lys(Mtt)^{26}-Glu(O^{t}Bu)^{27}-Phe^{28}-Ile^{29}-Ala^{30}-Trp(Boc)^{31}-Leu^{32}-Val^{33}-Arg(Pbf)^{34}-Gly^{35}-Arg(Pbf)^{36}-Gly^{37}-ワングレジンの合成

ロードされたアミノ酸のＦｍｏｃ脱保護を、ＤＭＦ中１５～２５％ピペリジンを使用して５分間および１０分間の２回、レジンを洗浄することによって行った。続いてレジンを３～５×８ｖ、０．０１～０．１ＭのＨＯＢｔ／ＤＭＦで洗浄した。Fmoc-Val-OH（２．０～４．０当量）を、ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴおよびＤＩＣ、好ましくはＤＥＰＢＴ（２．０～４．０当量）などのカップリング剤と、oxymapure、ＨＯＢｔ、好ましくはoxymapure（２．０～４．０当量）と、ＤＩＰＥＡ、ＮＭＭ、ＴＭＰ、好ましくはＤＩＰＥＡ（５．０～８．０当量）と、$MgCl_2$、$ZnCl_2$、好ましくは$MgCl_2$（０．０１～０．１当量）と、溶媒としてＤＭＦ／ＮＭＰ混合物を使用してカップリングさせた。反応は窒素雰囲気およびｒ．ｔ．で行なった。カイザーテストによって確認されたアミノ酸のカップリングが完了した際に、過剰の試薬を排出し、ペプチジルレジンを３×１０ｖのＤＭＦで洗浄した。

【００４５】

ステージ２３：Fmoc-Asp(O^{t}Bu)^{15}-Val^{16}-Ser(^{t}Bu)^{17}-Ser(^{t}Bu)^{18}-Tyr(^{t}Bu)^{19}-Leu^{20}-Glu(O^{t}Bu)^{21}-Gly^{22}-Gln(Trt)^{23}-Ala^{24}-Ala^{25}-Lys(Mtt)^{26}-Glu(O^{t}Bu)^{27}-Phe^{28}-Ile^{29}-Ala^{30}-Trp(Boc)^{31}-Leu^{32}-Val^{33}-Arg(Pbf)^{34}-Gly^{35}-Arg(Pbf)^{36}-Gly^{37}-ワングレジンの合成

ロードされたアミノ酸のＦｍｏｃ脱保護を、ＤＭＦ中１５～２５％ピペリジンを使用して５分間および１０分間の２回、レジンを洗浄することによって行った。続いてレジンを

３～５×８ｖ、０．０１～０．１ＭのＨＯＢｔ／ＤＭＦで洗浄した。Fmoc-Ser(^{t}Bu)-OH（２．０～４．０当量）を、ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴ、およびＤＩＣ、好ましくはＤＥＰＢＴ（２．０～４．０当量）などのカップリング剤と、oxymapure、ＨＯＢｔ、好ましくはoxymapure（２．０～４．０当量）と、ＤＩＰＥＡ、ＮＭＭ、ＴＭＰ、好ましくはＤＩＰＥＡ（５．０～８．０当量）と、$MgCl_2$、$ZnCl_2$、好ましくは$MgCl_2$（０．０１～０．１当量）と、溶媒としてＤＭＦ／ＮＭＰ混合物を使用してカップリングさせた。反応は窒素雰囲気およびｒ．ｔ．で行なった。カイザーテストによって確認されたアミノ酸のカップリングが完了した際に、過剰の試薬を排出し、ペプチジルレジンを３×１０ｖのＤＭＦで洗浄した。

【００４６】

ステージ２４：Fmoc-Ser(^{t}Bu)^{14}-Asp(O^{t}Bu)^{15}-Val^{16}-Ser(^{t}Bu)^{17}-Ser(^{t}Bu)^{18}-Tyr(^{t}Bu)^{19}-Leu^{20}-Glu(O^{t}Bu)^{21}-Gly^{22}-Gln(Trt)^{23}-Ala^{24}-Ala^{25}-Lys(Mtt)^{26}-Glu(O^{t}Bu)^{27}-Phe^{28}-Ile^{29}-Ala^{30}-Trp(Boc)^{31}-Leu^{32}-Val^{33}-Arg(Pbf)^{34}-Gly^{35}-Arg(Pbf)^{36}-Gly^{37}-ワングレジンの合成

ロードされたアミノ酸のＦｍｏｃ脱保護を、ＤＭＦ中１５～２５％ピペリジンを使用して５分間および１０分間の２回、レジンを洗浄することによって行った。続いてレジンを３～５×８ｖ、０．０１～０．１ＭのＨＯＢｔ／ＤＭＦで洗浄した。Fmoc-Ser(^{t}Bu)-OH（２．０～４．０当量）を、ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴおよびＤＩＣ、好ましくはＤＥＰＢＴ（２．０～４．０当量）などのカップリング剤と、oxymapure、ＨＯＢｔ、好ましくはoxymapure（２．０～４．０当量）と、ＤＩＰＥＡ、ＮＭＭ、ＴＭＰ、好ましくはＤＩＰＥＡ（５．０～８．０当量）と、$MgCl_2$、$ZnCl_2$、好ましくは$MgCl_2$（０．０１～０．１当量）と、溶媒としてＤＭＦ／ＮＭＰ混合物を使用してカップリングさせた。反応は窒素雰囲気およびｒ．ｔ．で行なった。カイザーテストによって確認されたアミノ酸のカップリングが完了した際に、過剰の試薬を排出し、ペプチジルレジンを３×１０ｖのＤＭＦで洗浄した。

【００４７】

ステージ２５：Fmoc-Thr(^{t}Bu)^{13}-Ser(^{t}Bu)^{14}-Asp(O^{t}Bu)^{15}-Val^{16}-Ser(^{t}Bu)^{17}-Ser(^{t}Bu)^{18}-Tyr(^{t}Bu)^{19}-Leu^{20}-Glu(O^{t}Bu)^{21}-Gly^{22}-Gln(Trt)^{23}-Ala^{24}-Ala^{25}-Lys(Mtt)^{26}-Glu(O^{t}Bu)^{27}-Phe^{28}-Ile^{29}-Ala^{30}-Trp(Boc)^{31}-Leu^{32}-Val^{33}-Arg(Pbf)^{34}-Gly^{35}-Arg(Pbf)^{36}-Gly^{37}-ワングレジンの合成

ロードされたアミノ酸のＦｍｏｃ脱保護を、ＤＭＦ中１５～２５％ピペリジンを使用して５分間および１０分間の２回、レジンを洗浄することによって行った。続いてレジンを３～５×８ｖ、０．０１～０．１ＭのＨＯＢｔ／ＤＭＦで洗浄した。Fmoc-Thr(^{t}Bu)-OH（２．０～４．０当量）を、ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴ、およびＤＩＣ、好ましくはＤＥＰＢＴ（２．０～４．０当量）などのカップリング剤と、oxymapure、ＨＯＢｔ、好ましくはoxymapure（２．０～４．０当量）と、ＤＩＰＥＡ、ＮＭＭ、ＴＭＰ、好ましくはＤＩＰＥＡ（５．０～８．０当量）と、$MgCl_2$、$ZnCl_2$、好ましくは$MgCl_2$（０．０１～０．１当量）と、溶媒としてＤＭＦ／ＮＭＰ混合物を使用してカップリングさせた。反応は窒素雰囲気で、約３０～４５℃の高温にて行なった。カイザーテストによって確認されたアミノ酸のカップリングが完了した際に、過剰の試薬を排出し、ペプチジルレジンを３×１０ｖのＤＭＦで洗浄した。

【００４８】

ステージ２６：Fmoc-Phe^{12}-Thr(^{t}Bu)^{13}-Ser(^{t}Bu)^{14}-Asp(O^{t}Bu)^{15}-Val^{16}-Ser(^{t}Bu)^{17}-Ser(^{t}Bu)^{18}-Tyr(^{t}Bu)^{19}-Leu^{20}-Glu(O^{t}Bu)^{21}-Gly^{22}-Gln(Trt)^{23}-Ala^{24}-Ala^{25}-Lys(Mtt)^{26}-Glu(O^{t}Bu)^{27}-Phe^{28}-Ile^{29}-Ala^{30}-Trp(Boc)^{31}-Leu^{32}-Val^{33}-Arg(Pbf)^{34}-Gly^{35}-Arg(Pbf)^{36}-Gly^{37}-ワングレジンの合成

ロードされたアミノ酸のＦｍｏｃ脱保護を、ＤＭＦ中１５～２５％ピペリジンを使用して５分間および１０分間の２回、レジンを洗浄することによって行った。続いてレジンを３～５×８ｖ、０．０１～０．１ＭのＨＯＢｔ／ＤＭＦで洗浄した。Fmoc-Phe-OH（２．０～４．０当量）を、ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴ、およびＤＩＣ、好ましくはＤＥ

ＰＢＴ（２．０～４．０当量）などのカップリング剤と、oxymapure、ＨＯＢｔ、好ましくはoxymapure（２．０～４．０当量）と、ＤＩＰＥＡ、ＮＭＭ、ＴＭＰ、好ましくはＤＩＰＥＡ（５．０～８．０当量）と、$MgCl_2$、$ZnCl_2$、好ましくは$MgCl_2$（０．０１～０．１当量）と、溶媒としてＤＭＦ／ＮＭＰ混合物を使用してカップリングさせた。反応は窒素雰囲気中で、約３０～４５℃の高温にて行なった。カイザーテストによって確認されたアミノ酸のカップリングが完了した際に、過剰の試薬を排出し、ペプチジルレジンを３×１０ｖのＤＭＦで洗浄した。

【００４９】

ステージ２７：Fmoc-Thr(^{t}Bu)^{11}-Phe^{12}-Thr(^{t}Bu)^{13}-Ser(^{t}Bu)^{14}-Asp(O^{t}Bu)^{15}-Val^{16}-Ser(^{t}Bu)^{17}-Ser(^{t}Bu)^{18}-Tyr(^{t}Bu)^{19}-Leu^{20}-Glu(O^{t}Bu)^{21}-Gly^{22}-Gln(Trt)^{23}-Ala^{24}-Ala^{25}-Lys(Mtt)^{26}-Glu(O^{t}Bu)^{27}-Phe^{28}-Ile^{29}-Ala^{30}-Trp(Boc)^{31}-Leu^{32}-Val^{33}-Arg(Pbf)^{34}-Gly^{35}-Arg(Pbf)^{36}-Gly^{37}-ワングレジンの合成

ロードされたアミノ酸のＦｍｏｃ脱保護を、ＤＭＦ中１５～２５％ピペリジンを使用して５分間および１０分間の２回、レジンを洗浄することによって行った。続いてレジンを３～５×８ｖ、０．０１～０．１ＭのＨＯＢｔ／ＤＭＦで洗浄した。Fmoc-Thr(^{t}Bu)-OH（２．０～４．０当量）を、ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴ、およびＤＩＣ、好ましくはＤＥＰＢＴ（２．０～４．０当量）などのカップリング剤と、oxymapure、ＨＯＢｔ、好ましくはoxymapure（２２．０～４．０当量））と、ＤＩＰＥＡ、ＮＭＭ、ＴＭＰ、好ましくはＤＩＰＥＡ（５．０～８．０当量）と、$MgCl_2$、$ZnCl_2$、好ましくは$MgCl_2$（０．０１～０．１当量）と、溶媒としてＤＭＦ／ＮＭＰ混合物を使用してカップリングさせた。反応は窒素雰囲気中で、約３０～４５℃の高温にて実施した。カイザーテストによって確認されたアミノ酸のカップリングが完了した際に、過剰の試薬を排出し、ペプチジルレジンを３×１０ｖのＤＭＦで洗浄した。

【００５０】

ステージ２８：Fmoc-Gly^{10}-Thr(^{t}Bu)^{11}-Phe^{12}-Thr(^{t}Bu)^{13}-Ser(^{t}Bu)^{14}-Asp(O^{t}Bu)^{15}-Val^{16}-Ser(^{t}Bu)^{17}-Ser(^{t}Bu)^{18}-Tyr(^{t}Bu)^{19}-Leu^{20}-Glu(O^{t}Bu)^{21}-Gly^{22}-Gln(Trt)^{23}-Ala^{24}-Ala^{25}-Lys(Mtt)^{26}-Glu(O^{t}Bu)^{27}-Phe^{28}-Ile^{29}-Ala^{30}-Trp(Boc)^{31}-Leu^{32}-Val^{33}-Arg(Pbf)^{34}-Gly^{35}-Arg(Pbf)^{36}-Gly^{37}-ワングレジンの合成

ロードされたアミノ酸のＦｍｏｃ脱保護を、ＤＭＦ中１５～２５％ピペリジンを使用して５分間および１０分間の２回、レジンを洗浄することによって行った。続いてレジンを３～５×８ｖ、０．０１～０．１ＭのＨＯＢｔ／ＤＭＦで洗浄した。Fmoc-Gly-OH（２．０～４．０当量）を、ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴ、およびＤＩＣ、好ましくはＤＥＰＢＴ（２．０～４．０当量）などのカップリング剤と、oxymapure、ＨＯＢｔ、好ましくはoxymapure（２．０～４．０当量）と、ＤＩＰＥＡ、ＮＭＭ、ＴＭＰ、好ましくはＤＩＰＥＡ（５．０～８．０当量）と、$MgCl_2$、$ZnCl_2$、好ましくは$MgCl_2$（０．０１～０．１当量）と、溶媒としてＤＭＦ／ＮＭＰ混合物）を使用してカップリングさせた。反応は窒素雰囲気中で、約３０～４５℃の高温にて行なった。カイザーテストによって確認されたアミノ酸のカップリングが完了した際に、過剰の試薬を排出し、ペプチジルレジンを３×１０ｖのＤＭＦで洗浄した。

【００５１】

ステージ２９：Fmoc-Glu(O^{t}Bu)^{9}-Gly^{10}-Thr(^{t}Bu)^{11}-Phe^{12}-Thr(^{t}Bu)^{13}-Ser(^{t}Bu)^{14}-Asp(O^{t}Bu)^{15}-Val^{16}-Ser(^{t}Bu)^{17}-Ser(^{t}Bu)^{18}-Tyr(^{t}Bu)^{19}-Leu^{20}-Glu(O^{t}Bu)^{21}-Gly^{22}-Gln(Trt)^{23}-Ala^{24}-Ala^{25}-Lys(Mtt)^{26}-Glu(O^{t}Bu)^{27}-Phe^{28}-Ile^{29}-Ala^{30}-Trp(Boc)^{31}-Leu^{32}-Val^{33}-Arg(Pbf)^{34}-Gly^{35}-Arg(Pbf)^{36}-Gly^{37}-ワングレジンの合成

ロードされたアミノ酸のＦｍｏｃ脱保護を、ＤＭＦ中１５～２５％ピペリジンを使用して５分間および１０分間の２回、レジンを洗浄することによって行った。続いてレジンを３～５×８ｖ、０．０１～０．１ＭのＨＯＢｔ／ＤＭＦで洗浄した。Fmoc-Glu(O^{t}Bu)-OH（２．０～４．０当量）を、ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴ、およびＤＩＣ、好ましくはＤＥＰＢＴ（２．０～４．０当量）などのカップリング剤と、oxymapure、ＨＯＢｔ、好ましくはoxymapure（２．０～４．０当量）と、ＤＩＰＥＡ、ＮＭＭ、ＴＭＰ、好まし

くはＤＩＰＥＡ（５．０～８．０当量）と、$MgCl_2$、$ZnCl_2$、好ましくは$MgCl_2$（０．０１～０．１当量）と、溶媒としてＤＭＦ／ＮＭＰ混合物を使用してカップリングさせた。反応は窒素雰囲気で、約３０～４５℃の高温にて行なった。カイザーテストによって確認されたアミノ酸のカップリングが完了した際に、過剰の試薬を排出し、ペプチジルレジンを３×１０ｖのＤＭＦで洗浄した。

【００５２】

ステージ３０：Fmoc-Ala^{8}-Glu(O^{t}Bu)^{9}-Gly^{10}-Thr(^{t}Bu)^{11}-Phe^{12}-Thr(^{t}Bu)^{13}-Ser(^{t}Bu)^{14}-Asp(O^{t}Bu)^{15}-Val^{16}-Ser(^{t}Bu)^{17}-Ser(^{t}Bu)^{18}-Tyr(^{t}Bu)^{19}-Leu^{20}-Glu(O^{t}Bu)^{21}-Gly^{22}-Gln(Trt)^{23}-Ala^{24}-Ala^{25}-Lys(Mtt)^{26}-Glu(O^{t}Bu)^{27}-Phe^{28}-Ile^{29}-Ala^{30}-Trp(Boc)^{31}-Leu^{32}-Val^{33}-Arg(Pbf)^{34}-Gly^{35}-Arg(Pbf)^{36}-Gly^{37}-ワングレジンの合成

ロードされたアミノ酸のＦｍｏｃ脱保護を、ＤＭＦ中１５～２５％ピペリジンを使用して５分間および１０分間の２回、レジンを洗浄することによって行った。続いてレジンを３～５×８ｖ、０．０１～０．１ＭのＨＯＢｔ／ＤＭＦで洗浄した。Fmoc-Ala-OH（２．０～４．０当量）を、ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴ、およびＤＩＣ、好ましくはＤＥＰＢＴ（２．０～４．０当量）などのカップリング剤と、oxymapure、ＨＯＢｔ、好ましくはoxymapure（２．０～４．０当量）と、ＤＩＰＥＡ、ＮＭＭ、ＴＭＰ、好ましくはＤＩＰＥＡ（５．０～８．０当量）と、$MgCl_2$、$ZnCl_2$、好ましくは$MgCl_2$（０．０１～０．１当量）と、溶媒としてＤＭＦ／ＮＭＰ混合物を使用してカップリングさせた。反応は窒素雰囲気およびｒ．ｔ．で行なった。カイザーテストによって確認されたアミノ酸のカップリングが完了した際に、過剰の試薬を排出し、ペプチジルレジンを３×１０ｖのＤＭＦで洗浄した。

【００５３】

ステージ３１：Boc-His(Trt)^{7}-Ala^{8}-Glu(O^{t}Bu)^{9}-Gly^{10}-Thr(^{t}Bu)^{11}-Phe^{12}-Thr(^{t}Bu)^{13}-Ser(^{t}Bu)^{14}-Asp(O^{t}Bu)^{15}-Val^{16}-Ser(^{t}Bu)^{17}-Ser(^{t}Bu)^{18}-Tyr(^{t}Bu)^{19}-Leu^{20}-Glu(O^{t}Bu)^{21}-Gly^{22}-Gln(Trt)^{23}-Ala^{24}-Ala^{25}-Lys(Mtt)^{26}-Glu(O^{t}Bu)^{27}-Phe^{28}-Ile^{29}-Ala^{30}-Trp(Boc)^{31}-Leu^{32}-Val^{33}-Arg(Pbf)^{34}-Gly^{35}-Arg(Pbf)^{36}-Gly^{37}-ワングレジンの合成

ロードされたアミノ酸のＦｍｏｃ脱保護を、ＤＭＦ中１５～２５％ピペリジンを使用して５分間および１０分間の２回、レジンを洗浄することによって行った。続いてレジンを３～５×８ｖ、０．０１～０．１ＭのＨＯＢｔ／ＤＭＦで洗浄した。Boc-His(Trt)-OH（３．０～５．０当量）を、ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴ、およびＤＩＣ、好ましくはＤＥＰＢＴ（３．０～５．０当量）などのカップリング剤と、oxymapure、ＨＯＢｔ、好ましくはoxymapure（３．０～５．０当量）と、ＤＩＰＥＡ、ＮＭＭ、ＴＭＰ、好ましくはＤＩＰＥＡ（６．０～１０．０当量）と、$MgCl_2$、$ZnCl_2$、好ましくは$MgCl_2$（０．０１～０．１当量）と、溶媒としてＤＭＦ／ＮＭＰ混合物を使用してカップリングさせた。反応は窒素雰囲気およびｒ．ｔ．で行なった。カイザーテストによって確認されたアミノ酸のカップリングが完了した際に、過剰の試薬を排出し、ペプチジルレジンを３×１０ｖのＤＭＦで洗浄した。

【００５４】

ステージ３２：Boc-His(Trt)^{7}-Ala^{8}-Glu(O^{t}Bu)^{9}-Gly^{10}-Thr(^{t}Bu)^{11}-Phe^{12}-Thr(^{t}Bu)^{13}-Ser(^{t}Bu)^{14}-Asp(O^{t}Bu)^{15}-Val^{16}-Ser(^{t}Bu)^{17}-Ser(^{t}Bu)^{18}-Tyr(^{t}Bu)^{19}-Leu^{20}-Glu(O^{t}Bu)^{21}-Gly^{22}-Gln(Trt)^{23}-Ala^{24}-Ala^{25}-Lys(Fmoc-Glu-O^{t}Bu)^{26}-Glu(O^{t}Bu)^{27}-Phe^{28}-Ile^{29}-Ala^{30}-Trp(Boc)^{31}-Leu^{32}-Val^{33}-Arg(Pbf)^{34}-Gly^{35}-Arg(Pbf)^{36}-Gly^{37}-ワングレジンの合成

ペプチドの分岐を、ＭＤＣ中０．５～２．０％ＴＦＡでの処置を１５～２０サイクル×１０ｖ行うことにより、Lys^{26}側鎖のMtt保護基を除去することにより行なった。ペプチジルレジンを、ＭＤＣ ２×１０ｖ、２×１０ｖ、２×１０ｖ ＤＭＦ、およびＤＭＦ中５～１０．０％のＤＩＰＥＡで洗浄した。Fmoc-Glu-O^{t}Bu（２．０～５．０当量）を、ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴおよびＤＩＣ、好ましくはＤＥＰＢＴ（２．０～５．０当量）などのカップリング剤と、oxymapure、ＨＯＢｔ、好ましくはoxymapure（２．０～５．０当量）と、ＤＩＰＥＡ、ＮＭＭ、ＴＭＰ、好ましくはＤＩＰＥＡ（５．０～１０．０当量）と、$MgCl_2$、$ZnCl_2$、好ましくは$MgCl_2$（０．０１～０．１当量）と、溶

媒としてＤＭＦ／ＮＭＰ混合物を使用してカップリングさせた。反応は窒素雰囲気およびｒ．ｔ．で行なった。カイザーテストによって確認されたアミノ酸のカップリングが完了した際に、過剰の試薬を排出し、ペプチジルレジンを３×１０ｖのＤＭＦで洗浄した。

【００５５】

ステージ３３：Boc-His(Trt)^{7}-Ala^{8}-Glu(O^{t}Bu)^{9}-Gly^{10}-Thr(^{t}Bu)^{11}-Phe^{12}-Thr(^{t}Bu)^{13}-Ser(^{t}Bu)^{14}-Asp(O^{t}Bu)^{15}-Val^{16}-Ser(^{t}Bu)^{17}-Ser(^{t}Bu)^{18}-Tyr(^{t}Bu)^{19}-Leu^{20}-Glu(O^{t}Bu)^{21}-Gly^{22}-Gln(Trt)^{23}-Ala^{24}-Ala^{25}-Lys(パルミトイル-Glu-O^{t}Bu)^{26}-Glu(O^{t}Bu)^{27}-Phe^{28}-Ile^{29}-Ala^{30}-Trp(Boc)^{31}-Leu^{32}-Val^{33}-Arg(Pbf)^{34}-Gly^{35}-Arg(Pbf)^{36}-Gly^{37}-ワングレジンの合成

ロードされたアミノ酸のＦｍｏｃ脱保護を、ＤＭＦ中の１０～２５％ピペリジンを使用して５分間および１０分間の２回、レジンを洗浄することによって行った。続いてレジンを３～５×８ｖ、０．０１～０．１ＭのＨＯＢｔ／ＤＭＦで洗浄した。ヘキサデカン酸（２．０～５．０当量）を、ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴ、およびＤＩＣ、好ましくはＤＩＣ（２．０～５．０当量）などのカップリング剤と、oxymapure、ＨＯＢｔ、好ましくはoxymapure（２．０～４．０当量）と、ＤＩＰＥＡ、ＮＭＭ、ＴＭＰ、好ましくはＤＩＰＥＡ（５．０～８．０当量）と、$MgCl_2$、$ZnCl_2$、好ましくは$MgCl_2$（０．０１～０．１当量）と、溶媒としてＤＭＦを使用してカップリングさせた。反応は窒素雰囲気およびｒ．ｔ．で行なった。カイザーテストによって確認されたアミノ酸のカップリングが完了した際に、過剰の試薬を排出し、ペプチジルレジンを３×１０ｖのＤＭＦで洗浄した。

【００５６】

ステージ３４：H-His^{7}-Ala^{8}-Glu^{9}-Gly^{10}-Thr^{11}-Phe^{12}-Thr^{13}-Ser^{14}-Asp^{15}-Val^{16}-Ser^{17}-Ser^{18}-Tyr^{19}-Leu^{20}-Glu^{21}-Gly^{22}-Gln^{23}-Ala^{24}-Ala^{25}-Lys(γ-Glu-パルミトイル)^{26}-Glu^{27}-Phe^{28}-Ile^{29}-Ala^{30}-Trp^{31}-Leu^{32}-Val^{33}-Arg^{34}-Gly^{35}-Arg^{36}-Gly^{37}-OHの合成

ロードされたペプチジルレジンを、ＤＭＦ ２×１０ｖ、ＭＤＣ ２×１０ｖ、ＭｅＯＨ ２×１０ｖおよびＭＴＢＥ ３×１０ｖで洗浄した。ペプチドの全切断は、ＴＦＡ、フェノール、ＴＩＳ、H_2Oチオアニソールカクテル混合物を使用して行った。ペプチド－ＴＦＡカクテルを濃縮し、冷却したＭＴＢＥ５～１５ｖに添加した。沈殿した化合物を遠心分離および／または濾過により単離およびＶＴＤ中で乾燥し、精製へ進めた（プロセス収率１８．２５％、純度５１．３％）。

【００５７】

例２：$CuCl_2$を使用するリラグルチドの合成

当該プロセスは例１に記載したものと同じであり、唯一の変更点は、$MgCl_2$の代わりに、$CuCl_2$を全ての個々のアミノ酸の逐次カップリングの間の触媒として採用することである（プロセス収率１７．８４％、純度５１．１６％）。

【００５８】

例３：Mtt保護基の脱保護のためのＨＦＩＰ－ＴＥＳ－ＴＦＥカクテルを使用するリラグルチドの合成

当該プロセスは例１に記載したものと同じであり、唯一の変更点は、Lys(Mtt)^{26}の除去にあり、ここでＭＤＣ １０～３０ｖ中、５．０～４０．０％のＨＦＩＰ、２．０～１０．０％のＴＥＳ、５．０～１０％のＴＦＥを採用し、混合物を２～６時間撹拌した（実際のプロセス収率２１．２３％、純度５１．７％）。

【００５９】

例４：リラグルチドの合成

当該プロセスは例１に記載したものと同じであり、唯一の変更点は、無機塩をカップリングの間に使用しないことである（プロセス収率６．７９％、純度３４．４％）。

【００６０】

例５：無機塩を使用しないリラグルチドの合成

当該プロセスは例１に記載したものと同じであり、唯一の変更点は、無機塩をカップリングの間に使用せず、ＤＭＦ中０．１ＭのＨＯＢｔの代わりにＩＰＡで洗浄したことであ

る（プロセス収率８．６２％、純度３９．１％）。

【００６１】

例６：Pal-Glu-O^{t}Bu側鎖のカップリングを使用するリラグルチドの合成

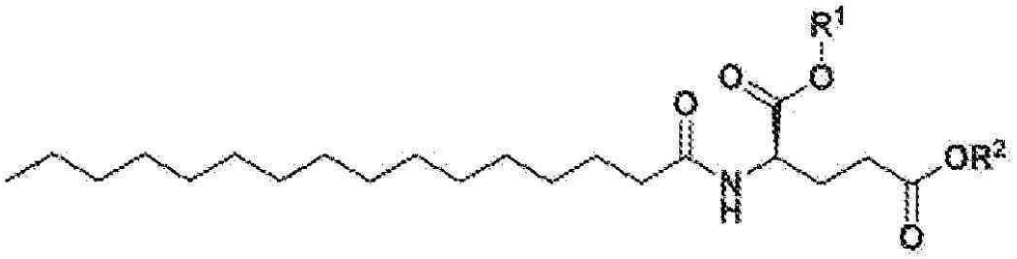
ペプチドの分岐を、ＭＤＣ中０．５～２．０％ＴＦＡでの処置を１５～２０サイクル×１０ｖ行うことによりLys^{26}側鎖のMtt保護基を除去することによって行なった。ペプチジルレジンをＭＤＣ ２×１０ｖ、２×１０ｖ、２×１０ｖ ＤＭＦ、およびＤＭＦ中５～１０．０％のＤＩＰＥＡで洗浄した。Pal-Glu-O^{t}Bu側鎖を、ＨＢＴＵ、ＣＯＭＵ、ＤＥＰＢＴおよびＤＩＣ、好ましくはＤＥＰＢＴ（２．０～５．０当量）などのカップリング剤と、oxymapure、ＨＯＢｔ、好ましくはoxymapure（２．０～５．０当量）と、ＤＩＰＥＡ、ＮＭＭ、ＴＭＰ、好ましくはＤＩＰＥＡ（５．０～１０．０当量）と、$MgCl_2$、$ZnCl_2$、好ましくは$MgCl_2$（０．０１～０．１当量）と、溶媒としてのＤＭＦ／ＮＭＰ混合物を使用してカップリングした。反応は窒素雰囲気およびｒ．ｔ．で行なった。カイザーテストによって確認されたアミノ酸のカップリングが完了した際に、過剰の試薬を排出し、ペプチジルレジンを３×１０ｖのＤＭＦで洗浄した。

【００６２】

例７：リラグルチドの合成

当該プロセスは、例１に記載したものと同じであり、Mtt除去は例３に記載のとおりに行った。ピペリジンを確実に完全に除去するとともに合成中の線状ペプチドの凝集を回避するために、各Ｆｍｏｃ脱保護ステップの後に追加の０．０１～０．１ＭのＨＯＢｔ／ＤＭＦ洗浄を行った（実際のプロセス収率２７．０％、純度＞６０．０％）。

【化２】



R^2＝アルキル、アリール、R^2＝H

式ＩＩ

【００６３】

例８：リラグルチドの精製

粗リラグルチドを、５～４０％ＡＣＮを含有する希炭酸アンモニウム溶液に５～７５ｍｇ／ｍｌの濃度で溶解し、予め平衡化した100-10-C8カラム（１０ｍｍ×２５０ｍｍ）にロードした。この後に０．２ＣＶの希釈を続けた。移動相の段階勾配（Ａ：水中０．１％ＴＦＡ；Ｂ：ＡＣＮ中０．１％ＴＦＡ：ＩＰＡ）を使用して、結合したリラグルチドを溶出した。純度＞９２％を有する画分を真空下で濃縮し、続いて等電点沈殿させた。沈殿物を遠心分離により回収した。回収した沈殿物を再び、カラム100-10-C8カラム（１０ｍｍ×２５０ｍｍ）上の別のＲＰ－ＨＰＬＣステップに供した。結合したリラグルチドを、移動相、つまりＡ：希酢酸アンモニウム；Ｂ：ＡＣＮから構成される移動相の勾配溶出を使用して溶出した。＞９８．５％の画分をプールし、真空下で濃縮し、等電点で沈殿させ、＆最後に凍結乾燥した。

【００６４】

例９：リラグルチドの精製

リラグルチドを１０～７５ｍｇ／ｍｌの濃度で希アンモニア溶液に溶解し、100-10-C8カラム（１０ｍｍ×２５０ｍｍ）上のＲＰ－ＨＰＬＣ－１ステップに供した。この後に０．２ＣＶの希釈を続けた。移動相の段階勾配（Ａ：水中０．１％ＴＦＡ；Ｂ：ＡＣＮ中０．１％ＴＦＡ：ＩＰＡ）を使用して、結合したリラグルチドを溶出した。純度＞９０％を有する画分を真空下で濃縮し、続いて等電点沈殿させた。沈殿物を遠心分離により回収した。回収した沈殿物を再び、カラム100-10-C8カラム（１０ｍｍ×２５０ｍｍ）上の別のＲＰ－ＨＰＬＣ－２ステップに供した。結合したリラグルチドを、移動相、つまりＡ：水中ＴＦＡ；Ｂ：メタノール中ＴＦＡから構成される移動相の勾配溶出を使用して溶出した。このステップは特定の不純物の低減に役立った。＞９３％の画分をプールし、酢酸アンモニウムで希釈し、カラム100-10-C8カラム（１０ｍｍ×２５０ｍｍ）上のＲＰ－ＨＰＬＣ－３ステップにロードした。結合したリラグルチドは、移動相、つまりＡ：酢酸アンモニウム；Ｂ：ＡＣＮから構成される移動相の勾配溶出を使用して溶出した。＞９８．５％の画分をプールし、真空下で濃縮し、等電点で沈殿させ、＆最後に凍結乾燥した。

【図１－１】

図１

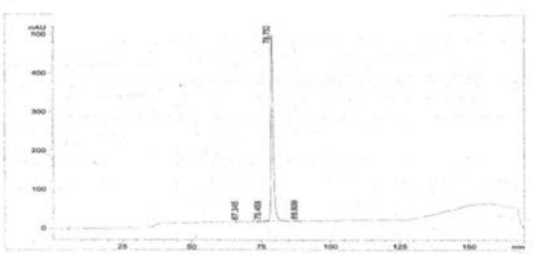


【図１－２】



【図２】

図２



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/IB2017/057763

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
C07K14/00,C07K1/10 Version=2018.01

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

Patseer, IPO Internal Database

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2014/199397 A2 (MYLAN LABORATORIES LTD) 18 December 2014 WHOLE DOCUMENT ESPECIALLY EXAMPLE 1, CLAIM 1 (FAMILY: NONE)	1-15

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
14-03-2018	14-03-2018
Name and mailing address of the ISA/ Indian Patent Office Plot No.32, Sector 14,Dwarka,New Delhi-110075 Facsimile No.	Authorized officer Manvender Singh Dagur Telephone No. +91-1125300200

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

フロントページの続き

(81)指定国・地域 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT

(72)発明者 ガンガ，ラム，ヴァサンサクマー
インド共和国 ５６０００４ カルナータカ州、バンガロール、ケー． アール． ロード、オーピーピー． カヴェリ ハンドルームス、アビナブ プールナ パラス、Ｇ５、＃４０
(72)発明者 パティル，ニティン
インド共和国 ５６００３４ カルナータカ州、バンガロール、コラマンガラ ３番ブロック、サージャプール ロード ５３、フロリアナ エステイト Ｂ－２１１
(72)発明者 チャーユル，パレ ヴェンカタ，ラガヴェンドラ
インド共和国 ５０００４９ テランガーナ州、ハイデラバード、ミヤプール、マディーナギューダ、マイスリー ナガー、５－１９４／エー
(72)発明者 ジャスミン，カステリーノ，ルーパ
インド共和国 ５６０１００ カルナータカ州、バンガロール、カマサンドラ ロード、エマニュエル ヴィスタ、Ｂ１０１
(72)発明者 マカニ，ランバブ
インド共和国 ５１８００４ アーンドラ プラデーシュ州、クルヌール、バーギャ ナガー、４０／３１０
(72)発明者 スヴァルナ，ディーパ，シャンカー
インド共和国 ５６００９５ カルナータカ州、バンガロール、コラマンガラ アデュゴディ ロード、コラマンガラ ８番ブロック、セカンド ディー―メイン、１階、＃２２７

Ｆターム(参考) 4H045 AA10 AA20 AA30 BA18 BA55 CA40 DA30 EA20 EA23 FA33
FA57 FA58 FA61 GA05 GA25