

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2024-530774

(P2024-530774A)

(43)公表日 令和6年8月23日(2024.8.23)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード(参考)
C 0 7 H 19/04 (2006.01)	C 0 7 H 19/04	C S P 4 C 0 5 7
A 6 1 K 31/7068(2006.01)	A 6 1 K 31/7068	4 C 0 8 6
A 6 1 P 27/02 (2006.01)	A 6 1 P 27/02	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全59頁)

(21)出願番号	特願2024-513779(P2024-513779)	(71)出願人	517325560
(86)(22)出願日	令和4年9月6日(2022.9.6)		ミレカ メディシズ ゲーエムベーハー
(85)翻訳文提出日	令和6年2月29日(2024.2.29)		ドイツ, 7 2 0 7 6 テュービンゲン,
(86)国際出願番号	PCT/EP2022/074740		ポール エーアリッヒ シュトラーセ 5
(87)国際公開番号	WO2023/031481	(74)代理人	100107456
(87)国際公開日	令和5年3月9日(2023.3.9)		弁理士 池田 成人
(31)優先権主張番号	21195043.1	(74)代理人	100162352
(32)優先日	令和3年9月6日(2021.9.6)		弁理士 酒巻 順一郎
(33)優先権主張国・地域又は機関	欧州特許庁(EP)	(74)代理人	100123995
			弁理士 野田 雅一
(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,A T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR ,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC, 最終頁に続く	(72)発明者	ボルマーク, マーティン
			スウェーデン王国, エスイー 1 1 3
			4 4 ストックホルム, ウップランドガ
			タン 8 3
		(72)発明者	シュヴェーデ, フランク ディーター
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 環状グアノシンーリン酸アナログの改善された生成方法

(57)【要約】

本発明は、環状グアノシン - 3 ' , 5 ' - リン酸アナログを調製するための方法に関する。本発明はまた、本方法により得られる新しい環状グアノシンーリン酸アナログ及び中間体に関する。

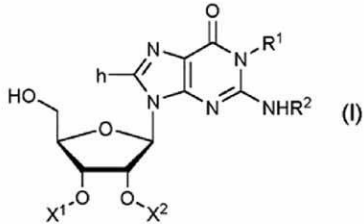
【特許請求の範囲】

【請求項1】

環状グアノシン-3',5'-リン酸(cGMP)アナログ又はその合成中間体を生成するための方法であって、

i) 一般式(I)のグアノシナーナログ又はその塩:

【化1】



10

(式中、

hは、H、ハロゲン、又はQであり、

X¹及びX²は、各々独立して、H又はp'から選ばれ、

p'は、各場合とも独立して、ヒドロキシル保護基から選ばれ、

R¹及びR²は、各々独立して、H、-(CH₂)_n-H、-(CH₂)_n-C₃₋₉ヘテロシクリル、-(CH₂)_n-ar、及びarから選ばれ、nの各場合とも独立して、0、1、2、3、若しくは4から選ばれ、又はR¹及びR²は、一緒になって、-CH=C(ar)-若しくは-(CH₂)₁₋₄C(=O)-を形成し、

20

arは、各場合とも独立して、5若しくは6員芳香環又はヘテロ芳香環、好ましくはフェニル又は2-フラニルであり、arの各場合とも個別に、ハロゲン、-OH、-SH、-NH₂、-NO₂、-OCH₃、-CH₃、-CH₂CH₃、-CH(CH₃)₂、又は-CF₃で任意に置換されていてもよく、且つarの第2の場合に任意に縮合されて、好ましくはナフチル部分を形成してもよく、

Qは、-(CH₂)_n-S-(CH₂)_n-H、-S-(CH₂)_n-OH、-S-(CH₂)_n-NH₂、-(CH₂)_n-O-(CH₂)_n-H、-O-(CH₂)_n-OH、-O-(CH₂)_n-NH₂、-O-C(CH₃)₃、-O-CH(CH₃)₂、-(CH₂)_n-N(-[CH₂]_nH)₂、-NH-(CH₂)_nNH₂、-NH-(CH₂)_n-OH、-(CH₂)_n-Nc¹c²であり、c¹及びc²は、それらが結合されているNと一緒に、3~8員ヘテロ環を形成し、又はc¹はHであり、且つc²は、3~8員ヘテロ環、-(CH₂)_n-H、-N₃、-CF₃、-(CH₂)_n-ar、-O-(CH₂)_n-(ar)、-NH-(CH₂)_n-(ar)、-S-(CH₂)_n-(ar)、-(CH₂)_n-アミド-(ar)、-O-(CH₂)_n-アミド-(ar)、-NH-(CH₂)_n-アミド-(ar)、-S-(CH₂)_n-アミド-(ar)、若しくはリンカー部分であり、いずれの-Hも、ハロゲンにより任意に置き換えられていてもよく、nの各場合とも独立して、0、1、2、3、4、5、6、7、若しくは8から選ばれる)

30

40

を提供するステップと、

ii) 前記提供されたグアノシナーナログとリンオキソ酸誘導体とを接触させてグアノシン5'-リンオキソ酸エステルアナログを得るステップと、

iii) 前記得られたグアノシン5'-リンオキソ酸エステルアナログを結晶化により単離するステップと、

を含む、方法。

【請求項2】

ステップi)で使用される一般式(I)の前記グアノシナーナログ又はその塩に対して、

hは、H若しくはハロゲン若しくはQ、好ましくはH若しくはBr若しくはQ、より好

50

ましくは Br であり、

X^1 は H であり且つ X^2 は p' であり、

p' は、メトキシメチル (MOM)、テトラヒドロピラニル (THP)、t-ブチル (tBu)、アリル (all)、ベンジル (Bn)、(トリ)アルキルシリル (たとえば、t-ブチルジメチルシリル (TBDMs)、トリイソプロピルシリル (TIPS)、若しくは t-ブチルジフェニルシリル (TBDPS))、アシル (たとえば、アセチル (Ac))、ピバロイル (Pv)、若しくはベンゾイル (Bz)) から、好ましくは THP、(トリ)アルキルシリル、及びアシルからなる群から選択され、

R^1 及び R^2 は、一緒になって、 $-CH=C(ar)-$ を形成し、

ar は、フェニル、4-メチルフェニル、3-チオフェニル、若しくは 2-フラニル、好ましくはフェニルであり、且つ / 又は

Q は、フラニル、 $-CF_3$ 、 $-SCH_3$ 、 $-S$ (イソプロピルフェニル)、 $-S$ (フェニルアミドメチル)、 $-S$ (ハロフェニル)、 $-S$ (ヒドロキシフェニル)、 $-S$ (アミノフェニル)、 $-S$ (ニトロフェニル)、 $-S$ (メトキシフェニル)、 $-S$ (トルイル)、 $-S$ (トリフルオロメチルフェニル)、 $-Nc^1c^2$ (ここで、 c^1 及び c^2 は、それらが結合されている N と一緒になって、3~8員ヘテロ環を形成する)、 $-S-(CH_2)_n-OH$ 、 $-S-(CH_2)_n-NH_2$ 、 $-NH-(CH_2)_nNH_2$ 、若しくは $-NH-(CH_2)_nOH$ 、好ましくはフラニル、 $-CF_3$ 、 $-S$ (4-ヒドロキシフェニル)、若しくは $-S$ (4-クロロフェニル) である、

請求項 1 に記載の方法。

10

20

【請求項 3】

ステップ i) で使用される一般式 (I) の前記グアノシンアナログ又はその塩に対して

h は、Br であり、

X^1 は H であり且つ X^2 は p' であり、

p' は、トリイソプロピルシリル (TIPS) であり、

R^1 及び R^2 は、一緒になって、 $-CH=C(ar)-$ を形成し、且つ

ar は、フェニルである、

請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 4】

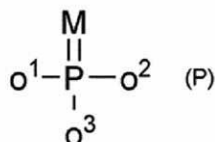
ステップ ii) の前記リンオキソ酸誘導体がリン酸化剤又はホスホニル化剤である、請求項 1~3 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 5】

ステップ ii) の前記リンオキソ酸誘導体が、一般式 (P) :

【化 2】



40

(式中、

M は、S 若しくは O であり、又は不在であり、

o^1 及び o^2 は、各々独立して、ハロゲン、 $-O-C_{1-8}$ 炭化水素、 $-S-C_{1-8}$ 炭化水素、 $-NH-C_{1-8}$ 炭化水素、ボラノ、メチルボラノ、ジメチルボラノ、シアノボラノ、及び $-N(C_{1-8}$ 炭化水素) $_2$ から選択され、且つ

o^3 は、H 若しくは o^1 に対して定義される通りであり、又は o^1 及び o^3 は、一緒になって、好ましくは C_{2-12} 炭化水素であるキラル補助剤を形成する)

のものである、請求項 1~4 のいずれか一項に記載の方法。

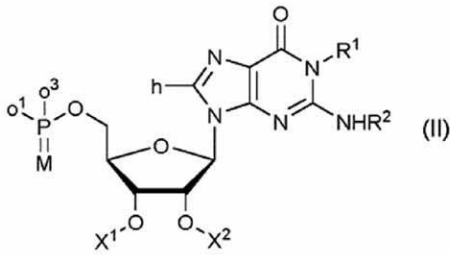
【請求項 6】

ステップ ii) で得られた前記グアノシン 5'-リンオキソ酸エステルアナログが、

50

一般式 (I I) のもの又はその塩 :

【化 3】



10

(式中、

h、X¹、X²、R¹、及びR²は、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に定義される通りであり、

o¹及びo³は、それぞれ独立して、-OHであり、又は請求項 5 に定義される通りであり、且つ

Mは、S又はOである)

である、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

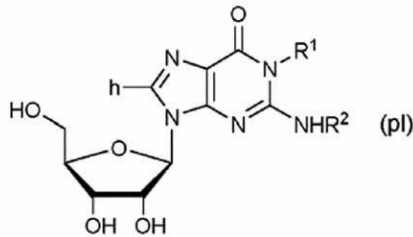
【請求項 7】

X¹がHであり且つX²がp'であり、一般式 (I) の前記グアノシニアナログ又はその塩が、

20

I a) 一般式 (p I) の非保護グアノシニアナログ又はその塩 :

【化 4】



30

(式中、h、R¹、及びR²は、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に定義される通りである)を提供するステップと、

I b) 前記非保護グアノシニアナログと(トリ)アルキルシリルハリドとを接触させて多重保護グアノシニアナログを得るとともに、任意に結晶化により前記多重保護グアノシニアナログを単離するステップと、

I c) 前記多重保護グアノシニアナログを選択的に脱保護して一般式 (I) (式中、X¹はHであり、且つX²はp'である)の前記グアノシニアナログを得るステップと、

I d) 前記得られた一般式 (I) (式中、X¹はHであり、且つX²はp'である)のグアノシニアナログを結晶化により任意に単離するステップと、

により提供される、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 8】

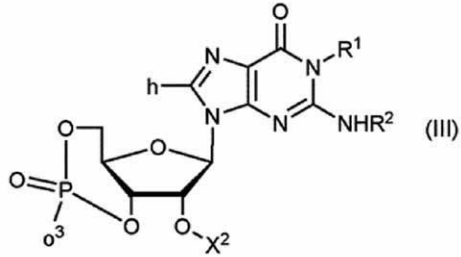
i v) ステップ i i) で得られた前記グアノシン 5' - ーリンオキソ酸エステルアナログを環化して環状グアノシン - 3' , 5' - ーリン酸 (c G M P) アナログを得るステップであって、前記環化は、立体障害塩基の存在下で好ましくは実施される、ステップ、をさらに含む、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

前記 c G M P アナログが、一般式 (I I I) のもの又はその塩 :

50

【化 5】



(式中、

h、X²、R¹、及びR²は、請求項1～3のいずれか一項に定義される通りであり、
好ましくはX²は、請求項1～3のいずれか一項に定義されるp'であり、

o³は、請求項6に定義される通りであり、好ましくはo³は、Hである)
であり、

前記方法が、

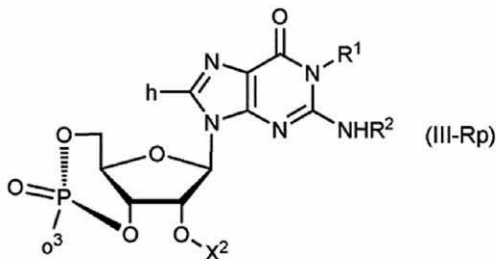
v) 前記cGMPアナログと硫化剤とを接触させて一般式(III)(式中、o³は、
-SH又は-S-C₁₋₁₂炭化水素、好ましくは-SHである)のチオール化cGMP
アナログを得るステップ

を任意にさらに含む、請求項8に記載の方法。

【請求項10】

一般式(III)の前記cGMPアナログが、一般式(III-Rp)：

【化 6】



(式中、

h、X²、R¹、及びR²は、請求項1～3のいずれか一項に定義される通りであり、
好ましくはX²は、請求項1～3のいずれか一項に定義されるp'であり、

o³は、請求項6に定義される通りであり、好ましくはo³は、Hである)
のものであり、

任意に、前記チオール化cGMPアナログが、一般式(III-Rp)

(式中、

h、X²、R¹、及びR²は、請求項1～3のいずれか一項に定義される通りであり、
好ましくはX²は、請求項1～3のいずれか一項に定義されるp'であり、

o³は、-SH又は-S-C₁₋₁₂炭化水素であり、好ましくは-SHである)
のものである、請求項9に記載の方法。

【請求項11】

X²がp'であり、

v i) X²により保護された前記ヒドロキシル部分を脱保護して脱保護cGMPアナロ
グを得るステップと、

v i i) 前記脱保護cGMPアナログを任意にトリチュレートするステップと、

v i i i) 前記脱保護cGMPアナログを薬学的に許容可能な塩、好ましくはナトリウ
ム塩に任意に変換するステップと、

をさらに含む、請求項9又は10に記載の方法。

10

20

30

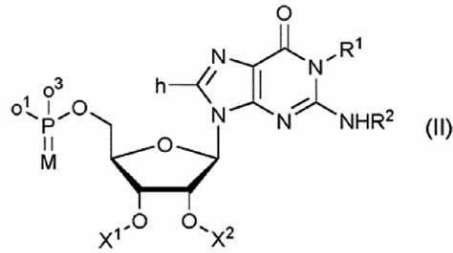
40

50

【請求項 12】

一般式 (II) の化合物又はその塩：

【化 7】



10

(式中、

h 、 X^1 、 X^2 、 R^1 、及び R^2 は、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に定義される通りであり、

o^1 及び o^3 は、それぞれ独立して、 $-OH$ であり、又は請求項 5 に定義される通りであり、好ましくは o^3 は H であり、又は o^1 及び o^3 は、一緒になって、好ましくは C_2-1_2 炭化水素であるキラル補助剤を形成し、

M は、 S 又は O であり、

好ましくは、前記化合物は塩である)。

【請求項 13】

o^3 が H である、請求項 12 に記載の化合物。

20

【請求項 14】

h は、 Br であり、

X^1 は H であり且つ X^2 は p' であり、

p' は、好ましくはトリイソプロピルシリル (TIPS) であり、

R^1 及び R^2 は、一緒になって、 $-CH=C(ar)-$ を形成し、

ar はフェニルであり、

o^1 は OH であり、

o^3 は H であり、且つ

M は S 又は O 、好ましくは O である、

請求項 12 又は 13 に記載の化合物。

30

【請求項 15】

h は、 Br であり、

X^1 は H であり且つ X^2 は p' であり、

p' は、好ましくはトリイソプロピルシリル (TIPS) であり、

R^1 及び R^2 は、一緒になって、 $-CH=C(ar)-$ を形成し、

ar は、4-メチルフェニルであり、

o^1 は OH であり、

o^3 は H であり、且つ

M は S 又は O 、好ましくは O である、

請求項 12 又は 13 に記載の化合物。

40

【請求項 16】

前記化合物が結晶性である、請求項 12 に記載の化合物。

【請求項 17】

前記化合物が結晶性である、請求項 13 に記載の化合物。

【請求項 18】

前記化合物が結晶性である、請求項 14 に記載の化合物。

【請求項 19】

前記化合物が結晶性である、請求項 15 に記載の化合物。

【請求項 20】

50

前記化合物が一般式 (I I)

(式中、

h は、H であり、

X¹ 及び X² は、一緒になって、アセトニド保護基を形成し、

R¹ は H であり、且つ R² は H 又は - C H₃ であり、

o¹ は O H であり、

o³ は H であり、且つ

M は O である)

のものでない、請求項 1 3 に記載の化合物。

【発明の詳細な説明】

10

【技術分野】

【0001】

本発明は、環状グアノシン - 3' , 5' - リン酸アナログを調製するための方法に関する。発明はまた、本方法により得られる新しい環状グアノシン-リン酸アナログ及び中間体に関する。

【背景技術】

【0002】

色素性網膜炎 (R P) は、一群の重度障害性遺伝神経変性疾患である。典型的には、桿体フォトレセプター細胞 (薄暗い光条件下での視覚を可能にする) が、疾患期間中、最初に変性する。続いて、桿体の損失が、昼光の高解像度色覚源の錐体フォトレセプター細胞の二次変性をトリガーし、最終的に全盲をもたらす。

20

【0003】

色素性網膜炎で変異した遺伝子は、通常、フォトレセプター機能に関連するが、一般的細胞機能に係るものも存在する (Kennan et al . 2005 , Trends Genet . 21 , 103 - 110) 。分子 c G M P (環状グアノシン-リン酸) は、光が当たったときにフォトレセプター細胞内に起こる光伝達カスケードで直接的役割を果たす。多くの場合、色素性網膜炎変異は、フォトレセプターに c G M P の過剰蓄積をもたらす (Arango - Gonzalez et al . 2014 PLoS One . 9 , e112142) 、フォトレセプター c G M P 代謝に関与する酵素の遺伝子が影響を受ける状況がその例である。このことは、c G M P を G M P に加水分解するフォトレセプター酵素のホスホジエステラーゼ 6 (そのサブユニットは、遺伝子 P D E 6 B 、 P D E 6 A 、 P D E 6 G 、 及び錐体フォトレセプターに対する P D E 6 C 、 P D E 6 H によりコードされる) の変異の場合にあてはまる。P d e 6 b 遺伝子は、色素性網膜炎の r d 1 マウスモデルで変異し、多くの実験室で十分に研究されてきた。推測されたイベントチェーンでは、P D E 6 B 変異体網膜への c G M P の蓄積は、実際の遺伝子欠損の直接的帰趨として発生し、そのため、これは早期及び機序的に基本変性成分と見なされうる。その次のステップでは、c G M P の増加は、4 つの標的 : 1) c G M P により活性化されたときに特異的タンパク質をリン酸化する c G M P 依存プロテインキナーゼ (プロテインキナーゼ G 、 P K G) 、 2) c G M P により活性化されたときに N a⁺ 及び C a²⁺ の c G M P 制御流入を可能にする環状ヌクレオチドゲートイオンチャネル (C N G C) 、 3) ホスホジエステラーゼ (P D E) 、 及び 4) 過分極活性化環状ヌクレオチドゲート (H C N) チャネルの少なくとも 1 つを有すると想定可能である。最初の 2 つの c G M P 標的は、フォトレセプター変性に直接関連するが (Paquet - Durand et al . 2009 , J . Neurochem . 108 , 796 - 810 、 Paquet - Durand et al . 2011 , Hum . Mol . Genet . 20 , 941 - 947) 、他のものは、既知の c G M P 標的であることから、変性プロセスに潜在的に関与する。初期イベントとの直接的関連に起因して、P K G 及び C N G C は、疾患ドライバーとみなしうるが、とはいえ、下流機序は、依然としてそれほど詳細には理解されていない (Trifunovic et al . 2012 , Curr . Mol . Med . 12 , 598 - 612) 。

30

40

【0004】

50

c G M P アナログ (たとえば、R p - 8 - B r - c G M P S など) としても知られる c G M P 由来 P K G インヒビターは、i n v i t r o 及び i n v i v o マウス色素性網膜炎モデルの両方で r d 1 及び r d 2 フォトレセプターの保護を提供することが知られている (P a q u e t - D u r a n d e t a l . , 2 0 0 9) 。

【 0 0 0 5 】

c G M P アナログは、当技術分野で公知である。国際公開第 2 0 1 2 1 3 0 8 2 9 号パンフレットには、環状ヌクレオチドのボラノホスフェートアナログが記載されている。国際公開第 2 0 1 8 / 0 1 0 9 6 5 号パンフレットには、c G M P アナログのマルチメリック複合体が記載されている。B u t t e t a l . (F E B S l e t t e r s , 1 9 9 0 , 2 6 3 (1) : 4 8 , D O I : 1 0 . 1 0 1 6 / 0 0 1 4 - 5 7 9 3 (9 0) 8 0 7 0 2 - K) には、(R p) - グアノシン 3 ' , 5 ' - 一チオリン酸による c G M P 依存性プロテインキナーゼの阻害が記載されている。その中で、グアノシン 3 ' , 5 ' - 一チオリン酸 (S p) - c G M P S 及び (R p) - c G M P S 並びに 8 - クロログアノシン 3 ' , 5 ' - 一チオリン酸 (S p) - 8 - C l - c G M P S 及び (R p) - 8 - C l - c G M P S) のジアステレオマーによる c G M P 依存性プロテインキナーゼ及び c A M P 依存性プロテインキナーゼの活性化が調べられた。(S p) - ジアステレオマーは、c G M P 依存性プロテインキナーゼに結合してそのホストランスフェラーゼ活性を刺激した。これとは対照的に、(R p) - 異性体は、その活性の刺激を伴うことなく酵素に結合した。(R p) - c G M P S 及び (R p) - 8 - C l c - G M P S は、c G M P 依存性プロテインキナーゼの活性化をアンタゴナイズした。(R p) - c G M P S はまた、c A M P 依存性プロテインキナーゼの活性化もアンタゴナイズした。これとは対照的に、(R p) - 8 - C l - c G M P S は、c A M P 依存性プロテインキナーゼの弱いインヒビターであった。(R p) - 8 - C l - c G M P S は、c G M P 依存性プロテインキナーゼのやや選択的インヒビターであると見られている。

【 0 0 0 6 】

c G M P アナログの合成は、当技術分野で公知であるが、S e k h a r e t a l . (1 9 9 2 , M o l . P h a r m a c o l . , 4 2 : 1 0 3 - 1 0 8) や M i l l e r e t a l . (1 9 7 3 , B i o c h e m i s t r y 1 2 : 5 3 1 0 - 5 3 1 9) に記載のものなど、既知のプロトコルは、実験室スケールでのみ実行可能であるにすぎない。この理由は、多くの場合、クロマトグラフィーを含む労力のかかる精製ステップが合成に関与していることにある。S p 又は R p 立体異性体のどちらかでありうる c G M P アナログの異なる立体異性体を分離するには、大掛かりなクロマトグラフィーが必要とされうる。この場合、R p 配置がより効力のある物質である。

【 0 0 0 7 】

c G M P アナログの合成は、たとえば、国際公開第 2 0 0 5 / 1 2 3 7 5 5 号パンフレットの 1 8 頁のスキーム 4 で c A M P アナログに対して記載されるように、リンの導入に続いて環化が関与している。その中で記載されるように、初期リン酸化は、糖の 5 ' - O H 基で起こると考えられるが、2 ' - O H 基も 3 ' - O H 基も保護されなかった。この中間体は決して単離されない。その代わりに、次いで、生成物を水性アセトニトリル中で水酸化アルカリにより高希釈で直接環化しておおよそ 1 : 1 の比でジアステレオ異性ヌクレオシド - 3 ' , 5 ' - 環状チオリン酸 c A M P を与え、これをクロマトグラフィー技術により分離しなければならない。国際公開第 2 0 0 5 / 1 2 3 7 5 5 号パンフレットの 2 3 頁のスキーム 9 には、代わりにホスフィットを用いてどのようにジアステレオ異性比を 2 : 3 (S p / R p) に有利にシフト可能であるかが記載されている。この混合物は、その際も再び分離しなければならなかったか、又は単に混合物として使用しなければならなかった。いずれの場合も、既知の反応は実験室スケールである。

【 発明の概要 】

【 発明が解決しようとする課題 】

【 0 0 0 8 】

改善された収率を有するよりロバスタな合成経路及び生成方法が必要とされる。労力の

かかる分離技術を回避する生成方法のニーズが存在する。改善された立体選択性を有する生成方法のニーズが存在する。高純度を有する中間体のニーズが存在する。異なる立体異性体の改善された分離のニーズが存在する。より大きなスケールでの反応を可能にする合成プロトコルのニーズが存在する。

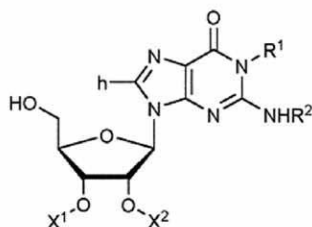
【課題を解決するための手段】

【0009】

本発明は、環状グアノシン-3',5'-リン酸(cGMP)アナログ又はその合成中間体を生成するための方法であって、

i) 一般式(I)のグアノシナーナログ又はその塩：

【化1】



(I)

(式中、hは、H、ハロゲン、又はQであり、X¹及びX²は、各々独立して、H又はp'から選ばれ、p'は、各場合とも独立して、ヒドロキシル保護基から選ばれ、R¹及びR²は、各々独立して、H、-(CH₂)_n-H、-(CH₂)_n-C₃₋₉ヘテロシクリル、-(CH₂)_n-ar、及びarから選ばれ、nの各場合とも独立して、0、1、2、3、若しくは4から選ばれ、又はR¹及びR²は、一緒になって、-CH=C(ar)-若しくは-(CH₂)₁₋₄C(=O)-を形成し、arは、各場合とも独立して、5若しくは6員芳香環又はヘテロ芳香環、好ましくはフェニル又は2-フラニルであり、arの各場合とも個別に、ハロゲン、-OH、-SH、-NH₂、-NO₂、-OCH₃、-CH₃、-CH₂CH₃、-CH(CH₃)₂、又は-CF₃で任意に置換されていてもよく、且つarの第2の場合に任意に縮合されて、好ましくはナフチル部分を形成してもよく、Qは、-(CH₂)_n-S-(CH₂)_n-H、-S-(CH₂)_n-OH、-S-(CH₂)_n-NH₂、-(CH₂)_n-O-(CH₂)_n-H、-O-(CH₂)_n-OH、-O-(CH₂)_n-NH₂、-O-C(CH₃)₃、-O-CH(CH₃)₂、-(CH₂)_n-N(-[CH₂]_nH)₂、-NH-(CH₂)_nNH₂、-NH-(CH₂)_n-OH、-(CH₂)_n-Nc¹c²であり、c¹及びc²は、それらが結合されているNと一緒に、3~8員ヘテロ環を形成し、又はc¹はHであり、且つc²は、3~8員ヘテロ環、-(CH₂)_n-H、-N₃、-CF₃、-(CH₂)_n-ar、-O-(CH₂)_n-(ar)、-NH-(CH₂)_n-(ar)、-S-(CH₂)_n-(ar)、-(CH₂)_n-アミド-ar、-O-(CH₂)_n-アミド-(ar)、-NH-(CH₂)_n-アミド-(ar)、-S-(CH₂)_n-アミド-(ar)、若しくはリンカー部分であり、いずれの-Hも、ハロゲンにより任意に置き換えられていてもよく、nの各場合とも独立して、0、1、2、3、4、5、6、7、若しくは8から選ばれる)

を提供するステップと、

ii) 提供されたグアノシナーナログとリンオキソ酸誘導体とを接触させてグアノシン5'-リンオキソ酸エステルアナログを得るステップと、

iii) 得られたグアノシン5'-リンオキソ酸エステルアナログを結晶化により分離するステップと、

を含む、方法を提供する。好ましい実施形態では、hは、H若しくはハロゲン若しくはQ、好ましくはH若しくはBr若しくはQ、より好ましくはBrであり、X¹はHであり且つX²はp'であり、p'は、メトキシメチル(MOM)、テトラヒドロピラニル(THP)、t-ブチル(tBu)、アリル(Allyl)、ベンジル(Bn)、(トリ)アルキルシ

リル（たとえば、*t*-ブチルジメチルシリル（TBDMs）、トリイソプロピルシリル（TIPS）、若しくは*t*-ブチルジフェニルシリル（TBDPS））、アシル（たとえば、アセチル（Ac）、ピバロイル（Pv）、若しくはベンゾイル（Bz））から、好ましくはTHP、（トリ）アルキルシリル、及びアシルからなる群から選択され、 R^1 及び R^2 は、一緒になって、 $-CH=C(ar)-$ を形成し、*ar*は、フェニル、4-メチルフェニル、3-チオフェニル、若しくは2-フラニル、好ましくはフェニルであり、且つ/又はQは、フラニル、 $-CF_3$ 、 $-SCH_3$ 、 $-S$ （イソプロピルフェニル）、 $-S$ （フェニルアミドメチル）、 $-S$ （ハロフェニル）、 $-S$ （ヒドロキシフェニル）、 $-S$ （アミノフェニル）、 $-S$ （ニトロフェニル）、 $-S$ （メトキシフェニル）、 $-S$ （トルイル）、 $-S$ （トリフルオロメチルフェニル）、 $-Nc^1c^2$ （ここで、 c^1 及び c^2 は、それらが結合されているNと一緒に、3~8員ヘテロ環を形成する）、 $-S-(CH_2)_n-OH$ 、 $-S-(CH_2)_n-NH_2$ 、 $-NH-(CH_2)_nNH_2$ 、若しくは $-NH-(CH_2)_nOH$ 、好ましくはフラニル、 $-CF_3$ 、 $-S$ （4-ヒドロキシフェニル）、若しくは $-S$ （4-クロロフェニル）である。

10

【0010】

好ましい実施形態では、ステップi)で使用される一般式(I)のグアノシンアナログ又はその塩は、*h*がBrであり、 X^1 がHであり且つ X^2 が*p'*であり、*p'*がトリイソプロピルシリル（TIPS）であり、 R^1 及び R^2 が、一緒になって、 $-CH=C(ar)-$ を形成し、且つ*ar*がフェニルである。好ましい実施形態では、ステップii)のリンオキソ酸誘導体は、リン酸化剤又はホスホニル化剤であり、好ましくは、ステップii)のリンオキソ酸誘導体は、一般式(P)：

20

【化2】



（式中、Mは、S若しくはOであり、又は不在であり、 o^1 及び o^2 は、各々独立して、ハロゲン、 $-O-C_{1-8}$ 炭化水素、 $-S-C_{1-8}$ 炭化水素、 $-NH-C_{1-8}$ 炭化水素、ボラノ、メチルボラノ、ジメチルボラノ、シアノボラノ、及び $-N(C_{1-8}$ 炭化水素) $_2$ から選択され、且つ o^3 は、H若しくは o^1 に対して定義される通りであり、又は o^1 及び o^3 は、一緒になって、好ましくは C_{2-12} 炭化水素であるキラル補助剤を形成する）

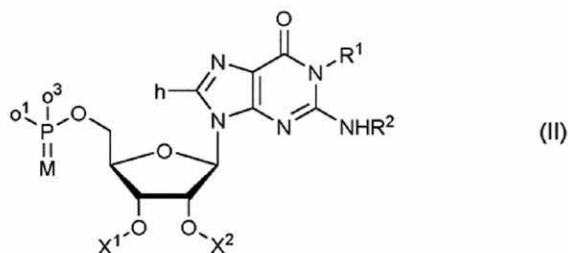
30

のものである。

【0011】

好ましい実施形態では、ステップii)で得られるグアノシン5'-リンオキソ酸エステルアナログは、一般式(II)のもの又はその塩：

【化3】



40

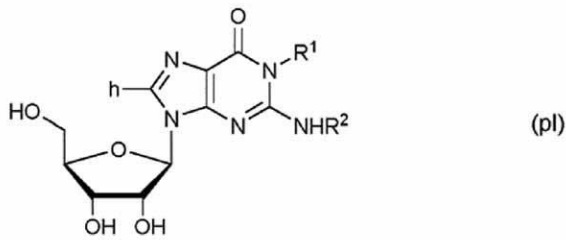
（式中、 o^1 及び o^3 は、それぞれ独立して、 $-OH$ 又は以上に定義される通りであり、且つMは、S又はOである）

である。好ましい実施形態では、一般式(I)のグアノシンアナログ又はその塩は：I a

50

) 一般式 (p I) の非保護グアノシニアナログ又はその塩 :

【化 4】



10

を提供するステップと、

I b) 非保護グアノシニアナログと (トリ) アルキルシリルハリドとを接触させて多重保護グアノシニアナログを得るとともに、任意に結晶化により多重保護グアノシニアナログを単離するステップと、

I c) 多重保護グアノシニアナログを選択的に脱保護して一般式 (I) (式中、 X^1 は H であり、且つ X^2 は p' である) のグアノシニアナログを得るステップと、

I d) 得られた一般式 (I) (式中、 X^1 は H であり、且つ X^2 は p' である) のグアノシニアナログを結晶化により任意に単離するステップと、
により提供される。

20

【 0 0 1 2】

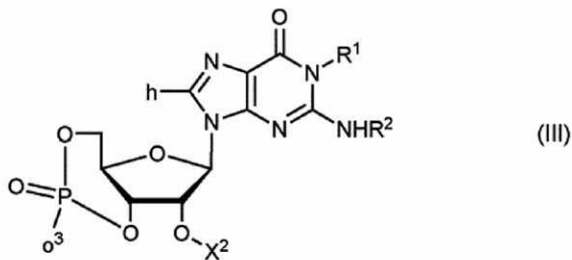
好ましい実施形態では、本方法は、

i v) ステップ i i) で得られたグアノシン 5' - リンオキソ酸エステルアナログを環化して環状グアノシン - 3', 5' - リン酸 (c G M P) アナログを得るステップであって、前記環化は、立体障害塩基の存在下で好ましくは実施される、ステップと、
をさらに含む。

【 0 0 1 3】

好ましくは、c G M P アナログは、一般式 (I I I) のもの又はその塩 :

【化 5】



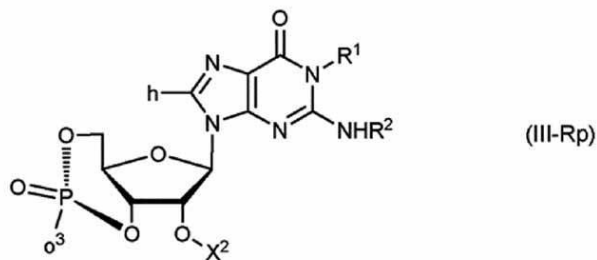
30

(式中、好ましくは X^2 は以上に定義された p' であり、且つ好ましくは o^3 は H である) であり、且つ本方法は、v) c G M P アナログと硫化剤とを接触させて一般式 (I I I) (式中、 o^3 は、- S H 又は - S - C₁₋₁₂ 炭化水素、好ましくは - S H である) のチオール化 c G M P アナログを得るステップを任意にさらに含む。好ましくは、一般式 (I I I) の c G M P アナログは、一般式 (I I I - R p) :

40

50

【化6】



(式中、好ましくは X^2 は p' であり、且つ好ましくは o^3 は H であり、任意に、チオール化 c GMP アナログは一般式 (III-Rp) のものであり、好ましくは X^2 は p' であり、 o^3 は -SH 又は -S-C₁₋₁₂ 炭化水素、好ましくは -SH である) である。任意に X^2 は p' であり、且つ本方法は、

v i) X^2 により保護されたヒドロキシル部分を脱保護して脱保護 c GMP アナログを得るステップと、

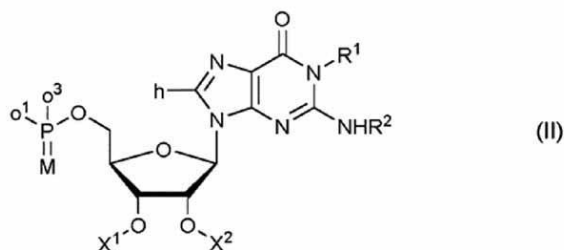
v i i) 脱保護 c GMP アナログを任意にトリチュレートするステップと、

v i i i) 脱保護 c GMP アナログを薬学的に許容可能な塩、好ましくはナトリウム塩に任意に変換するステップと、
をさらに含む。

【0014】

他の一態様では、一般式 (II) の化合物又はその塩：

【化7】



(式中、h、 X^1 、 X^2 、 R^1 、及び R^2 は、以上に定義される通りであり、 o^1 及び o^3 は、各々独立して、-OH 又は以上に定義される通りであり、好ましくは o^3 は H であり、又は o^1 及び o^3 は、一緒になって、好ましくは C₂₋₁₂ 炭化水素であるキラル補助剤を形成し、M は、S 又は O であり、好ましくは、化合物は塩である) が提供される。好ましい実施形態では、化合物は結晶性である。好ましくは o^3 は H である。好ましくは h は Br であり、 X^1 は H であり且つ X^2 は p' であり、 p' は、好ましくはトリイソプロピルシリル (TIPS) であり、 R^1 及び R^2 は、一緒になって、-CH=C(ar)- を形成し、ar はフェニルであり、 o^1 は OH であり、 o^3 は H であり、且つ M は S 又は O、好ましくは O である。

【0015】

実施形態の説明

本発明は、c GMP アナログの改善された合成方法を提供する。本発明者らは、驚くべきことに、リンが最初に導入された後に形成される鍵を握る中間体グアノシン 5'-リンオキソ酸エステルアナログ (H-ホスホン酸モノエステルともいわれる) が結晶化可能であることを見いだした。重要なこととして、この中間体の単離により、本発明の方法を用いた c GMP 合成にクロマトグラフィー分離が必要とされない程度の純度を有する生成物を後続ステップで生成可能になった。そのほか、グアノシン 5'-リンオキソ酸エステルアナログ中間体の使用により、後続環化の反応条件全体にわたりより精密な制御が可能になったため、Rp アナログの改善された収率が可能になるとともに、さらにはいづれの時点でもクロマトグラフィーを必要とすることなく Rp アナログの生成に至るまで

10

20

30

40

50

可能になった。本方法は、50mg程度の少量から100グラムを超えるスケールまでの合成を可能にした。本方法は、その均一反応ステップ、室温での反応性、及び発熱の欠如のおかげで、容易にスケールアップ可能である。

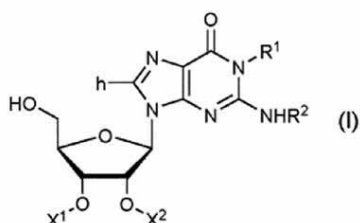
【0016】

合成方法

本発明は、環状グアノシン-3',5'-リン酸(cGMP)アナログ又はその合成中間体を生成するための方法であって、

i) 一般式(I)のグアノシンアナログ又はその塩：

【化8】



10

(式中、

hは、H、ハロゲン、又はQであり、

X¹及びX²は、各々独立して、H又はp'から選ばれ、

p'は、各場合とも独立して、ヒドロキシル保護基から選ばれ、

R¹及びR²は、各々独立して、H、-(CH₂)_n-H、-(CH₂)_n-C₃₋₉ヘテロシクリル、-(CH₂)_n-ar、及びarから選ばれ、nの各場合とも独立して、0、1、2、3、若しくは4から選ばれ、又はR¹及びR²は、一緒になって、-CH=C(ar)-若しくは-(CH₂)₁₋₄C(=O)-を形成し、

arは、各場合とも独立して、5若しくは6員芳香環又はヘテロ芳香環、好ましくはフェニル又は2-フラニルであり、arの各場合とも個別に、ハロゲン、-OH、-SH、-NH₂、-NO₂、-OCH₃、-CH₃、-CH₂CH₃、-CH(CH₃)₂、又は-CF₃で任意に置換されていてもよく、且つarの第2の場合に任意に縮合されていてもよく、

Qは、-(CH₂)_n-S-(CH₂)_n-H、-S-(CH₂)_n-OH、-S-(CH₂)_n-NH₂、-(CH₂)_n-O-(CH₂)_n-H、-O-(CH₂)_n-OH、-O-(CH₂)_n-NH₂、-O-C(CH₃)₃、-O-CH(CH₃)₂、-(CH₂)_n-N(-[CH₂]_nH)₂、-NH-(CH₂)_nNH₂、-NH-(CH₂)_n-OH、-(CH₂)_n-Nc¹c²であり、c¹及びc²は、それらが結合されているNと一緒に、3~8員ヘテロ環を形成し、又はc¹はHであり、且つc²は、3~8員ヘテロ環、-(CH₂)_n-H、-N₃、-CF₃、-(CH₂)_n-ar、-O-(CH₂)_n-(ar)、-NH-(CH₂)_n-(ar)、-S-(CH₂)_n-(ar)、-(CH₂)_n-アミド-ar、-O-(CH₂)_n-アミド-(ar)、-NH-(CH₂)_n-アミド-(ar)、-S-(CH₂)_n-アミド-(ar)、若しくはリンカー部分であり、いずれの-Hも、ハロゲンにより任意に置き換えられていてもよく、nの各場合とも独立して、0、1、2、3、4、5、6、7、若しくは8から選ばれる)

を提供するステップと、

ii) 提供されたグアノシンアナログとリンオキソ酸誘導体とを接触させてグアノシン5'-リンオキソ酸エステルアナログを得るステップと、

iii) 得られたグアノシン5'-リンオキソ酸エステルアナログを結晶化により単離するステップと、

を含む、方法を提供する。

【0017】

50

かかる方法は、これ以降では、本発明に係る方法といわれる。本方法は、c G M P アナログを生成するためのものであるが、c G M P アナログのさらなる生成に有用な中間体を生成するためにもかなり好適である。好ましい実施形態では、本方法は、c G M P アナログを生成するためのものである。好ましい実施形態では、本方法は、c G M P アナログへのさらなる変換に好適な中間体を生成するためのものである。本発明に係る方法により生成される好ましい合成中間体は、一般式 I I の化合物、一般式 I I I の化合物、一般式 I I I - R p の化合物、又はそれらの塩である。塩及びこれらの化合物に対する定義は、より後の段階で本明細書に提供される。好ましい実施形態では、中間体は、一般式 I I 又は I I I - R p のものである。好ましい実施形態では、中間体は、一般式 I I I のものである。好ましい実施形態では、中間体は、一般式 I I I - R p のものである。一般式 I I の化合物は、最も好ましい中間体である。 10

【0018】

本方法により生成される好ましいc G M P アナログは、以下に記載される。一般的には、それらは、c G M P アナログの適用によりモジュレートされるべき標的結合性タンパク質により支配される。好ましい実施形態では、c G M P アナログは、環状グアノシン - 3' , 5' - リン酸依存性プロテインキナーゼの活性化に対するものであり、好ましいc G M P アナログは、一般式 I I I (式中、o³はOHである)のもの又は一般式 I I I - S p (式中、o³は、SH、ボラノ、メチルボラノ、ジメチルボラノ、又はシアノボラノである)のものである。カーン・インゴルド・プレローグ命名法規則内で酸素と比較してホウ素の優先度が低いため、前記ホウ素アナログはR p アナログといわれることに留意されたい。 20

【0019】

好ましい実施形態では、c G M P アナログは、環状グアノシン - 3' , 5' - リン酸依存性プロテインキナーゼの阻害のためのものであり、且つ好ましいc G M P アナログは、一般式 I I I - R p (式中、o³は、SH、ボラノ、メチルボラノ、ジメチルボラノ、シアノボラノである)のものである。しかしながら、カーン・インゴルド・プレローグ命名法規則内で酸素と比較してホウ素の優先度が低いため、前記ホウ素アナログはS p アナログといわれる。

【0020】

好ましい実施形態では、c G M P アナログは、環状グアノシン - 3' , 5' - リン酸ゲートイオンチャンネルの活性化のためのものであり、且つ好ましいc G M P アナログは、一般式 I I I (式中、R¹及びR²は、一緒になって - C H = C (a r) - を形成しない)のものである。 30

【0021】

好ましい実施形態では、c G M P アナログは、環状グアノシン - 3' , 5' - リン酸依存性プロテインキナーゼ及び環状グアノシン - 3' , 5' - リン酸ゲートイオンチャンネルの同時活性化のためのものであり、且つ好ましいc G M P アナログは、一般式 I I I - S p (式中、o³は、SH、ボラノ、メチルボラノ、ジメチルボラノ、若しくはシアノボラノ、又は任意にOHであり、且つ式中、R¹及びR²は、一緒になって - C H = C (a r) - を形成しない)のものである。 40

【0022】

好ましい実施形態では、c G M P アナログは、環状グアノシン - 3' , 5' - リン酸依存性プロテインキナーゼ及び環状グアノシン - 3' , 5' - リン酸ゲートイオンチャンネルの同時阻害のためのものであり、且つ好ましいc G M P アナログは、一般式 I I I - R p (式中、o³は、S、ボラノ、メチルボラノ、ジメチルボラノ、若しくはシアノボラノである)のものであり、又はより好ましくは、好ましいc G M P アナログは、一般式 I I I - R p (式中、o³はSであり、且つ式中、R¹及びR²は、一緒になって、- C H = C (a r) - 若しくは - (C H₂)₁₋₄ C (= O) - 、好ましくは - C H = C (a r) - を形成する)のものであり、又はより好ましくは、好ましいc G M P アナログは、一般式 I I I - R p (式中、o³は、ボラノ、メチルボラノ、ジメチルボラノ、若しくはシアノ 50

ボラノであり、且つ式中、 R^1 及び R^2 は、一緒になって $-CH=C(ar)-$ も $-(CH_2)_{1-4}C(=O)-$ も形成しない)のものである。

【0023】

環状グアノシン-3',5'-リン酸アナログのさらなる好ましい例は、以下のものである。

1. 8-ブロモグアノシン-3',5'-環状リン酸(8-Br-cGMP)又はそのチオリン酸(8-Br-cGMP S)、

2. 8-(2,4-ジヒドロキシフェニルチオ)グアノシン-3',5'-環状リン酸(8-o,pDHPT-cGMP)又はそのチオリン酸8-o,pDHPT-cGMP S

3. 8-(2-アミノフェニルチオ)グアノシン-3',5'-環状リン酸(8-APT-cGMP)又はそのチオリン酸8-APT-cGMP S、

4. 8-(4-ヒドロキシフェニルチオ)グアノシン-3',5'-環状リン酸(8-pHPT-cGMP)又はそのチオリン酸8-pHPT-cGMP S、

5. 8-(4-アミノフェニルチオ)グアノシン-3',5'-環状リン酸(8-pAPT-cGMP)又はそのチオリン酸8-pAPT-cGMP S、

6. 8-(4-クロロフェニルチオ)-フェニル-1,N²-エテノグアノシン-3',5'-環状リン酸(8-pCPT-PET-cGMP)又はそのチオリン酸8-pCPT-PET-cGMP S、

7. 8-(4-クロロフェニルチオ)グアノシン-3',5'-環状リン酸(8-pCPT-cGMP)又はそのチオリン酸8-pCPT-cGMP S、

8. 8-(2,4-ジクロロフェニルチオ)グアノシン-3',5'-環状リン酸(8-o,pDC1PT-cGMP)又はそのチオリン酸8-o,pDC1PT-cGMP S

9. 8-(4-メトキシフェニルチオ)グアノシン-3',5'-環状リン酸(8-pMeOPT-cGMP)又はそのチオリン酸8-pMeOPT-cGMP S、

10. 8-ブロモ-フェニル-1,N²-エテノグアノシン-3',5'-環状リン酸(8-Br-PET-cGMP)又はそのチオリン酸8-Br-PET-cGMP S

11. 8-ブロモ-(2-ナフチル-1,N²-エテノ)グアノシン-3',5'-環状リン酸(8-Br-(2-N)ET-cGMP)又はそのチオリン酸8-Br-(2-N)ET-cGMP S、

12. 8-(4-ヒドロキシフェニルチオ)-フェニル-1,N²-エテノグアノシン-3',5'-環状リン酸(8-pHPT-PET-cGMP)又はそのチオリン酸8-pHPT-PET-cGMP S、

13. 8-(4-クロロフェニルチオ)-フェニル-1,N²-エテノグアノシン-3',5'-環状リン酸(8-pCPT-PET-cGMP)又はそのチオリン酸8-pCPT-PET-cGMP S、

14. 2-ナフチル-1,N²-エテノグアノシン-3',5'-環状リン酸((2-N)ET-cGMP)又はそのチオリン酸(2-N)ET-cGMP S、

15. -フェニル-1,N²-エテノグアノシン-3',5'-環状リン酸(PET-cGMP)又はそのチオリン酸PET-cGMP S、

16. 4-メトキシ-フェニル-1,N²-エテノグアノシン-3',5'-リン酸(pMeO-PET-cGMP)又はそのチオリン酸pMeO-PET-cGMP S、

17. -1,N²-アセチル-8-ブロモグアノシン-3',5'-環状チオリン酸(-1,N²-Ac-8-Br-cGMP S)及びそのリン酸(-1,N²-Ac-8-Br-cGMP)、

18. 8-ブロモ-1,N²-ブチルグアノシン-3',5'-環状チオリン酸(8-Br-1,N²-But-cGMP S)及びそのリン酸(8-Br-1,N²-But-cGMP)、

10

20

30

40

50

19. 8 - ブロモ - (4 - メチル - フェニル - 1 , N² - エテノ) グアノシン - 3 ' , 5 ' - 環状一チオリン酸 (8 - Br - p Me - PET - c G M P S) 及びそのリン酸 (8 - Br - p Me - PET - c G M P) 、
20. - ブロモ - (3 - チオフェン - イル - 1 , N² - エテノ) グアノシン - 3 ' , 5 ' - 環状一チオリン酸 (8 - Br - (3 - Tp) ET - c G M P S) 及びそのリン酸 (8 - Br - (3 - Tp) ET - c G M P) 、
21. 1 - ベンジル - 8 - ブロモグアノシン - 3 ' , 5 ' - 環状一チオリン酸 (1 - B n - 8 - Br - c G M P S) 及びそのリン酸 (1 - B n - 8 - Br - c G M P) 、
22. 8 - チオグアノシン - 3 ' , 5 ' - 環状一チオリン酸 (8 - T - c G M P S) 及びそのリン酸 (8 - T - c G M P) 、 10
23. 8 - (4 - イソプロピルフェニルチオ) グアノシン - 3 ' , 5 ' - 環状一チオリン酸 (8 - p I P r P T - c G M P S) 及びそのリン酸 (8 - p I P r P T - c G M P) 、
24. 8 - フェニルアミドメチルチオグアノシン - 3 ' , 5 ' - 環状一チオリン酸 (8 - P A m d M T - c G M P S) 及びそのリン酸 (8 - P A m d M T - c G M P) 、
25. - フェニル - 1 , N² - エテノ - 8 - フェニルアミドメチルチオグアノシン - 3 ' , 5 ' - 環状一チオリン酸 (PET - 8 - P A m d M T - c G M P S) 及びリン酸 (P E T - 8 - P A m d M T - c G M P)
26. 8 - (4 - イソプロピルフェニルチオ) - フェニル - 1 , N² - エテノグアノシン - 3 ' , 5 ' - 環状一チオリン酸 (8 - p I P r P T - P E T - c G M P S) 及びそのリン酸 (8 - p I P r P T - P E T - c G M P) 、 20
27. 8 - (2 - アミノフェニルチオ) - フェニル - 1 , N² エテノグアノシン 3 ' , 5 ' 環状一チオリン酸 (8 - o A P T - P E T - c G M P S) 及びそのホスフェート (8 - o A P T - P E T - c G M P)
28. - フェニル - 1 , N² - エテノ - 8 - チオグアノシン - 3 ' , 5 ' - 環状一チオリン酸 (PET - 8 - T - c G M P S) 及びそのリン酸 (PET - 8 - T - c G M P) 、
29. 8 - メチルチオ - フェニル - 1 , N² - エテノグアノシン - 3 ' , 5 ' - 環状一チオリン酸 (8 - M e S - P E T - c G M P S) 及びそのリン酸 (8 - M e S - P E T - c G M P) 、
30. 8 - メチルチオ - グアノシン - 3 ' , 5 ' - 環状一チオリン酸 (8 - M e S - c G M P S) 、 好ましくはナトリウム塩、及びそのリン酸 (8 - M e S - c G M P) 、 30
31. 8 - フェニルグアノシン - 3 ' , 5 ' - 環状一チオリン酸 (8 - P h e - c G M P S) 及びそのリン酸 (8 - P h e - c G M P) 、
32. 8 - (2 - フリル) グアノシン - 3 ' , 5 ' - 環状一チオリン酸 (8 - (2 - F u r) - c G M P S) 及びそのリン酸 (8 - (2 - F u r) - c G M P) 、
33. 8 - (4 - クロロフェニル) グアノシン - 3 ' , 5 ' - 環状一チオリン酸 (8 - p C P - c G M P S) 及びそのリン酸 (8 - p C P - c G M P) 、
34. 8 - フェニル - フェニル - 1 , N² - エテノグアノシン - 3 ' , 5 ' - 環状一チオリン酸 (8 - P h e - P E T - c G M P S) 及びそのリン酸 (8 - P h e - P E T - c G M P) 、 並びに
35. 8 - (4 - クロロフェニル) - フェニル - 1 , N² - エテノグアノシン - 3 ' , 5 ' - 環状一チオリン酸 (8 - p C P - P E T - c G M P S) 及びそのリン酸 (8 - p C P - P E T - c G M P) 、 40
- 並びにそれらの薬学的に許容可能な塩。より好ましい c G M P アナログは、 8 - Br - c G M P 、 8 - Br - PET - c G M P 、 及び 8 - Br - (2 - N) ET - c G M P 、 8 - Br - 1 , N² - B u t - c G M P 、 8 - Br - 1 , N² - B u t - c G M P 、 8 - Br - (3 - T p) ET - c G M P 、 1 - B n - 8 - Br - c G M P 、 並びにそれらのチオリン酸、好ましくはそれらのチオリン酸である。他のより好ましい c G M P アナログは、 8 - p C P T - P E T - c G M P 、 8 - Br - PET - c G M P 、 8 - p H P T - P E T - c G M P 、 8 - p C P T - P E T - c G M P 、 P E T - c G M P 、 8 - Br - (2 - N) ET - c G M P 、 (2 - N) ET - c G M P 、 8 - Br - p M e - P E T - c 50

GMP、8-Br-(3-Tp)ET-cGMP、PET-8-PAm dMT-cGMP、8-pIPrPT-PET-cGMP、8-oAPT-PET-cGMP、PET-8-T-cGMP、8-MeS-PET-cGMP、8-Phe-PET-cGMP、8-pCP-PET-cGMP、及びpMeO-PET-cGMP、並びにそれらのチオリン酸、好ましくはそれらのチオリン酸、より好ましくは8-pCPT-PET-cGMP、8-Br-PET-cGMP、8-pHPT-PET-cGMP、8-pCPT-PET-cGMP、PET-cGMP、8-Br-pMe-PET-cGMP、PET-8-PAm dMT-cGMP、8-pIPrPT-PET-cGMP、8-oAPT-PET-cGMP、PET-8-T-cGMP、8-MeS-PET-cGMP、8-Phe-PET-cGMP、8-pCP-PET-cGMP、及びpMeO-PET-cGMP、並びにそれらのチオリン酸、好ましくはそれらのチオリン酸である。他の好ましいcGMPアナログは、-1, N2-Ac-8-Br-cGMP及び8-Br--1, N2-But-cGMP並びにそれらのチオリン酸、好ましくはそれらのチオリン酸である。最も好ましいcGMPアナログは、8-Br-PET-cGMP又はそのチオリン酸、好ましくはそのチオリン酸である。他の一群のきわめて好ましいcGMPアナログは、8-Br-PET-cGMP、8-Br-pMe-PET-cGMP、8-Br-(3-Tp)ET-cGMP、8-PAm dMT-cGMP、PET-8-PAm dMT-cGMP、8-pIPrPT-PET-cGMPを、及び8-oAPT-PET-cGMP、並びにそれらのチオリン酸、好ましくはそれらのRp異性体、好ましくはそれらのチオリン酸、最も好ましくはそれらのチオリン酸のRp異性体からなる。

10

20

【0024】

以上のcGMPアナログは、好ましくはRp異性体である(参照を容易にするために、たとえば、PET-cGMPのRp異性体は、Rp-PET-cGMPで表され、且つ対応するチオリン酸は、PET-cGMP Sで表される)。

【0025】

ステップi) グアノシンアナログの提供

本方法の第1のステップは、グアノシンアナログの提供である。本明細書で用いられる場合、グアノシン自体も、グアノシンアナログとみなすことが可能であり、読みやすくするために別々に挙げられていない。グアノシンを用いて本発明を實踐しcGMPを得ることも可能であることは、当業者であれば理解される。グアノシンアナログは、本方法の一部として合成的に調製可能であり、又は商業的に取得可能であり、さもなければ他のどこから調達可能である。本方法の一部として、リンは、このグアノシンアナログの5'位に導入され、その後、環化されてcGMPアナログを形成する。後で本明細書に定義されるh、R1、R2などの可変部分は、ステップi)の終了から開始して一定を維持することが好ましい。

30

【0026】

グアノシンアナログ(又は以上に説明したようにグアノシン)はまた、塩でありうる。本発明との関連では、塩は、好ましくは薬学的に許容可能な塩である。薬学的に許容可能な塩は、当技術分野で公知である。好ましい塩は、酸付加塩である。他の好ましい塩は、塩基付加塩である。本発明との関連では、薬学的に許容可能な塩は、好ましくは、Li、Na、K、Ca、Mg、Fe、Cu、Zn、Mnなどの無機塩基に由来する塩、N,N'-ジアセチルエチレンジアミン、グルカミン、トリエチルアミン、コリン、ジシクロヘキサシルアミン、ベンジルアミン、(トリ)アルキルアミン、チアミン、グアニジン、ジエタノールアミン、アルファフェニルエチルアミン、ピペリジン、モルホリン、ピリジン、ヒドロキシエチルピロリジン、ヒドロキシエチルピペリジンなどの有機塩基の塩を含む。かかる塩はまた、グリシン、アラニン、シスチン、システイン、リシン、アルギニン、フェニルアラニン、グアニジンなどのアミノ酸の塩を含む。かかる塩は、たとえば、硫酸塩、硝酸塩、リン酸塩、過塩素酸塩、ホウ酸塩、HCl塩やHBr塩などの八口ゲン化水素酸塩、酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩、酒石酸塩、マレイン酸塩、クエン酸塩、コハク酸塩、パルモ酸塩、メタンスルホン酸塩、トシル酸塩、安息香酸塩、サリチル酸塩、ヒドロキシ

40

50

ナフトエ酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、アスコルビン酸塩、グリセロリン酸塩、ケトグルタル酸塩など、適宜、酸付加塩を含みうる。好ましい塩は、HCl塩、ギ酸塩、酢酸塩、トリエチルアンモニウム(TEAH⁺)塩、ナトリウム塩、及びトリフルオロ酢酸塩である。より好ましい塩は、TEAH⁺塩及びナトリウム塩である。本発明に係る方法により生成されるcGMPアナログに対しては、好ましい塩はナトリウム塩である。本発明に係る方法により生成される又は本発明に係る方法の一部として生成される中間体に対しては、好ましい塩はTEAH⁺塩である。

【0027】

「薬学的に許容可能」という語句は、生理学的に耐容性のある、且つ典型的には哺乳動物に投与したときに限定されるものではないが胃の不調又は眩暈をはじめとするアレルギー性又は類似の有害反応を引き起こさない、化合物又は組成物を意味する。何が薬学的に許容可能であるかないかは、当業者であれば見分けることが可能である。

10

【0028】

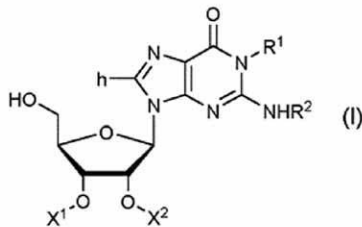
グアノシンアナログはまた、水和物又は溶媒和物でもありうる。本発明との関連では、水和物は、溶媒が水であるときの溶媒和物を意味する。溶媒和物という用語は、本明細書で用いられる場合、溶媒を含有する物質の結晶形を意味する。溶媒和物は、好ましくは薬学的に許容可能な溶媒和物であり、水和物でありうるか又はアルコール、エーテルなどの他の結晶化溶媒を含みうる。それゆえ、結晶は、水和物又は溶媒和物でありうるとともに、結晶化は、水和物又は溶媒和物を生成可能である。

【0029】

グアノシンアナログは、好ましくは、一般式(I)のもの又はその塩：

20

【化9】



30

(式中、

hは、H、ハロゲン、又はQであり、好ましくは、hは、H、F、Br、Cl、又はQであり、より好ましくは、H、Br、又はQであり、きわめて好ましい実施形態では、hはHであり、きわめて好ましい実施形態では、hはBrであり、きわめて好ましい実施形態では、hはH又はBrであり、きわめて好ましい実施形態では、hはQであり、最も好ましい実施形態では、hはH又はBr又はQであり、

X¹及びX²は、各々独立して、H又はp'から選ばれ、好ましくは、X¹はHであり、より好ましくは、後で本明細書に記載されるように環状リンオキソ酸ジエステルが形成されるステップの前はHであり、好ましくは、5'-リンオキソ酸エステルの形成前で、且つX²はp'であり、最も好ましくは、X¹はHであり、且つX²はp'であり、

40

p'は、各場合とも独立して、ヒドロキシル保護基から選ばれ、ヒドロキシル保護基は、当技術分野で公知であり、ヒドロキシル部分の酸素原子を保護することが可能である)である。好適なヒドロキシル保護基の例は、たとえば、P. G. M. Wuts and T. W. Greene in Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, Fourth Edition, 2006 (ISBN: 978-0-471-69754-1)により、当技術分野で広範囲に記載されている。当業者であれば、本発明に従って使用される好適な保護基を選択可能であろう。好適なヒドロキシル保護基の例は、メトキシメチル(MOM)、テトラヒドロピラニル(THP)、t-ブチル(tBu)、アリル(allyl)、ベンジル(Bn)、(トリ)アルキルシリル(たとえば、t-ブチルジメチルシリル(TBDMS)、トリスプロピ

50

ルシリル (TIPS)、又は t-ブチルジフェニルシリル (TB DPS)、好ましい (トリ) アルキルシリルはトリアルキルシリルである)、及びアシル (たとえば、アセチル (Ac)、ピバリル (Pv)、又はベンゾイル (Bz)) であり、より好ましくはトリイソプロピルシリル (TIPS) である。p' の好ましい基は、THP、(トリ) アルキルシリル、及びアシルである。p' のより好ましい基は、THP 及び (トリ) アルキルシリル (好ましくは TIPS) であり、最も好ましくは p' は、(トリ) アルキルシリル (好ましくは TIPS) である。当技術分野で公知のように、p' は、常に酸素に結合され、複数の場合の p' は、一緒になって 2 つ以上のヒドロキシル基を保護する単一保護基を形成可能である。かかる多価保護基の例は、アセトニド及びベンジリデンアセタールである。好ましい実施形態では、p' により保護された 2 つの部分が同一炭素原子又は隣接炭素原子に結合されているとき、2 つの場合の p' は、一緒になって単一多価保護基を形成する。

10

【0030】

R¹ 及び R² は、各々独立して、H、-(CH₂)_n-H、-(CH₂)_n-C₃₋₉ヘテロシクリル、-(CH₂)_n-ar、及び ar から選ばれ、n の各場合とも独立して、0、1、2、3、若しくは 4 から選ばれ、又は R¹ 及び R² は、一緒になって、-CH=C(ar)-若しくは-(CH₂)₁₋₄C(=O)-を形成し、n が 0 であるとき、CH₂ 単位はまったく存在せず、それゆえ、好ましい実施形態では、-(CH₂)_n-C₃₋₉ヘテロシクリルは C₃₋₉ヘテロシクリルである。ヘテロシクリルは、本発明との関連では、3、4、5、6、7、8、又は 9 個の炭素原子を有する任意に不飽和であってもよいヘテロ環である。ヘテロ環は、ar に対して記載されるように任意に置換されていてもよく、任意の置換中の炭素原子は、C₃₋₉にカウントされない。ヘテロ原子は、好ましくは、O、S、及び N から選択される。好ましくは、ヘテロシクリルは、多くとも 3、より好ましくは多くとも 2、最も好ましくは多くとも 1 個のヘテロ原子を有する。ヘテロシクリルは、好ましくは少なくとも 1、より好ましくは少なくとも 2 個のヘテロ原子を有する。ヘテロシクリルの好ましい例は、ペリジニル、ピペラジニル、モルホリニル、トラヒドロフラニル、ピラゾリル、及びピロリジニルである。R¹ 及び R² が、一緒になって、-CH=C(ar)-又は-(CH₂)₁₋₄C(=O)-を形成するとき、好ましい実施形態では、ar 又は C(=O) は、R¹ が描かれた箇所の最も近くにある。他の好ましい実施形態では、ar 又は C(=O) は、R² が描かれた箇所の最も近くにある。好ましくは、R¹ 及び R² が、一緒になって、-CH=C(ar)-又は-(CH₂)₁₋₄C(=O)-を形成するとき、スチレン部分が形成され、それゆえ、ar はフェニルである。最も好ましくは、R¹ 及び R² が、一緒になって、-CH=C(ar)-を形成するとき、フェニルが R² の最も近くにある -CH=C(フェニル)- が形成される。好ましくは、R¹ 及び R² が、一緒になって、-(CH₂)₁₋₄C(=O)-を形成するとき、-CH₂-C(=O)-又は-(CH₂)₃-C(=O)- が形成される。

20

30

【0031】

ar は、各場合とも独立して、5 若しくは 6 員芳香環又はヘテロ芳香環、好ましくはフェニル又は 2-フラニルであり、ar の各場合とも個別に、ハロゲン、-OH、-SH、-NH₂、-NO₂、-OCH₃、-CH₃、-CH₂CH₃、-CH(CH₃)₂、又は -CF₃ で任意に置換されていてもよく、且つ ar の第 2 の場合に任意に縮合されて、好ましくはナフチル部分を形成してもよく、好ましくは、ar の 2 つ以下の場合がかかる縮合部分に含まれる。好ましい実施形態では、ar は ar のさらなる場合に縮合される。好ましい実施形態では、ar は 6 員である。好ましい実施形態では、ar は未置換である。ar の好ましい例は、フェニル、フラニル、ピリジニル、イミダゾリル、テトラゾリル、トリアゾリル、チオフェニル、ベンゾチアゾリル、インドリル、4-メチルフェニル、3-チオフェニル、及びナフチルである。ar のきわめて好ましい実施形態は、4-メチルフェニルである。

40

【0032】

Q は、-(CH₂)_n-S-(CH₂)_n-H、-S-(CH₂)_n-OH、-S-(CH₂)_n-NH₂、-(CH₂)_n-O-(CH₂)_n-H、-O-(CH₂)_n-OH

50

、 $-O-(CH_2)_n-NH_2$ 、 $-O-C(CH_3)_3$ 、 $-O-CH(CH_3)_2$ 、 $-(CH_2)_n-N(-[CH_2]_nH)_2$ 、 $-NH-(CH_2)_nNH_2$ 、 $-NH-(CH_2)_nOH$ 、 $-(CH_2)_n-Nc^1c^2$ であり、 c^1 及び c^2 は、それらが結合されているNと一緒に、3～8員ヘテロ環を形成し、又は c^1 はHであり、且つ c^2 は、3～8員ヘテロ環、 $-(CH_2)_n-H$ 、 $-N_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-(CH_2)_n-ar$ 、 $-O-(CH_2)_n-(ar)$ 、 $-NH-(CH_2)_n-(ar)$ 、 $-S-(CH_2)_n-(ar)$ 、 $-(CH_2)_n$ -アミド- ar 、 $-O-(CH_2)_n$ -アミド- (ar) 、 $-NH-(CH_2)_n$ -アミド- (ar) 、 $-S-(CH_2)_n$ -アミド- (ar) 、若しくはリンカー部分であり、いずれの-Hも、ハロゲンにより任意に置き換えられていてもよく、 n の各場合とも独立して、0、1、2、3、4、5、6、7、若しくは8から選ばれ、ヘテロ環は、以上に定義されている。リンカーは、以下に定義される。好ましい実施形態では、 Q は、 $-(CH_2)_n-S-(CH_2)_n-H$ 、 $-S-(CH_2)_n-OH$ 、 $-S-(CH_2)_n-NH_2$ 、 $-(CH_2)_n-O-(CH_2)_n-H$ 、 $-O-(CH_2)_n-OH$ 、 $-O-(CH_2)_n-NH_2$ 、 $-O-C(CH_3)_3$ 、 $-O-CH(CH_3)_2$ 、 $-(CH_2)_n-N(-[CH_2]_nH)_2$ 、 $-NH-(CH_2)_nNH_2$ 、 $-NH-(CH_2)_nOH$ 、 $-(CH_2)_n-Nc^1c^2$ であり、 c^1 及び c^2 は、それらが結合されているNと一緒に、3～8員ヘテロ環を形成し、又は c^1 はHであり、且つ c^2 は、3～8員ヘテロ環、 $-(CH_2)_n-H$ 、 $-N_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-(CH_2)_n-ar$ 、 $-O-(CH_2)_n-(ar)$ 、 $-NH-(CH_2)_n-(ar)$ 、若しくは $-S-(CH_2)_n-(ar)$ であり、いずれの-Hも、ハロゲンにより任意に置き換えられていてもよく、 n の各場合とも独立して、0、1、2、3、4、5、6、7、若しくは8から選ばれる。 $-(CH_2)_n-S-(CH_2)_n-H$ は、好ましくは $-S-(CH_2)_n-H$ 又は $-(CH_2)_n-SH$ である。 $-S-(CH_2)_n-OH$ では、 n は、好ましくは2、3、4、5、又は6である。 $-S-(CH_2)_n-NH_2$ では、 n は、好ましくは2、3、4、5、又は6である。 $-(CH_2)_n-O-(CH_2)_n-H$ は、好ましくは $-(CH_2)_n-OH$ 又は $-O-(CH_2)_n-H$ である。 $-O-(CH_2)_n-OH$ では、 n は、好ましくは2、3、4、5、又は6である。 $-O-(CH_2)_n-NH_2$ では、 n は、好ましくは2、3、4、5、又は6である。 $-(CH_2)_n-N(-[CH_2]_nH)_2$ は、好ましくは、 n が少なくとも2である $-(CH_2)_n-NH_2$ 、又は n の各場合とも少なくとも2である $-(CH_2)_n-N(-[CH_2]_nH)_2$ である。 $NH-(CH_2)_nNH_2$ では、 n は、好ましくは2、3、4、5、又は6である。 $-NH-(CH_2)_nOH$ では、 n は、好ましくは2、3、4、5、又は6である。 $-(CH_2)_n-Nc^1c^2$ では、 n は、好ましくは2、3、4、5、又は6である。好ましい実施形態では、 c^1 及び c^2 は、それらが結合されているNと一緒に、3～8員ヘテロ環、より好ましくは4～6員ヘテロ環、最も好ましくは5又は6員ヘテロ環を形成する。他の好ましい実施形態では、 c^1 はHであり、且つ c^2 は、3～8員ヘテロ環、より好ましくは4、5、又は6員ヘテロ環、最も好ましくは5又は6員ヘテロ環である。 $-(CH_2)_n-H$ では、 n は、好ましくは0、1、2、3、4、5、又は6、より好ましくは1、2、3、又は4、さらにより好ましくは1又は2、最も好ましくは1である。 $-(CH_2)_n-ar$ では、 n は、好ましくは0、1、2、3、4、5、又は6、より好ましくは0、1、2、又は3、さらにより好ましくは0、1、又は2、最も好ましくは0又は2である。 $-O-(CH_2)_n-(ar)$ では、 n は、好ましくは少なくとも2である。 $-NH-(CH_2)_n-(ar)$ では、 n は、好ましくは少なくとも2である。 $-S-(CH_2)_n-(ar)$ では、 n は、好ましくは少なくとも2である。好ましくは、少なくとも1つの-Hは、ハロゲン、より好ましくはフッ素により置き換えられていてもよく、好ましくは、-Hの多くとも3つの場合がハロゲンにより置き換えられる。任意に、Hのすべての場合がFにより置き換えられる。好ましくは、直接連結ヘテロ原子を生じるおそれのあるときは、 n は0ではなく、より好ましくは0でも1でもない。好ましくは、 n は多くとも6である。

【0033】

リンカーは、当技術分野で公知である。リンカーの構造は、リンカーが本発明に使用される化合物に容易に化学結合してリンカー化合物を形成可能になるようにするとともに、得られるリンカー化合物がポリペプチドや表面などのさらなる物質に容易にコンジュゲート可能になるようにするものである。リンカーの選択は、循環系中又は表面上にあるときのかかる最終的コンジュゲートの安定性に影響を及ぼす可能性がある。リンカーは、切断性又は非切断性でありうる。切断性リンカーは、たとえば、リソソームプロテアーゼ又は酸性pHを有する環境に晒されたときに切断可能な部分を含む。好適な切断性リンカーは、当技術分野で公知であり、たとえば、ジ、トリ、又はテトラペプチド、すなわち、2、3、又は4つのアミノ酸残基で構成されたペプチドを含む。そのほか、切断性リンカーは、自己犠牲部分、たとえば、 α -アミノアミノカルボニル環化スパーサー (Saari et al. J. Med. Chem., 1990, 33(1), 97-101を参照されたい)、又は $-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{O}-$ 部分を含みうる。リンカーの切断は、周囲媒体による化合物の利用可能性を向上させることが可能である。非切断性リンカーは、たとえば、コンジュゲートポリペプチドがリソソーム中で分解された後、本発明に係る化合物を依然として効果的に放出可能である。非切断性リンカーとしては、たとえば、スクシンイミジル-4-(N-マレイミドメチル(シクロヘキサン))-1-カルボキシレート及びマレイミドカブロン酸並びにそれらのアナログが挙げられる。

10

【0034】

好ましい実施形態では、hは、H若しくはハロゲン若しくはQ、好ましくはH若しくはBr若しくはQ、より好ましくはBr若しくはQ、最も好ましくはBrであり、

20

X^1 はHであり且つ X^2 は p' であり、

p' は、メトキシメチル(MOM)、テトラヒドロピラニル(THP)、*t*-ブチル(*t*Bu)、アリル(Allyl)、ベンジル(Bn)、(トリ)アルキルシリル(たとえば、*t*-ブチルジメチルシリル(TBDMS)、トリイソプロピルシリル(TIPS)、若しくは*t*-ブチルジフェニルシリル(TBDPS))、アシル(たとえば、アセチル(Ac)、ピバロイル(Pv)、若しくはベンゾイル(Bz))から、好ましくはTHP、(トリ)アルキルシリル、及びアシルからなる群から選択され、

R^1 及び R^2 は、一緒になって、 $-\text{CH}=\text{C}(\text{ar})-$ を形成し、

arは、フェニル、4-メチルフェニル、3-チオフェニル、若しくは2-フラニル、好ましくはフェニル若しくは2-フラニル、より好ましくはフェニルであり、且つ/又はQは、フラニル、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{SCH}_3$ 、 $-\text{S}$ (イソプロピルフェニル)、 $-\text{S}$ (フェニルアミドメチル)、 $-\text{S}$ (ハロフェニル)、 $-\text{S}$ (ヒドロキシフェニル)、 $-\text{S}$ (アミノフェニル)、 $-\text{S}$ (ニトロフェニル)、 $-\text{S}$ (メトキシフェニル)、 $-\text{S}$ (トルイル)、 $-\text{S}$ (トリフルオロメチルフェニル)、 $-\text{Nc}^1\text{c}^2$ (ここで、 c^1 及び c^2 は、それらが結合されているNと一緒に、3~8員ヘテロ環を形成する)、 $-\text{S}-(\text{CH}_2)_n-\text{OH}$ 、 $-\text{S}-(\text{CH}_2)_n-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_n\text{NH}_2$ 、若しくは $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_n\text{OH}$ 、好ましくはフラニル、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{S}$ (4-ヒドロキシフェニル)、若しくは $-\text{S}$ (4-クロロフェニル)である。

30

【0035】

さらにより好ましくは、hはBrであり、 X^1 はHであり且つ X^2 は p' であり、 p' は、トリイソプロピルシリル(TIPS)であり、 R^1 及び R^2 は、一緒になって、好ましくはarが R^2 の最も近くにある $-\text{CH}=\text{C}(\text{ar})-$ を形成し、且つarは、フェニルであり又は4-メチルフェニルである。

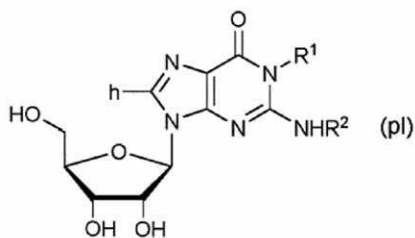
40

【0036】

提供されるGMPアナログでは、 X^2 が p' であり且つ X^1 がHであることが大いに好ましい。というのは、これにより5'-リンオキソ酸エステルアナログの化学選択的導入が促進されるからである。本発明者らは、驚くべきことに、 X^1 の保護が X^2 の保護よりも影響が少ないことを見いだした。それゆえ、好ましい実施形態では、 X^1 がHであり且つ X^2 が p' である本発明に係る方法が提供され、一般式(I)のグアノシンアナログ又はその塩は、以下のステップにより提供される：

50

I a) 一般式 (p I) の非保護グアノシナンalog又はその塩：
【化 1 0】



10

(式中、h、R¹、及びR²は、一般式Iに対して定義される通りである)
を提供するステップ。このステップでは、ステップi i)で変換されるグアノシナンalogの前駆体が提供される。この前駆体は、X¹及びX²の両方にHを有することを特徴とし、したがって、非保護グアノシナンalogといわれる。

I b) 非保護グアノシナンalogと(トリ)アルキルシリルハリドとを接触させて多重保護グアノシナンalogを得るとともに、任意に結晶化により多重保護グアノシナンalogを単離するステップ。このステップでは、非保護グアノシナンalogは、(トリ)アルキルシリルハリドを用いて保護され、p'の好ましい保護基である(トリ)アルキルシリル保護基になったX²をもたらす。そのほか、5'-OH基は、この反応ステップで保護状態になることが可能である。驚くべきことに、X¹は、Hを維持することが見いだされた。5'-及び2'-保護グアノシナンalogは、結晶化により便利に単離可能であり、これは好ましい実施形態では行われる。反応は、好ましくは、DMF、ピリジン、テトラメチルウレア、ジメチルアセトアミド、NMPなどの非プロトン性極性溶媒中、より好ましくはDMF又はNMP中で実施される。反応は、好ましくはマイルドな塩基、より好ましくはマイルドな有機塩基、たとえば、イミダゾール、ピリジン、トリメチルアミンなどのトリアルキルアミン、N-メチルモルホリン、又はN-メチルイミダゾール、より好ましくはイミダゾールの存在下で実施される。反応の進行は、好ましくは、クロマトグラフィー技術などの分析技術、TLC又はHPLCを用いてモニターされる。実質的にすべてのX²が保護された後、反応は、好ましくは、たとえば、10当量(equiv.)などの過剰の水の添加によりクエンチされる。クエンチされた反応は、好ましくは、水性相で洗浄した後、非プロトン性有機溶媒、好ましくはトルエンなどの低極性のもの、イソプロピルアセテートやブチルアセテートなどのエステル、tert-ブチルメチルエーテルなどのエーテル、又はベンゼン、より好ましくはトルエン中に抽出される。反応生成物は、好ましくは結晶化により、好ましくはメタノールでない有機溶媒から、より好ましくは非プロトン性有機溶媒から、さらにより好ましくはエチルアセテートやプロピルアセテートなどの極性のものから、最も好ましくはイソプロピルアセテートから単離される。結晶化は、好ましくは種晶を加えて、より好ましくは結晶化される所望の生成物を用いて行われる。好ましくは少なくとも4、より好ましくは少なくとも8、さらにより好ましくは少なくとも12時間放置される結晶化の後、結晶は、好ましくは洗浄及び/又は乾燥される。洗浄は、好ましくは、結晶化に使用されたものと同じの溶媒を用いて実施される。乾燥は、好ましくは真空中で、より好ましくは昇温で、たとえば約40~80で、好ましくは約50~70で実施される。

20

30

40

I c) 多重保護グアノシナンalogを選択的に脱保護して一般式(I)(式中、X¹はHであり、且つX²はp'である)のグアノシナンalogを得るステップ。このステップでは、2'-及び5'-保護位の反応性の差が使用され、水性TFAなどのマイルドな反応条件を用いて保護5'-OHが選択的に脱保護される。このステップは、THF及び/又は水と酸とのいずれかの組合せ、好ましくはTFAを用いて実施可能であるが、好ましくは、非プロトン性有機溶媒、好ましくは極性のもの、たとえば、THF又は1,4-ジオキサン中で実施される。脱保護は、好ましくは、強酸、好ましくはTFAを用いて、好ましくは約7~13、たとえば10体積の溶媒、約1~3、たとえば2体積の水、及び約0

50

、2～1、たとえば0.45体積のTFAを用いて行われる。反応の進行は、好ましくは、クロマトグラフィーなどの好適な分析技術、たとえばHPLCを用いてモニターされる。モニタリングは、2'位もまた脱保護されるおそれのある過剰脱保護を検出可能であるので有益である。実質的にすべての5'-保護基が除去されたとき、反応は、好ましくは、塩基、好ましくはアンモニアなどのマイルドな窒素ベース塩基、若しくはトリアルキルアミンなどの好適なアミン塩基、又はカーボネートやピカーボネートなどの無機塩基、より好ましくはアンモニア又はアミン塩基（これはガスの発生を回避する）、最も好ましくは体積効率の良いアンモニアの添加によりクエンチされる。好ましくは、クエンチされた粗反応混合物は、蒸発され、完全脱保護された副生成物が可溶でない混合物中に、たとえば、ジクロロメタン又はクロロホルムと少量の水との混合物（約10～20、たとえば15体積のたとえばジクロロメタン対約1～3、たとえば2体積の水）中に、又はアセトンなどの混合物中に再懸濁される。得られた希釈スラリーは、可能性のある不溶性汚染物を除去するために選択的に濾過される。濾液の有機相は、好ましくは分離され、その後、蒸発させて残渣を得ることが可能である。残渣は、好ましくは、極性有機溶媒、好ましくは非プロトン性のもの、たとえば、アセトニトリル又はエチルアセテート、より好ましくはアセトニトリルを用いてトリチュレートされる。残留固形分は、好ましくは、トリチュレーションに使用したものと同一の溶媒を用いて洗浄され、その後、生成物は、好ましくは真空乾燥などで乾燥される。

I d) 得られた一般式(I)（式中、 X^1 はHであり、且つ X^2 はp'である）のグアノシナナログを結晶化又は好ましくはトリチュレーションにより任意に単離するステップ。ここで、p'は、(トリ)アルキルシリルであるとともに、2'-保護グアノシナナログは、結晶化により便利に単離される。単離は、好ましくは、ステップIcで以上に記載したように実施される。

【0037】

ステップi)のグアノシナナログが R^1 及び R^2 の両方にHを有するとき、アナログは、 R^1 及び R^2 が一緒になって $-CH=C(ar)-$ を形成するアナログに有利に変換可能である。この目的では、 R^1 及び R^2 の両方がHであるアナログは、好ましくは、高極性非プロトン性溶媒、好ましくはDMSO中に溶解され、その後、約1～3、たとえば1.5equiv.の $(ar)-C(=O)-CH_2Br$ が添加される。本明細書では、arは、以上に定義される通りであり、たとえばフェニル又はフラニル、好ましくはフェニルである。 $(ar)-C(=O)-CH_2Br$ 中のarがフェニルであるとき、反応剤はフェナンシルブロミドである。 $(ar)-C(=O)-CH_2Br$ の添加後、強塩基、好ましくは強有機塩基、たとえばDBU又はテトラメチルグアニジン、より好ましくはDBU、好ましくは約1～5、たとえば約2.5equiv.、好ましくはある時間にわたり、たとえば約10～60分間、たとえば約30分間にわたり添加される。反応完了後、たとえば約1h後、反応は、好ましくは、中和され、より好ましくは、酸、好ましくは弱酸、より好ましくは有機酸、たとえば酢酸の添加により行われる。生成物は、好ましくは、たとえば水、たとえば約10体積の添加により粗反応混合物から沈殿される。沈殿生成物は、好ましくは、濾過により単離され、好ましくは、たとえば水性DMSO又は水で洗浄され、その後、固形分は、好ましくは、真空乾燥などで乾燥される。次いで、好ましくは、固形分は、好適な非プロトン性極性有機溶媒、たとえばアセトニトリル又はTHF、より好ましくはアセトニトリルを用いてトリチュレートされ、その後、生成物は、好ましくは、真空乾燥などで乾燥される。真空乾燥は、好ましくは、昇温で、たとえば約70℃で実施される。

【0038】

ステップii)グアノシン5'-リンオキソ酸エステルアナログの形成

第2のステップでは、ステップi)で提供されたグアノシナナログは、グアノシン5'-リンオキソ酸エステルアナログを得るためにリンオキソ酸誘導体に接触される。リンオキソ酸誘導体は、好ましくは、リン酸化剤又はホスホニル化剤であり、リンオキソ酸誘導体という用語は、実際のオキソ酸のみを包含するように狭義に解釈されるべきでなく

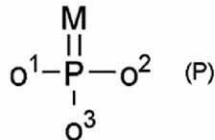
、チオ - アナログ及び誘導体、たとえば P C l 3 もまた包含されることが想定される。かかる作用剤は、当技術分野で公知である。本発明との関連では、作用剤は、グアノシミアナログの 5' 位にリンオキソ酸エステルを導入して G M P アナログを形成するためのものである。リン酸化剤は、リンが形式酸化状態 P (V) であるエステル、たとえば (H O)₂ P (= O) - グアノシンを形成する。ホスホニル化剤は、リンが形式酸化状態 P (I I I) であるエステル、たとえば (H O) H P (= O) - グアノシンを形成する。好ましい実施形態では、リンオキソ酸誘導体はリン酸化剤である。さらにより好ましい実施形態では、リンオキソ酸誘導体はホスホニル化剤である。

【 0 0 3 9 】

好ましい実施形態では、ステップ i i) のリンオキソ酸誘導体は、一般式 (P) :

10

【 化 1 1 】



(式中、

M は、S 若しくは O であり、又は不在であり、好ましい実施形態では、M は、S 又は O であり、より好ましくは O であり、他の好ましい実施形態では、M は、不在であり、

20

o¹ 及び o² は、各々独立して、ハロゲン、- O - C₁ ~ 8 炭化水素、- S - C₁ ~ 8 炭化水素、- N H - C₁ ~ 8 炭化水素、ボラノ、メチルボラノ、ジメチルボラノ、シアノボラノ、及び - N (C₁ ~ 8 炭化水素)₂ から選択され、且つ

o³ は、H 若しくは o¹ に対して定義される通りであり、又は o¹ 及び o³ は、一緒になって、好ましくは C₂ ~ 1₂ 炭化水素であるキラル補助剤を形成する)

のものである。一般式 (P) の化合物がリン酸化剤であるとき、o³ は H でなく、且つ M は不在でない。一般式 (P) で示される化合物がホスホニル化剤であるとき、o³ は H であり、又は M は不在であるとともに o¹ 及び o³ は一緒になってキラル補助剤を形成する。

【 0 0 4 0 】

C₁ ~ 8 炭化水素は、これとの関連では、好ましくは、好適な脱離基を形成する。炭化水素は、ヘテロ原子を含むことが可能であり、ハロゲンで、好ましくはフッ素で任意に置換可能である。好ましい実施形態では、o¹ は、好適な脱離基、たとえば、ハロゲン、- O C₆ F₅ などの - O - C₁ ~ 8 炭化水素、- S C₆ F₅ などの - S - C₁ ~ 8 炭化水素、

30

- N H - C₁ ~ 8 炭化水素、及び - N (C₁ ~ 8 炭化水素)₂ を表す。好ましい実施形態では、o² は、好適な脱離基、たとえば、ハロゲン、- O - C₁ ~ 8 炭化水素、- S - C₁ ~ 8 炭化水素、

- N H - C₁ ~ 8 炭化水素、及び - N (C₁ ~ 8 炭化水素)₂ を表す。より好ましい実施形態では、o¹ 及び o² は、両方とも好適な脱離基を表す。好ましくは、o¹ 及び o² は、同一部分を表す。好適な脱離基の例は、フェノール、ペンタフルオロフェノール、イミダゾール、トリアゾール、ジイソプロピルアミン、及びハロゲン、たと

えば塩素又は臭素、より好ましくは塩素である。N (C₁ ~ 8 炭化水素)₂ では、2 つの炭

40

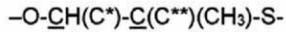
化水素は、一緒になって、たとえば、イミダゾールが形成されるときなど、それらが結合されている窒素を含む環式構造を形成可能であるものと理解される。

【 0 0 4 1 】

キラル補助剤は、当技術分野で公知のように (たとえば、K n o u s e e t a l . , 2 0 1 8 , S c i e n c e , D O I : 1 0 . 1 1 2 6 / s c i e n c e . a a u 3 3 6 9 を参照されたい) 、キラル補助剤が一般式 (P) の中心リン原子の周りにキラル環式構造を形成することから、所与の立体化学配置で最終的環化を促進する部分である。キラル中心を強調するために使用される下線付きで、o¹ 及び o³ が結合された位置間をブリッジする 2 価基としてここに描かれたキラル補助剤の例は、

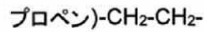
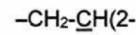
50

【化 1 2】



(式中、C*及びC**は、それらが結合されている炭素原子と一緒に、

【化 1 3】



を表すことにより環式構造を形成する)である。キラル補助剤が存在する一般式(P)の化合物では、Mは、好ましくはS又はO、より好ましくはSである。

10

【0042】

一般式(P)の好ましい化合物は、ジフェニルホスフィット、ジメチルホスフィット、ジエチルホスフィット、ジイソプロピルホスフィット、ジクロロホスフィットなどのジハロホスフィット、ジ(ペンタフルオロフェニル)ホスフィット、ジフェニルチオホスフィット、ジメチルチオホスフィット、ジエチルチオホスフィット、ジイソプロピルチオホスフィット、ジクロロチオホスフィットなどのジハロチオホスフィット、ジ(ペンタフルオロフェニル)チオホスフィット、ジ(ジイソプロピルアミノ)メトキシホスフィット([(iPr)₂N]₂P[OMe])、[(iPr)₂N]₂P[OEt]、Cl₂P(S)(OMe)、Cl₂P(S)(OEt)、Cl₂P(O)(SMe)、Cl₂P(O)(SEt)、(ペンタフルオロフェニル)OP(S)=(キラル補助剤)、P(S)Cl₃、P(O)Cl₃、ClP(S)(OMe)₂、ClP(S)(OEt)₂、ClP(O)(OMe)₂、ClP(O)(OEt)₂、(ペンタフルオロフェニル)OP(S)=(OMe)₂、(ペンタフルオロフェニル)OP(S)=(OEt)₂、(ペンタフルオロフェニル)OP(O)=(OMe)₂、(ペンタフルオロフェニル)OP(O)=(OEt)₂、ClP(S)(SMe)₂、ClP(S)(SEt)₂、ClP(O)(SMe)₂、ClP(O)(SEt)₂、(ペンタフルオロフェニル)OP(S)=(SMe)₂、(ペンタフルオロフェニル)OP(S)=(SEt)₂、(ペンタフルオロフェニル)OP(O)=(SMe)₂、及び(ペンタフルオロフェニル)OP(O)=(SEt)₂であり、より好ましいのは、以下により好ましいホスホニル化剤又はリン酸化剤として表されるものである。

20

30

【0043】

好ましいホスホニル化剤は、ジフェニルホスフィット、ジメチルホスフィット、ジエチルホスフィット、ジイソプロピルホスフィット、ジハロホスフィット、たとえば、ジクロロホスフィット、ジ(ペンタフルオロフェニル)ホスフィット、ジフェニルチオホスフィット、ジメチルチオホスフィット、ジエチルチオホスフィット、ジイソプロピルチオホスフィット、ジハロチオホスフィット、たとえば、ジクロロチオホスフィット、ジ(ペンタフルオロフェニル)チオホスフィット、[(iPr)₂N]₂P[OMe]、及び[(iPr)₂N]₂P[OEt]であり、より好ましいのは、ジフェニルホスフィット、ジフェニルチオホスフィット、及び[(iPr)₂N]₂P[OMe]であり、最も好ましいのは、ジフェニルホスフィットである。

40

【0044】

好ましいリン酸化剤は、Cl₂P(s)(OMe)、Cl₂P(s)(OEt)、Cl₂P(O)(SMe)、Cl₂P(O)(SEt)、(ペンタフルオロフェニル)OP(S)=(キラル補助剤)、P(S)Cl₃、P(O)Cl₃、ClP(S)(OMe)₂、ClP(S)(OEt)₂、ClP(O)(OMe)₂、ClP(O)(OEt)₂、(ペンタフルオロフェニル)OP(S)=(OMe)₂、(ペンタフルオロフェニル)OP(S)=(OEt)₂、(ペンタフルオロフェニル)OP(O)=(OMe)₂、(ペンタフルオロフェニル)OP(O)=(OEt)₂、ClP(S)(SMe)₂、ClP(S)(SEt)₂、ClP(O)(SMe)₂、ClP(O)(SEt)₂、(ペンタフルオロフェニル)OP(S)=(SMe)₂、(ペンタフルオロフェニル)OP(S)

50

= (SEt)₂、(ペンタフルオロフェニル)OP(O) = (SMe)₂、及び(ペンタフルオロフェニル)OP(O) = (SEt)₂であり、より好ましいのは、Cl₂P(S)(OMe)、Cl₂P(O)(SMe)、(ペンタフルオロフェニル)OP(S) = (キラル補助剤)、P(S)Cl₃、P(O)Cl₃、ClP(S)(OMe)₂、ClP(O)(OMe)₂、ClP(S)(SMe)₂、及びClP(O)(SMe)₂である。

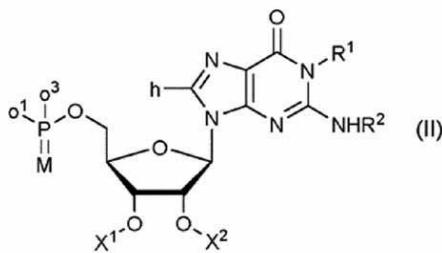
【0045】

リンオキソ酸誘導体とグアノシンアナログとを接触させることは、好ましくは、グアノシン5'-リンオキソ酸エステルアナログの形成に資する条件下で実施される。接触させることは、好ましくは非プロトン性溶媒中で、より好ましくは相対的に低極性の非プロトン性溶媒、たとえばジクロロメタン又はクロロホルム中で実施される。接触させることは、好ましくは、マイルドな塩基、好ましくは非求核性のもの、たとえば、ピリジン、ルチジン、イミダゾール、又は約4~7、より好ましくは約5~7のpKaを有する他の含窒素塩基の存在下で実施される。接触させることは、好ましくは、過剰のリンオキソ酸誘導体を用いて、好ましくは、約2~約5 equiv.、たとえば、約3 equiv.の反応剤を用いて実施される。反応が進行した後、反応は、好ましくは、たとえば、塩基性水性溶液、たとえば、水性(トリ)アルキルアミン溶液、たとえば、1体積の水及び1体積のトリメチルアミンを用いてクエンチされ、次いで、好ましくは、約10~60分間、たとえば、約30分間放置される。有機相は、好ましくは、その後、水などで洗浄される。次いで、有機相は、好ましくは、たとえば、溶媒の蒸発、好ましくは、続いて共蒸発、たとえば、トルエン、エチルアセテート、又はイソプロパノールを用いて、好ましくはエチルアセテート及び/又はイソプロパノールを用いて共蒸発により乾燥させる。

【0046】

こうした接触の生成物は、グアノシン5'-リンオキソ酸エステルアナログである。この化合物は、好ましくは、一般式(II)のもの又はその塩：

【化14】



(式中、h、X¹、X²、R¹、及びR²は、以上に定義される通りであり、hは、好ましくはBrであり、X¹は、好ましくはHであり、X²は、好ましくはp'、より好ましくは(トリ)アルキルシリル、たとえばTIPSであり、R¹は、好ましくはHであり又はR²と一緒にあって-CH=C(ar)-を形成し、R²は、好ましくはR²と一緒にあって-CH=C(ar)-を形成し又はHであり、最も好ましくはR¹及びR²は、-CH=C(ar)-を形成し、

o¹及びo³は、各々独立して、-OH又は以上に定義される通りであり、且つMは、S又はO、好ましくはOである)

である。一般式(II)の化合物では、hの定義及び好ましい実施形態は、好ましくは一般式(I)の化合物に対して定義される通りである。一般式(II)の化合物では、R¹の定義及び好ましい実施形態は、好ましくは一般式(I)の化合物に対して定義される通りである。一般式(II)の化合物では、R²の定義及び好ましい実施形態は、好ましくは一般式(I)の化合物に対して定義される通りである。一般式(II)の化合物では、X¹の定義及び好ましい実施形態は、好ましくは一般式(I)の化合物に対して定義される通りである。一般式(II)の化合物では、X²の定義及び好ましい実施形態は、好ましくは一般式(I)の化合物に対して定義される通りである。

【0047】

好ましい実施形態では、 o^3 はHであり、且つ o^1 は、 $-OH$ 、 $-O-C_{1-8}$ 炭化水素、 $-S-C_{1-8}$ 炭化水素、 $-NH-C_{1-8}$ 炭化水素、ボラノ、メチルボラノ、ジメチルボラノ、シアノボラノ、又は $-N(C_{1-8}炭化水素)_2$ 、より好ましくは $-O-C_{1-8}$ 炭化水素、 $-S-C_{1-8}$ 炭化水素、 $-NH-C_{1-8}$ 炭化水素、又は $-N(C_{1-8}炭化水素)_2$ である。他の好ましい実施形態では、 o^1 及び o^3 は両方とも、 $-OH$ 、 $-O-C_{1-8}$ 炭化水素、 $-S-C_{1-8}$ 炭化水素、 $-NH-C_{1-8}$ 炭化水素、ボラノ、メチルボラノ、ジメチルボラノ、シアノボラノ、又は $-N(C_{1-8}炭化水素)_2$ 、より好ましくは $-O-C_{1-8}$ 炭化水素、 $-S-C_{1-8}$ 炭化水素、 $-NH-C_{1-8}$ 炭化水素、又は $-N(C_{1-8}炭化水素)_2$ である。好ましい実施形態では、 o^1 及び o^3 は、一
緒になって、以上に定義されるキラル補助剤を形成する。最も好ましくは、 o^1 は $-OH$
であり、且つ o^3 はHである。

【0048】

下記は、一般式(II)の好ましい化合物である。

1. 8 - プロモグアノシン 5' - ーリン酸、
2. 8 - (2, 4 - ジヒドロキシフェニルチオ)グアノシン - 5' - ーリン酸、
3. 8 - (2 - アミノフェニルチオ)グアノシン - 5' - ーリン酸、
4. 8 - (4 - ヒドロキシフェニルチオ)グアノシン - 5' - ーリン酸、
5. 8 - (4 - アミノフェニルチオ)グアノシン - 5' - ーリン酸、
6. 8 - (4 - クロロフェニルチオ) - フェニル - 1, N² - エテノグアノシン - 5' - ーリン酸
7. 8 - (4 - クロロフェニルチオ)グアノシン - 5' - ーリン酸、
8. 8 - (2, 4 - ジクロロフェニルチオ)グアノシン - 5' - ーリン酸、
9. 8 - (4 - メトキシフェニルチオ)グアノシン - 5' - ーリン酸、
10. 8 - プロモ - フェニル - 1, N²エテノグアノシン - 5' - ーリン酸
11. 8 - プロモ - (2 - ナフチル - 1, N²エテノ)グアノシン - 5' - ーリン酸
12. 8 - (4 - ヒドロキシフェニルチオ) - フェニル - 1, N²エテノグアノシン - 5' - ーリン酸
13. 8 - (4 - クロロフェニルチオ) - フェニル - 1, N²エテノグアノシン - 5' - ーリン酸
14. 2 - ナフチル - 1, N² - エテノグアノシン - 5' - ーリン酸
15. - フェニル - 1, N² - エテノグアノシン - 5' - ーリン酸、
16. 4 - メトキシ - フェニル - 1, N² - エテノグアノシン 5' - ーリン酸
17. 8 - プロモグアノシン - 5' - モノ - H - ホスホン酸、
18. 8 - (2, 4 - ジヒドロキシフェニルチオ)グアノシン - 5' - モノ - H - ホスホン酸、
19. 8 - (2 - アミノフェニルチオ)グアノシン - 5' - モノ - H - ホスホン酸、
20. 8 - (4 - ヒドロキシフェニルチオ)グアノシン - 5' - モノ - H - ホスホン酸、
21. 8 - (4 - アミノフェニルチオ)グアノシン - 5' - モノ - H - ホスホン酸、
22. 8 - (4 - クロロフェニルチオ) - フェニル - 1, N² - エテノグアノシン - 5' - モノ - H - ホスホネート、
23. 8 - (4 - クロロフェニルチオ)グアノシン - 5' - モノ - H - ホスホン酸、
24. 8 - (2, 4 - ジクロロフェニルチオ)グアノシン - 5' - モノ - H - ホスホン酸、
25. 8 - (4 - メトキシフェニルチオ)グアノシン - 5' - モノ - H - ホスホン酸、
26. 8 - プロモ - フェニル - 1, N² - エテノグアノシン - 5' - モノ - H - ホスホン酸、
27. 8 - プロモ - (2 - ナフチル - 1, N² - エテノ)グアノシン - 5' - モノ - H - ホスホン酸、
28. 8 - (4 - ヒドロキシフェニルチオ) - フェニル - 1, N² - エテノグアノ

- シン - 5' - モノ - H - ホスホン酸、
 29. 8 - (4 - クロロフェニルチオ) - フェニル - 1, N² - エテノグアノシン
 - 5' - モノ - H - ホスホン酸、
 30. 2 - ナフチル - 1, N² - エテノグアノシン - 5' - モノ - H - ホスホン酸、
 31. フェニル - 1, N² - エテノグアノシン - 5' - モノ - H - ホスホン酸、
 32. 4 - メトキシ - フェニル - 1, N² - エテノグアノシン - 5' - モノ - H -
 ホスホン酸、
 33. - 1, N² - アセチル - 8 - プロモグアノシン 5' - ーリン酸及びそのモノ -
 H - ホスホン酸、
 34. 8 - プロモ - 1, N² - ブチリルグアノシン - 5' - ーリン酸及びそのモノ 10
 - H - ホスホン酸、
 35. 8 - プロモ - (4 - メチル - フェニル - 1, N² - エテノ) グアノシン - 5
 ' - ーリン酸及びそのモノ - H - ホスホン酸、
 36. 8 - プロモ - (3 - チオフエン - イル - 1, N² - エテノ) グアノシン - 5' -
 ーリン酸及びそのモノ - H - ホスホン酸、
 37. 1 - ベンジル - 8 - プロモグアノシン - 5' - ーリン酸及びそのモノ - H - ホス
 ホン酸、
 38. 8 - チオグアノシン - 5' - ーリン酸及びそのモノ - H - ホスホン酸、
 39. 8 - (4 - イソプロピルフェニルチオ) グアノシン - 5' - ーリン酸及びそのモ
 ノ - H - ホスホン酸、 20
 40. 8 - フェニルアミドメチルチオグアノシン - 5' - ーリン酸及びそのモノ - H -
 ホスホン酸、
 41. フェニル - 1, N² - エテノ - 8 - フェニルアミドメチルチオグアノシン -
 5' - ーリン酸及びそのモノ - H - ホスホン酸、
 42. 8 - (4 - イソプロピルフェニルチオ) - フェニル - 1, N² - エテノグア
 ノシン - 5' - ーリン酸及びそのモノ - H - ホスホン酸、
 43. 8 - (2 - アミノフェニルチオ) - フェニル - 1, N² - エテノグアノシン
 - 5' - ーリン酸及びそのモノ - H - ホスホン酸、
 44. フェニル - 1, N² - エテノ - 8 - チオグアノシン - 5' - ーリン酸及びその
 モノ - H - ホスホン酸、 30
 45. 8 - メチルチオ - フェニル - 1, N² - エテノグアノシン - 5' - ーリン酸
 及びそのモノ - H - ホスホン酸、
 46. 8 - メチルチオ - グアノシン - 5' - ホスホン酸、好ましくはナトリウム塩及び
 そのモノ - H - ホスホン酸、
 47. 8 - フェニルグアノシン - 5' - ーリン酸及びそのモノ - H - ホスホン酸、
 48. 8 - (2 - フリル) グアノシン - 5' - ーリン酸及びそのモノ - H - ホスホン酸、
 49. 8 - (4 - クロロフェニル) グアノシン - 5' - ーリン酸及びそのモノ - H - ホ
 スホン酸、
 50. 8 - フェニル - フェニル - 1, N² - エテノグアノシン - 5' - ーリン酸及
 びそのモノ - H - ホスホン酸、 40
 51. 8 - (4 - クロロフェニル) - フェニル - 1, N² - エテノグアノシン - 5
 ' - ーリン酸及びそのモノ - H - ホスホン酸又はその塩。

【0049】

以上のリストの化合物への参照は、かかる化合物の塩も参照することが意図され、この
 場合、塩は、本明細書の他の箇所に定義される通りである。好ましい実施形態では、遊離
 塩基化合物が参照される。好ましい実施形態では、塩が参照される。より好ましい実施形
 態では、化合物は、化合物 1 ~ 16 から選択される。他のより好ましい実施形態では、化
 合物は、化合物 17 ~ 32 から選択される。他の好ましい実施形態では、化合物は、1、
 10、11、17、26、及び 27 から、より好ましくは 1、10、及び 11 から、代替
 的により好ましくは 17、26、及び 27 から選択される。他の好ましい実施形態では、 50

化合物は、6、10～16、22、及び26～32から、より好ましくは6及び10～16から、代替的により好ましくは22及び26～32から選択される。他の好ましい実施形態では、化合物は、6、10～13、15、16、22、26～29、31、及び32から、より好ましくは6、10～13、15、及び16から、代替的により好ましくは22及び26～29、31、及び32から選択される。他の好ましい実施形態では、化合物は、1～5、7～9、17～21、及び23～25から、より好ましくは1～5及び7～9から、代替的により好ましくは17～21及び23～25から選択される。非常にきわめて好ましい化合物は、化合物10及び26、最も好ましくは化合物26である。他の非常にきわめて好ましい化合物は、化合物10、35、36、及び40～43、並びにそれらのモノ-H-ホスホン酸、より好ましくはそれらのモノ-H-ホスホン酸である。

10

【0050】

ステップ*i i i*) グアノシン5'-リンオキソ酸エステルアナログの結晶化

本発明者らは、驚くべきことに、ステップ*i i i*) で生成された5'-リンオキソ酸エステルアナログを結晶化可能であることを見いだした。この中間体は、当技術分野で公知のcGMP生成方法では決して単離されないが、この中間体の精製は、環化収率の増加、環化生成物のキラリティーに対する制御の改善など、有利な効果を有することが見いだされた。好ましくは、グアノシン5'-リンオキソ酸エステルアナログは、結晶化されるときは塩であり、より好ましくは、カウンターイオンが水素化有機塩基である塩、最も好ましくはカウンターイオンがTEAH⁺などの水素化(トリ)アルキルアミンであるものである。

20

【0051】

グアノシン5'-リンオキソ酸エステルアナログは、好ましくは非プロトン性有機溶媒から、より好ましくは極性のもの、たとえば、エチルアセテート又はプロピルアセテート又はTHF又はtert-ブチルメチルエーテルから、最も好ましくはエチルアセテートから、結晶化により単離される。結晶化は、好ましくは種晶を加えて、より好ましくは結晶化される所望の生成物を用いて行われる。好ましくは少なくとも4、より好ましくは少なくとも8、さらにより好ましくは少なくとも12時間放置される結晶化の後、結晶は、好ましくは洗浄及び/又は乾燥される。結晶化は、好ましくは室温でのものである。洗浄は、好ましくは、結晶化に使用されたものと同じの溶媒を用いて実施される。乾燥は、好ましくは真空中で、より好ましくは昇温で、たとえば約40～80℃で、好ましくは約50～70℃で実施される。好ましい実施形態では、得られる結晶は溶媒和物である。好ましい結晶は、実質的に純粋な生成物を含み、より好ましくは少なくとも80、85、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、又は100%、さらにより好ましくは少なくとも95、96、97、98、99、又は100%、最も好ましくは少なくとも97%、任意にそれ以上の純度を有する。

30

【0052】

ステップ*i v*) 環状ジエステルの形成

ステップ*i i i*) で単離された5'-リン酸モノエステルは、cGMPアナログの合成を継続するために有利に使用可能である。それゆえ、好ましい本発明に係る方法は、以下のステップをさらに含む。

40

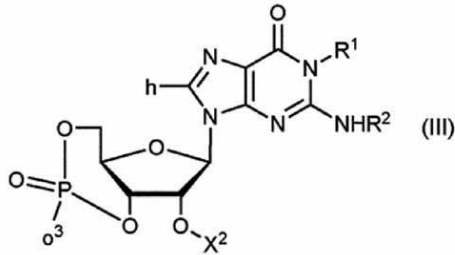
i v) ステップ*i i i*) で得られた(及びステップ*i i i*) で結晶化された) グアノシン5'-リンオキソ酸エステルアナログを環化して環状グアノシン-3', 5'-リン酸(cGMP)アナログを得るステップであって、前記環化は、好ましくは、立体障害塩基の存在下で実施される、ステップ。X¹がHでない場合、好ましくは、このステップに先行して、対応する保護ヒドロキシル部分を脱保護することによりX¹からHへの変換を行うことは、理にかなっている。

【0053】

cGMPアナログは、好ましくは、一般式(III)のもの又はその塩：

50

【化 1 5】



(式中、 h 、 X^2 、 R^1 、及び R^2 は、以上に定義される通りであり、好ましくは一般式 (I I) の化合物に対して定義される通りである) 10

である。好ましくは X^2 は p' であり、より好ましくはTIPSなどの(トリ)アルキルシリルである。 o^3 は、一般式(I I)の化合物に対して定義される通りであり、好ましくは o^3 はHである。他の好ましい実施形態では、 o^3 は、 $-OH$ 、 $-O-C_{1-8}$ 炭化水素、 $-S-C_{1-8}$ 炭化水素、 $-NH-C_{1-8}$ 炭化水素、ボラノ、メチルボラノ、ジメチルボラノ、シアノボラノ、又は $-N(C_{1-8}$ 炭化水素) $_2$ 、最も好ましくは $-OH$ である。

【0054】

一般式(I I I)の化合物では、 h の定義及び好ましい実施形態は、好ましくは一般式 (I I) の化合物に対して定義される通りである。一般式(I I I)の化合物では、 R^1 の定義及び好ましい実施形態は、好ましくは一般式(I I)の化合物に対して定義される 20
通りである。一般式(I I I)の化合物では、 R^2 の定義及び好ましい実施形態は、好ましくは一般式(I I)の化合物に対して定義される通りである。一般式(I I I)の化合物では、 X^2 の定義及び好ましい実施形態は、好ましくは一般式(I I)の化合物に対して定義される通りである。

【0055】

環化は、当技術分野で公知の方法を用いて実施可能である。好ましくは、環化は、カップリング試薬の存在下で実施される。好ましくは、環化は、立体障害塩基又はピリジン、より好ましくはマイルドな立体障害塩基又はピリジン、さらにより好ましくはマイルドな 30
立体障害塩基の存在下で実施される。最も好ましくは、カップリング試薬及び立体障害塩基の両方が使用される。環化は、好ましくは、希釈条件下で、たとえば、溶媒1リットル当たりの5'- γ -リンオキソ酸エステルアナログの重量として表したとき、多くとも約200g/L、好ましくは多くとも約100g/L、より好ましくは多くとも約80g/L、さらにより好ましくは多くとも約60g/L、たとえば、約50g/Lで実施される。溶媒は、好ましくは非プロトン性溶媒、より好ましくはわずかに極性のもの、たとえばジクロロメタン又はクロロホルム又はアセトニトリル、さらにより好ましくはクロロホルム 40
又はジクロロメタンである。当業者であれば気付くであろうが、希釈条件下では、塩基は、好ましくは過剰に、たとえば約2~9equiv.、より好ましくは約4~6equiv.、たとえば約5equiv.で存在する。同様に、カップリング試薬は、好ましくは過剰に、たとえば約1.1~5equiv.、より好ましくは約1.2~3equiv.、たとえば約1.5equiv.で存在する。好ましくは、最初に塩基が希釈5'- γ -リンオキソ酸エステルアナログ溶液に添加され、その後、カップリング試薬が添加される。反応は、好ましくは少なくとも30分間、より好ましくは少なくとも1時間、最も好ましくは約2時間以上進行させる。

【0056】

好適な立体障害塩基の好ましい例は、ルチジン、ピコリン、コリジン、N,N-ジメチルアニリン、N-メチルモルホリン、及びキノロン、より好ましくはルチジンである。さらに好ましい立体障害塩基は、約4~7、より好ましくは約5~7の pK_a を有する。

【0057】

好適なカップリング試薬は、当技術分野で周知である。好適なカップリング試薬の好ま 50

しい例は、アリアルスルホン酸誘導体、ジエステルクロロホスフェート、カルボジイミド、及びアシルハリド、たとえば、*O* - (ベンゾトリアゾール - 1 - イル) - *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ェート (HBTU)、ビス (2 - オキソ - 3 - オキサゾリジニル) ホスフィン酸クロリド (BOP-Cl)、2 - クロロ - 4 , 6 - ジメトキシ - 1 , 3 , 5 - トリアジン (CDMT)、(クロロメチレン) ジメチルイミニウムクロリド (フィルスマイヤー試薬)、*N* - (ジメチルアミノプロピル) - *N*' - エチル - カルボジイミド (EDC)、カルボニルジイミダゾール (CDI)、プロピルホスホン酸無水物 (T3P)、ジエチルクロロホスフェート、ジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC)、イソブチルクロロホルメート、及びピバロイルクロリドである。より好ましくはアシルハリドが使用され、そのうちアシルクロリド、たとえば、プロピルクロリド、ベンゾイルクロリド、エチルクロロホルメート、イソブチルクロロホルメート、及びピバロイルクロリドが最も好ましい。ピバロイルクロリドは、最もきわめて有利である。

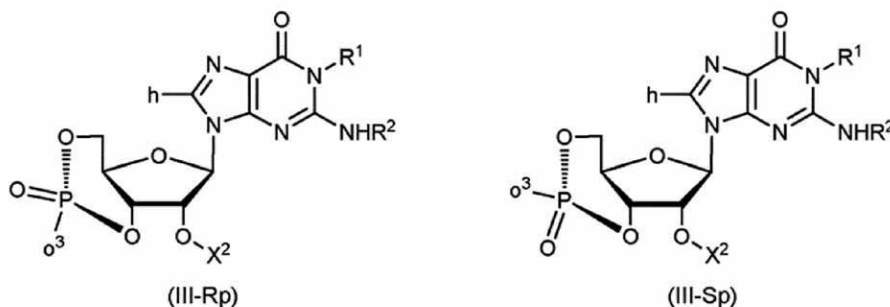
【0058】

好ましくは、cGMPアナログは、好ましくは水で、有機相を洗浄することにより単離可能であり、その後、好ましくは、アセトニトリルなどの非プロトン性極性溶媒で希釈される。好ましくは、有機相は蒸発される。得られた粗生成物は、好ましくは、アセトニトリルなどの非プロトン性極性溶媒中に粗固形分を再懸濁させることによりさらに精製され、その後、固形分は濾別される。次いで、濾液は、好ましくは真空濃縮され、その後、好ましくは、アセトニトリルなどの非プロトン性極性溶媒中に再溶解される。次いで、粗溶液は、好ましくは、過剰のエーテル溶媒、好ましくは *tert* - ブチルエーテル溶媒、たとえば *tert* - ブチルメチルエーテル (TBME) の添加により処理される。過剰は、好ましくは少なくとも5体積、より好ましくは少なくとも10体積、たとえば約12体積である。得られた組成物は、好ましくは少なくとも約4時間、より好ましくは少なくとも約8時間放置し、その後、溶媒は、好ましくはデカンテーション及び/又は蒸発により除去される。得られた残渣は油でありうる。得られた残渣は、好ましくは真空乾燥され、その後、好ましくはエーテル溶媒、好ましくはTBMEなどの *tert* - ブチルエーテル溶媒を用いてトリチュレートされる。他のきわめて好ましい実施形態では、好ましくは、環化に続いてホスホロチオエート形成を行うべきであり、cGMPアナログは、いずれのさらなる反応ステップの前でも単離されない。

【0059】

本発明者らは、驚くべきことに、立体障害塩基の使用が反応の非常に望ましい立体化学的結果をもたらすこと、すなわち、好ましい立体異性体である *R_p* 立体異性体の大きなジアステレオマー過剰率をもたらすことを見いだした。一般式 (III) の *R_p* 及び *S_p* 立体異性体は、以下に示されており、それぞれ、一般式 (III-*R_p*) 及び (III-*S_p*) のものである。理論に拘束されることを望むものではないが、立体障害塩基の使用は、全体的に緩徐な反応又は速度論的制御下の反応をもたらすことが可能であり、その結果、*R_p* 生成物である速度論的生成物の好ましい形成が得られる。

【化16】



【0060】

50

好ましい実施形態では、一般式 (I I I) の化合物は、一般式 (I I I - R p) のものである。異なる用途では異なるジアステレオマーが妥当でありうるので、他の好ましい実施形態では、一般式 (I I I) の化合物は、一般式 (I I I - S p) のものである。一般式 (I I I - R p) 又は (I I I - S p) の化合物では、h、X²、R¹、及びR²は、好ましくは以上に定義される通りであり、より好ましくは一般式 (I I I) の化合物に対して定義される通りである。好ましくはX²は、p'、より好ましくは(トリ)アルキルシリル、最も好ましくはTIPSである。o³は、好ましくは、一般式 (I I) の化合物に対して定義される通りであり、より好ましくは、そこに定義される通りであるが、ただし、-OHではなく、さらにより好ましくはo³は、H又はSHである。ステップivで生成される中間生成物として、最も好ましくはo³はHである。

10

【0061】

好ましくは、化合物が一般式 (I I I - R p) 又は一般式 (I I I - S p) のものであるとき、対応するジアステレオマーは、少なくとも2:1、より好ましくは少なくとも3:1、さらにより好ましくは少なくとも4:1、そのほかより好ましくは少なくとも5:1、そのほかさらにより好ましくは少なくとも6:1、そのほかより好ましくは少なくとも7:1、最も好ましくは少なくとも約8:1のジアステレオマー過剰率で存在する。好ましくは、一般式 (I I I) 及び/又は一般式 (I I I - R p) 若しくは (I I I - S p) の化合物がステップiv)の後に得られるとき、化合物は、少なくとも60、65、70、75、80、85、90、95、96、97、98、99、又はそれ以上のパーセントの純度を有する。より好ましくは純度は、少なくとも70%、さらにより好ましくは少なくとも75%、そのほかより好ましくは少なくとも80%、そのほかさらにより好ましくは少なくとも85%、そのほかより好ましくは少なくとも90%である。純度は、公知の技術を用いてアッセイ可能であり、好ましくはHPLCを用いてアッセイされる。

20

【0062】

一般式 (I I I) の好ましい化合物は、その塩、より好ましくはカウンターイオンが水素化有機塩基である塩、最も好ましくはカウンターイオンがTEAH+などの水素化(トリ)アルキルアミンであるものである。一般式 (I I I - R p) の好ましい化合物は、その塩、より好ましくはカウンターイオンが水素化有機塩基である塩、最も好ましくはカウンターイオンがTEAH+などの水素化(トリ)アルキルアミンであるものである。一般式 (I I I - S p) の好ましい化合物は、その塩、より好ましくはカウンターイオンが水素化有機塩基である塩、最も好ましくはカウンターイオンがTEAH+などの水素化(トリ)アルキルアミンであるものである。

30

【0063】

ステップv)ホスホロチオエート形成

ホスホロチオエートは、有用なcGMPアナログである。それゆえ、好ましい実施形態では、本発明に係る方法は以下のステップv)を含む：

v) cGMPアナログと硫化剤とを接触させて、一般式 (I I I) (式中、o³は-SH又は-S-C₁₋₁₂炭化水素、好ましくは-SHである) のチオール化cGMPアナログを得るステップ。好ましい実施形態では、cGMPアナログは一般式 (I I I - R p) のものである。他の好ましい実施形態では、cGMPアナログは一般式 (I I I - S p) のものである。ステップv)は、Mが一般式 (I I) のグアノシン5'-リンオキソ酸アナログでOであるとき、有利である。一般式 (I I) のかかる前駆体でMがSであるとき、好ましくはステップv)は本方法に含まれない。

40

【0064】

硫化剤は、当技術分野で公知である。硫化剤の好ましい例は、硫黄、フェニルアセチルジスルフィド、及びN-(アルキル-チオ)-スクシンイミド、たとえば、N-メチルチオ-スクシンイミド、N-エチルチオ-スクシンイミド、及びN-プロピルチオ-スクシンイミドである。硫黄は最も好ましい。好ましいC₁₋₁₂炭化水素は、C₁₋₈炭化水素、より好ましくはC₁₋₄炭化水素である。好ましい-S-C₁₋₁₂炭化水素の例は、-SCH₃、-S-CH₂CH₃、-S-CH(CH₃)₂、-SC(CH₃)₃、及

50

び - S - フェニルであり、 - S - C H₃ は最も好ましい。好適な硫黄導入は、求電子性硫黄を使用すること、好ましくは以上に記載の硫化剤の使用、それに続く酸化（すなわち、酸化状態の増加）、好ましくは以下に記載の酸化剤を使用すること、を含む。求核性硫黄の使用は有利でない。

【 0 0 6 5 】

好ましくは、接触させることは、塩基、より好ましくは（トリ）アルキルアミン、たとえばトリエチルアミンの存在下で実施される。反応は、好ましくは、少なくとも 30 分間、より好ましくは少なくとも 60 分間、最も好ましくは少なくとも 90 分間進行させる。反応の進行は、好ましくは H P L C などの公知の技術を用いてアセスされる。

【 0 0 6 6 】

代替的に、o₃ が H である c G M P アナログから開始してこのステップが実施されるとき、P (I I I) を P (V) に変換することが有用でありうる。それゆえ、好ましい実施形態では、本発明に係る方法は以下のステップ v - O) を含む。

v - O) c G M P アナログと酸化剤とを接触させて o₃ が - O H である一般式 (I I I) の c G M P アナログを得るステップ。かかるオキソ誘導体は、P K G のアクチベーターであり、o₃ が S を含むチオホスフェートなどのそのインヒビターではない。特徴及び条件は、好ましくは、ステップ v) に対して記載される通りである。酸化剤は、当技術分野で公知である。ステップ v - O) は、好ましくは、無水条件下で実施される。ステップ v - O) に好適な酸化剤の例は、ペルオキシド、たとえば、過酸化水素、ビス（トリメチルシリル）ペルオキシド、t - ブチルヒドロペルオキシド、クメンヒドロペルオキシド、ヨウ素、及びアルキルアミノ - オキシド、たとえば N - メチルモルホリン N - オキシドである。代替的に、作用剤は、P d / C 粉末などの触媒でありうる。ホスフェートへのホスフィット酸化の例は、たとえば、ペルオキシドを用いた Hayakawa et al. (Tet. Lett. 1986, DOI: 10.1016/S0040-4039(00)84946-1) から、及び P d / C を用いた Nagaosa and Aoyama (Carbon, 2001, DOI: 10.1016/S0008-6223(01)00206-8) から、公知である。

【 0 0 6 7 】

好ましくは、一般式 (I I I) 及び / 又は一般式 (I I I - R p) 若しくは (I I I - S p) の化合物がステップ v) 又は v - O) の後に得られるとき、化合物は、少なくとも 60、65、70、75、80、85、90、95、96、97、98、99、又はそれ以上のパーセントの純度を有する。より好ましくは純度は、少なくとも 70%、さらにより好ましくは少なくとも 75%、そのほかより好ましくは少なくとも 80%、そのほかさらにより好ましくは少なくとも 85%、そのほかより好ましくは少なくとも 90% である。純度は、公知の技術を用いてアッセイ可能であり、好ましくは H P L C を用いてアッセイされる。

【 0 0 6 8 】

ステップ v i) c G M P アナログの脱保護

興味深い薬理的性質を有する生成物を得るために、本発明の方法により生成された c G M P アナログは、好ましくは脱保護される。このことは、本発明との関連では、生成された一般式 (I I I) の c G M P アナログが、好ましくは、H である X² を有することを意味する。したがって、好ましい実施形態では、X² が p' である本発明に係る方法が提供され、本方法は、以下のステップをさらに含む。

v i) X² により保護されたヒドロキシル部分を脱保護して脱保護 c G M P アナログを得るステップ。脱保護 c G M P アナログは、一般式 (I I I) (式中、X² は H である) の c G M P アナログである。脱保護の手段は、当技術分野で周知であり、p' の性質に依存する。一般に、脱保護は、酸性条件で、たとえば p H < 1 で、任意に昇温で実施可能である。脱保護はまた、好ましくはフルオリドの存在下で、たとえば、H F、(トリ)アルキルアミン・H F、又は T B A F を用いて、実施される。(トリ)アルキルシリル保護基の脱保護では、フルオリドの存在下での脱保護、より好ましくは (トリ)アルキルアミン

10

20

30

40

50

・HF、たとえばトリエチルアミンHFを用いた、好ましくは10～50vol.-%、より好ましくは20～40vol.-%、たとえば約33vol.-%の溶液でのものが好ましい。脱保護は、好ましくは非プロトン性溶媒、より好ましくは環状エーテルである極性非プロトン性溶媒、たとえばテトラヒドロフラン又は1,4-ジオキサン中で実施される。反応は、好ましくは約1日間、より好ましくは約2日間、さらにより好ましくは約3日間進行させる。反応進行をモニターするために、HPLCなどの標準的分析技術を使用可能である。沈殿した脱保護生成物は、好ましくは、濾過により単離され、その後、好ましくは洗浄され、より好ましくは脱保護に使用された溶媒が使用される。その後、生成物は、好ましくは、真空下などで乾燥される。この方法で得られた生成物は、脱保護cGMPアナログのフルオリド複合体である。好ましい実施形態では、生成されたcGMPアナログは、フルオリドとの複合体の状態である。このcGMPアナログフルオリド複合体は、好ましくは、cGMPアナログのアッセイで、少なくとも60、65、70、75、又は80パーセントの純度を有する。より好ましくは純度は、少なくとも70%、さらにより好ましくは少なくとも75%、そのほかより好ましくは少なくとも80%である。純度は、公知の技術を用いてアッセイ可能であり、好ましくはHPLCを用いてアッセイされる。この化合物は、好ましくは塩、より好ましくは(トリ)アルキルアミン塩、最も好ましくはTEAH+塩である。

10

【0069】

ステップvii)脱保護cGMPアナログのトリチュレーション

好ましい実施形態では、本発明に係る方法は以下のステップviii)を含む。

20

vii)脱保護cGMPアナログをトリチュレートするステップ。

【0070】

脱保護cGMPアナログは、以上に記載される通りである。このトリチュレーションは、好ましくは、cGMPアナログフルオリド複合体からフルオリドを除去する。しかしながら、本発明者らはまた、驚くべきことに、トリチュレーションが、単離された一般式(III-Rp)の化合物の改善されたジアステレオマー過剰率をもたらすことを見いだした。それゆえ、本発明は、ステップvi)を含む、より好ましくはステップvi)及びvii)を含む、cGMPアナログの生成方法を提供する。ここで、特徴及び定義は、本明細書の他の箇所に定義される通りであり、好ましくは本方法はまた、以下に記載のステップviii)も含む。

30

【0071】

好ましくは、トリチュレーションでは、脱保護cGMPアナログは、極性溶媒、好ましくはアセトニトリルなどの非プロトン性極性溶媒に再懸濁させることが可能である。次いで、好ましくは、濾過及び洗浄し、より好ましくは、再懸濁させた溶媒を用いて洗浄する。得られるcGMPアナログは、好ましくは少なくとも60、65、70、75、80、85、90、95、96、97、98、99、又はそれ以上のパーセントの純度を有する。より好ましくは純度は、少なくとも75%、さらにより好ましくは少なくとも80%、そのほかより好ましくは少なくとも85%、そのほかさらにより好ましくは少なくとも90%、そのほかより好ましくは少なくとも約95%である。この脱保護cGMPアナログは、好ましくは実質的にフルオリドフリー、より好ましくは完全にフルオリドフリーである。フルオリドの不在は、¹⁹F NMRを用いて確認可能である。純度は、公知の技術を用いてアッセイ可能であり、好ましくはHPLCを用いてアッセイされる。この化合物は、好ましくは塩、より好ましくは(トリ)アルキルアミン塩、最も好ましくはTEAH+塩である。

40

【0072】

ステップviii)薬学的に許容可能な塩の形成

医薬用途では、cGMPアナログは、遊離塩基又は薬学的に許容可能な塩のどちらか、より好ましくは薬学的に許容可能な塩であることが好ましい。それゆえ、好ましい本発明に係る方法は以下のステップviii)を含む。

viii)脱保護cGMPアナログを薬学的に許容可能な塩、好ましくはナトリウム塩

50

に任意に変換するステップ。特徴及び定義は、以上に提供される通りである。ステップ v i i i) で変換される c G M P アナログは、好ましくはステップ v i) 又はステップ v i i) の、最も好ましくはステップ v i) それに続くのステップ v i i) の生成物である。この化合物は、最も好ましくは塩、より好ましくは (トリ) アルキルアミン塩、最も好ましくは T E A H + 塩である。

【 0 0 7 3 】

好ましくは、c G M P アナログは、プロトン性溶媒、より好ましくはメタノールなどの低級アルコールと混合される。この結果として、好ましくはサスペンションが得られる。これに続いて、好ましくは、カウンターイオンが薬学的に許容可能な c G M P 塩に対する意図されたカウンターイオンであるアルコキシド塩、好ましくは、溶媒と、アルカリ金属、たとえばカリウム又はナトリウム、より好ましくはナトリウムと、のアルコキシド塩の添加が行われる。好ましいアルコキシド塩は、ナトリウムメトキシドである。得られた溶液は、c G M P アナログの薬学的に許容可能な塩、好ましくはナトリウム塩を得るために、好ましくは真空濃縮される。

【 0 0 7 4 】

この濃縮の後、得られた固形分は、好ましくは低級アルコールと共に、より好ましくはエタノールと共に攪拌され、その後、固形分は濾過により分離される。本発明者らは、驚くべきことに、濾過後、母液が濾別された固形分よりも低い分率の S p ジアステレオマーを含有することを見いだした。それゆえ、本発明は、ステップ v i i i) を含む、c G M P アナログの生成方法を提供する。ここで、特徴及び定義は、本明細書の他の箇所に定義される通りであり、好ましくは本方法はまた、以上に記載のステップ v i i) も含む。

【 0 0 7 5 】

好ましい実施形態では、固形分は、少なくとも 1、より好ましくは少なくとも 2 時間にわたり、わずかに湿潤した低級アルコールと共に、より好ましくはわずかに湿潤したエタノールと共に、最も好ましくは 9 6 % エタノール (残りの 4 % は、好ましくは実質的に水であり、両方とも v o l . - % である) と共に攪拌される。この後、濾液は、好ましくは真空濃縮される。得られた固形分の純度は、好ましくは、無水低級アルコール中、好ましくは無水エタノール中へのさらなる懸濁によりさらに増加され、その後、サスペンションは濾過され、固形分は、好ましくは追加の無水アルコール、好ましくは再懸濁に使用したものと同一のアルコールで洗浄される。その後、得られた固形分は、好ましくは、真空乾燥などで乾燥される。

【 0 0 7 6 】

好ましくは、c G M P アナログの薬学的に許容可能な塩は、多くとも 1 0 %、より好ましくは多くとも 5 %、さらにより好ましくは多くとも 4、3、又は 2 %、さらにより好ましくは多くとも 1 %、たとえば多くとも 0 . 5 % の望まれないジアステレオマーを含む。好ましくは、c G M P アナログの薬学的に許容可能な塩は、少なくとも 8 0、8 5、9 0、9 1、9 2、9 3、9 4、9 5、9 6、9 7、9 8、9 9、又はそれ以上のパーセントの純度を有する。より好ましくは純度は、少なくとも 9 0 %、さらにより好ましくは少なくとも 9 4 %、そのほかより好ましくは少なくとも 9 5 %、そのほかさらにより好ましくは少なくとも 9 6 %、そのほかより好ましくは少なくとも約 9 7 % である。純度は、公知の技術を用いて、好ましくは N M R を用いてアッセイ可能である。

【 0 0 7 7 】

きわめて好ましい実施形態では、 X^2 が p ' である本発明に係る方法が提供され、本方法は、

v i) X^2 により保護されたヒドロキシル部分を脱保護して脱保護 c G M P アナログを得るステップと、

v i i) 脱保護 c G M P アナログを任意にトリチュレートするステップと、

v i i i) 脱保護 c G M P アナログを薬学的に許容可能な塩、好ましくはナトリウム塩に任意に変換するステップと、

をさらにも含む。

10

20

30

40

50

【0078】

本方法により生成される生成物及び中間体

本発明に係る方法はまた、c G M Pアナログに至る有利な経路を提供する以外に、いくつかの鍵を握る中間体の効率的形成を可能にする。他の一態様では、本発明は、こうした化合物のいくつか、好ましくは一般式(I I)の化合物又はその塩を提供する。式中、h、X¹、X²、R¹、及びR²は、以上に定義される通りであり、o¹及びo³は、各々独立して、-OH又は一般式(P)の化合物に対して定義される通りであり、好ましくはo³はHであり、又はo¹及びo³は、一緒になって、好ましくはC₂₋₁₂炭化水素であるキラル補助剤を形成し、Mは、S又はOであり、好ましくは、化合物は塩である。生成物は、医薬剤、好ましくは色素性網膜炎の処置のための医薬剤の製造に使用可能である。

10

【0079】

さらなる特徴及び定義は、一般式(I I)の化合物に対する以上の第1の態様に記載される通りである。それゆえ、この態様内の好ましい実施形態では、o³はHであり、且つo¹は、-OH、-O-C₁₋₈炭化水素、-S-C₁₋₈炭化水素、-NH-C₁₋₈炭化水素、ボラノ、メチルボラノ、ジメチルボラノ、シアノボラノ、又は-N(C₁₋₈炭化水素)₂、より好ましくは-O-C₁₋₈炭化水素、-S-C₁₋₈炭化水素、-NH-C₁₋₈炭化水素、又は-N(C₁₋₈炭化水素)₂である。他の好ましい実施形態では、o¹及びo³は両方とも、-OH、-O-C₁₋₈炭化水素、-S-C₁₋₈炭化水素、-NH-C₁₋₈炭化水素、ボラノ、メチルボラノ、ジメチルボラノ、シアノボラノ、又は-N(C₁₋₈炭化水素)₂、より好ましくは-O-C₁₋₈炭化水素、-S-C₁₋₈炭化水素、-NH-C₁₋₈炭化水素、又は-N(C₁₋₈炭化水素)₂である。好ましい実施形態では、o¹及びo³は、一緒になって、以上に定義されるキラル補助剤を形成する。最も好ましくは、o¹は-OHであり、且つo³はHである。

20

【0080】

好ましくは、この態様内の化合物は結晶性である。中間体はまた、水和物又は溶媒和物でもありうる。好ましい実施形態では、結晶は、溶媒和物、より好ましくはイソプロピルアセテート溶媒和物である。他の実施形態では、結晶は水和物である。きわめて好ましい実施形態では、結晶は、溶媒和物でも水和物でもない。好ましい実施形態では、結晶はフルオリドを含む。好ましい実施形態では、結晶は、実質的に純粋な中間体を含み、より好ましくは少なくとも80、85、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、又は100%、さらにより好ましくは少なくとも95、96、97、98、99、又は100%、最も好ましくは少なくとも97%、又は任意にそれ以上の純度を有する。

30

【0081】

好ましい実施形態では、本発明は、一般式(I I)の化合物又はその塩(式中、h、X¹、X²、R¹、及びR²は、以上に定義された通りであり、o¹は、-OH又は一般式(P)の化合物に対して定義される通りであり、o³は、Hであり、Mは、S又はOであり、好ましくは化合物は、塩、より好ましくはT E A H + 塩である)を提供する。さらなる特徴及び定義は、一般式(I I)の化合物に対する以上の第1の態様に記載される通りである。

40

【0082】

好ましい実施形態では、本発明は、一般式(I I)の化合物又はその塩(式中、h、X¹、X²、R¹、及びR²は、以上に定義された通りであり、又はo¹及びo³は、一緒になって、好ましくはC₂₋₁₂炭化水素であるキラル補助剤を形成し、Mは、S又はOであり、好ましくは、化合物は塩である)を提供する。さらなる特徴及び定義は、一般式(I I)の化合物に対する以上の第1の態様に記載される通りである。

【0083】

好ましい実施形態では、本発明は、一般式(I I)の化合物又はその塩(式中、hはB_rであり、X¹はHであり且つX²はp'であり、p'は、好ましくは(トリ)アルキルシ

50

リル、より好ましくはトリイソプロピルシリル (TIPS) であり、 R^1 及び R^2 は、一緒になって、好ましくは ar が R^2 に最も近接する $-CH=C(ar)-$ を形成し、ar は、フェニル又はナフチル、好ましくはフェニルであり、 o^1 は OH であり、 o^3 は H であり、且つ M は S 又は O、好ましくは O である) を提供する。

【0084】

本方法の望ましい生成物は、一般式 (III) のもの、より好ましくは一般式 (III - Rp) のもの (式中、 o^3 は $-SH$ であり (又は任意に化合物がナトリウム塩であるときは $-S$ であり)、 X^2 は H であり、h は $-Br$ であり、且つ R^1 及び R^2 は、一緒になって、好ましくは ar が R^2 に最も近接する、且つ ar が 4-メチルフェニルである、 $-CH=C(ar)-$ を形成する) である。

10

【0085】

一般的定義

本文書及び特許請求の範囲では、「to comprise (～を含む)」は、その非限定的な意味で用いられ、その単語に続くアイテムを含むが具体的に挙げられていないアイテムを除外するものではないことを意味する。そのほか、不定冠詞「a」又は「an」による「an element (要素)」への参照は、ただ1つの要素のみが存在することが文脈上明らかに必要とされない限り、2つ以上の要素が存在する可能性を排除しない。そのため、不定冠詞「a」又は「an」は、通常、「at least one (少なくとも1つ)」を意味する。

【0086】

数値との関連で用いられるときの「about (約)」又は「approximately (おおよそ)」という語 (たとえば、about 10 (約10)) は、好ましくは、所与の値がそれよりも1%大きい又は小さい値でありうることを意味する。

20

【0087】

オキシ酸はまた、オキシ酸としても知られ、水素と酸素と少なくとも1原子のさらなる元素とを含有するとともに、酸素に結合された少なくとも1個の水素原子が、 $H+$ カチオンと酸のアニオンとを生成するように解離可能である、化合物である。リンオキシ酸は、さらなる元素がリンであるオキシ酸である。

【0088】

本発明で提供される分子は、任意に置換可能である。好適な任意の置換は、ハロゲンによる $-H$ の置換えである。好ましいハロゲンは、F、Cl、Br、及び I である。さらなる好適な任意の置換は、 $-NH_2$ 、 $-OH$ 、 $=O$ 、アルキル、アルコキシ、ハロアルキル、ハロアルコキシ、アルケン、ハロアルケン、アルキン、ハロアルキン、及びシクロアルキルによる1つ以上の $-H$ の置換である。アルキル基は、一般式 C_nH_{2n+1} を有し、代替的に線状又は分岐状でありうる。非置換アルキル基はまた、環状部分も含有しうるので、付随的一般式 C_nH_{2n-1} を有する。任意に、アルキル基は、本文書にさらに具体的に示された1つ以上の置換基により置換される。アルキル基の例としては、メチル、エチル、プロピル、2-プロピル、t-ブチル、1-ヘキシル、1-ドデシルなどが挙げられる。

30

【0089】

とくに明記されていない限り、 $-H$ は、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル基、 $C_2 \sim C_{12}$ アルケニル基、 $C_2 \sim C_{12}$ アルキニル基、 $C_3 \sim C_{12}$ シクロアルキル基、 $C_5 \sim C_{12}$ シクロアルケニル基、 $C_8 \sim C_{12}$ シクロアルキニル基、 $C_1 \sim C_{12}$ アルコキシ基、 $C_2 \sim C_{12}$ アルケニルオキシ基、 $C_2 \sim C_{12}$ アルキニルオキシ基、 $C_3 \sim C_{12}$ シクロアルキルオキシ基、ハロゲン、アミノ基、オキシ、及びシリル基からなる群から独立して選択される1つ以上の置換基で任意に置換されていてもよく、この場合、シリル基は、式 $(R^s)_3Si-$ により表すことが可能であり、 R^s は、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル基、 $C_2 \sim C_{12}$ アルケニル基、 $C_2 \sim C_{12}$ アルキニル基、 $C_3 \sim C_{12}$ シクロアルキル基、 $C_1 \sim C_{12}$ アルコキシ基、 $C_2 \sim C_{12}$ アルケニルオキシ基、 $C_2 \sim C_{12}$ アルキニルオキシ基、及び $C_3 \sim C_{12}$ シクロアルキルオキシ基からなる群から独立して選択され、アルキル基、

40

50

アルケニル基、アルキニル基、シクロアルキル基、アルコキシ基、アルケニルオキシ基、アルキニルオキシ基、及びシクロアルキルオキシ基は、任意に置換されていてもよく、アルキル基、アルコキシ基、シクロアルキル基、及びシクロアルコキシ基は、O、N、及びSからなる群から選択される1個以上のヘテロ原子が任意に介在していてもよい。

【0090】

構造式又は化学名はキラル中心を有すると当業者により理解されるが、とはいえキラリティーがまったく指示されていないとき、各キラル中心に対して、ラセミック混合物、純Rエナンチオマー、及び純Sエナンチオマーの3つのどれに対してもすべて、個別の参照が行われる。2つの部分が一緒になって結合を形成すると言われるとき、このことは、これらの部分の原子として不在を示唆し、原子価の遵守は置換え電子結合により満たされる。部分の表現中のダッシュは、主に読者に手引きを与える働きをし、非限定的例として、 $-NH-(CH_2)_n-OH$ 及び $-NH-(CH_2)_nOH$ は、同一部分を意味する。こうしたことはすべて、当技術分野で公知である。

10

【0091】

物質のパラメーターが本発明との関連で考察されるときは常に、とくに明記されていない限り、パラメーターは、生理学的条件下で決定、測定、又は発現されると仮定される。生理学的条件は、当業者に公知であり、一般に、水性溶媒系、大気圧、6~8のpH値、室温~約37の範囲内の温度(約20~約40)、及び緩衝塩又は他の成分の好適な濃度を含む。電荷は、多くの場合、平衡に関連付けられるものと理解される。電荷を運搬又は担持と言われる部分は、かかる電荷を担持も運搬もしないものよりも頻繁にかかる電荷を担持又は運搬する状態で見いだされるであろう部分である。このため、当業者であれば理解されるであろうが、荷電されることが本開示で示唆される原子は、具体的条件下で非荷電でありうるとともに、中性部分は、具体的条件下で荷電されうる。

20

【0092】

本発明との関連では、アセスされるパラメーターの減少又は増加は、そのパラメーターに対応する値の少なくとも5%の変化を意味する。より好ましくは、値の減少又は増加は、少なくとも10%、さらにより好ましくは少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも70%、少なくとも90%、又は100%の変化を意味する。この後者の場合、そのパラメーターに関連する検出可能値がもはや存在しない場合でありうる。

30

【0093】

本文書に記載の医薬剤としての物質の使用はまた、医薬剤の製造における前記物質の使用としても解釈可能である。同様に、物質が処置のために又は医薬剤として使用されるときは常に、それはまた、処置のための医薬剤の製造にも使用可能である。使用のための生成物は、処置方法での使用に好適である。

【0094】

濾過は、当技術分野で公知のいずれかの方法を用いて、たとえば、好ましくはブフナー漏斗又はアジテートヌッチェフィルターを用いて、実施可能である。

【0095】

本発明は、いくつかの模範的实施形態を参照して以上に記載されている。いくつかの部分又は要素の修正及び代替実現形態が可能であり、添付の特許請求の範囲に定義される保護範囲に含まれる。文献及び特許文書のすべての引用は、本願をもって参照により組み込まれる。

40

【図面の簡単な説明】

【0096】

【図1】Rp-8-Br-PET-cGMPSに至る合成経路。

【発明を実施するための形態】

【0097】

実施例

実施例1-Rp-8-Br-PET-cGMPSの合成

50

1.1 PET形成

152 g 8-プロモグアノシン(90%アッセイ、残部水)を5 vol DMSO(760 ml)中で攪拌し、1.5 equiv. フェナシルブロミドをサスペンションに添加した。その次に、2.5 equiv. のDBUを30 min 添加した。1時間後、3 equiv(65 ml)の酢酸を添加した。10 vol 水(1520 ml)を徐々に添加することにより生成物を沈殿させた。スラリーを濾過し、2000 ml DMSO:水1:2 続いて200 ml 水で洗浄した。ケーキを真空乾燥し、2500 ml MeCN中に再懸濁し、一晚攪拌した。濾過及びMeCN洗浄後、70 で真空乾燥し、130 g(74%)の中間体1を与えた。

【0098】

10

1.2 グアノシンアナログの保護

130 g Br-PET-グアノシン(中間体1)を5 vol DMF(650 ml)中に懸濁させた。5 equiv. イミダゾール(96 g)及び2.5 equiv. TIPS-Cl(151 ml)を添加した。48 h後、反応を分析した(HPLCは、1.08% 5'-モノTIPS、67.76% 5'-2'-ジTIPS、29.52% 5'-3'-ジTIPS、及び1.64% 5'-2'-3'-トリTIPSを示した)。反応を50 ml 水(10 equiv.)でクエンチし、1 h 攪拌した。15 vol トルエン(1900 ml)で希釈した後、反応物を3 x 5 vol 水(各650 ml)で洗浄した。有機相を蒸発させ、スティッキー残渣を20 体積 i-プロピルアセテート(2300 ml)中に溶解させ、シードし一晚放置して結晶化させた。濾過及びi-プロピルアセテートによる洗浄は、真空乾燥後、81 g(37%)の中間体2(HPLCにより98.5%純度)を与えた。

20

【0099】

1.3 選択的脱保護

150 g 5'-, 2'-ジTIPS-Br-PET-グアノシン(中間体2)を10 vol THF(1500 ml)中に溶解させた。次いで、2 vol 水(300 ml)及び0.45 vol TFA(67.5 ml)を添加した。一晚攪拌後(反応をチェックし、HPLCは、3.88%ダブル脱保護、94.75%の所望の2'-TIPS生成物、及び1.37%未変換生成物を示した)、0.4 vol 28%アンモニア(aq.)(60 ml)を添加し(pHは5になった)、混合物を濃縮した。15 vol CH₂Cl₂(2250 ml)及び2 vol 水(300 ml)を添加し、得られた希釈スラリーを濾過した(これにより過加水分解材料、すなわちBr-PET-グアノシンが除去される)。有機相を分離し、蒸発させた。残渣に3 vol アセトニトリル(450 ml)を添加し、スラリーを1時間攪拌し、その後、濾過及び2 vol アセトニトリル(300 ml)による洗浄を行った。真空乾燥により96 g(78%)の中間体3を与えた。これはHPLCにより純度100%であるとアッセイされた。

30

【0100】

1.4 5'-モノエステルの形成

111 gの2'-TIPS-Br-PET-グアノシン(中間体3)を混合物の19 vol CH₂Cl₂(1945 ml)及び1 vol ピリジン(110 ml)中に溶解させた。その次に、攪拌しながら3 equiv.(102 ml)のジフェニルホスフィットを添加した。2時間後、1 vol の水(110 ml)及び1 vol のトリエチルアミン(110 ml)を添加し、反応を30 min 放置し、次いで、2 x 10 体積(2 x 1100 ml)の水で洗浄した。有機相を蒸発させ、残渣を500 ml i-プロパノール続いて500 ml エチルアセテートで共蒸発させた。次いで、残油を1500 ml エチルアセテート中に溶解させ、シードし一晚放置して結晶化させた。濾過及びエチルアセテートによる洗浄は、真空乾燥後、106 g(76%)の中間体4を与えた。生成物は、逆相液体クロマトグラフィーシステムで良好な挙動を示さず、広幅の遅いピークを与えるが(H₂O:MeCN、0.1%ギ酸)、97.56%でアッセイされる。

40

【0101】

1.5 環化によるcGMPアナログの形成

50

50.5 gの5'-ホスホネート-2'-TIPS-BrPETグアノシンを1000 ml CH₂Cl₂ (20 vol.)中に溶解させ、続いて37 ml 2,6-ルチジン (5 equiv.)を添加した。その次に、11.8 mlピバロイルクロリドを添加した。反応を放置し、2時間進行させた。

【0102】

1.6 ホスホオチオエートの形成

実施例1.5の粗反応溶液に、5.9 gの硫黄 (3 equiv.) 続いて26 mlのトリエチルアミンを添加した。1.5 h後 (HPLCは、74.05% Rpジアステレオマー及び9.72% Spジアステレオマーを示し、残部は不純物であった)、溶液を2 x 200 ml水で洗浄し、有機相を200 ml MeCNで希釈し、蒸発させた。残渣 (100 g)を400 ml MeCN中に10 minスラリー化し、濾過した。濾液を蒸発させ、100 ml MeCN中に再溶解させた。1200 ml TBMEを徐々に添加し、一晚攪拌し、いくらかの油状スティッキー沈殿を与えた。デカンテーション及び蒸発及び溶解の後、残留油を高真空により徹底的に乾燥させ、スティッキーフォームを形成した。フォームを攪拌し、700 ml TBMEでトリチュレートし、濾過及び乾燥後、38 g黄色粉末を生成した。アッセイは、所望のジアステレオマーのTEAH塩として計算して68%であり、50%の補正収率を与えた。HPLC純度は80% (260 nm)であり、ジアステレオマー比は8:1であった。

10

【0103】

1.7 cGMPアナログの脱保護

35 gの中間体5 (68%アッセイのRpジアステレオマー)を4 vol THF (140 ml)に溶解させ、2 vol TEA・3 HF (70 ml)を添加した。反応物を3日間攪拌し (HPLCは70.68%脱保護を示した)、濾過し、3 vol THF (105 ml)で洗浄し、そして真空乾燥させた。83%アッセイ (収率76%)を有する17.5 gの生成物が得られた。材料は、ある種のフルオリド含有複合体である (19F NMRに見られるように及び低いアッセイから明らかのように)。材料を300 ml MeCN中にスラリー化し、濾過し、150 ml MeCNで洗浄した (このMeCN再スラリーは、NMRに見られるフルオリドを除去し、全体の純度を改善し、HPLCは、97.13%の所望のRp生成物及びわずか0.78%の望まれないSp生成物を示したが、一方、母液は、76.83%のRp生成物及び14.53%の望まれないSp生成物を含んでいた)。これは、95%アッセイ、収率67%を有する13.5 gの材料を与えた。材料は、19F NMRに基づいてフルオリドを含有していなかった。

20

30

【0104】

1.8 ナトリウム塩の形成

13 g中間体6 (8-Br-PET-cGMP TEAH塩、95% NMRアッセイ)を500 ml MeOH中に懸濁させた。1 equiv (1.095 g)ナトリウムメトキシドを添加してサスペンションを溶液とし、これをロータリーエバポレーターで濃縮した。溶液は、約150 mlが残留したとき、ゲルに変換された。蒸発を継続したところ、ゲルは、粉末に変換された。固形分を950 ml 96% EtOHと共に1時間攪拌し、そして濾過した。これは、乾燥後、9 gの材料を与えた。濾液は、蒸発及び乾燥後、2.9 gの材料を与えた。HPLCは、母液からの材料が9 g部分よりも少ない望まれないジアステレオマーを含有することを示したので (0.25%対0.85)、材料をプールし、950 ml 96%エタノール中に2時間再スラリー化し、その後、濾過した。母液 (生成物のほとんどを含有する)を蒸発させ、170 ml無水エタノール中に再スラリー化した。濾過及び100 ml無水エタノールによる洗浄は、ゲル様ケーキを与え、これを真空乾燥させ、0.5%望まれないジアステレオマー (97% NMRアッセイ、収率72%)を有する8.1 gの8-Br-PET-cGMPナトリウム塩を与えた。

40

【0105】

実施例2 - ジアステレオマー的純粋Rp-グアノシン-3',5'-環状チオリン酸アナログのクロマトグラフィーフリー合成、

50

2.1 概要

環状グアノシン-チオリン酸アナログ 1 a は、現在、遺伝性網膜神経変性の処置のための薬剤として潜在能力を示している。その進行中の前臨床開発を支援するために、我々は、その調製のためのジアステレオ選択的クロマトグラフィ-フリー合成を開発した。合成シーケンスの注目すべき特徴は、3', 5'-ヒドロキシルに優先して2', 5'-の80%選択率を有するシリル化ステップ及びS_pジアステレオマーに対して90%選択率を有する5'-H-ホスホン酸モノエステルの閉環を含む。化合物は、125g収量及び>99.9% HPLC純度でEt₃NH⁺塩として得られた最終生成物 1 a を含めて、結晶化を介して単離された。

【0106】

10

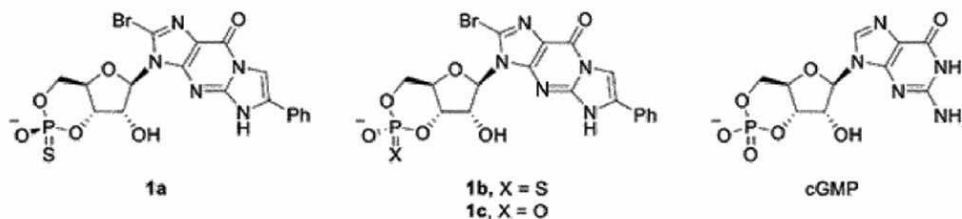
2.2 緒言

遺伝性網膜神経変性 (IRD) のいくつかの動物モデルでのフォトレセプター死は、グアノシン依存性プロテインキナーゼ (PKG) の過剰活性化により部分的に媒介される代替的非アポトティック経路により主に支配されることが、最近の研究により示唆されている。この過剰活性化は、光伝達カスケードの破壊が原因であるフォトレセプター中への環状グアノシン-チオリン酸 (cGMP) の非天然蓄積から生じる。これは、このPKG媒介経路をブロックすることによりIRDの治療剤として潜在的に作用可能なcGMPアナログの探究への関心を引き起こした。その結果は、*in vivo*で効力のあるニューロン保護作用を有する有望な環状グアノシン-チオリン酸 (cGMP_S) アナログ 1 a の発見であった。化合物は、ヌクレオ塩基上にフェニルエチニル (PET) 基及びチオリン酸上にR_p配置を有する8-プロモ-cGMP_S誘導体である。環状ヌクレオチドチオリン酸 (cNMP_S) は、ホスホジエステラーゼによる切断に耐えることが知られており、したがって、細胞中でそのリン酸カウンターパートよりも長く生存し、このことが治療剤としての1 aの潜在能力に加わる。PKGに対するそのアンタゴニスティック活性とは対照的に、そのS_p-ジアステレオマー 1 b 及びそのリン酸等価物 1 c は両方との、天然cGMPと同様にPKGアゴニストであることが見いだされた (スキーム1)。

20

【化17】

スキーム1. 標的cGMP_S 1a、cGMP、及びいくつかの鍵を握る潜在的な不純物。



30

【0107】

前臨床開発をさらに可能にするために、この活性医薬成分 (API) のより大量供給が望まれ、高純度 1 a の調製のためのスケラブルロバスト合成プロセスを目指す我々の研究がここに提示される。公開された環状チオリン酸合成は、スホリルクロリドとアニリンとの反応でホスホアニリデートジアステレオマーの混合物を得て、次いで、これを分離することが関与するS_te_cらによるものを含む (Stereospecific Synthesis of Adenosine 3', 5'-(S_p)- and -(R_p)-Cyclic Phosphorothioates (cAMP_S). Journal of the Chemical Society, Chemical Communications 1979, 940-941)。完全立体配置保持を有する環状チオリン酸を生成するために、所望の異性体は、強塩基及び二硫化炭素で処理される (ステック反応)。Ecksteinらは、5'-ビスニトロフェニルホスホクロリドチオエートを調製するために、非保護ヌクレオシド上でビスニトロフェニルホスホクロリドチオエートを使用した。これらは、カリウムtert-ブトキシドによる処理により直接環化された。Ge

40

50

nieserのグループは、米国特許第5625056号明細書に記載のように、環化ステップ用の前駆体として5'-チオホスホロジクロリドを得るためにチオホスホリルクロリドを利用することにより類似のアプローチを使用し、事実上1aを合成する第1のグループであった。以上のすべての事例では、cNMPSS(又はその前駆体)は、後でクロマトグラフィーにより分離されるジアステレオマー混合物として得られた。より最近の合成では、Andrei et al. (Organic & Biomolecular Chemistry 2007, 5, 2070-2080)は、これらの方法から着想を得て、立体選択的塩素化-アミド化-ステックシーケンスを開発し、今度は出発材料として環状アデノシン-リン酸を用いた。しかしながら、この戦術では、Rpジアステレオマーのみが利用可能であり、さらなるクロマトグラフィー精製が依然として必要とされた。cGMPSSに至るまったく異なるアプローチは、Stawinskiのグループ(Org. Lett. 2013, 15, 4082-4085)により開発されたH-ホスホン酸経路である。それは、対応する3', 5'-環状H-ホスホン酸ジエステルを形成するためにヌクレオシド-3'-H-ホスホン酸モノエステルの内部環化を必要とし、続いて、硫化により環状チオリン酸を与える。そうしたレポートでは、3', 5'-環状ヌクレオシド-H-ホスホン酸は、ジアステレオ選択的に形成され、且つこの選択率は、優先性のあるジアステレオマーに向けることが可能であることが示された。

10

【0108】

2.3 結果及び考察

経路の開発。我々は、後者のアプローチが最も有望であり、そのため、我々の開発の焦点になることを見いだした。我々は、先行技術分野で1, N2-フェニルエチニル(PET)基が環状チオリン酸の形成後に導入されることに注目した。また、それは2'-ヒドロキシル上でなんら保護を用いることなく実施された。対応するH-ホスホネートアプローチは、ヌクレオ塩基及びリボース上の副反応に対してより感受性がある。したがって、我々の合成設計は、最初に、保護基に類似して機能するはずであることからPET基を導入することを目指し、次いで、2', 3'-環状副生成物の形成を打ち消すために2'に保護基を導入する。また、我々は、結晶化を優先させてクロマトグラフィー精製を回避すること、さらには望まれないPKGアゴニスト1bや1cなどの鍵を握る不純物を制御するプロセスの能力、に重要を置いた。

20

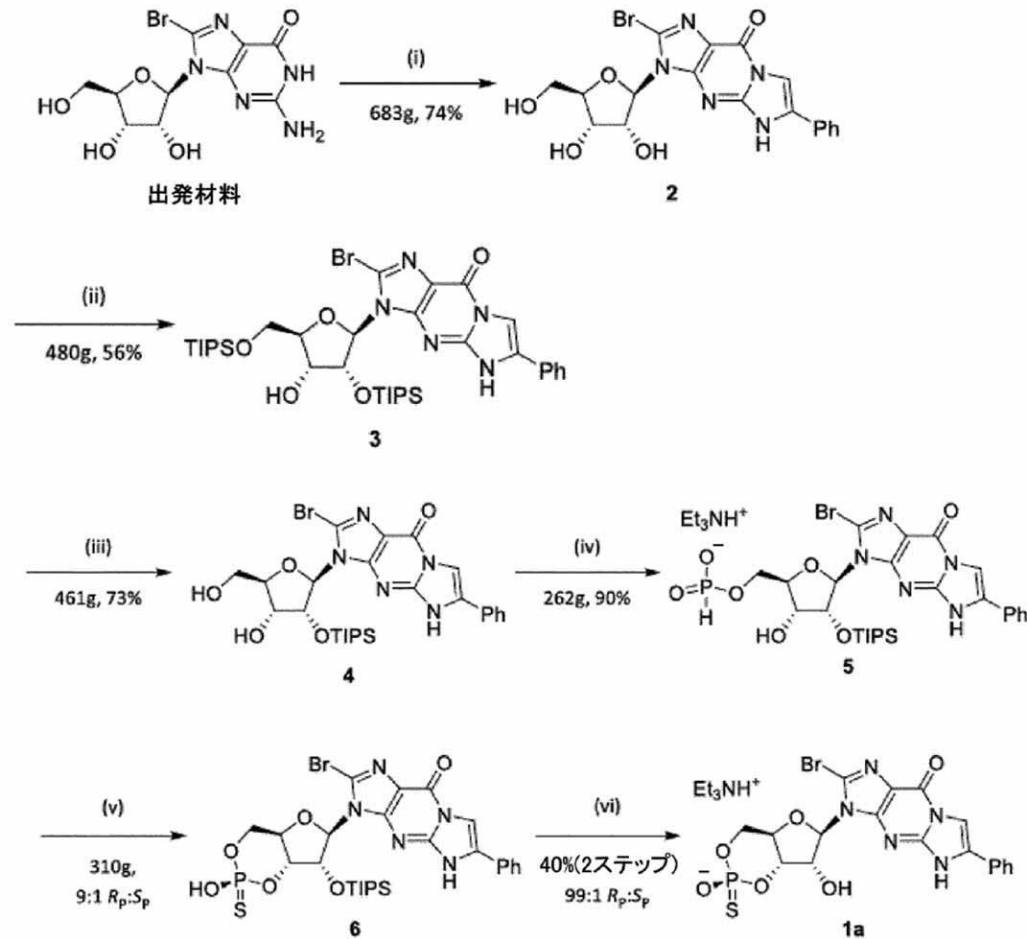
30

40

50

【化 1 8】

スキーム2. H-ホスホネート法による1aへの合成経路。



(i) 2-ブロモアセトフェン、DBU、DMSO、(ii) トリイソプロピルシリルクロリド、イミダゾール、DMF、(iii) TFA、
H₂O、THF、(iv) DPP、ピリジン/DCM → H₂O、Et₃N、(v) PvCl、2,6-ルチジン、DCM → S(s)、Et₃N、(vi)
Et₃N·3HF、THF。

【0109】

フェニルエチニル化。1, N2-フェニルエチニル(PET)修飾を有する8-プロモグアノシンの報告された合成は、1, 8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデク-7-エン(DBU)-DMSO組合せを使用し、これは、我々の開発の出発点の働きをした。10体積(ml/g)のDMSO中に8-プロモグアノシンを溶解し、5equiv.の2-プロモアセトフェン続いて7equiv.のDBUを添加し、メジャー生成物(約70% LC面積)として8-プロモPETグアノシン2の形成を伴って、30分以内に出发材料の消費を引き起こした。酢酸を用いた中和に続いて、水(15体積)の添加により生成物を沈殿させたが、わずかに着色した固形分であった。2-プロモアセトフェン及びDBUの量は両方とも、変換を損なうことなく2.5equiv.まで低減可能であることも判明した。全体として、反応は、化学量論量を変化させたとき、生成物形成の変動がほとんどなくロバストであるように思われた。その次に、体積効率及び仕込み順序を検討した。プロモケトンの前にDBUを添加することにより、8-プロモグアノシンは、わずか4体積のDMSOに溶解した。1体積のDMSO中の溶液としてプロモアセトフェンをこの混合物に添加することにより、ほぼ50%の収率で生成物を与えた。そのほか、2-プロモアセトフェン/DMSO溶液は、透明溶液の定常的黄変さらにはHPLCで副生成物の蓄積により示されるように、安定ではなかった。この分解は、収率の低減に関連するとは思われない。というのは、5体積のDMSO中のプロモグアノシン及びDB

10

20

30

40

50

Uの溶液に固形分としてプロモアセトフェノンを添加しても、まったく改善が見られ与えなかったからである。最終的には、8-プロモグアノシンを真空乾燥させることによりDMSO中へのその溶解性が増加することを見いだした。市販の8-プロモグアノシンは、約8%水(カールフィッシャー)を含有し、これは、80までの温度で純度に影響を及ぼすことなく真空乾燥により>0.5%に低減可能であることが分かった。乾燥させた材料は、15分以内に5体積のDMSO中で透明溶液を与えた。生成物の沈殿に関して、4体積を超える水(5体積のDMSOを使用したとき)でも、純度又は収率の改善はまったく見られなかった。迅速な水添加は、スティッキー塊形成の原因になるので回避されるべきである。興味深いことに、反応混合物が前もって酢酸で中和されなかったとき、たとえば水を徐々に添加したとしても、同じ影響が得られた。また、MeCNを用いた最終ケーキ洗淨は、色及びいくらかのマイナー不純物を除去することも判明した。そのため、5体積のDMSO中で反応を実施し、4体積の水を用いて生成物を沈殿させ、続いて、MeCNで洗淨したところ、収率71%で白色固体として中間体2が得られた。生成物は、結晶性及び>98%純物質(HPLC)であることが分かった。

10

20

30

40

50

【0110】

保護ストラテジー。

2'位に保護基を導入することは、5'位に導入することなしには達成できず、次いで、後者を除去する必要がある。そのほか、3'-ヒドロキシルに優先して2'-ヒドロキシルの選択率を達成することは、依然として2つの類似反応性に起因して難題である。通常、これは、我々が回避を目指すクロマトグラフィーを介する異性体の分離により対処される。2'位のさらなる保護の後に除去可能である5'及び3'位を同時にブロックするシリル化剤、たとえば、1,3-ジハロ-1,1,3,3-テトラアルキルジシロキサンの助けを借りてこの競合をバイパスすることが可能である。これは広く普及しているアプローチであるが、それは、一般に、2'-保護のための余計なテップが関与し、我々は、2'に対する選択率に関して伝統的シリル化を最適化するとともに、以下に記載のように選択的結晶化を開発することにより、より良好な成功を収めた。

【0111】

選択的保護。

我々は、1:2シリル化剤:塩基混合物、最も一般的な2.5equiv.のt-ブチルジメチルシリルクロリド(TBDMS)及び5equiv.イミダゾールである、最も一般的なシリル化方法の探究から始めた。この方法では、ジシリル化は1.5時間以内に達成されたが、ジシリル化異性体のいずれに対する選択性も実質的に存在しなかった。さらに、2',3',5'-トリシリル化副生成物は、生成物組成の44%を構成した。TBDMS-ClをTIPS-Clで置き換えたとき、第2のヒドロキシルでの置換は、2'優位に80:20の比をもたらし、3日後、1%未満の三置換が見られた。しかしながら、2'3'シリル移動が経時的に発生し、初期の80:20異性体比は、数日にわたり60:40で平衡に達した。残念ながら、第2のヒドロキシル位置の保護は、完全変換前に混合物がいくらかの異性化を受けるのに十分な程度に遅かった。130gの出発材料を用いた1つのトライアルでは、わずか1.5%の5'-O-TIPS-8-プロモグアノシンが2日後に残留し、ジシリル化生成物は、70:30異性体比を有していた。抽出による後処理及び蒸発に続いて、得られた油は、結晶化試験に付された。結晶化は、いくつかの溶媒から誘発可能であり、完全脱飽和には数日が必要とされることが見いだされた。MeOHは、3',5'異性体を選択的に結晶化し、一方、他の溶媒は、2',5'異性体に対して選択的であることが見いだされた。2',5'-異性体の結晶化では、異性体のみが過剰結晶化し、母液中には1:1に近い異性体混合物が残った。結果として、収率33%で>98%純結晶性材料が得られた。このことに勇気づけられて、我々は、濾液への生成物損失に関して改善を試みた。溶媒体積の変化及び貧溶媒の添加による結晶化収率の増加の試みはすべて、無益であった。というのは、収率の増加は、常に純度の犠牲を伴うからであった。その次に、2ステップ結晶化を試みて、MeOHからの結晶化により望まれない異性体を最初に除去し、蒸発後、イソプロピルアセテートから母液残渣を再結晶化した。

これは、40%のいくらか改善された収率で所望の異性体を与えた。依然として、この2ステップ結晶化は、時間がかかるので、スケール上採用しなかった。3', 5'-異性体が結晶化時に所望の2', 5'-異性体に異性化する動的条件を見いだす少数の試みは(DBU及びTEAの添加が試みられた)、失敗であった。異性化も結晶化もどちらも起こらなかった。結晶化試験からの結論は、3の単離収率を増加させるために、シリル化の位置選択性を改善しなければならないことであった。同様に2' 3'シリル移動速度を増加されることなく、シリル化速度を増加させることが難題であることが証明された。試みは、他の溶媒(ピリジン、NMPが試みられた)、各種塩基の使用、及び反応温度の増加を含んでいた。後者で広範な副生成物形成が観測され、完全変換で異性体比を改善したいいくつかの条件が見いだされたが(表1のエントリー3を参照されたい)、最も印象的な結果は、TIPS-Cl量を2倍にすることに由来した(表1のエントリー4)。このことから、有意な異性化を伴うことなく第2のシリル化ステップを一晩後に完了することが奨励された。最後に、この異性体混合物の結晶化は、収率58%で3を生成した。

10

【0112】

【表1】

表1. 消費されたモノシリル中間体の観点から見たジシリル化速度に及ぼす反応条件の影響及び得られた2':3'-二保護ヌクレオシド比。

エントリー	TIPS-Cl equiv.	塩基 equiv.	時間	モノシリル(%)	ジシリル比(2':3')
1	2.5	5	2 h	85	85:15
			一晩	20	75:25
			二晩	9	68:32
2 ^a	2.5	5	2 h	50	69:31
			一晩	11	61:39
3	2.5	10	2 h	85	83:17
			一晩	27	66:34
4	5	5	2 h	66	86:14
			一晩	5	86:14
5	2.5	2.5	2 h	89	84:16
			一晩	44	81:19
6	2.5	5 ^b	2 h	14	69:31
			一晩	9	69:31
7	2.5	5 ^c	2h	66	70:30
			一晩	34	69:31

20

30

40

とくに明記されていない限り、塩基としてイミダゾールを使用した。^a 90°Cで反応を行い、大量の副生成物の形成が観測された。^b 塩基としてDBUを使用した。^c 塩基としてEt₃Nを使用した。

【0113】

また、このステップを合成の最初として探究した。というのは最低収率を与えたからである。しかしながら、得られた粗製品の結晶化は不成功であり、単離にクロマトグラフィーが必要とされた。そのうえ、後続PETステップの強塩基性条件もまた、いくらかのシリル移動の原因になり、我々はこのシーケンスをさらに探究しなかった。

【0114】

50

選択的脱保護。我々は、最初にH₂O中のAcOH及びTHF中のTFA/H₂Oを調べた。出発材料は、最初の混合物に不溶であり、後者は、マイルドな条件で一晩で完全変換を伴って好結果を与えることが見いだされた。依然として、我々は、過加水分解生成物2に対する生成物4の比に及ぼす溶媒、酸強度及び濃度、並びに含水率の影響を探究した(表2参照)。加水分解の代わりにMeOHによるアルコリススを実施すると、変換が有意に緩徐化されたが、この混合物に水を添加すると、反応速度はいくらかを回復された。トルエン及びDCM(CH₂Cl₂)は、THFと比較したとき、わずかに高い反応速度及び低い副生成物形成を与えたが、二相系が形成され、トルエンは、THFやDCMのように良好に出発材料を溶解できなかった。DCMは、2を継続して沈殿させ、その除去を促進するので、有利である。最後に、ほとんどの溶媒中への生成物の溶解性が低いにもかかわらず、MeCNのみは、粗混合物からそれを結晶化させて、三晩後、収率80%及び純度>98%で2'-モノシリルオキシヌクレオシド4を与えることが可能であった。

10

【0115】

【表2】

表2. 2'-モノシリル化ヌクレオシド4及び過加水分解ヌクレオシド2への2',5'-ジシリル化ヌクレオシド3の変換に及ぼす反応条件の影響。

エントリー	条件		時間	化合物(%)		
	溶媒(10 vol)	TFA/H ₂ Oの体積		3	4	2
1	THF	0.5/2	1h	49	51	<1
			一晩	<1	91	8
2		0.5/1	1h	60	40	<1
			一晩	1	93	6
3	0.5/0	1h	97	3	<1	
		一晩	92	8	<1	
4	0.1/2	1h	81	19	<1	
		一晩	25	73	2	
5	DCM	0.5/2	1h	43	57	<1
			一晩	<1	98	2
6	トルエン	0.5/2	1h	25	73	2
			一晩	<1	98	2
7	MeOH	0.5/2	1h	89	11	<1
			一晩	32	63	4
8		0.5/1	1h	92	7	1
	一晩		37	59	4	
9	0.5/0	1h	98	2	<1	
		一晩	69	30	1	

20

30

40

【0116】

H-ホスホネートモノエステルの形成。ジフェニルホスフィット(DPP、ジフェニルH-ホスホネート)は、ヌクレオシドH-ホスホン酸モノエステルの形成用の通常の試薬である。それは、簡単にピリジン中でアルコール及びヌクレオシドによるエステル交換を

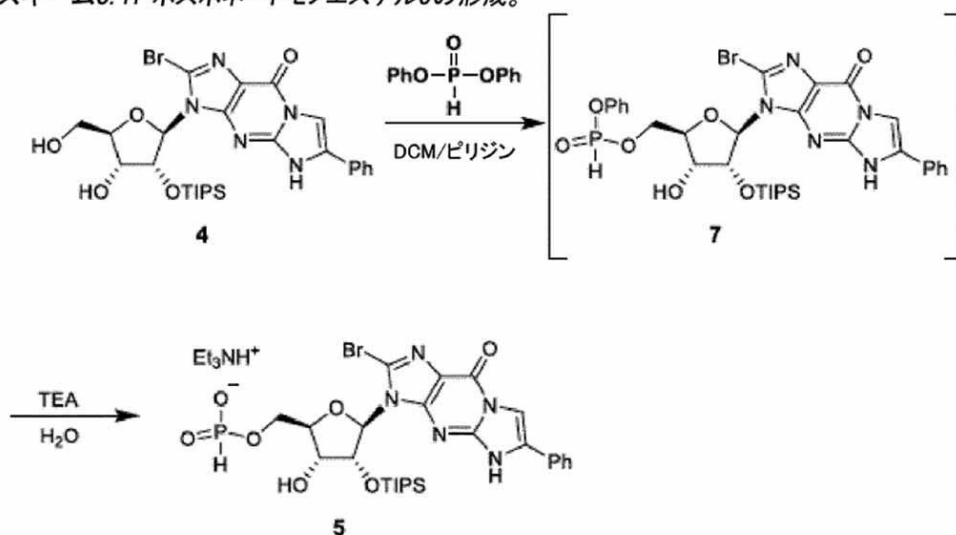
50

受けて、混合フェニル H - ホスホネートジエステル（たとえば、ジエステル 7、スキーム 3）を形成する。フェニル部分の加水分解後、ヌクレオシドモノエステルは良好な収率で得られる。DPP（4 が 2 つの遊離ヒドロキシルを有するので、ビスエステル形成のリスクを低減するために 1 equiv.）をピリジン中の 4 の溶液に添加したとき、所望の中間体 7 に加えて、3', 5' - 環状 H - ホスホネート、3' - 混合エステル、又はジヌクレオシドエステルの形成に対応する 0 ~ 15 ppm のいくつかのピークが、³¹P - NMR 共鳴に現れる。系があまりにも反応性であったので、DCM 中に 5 % ピリジンを含有するより低塩基性溶媒混合物を評価した。この系を用いて、混合エステル 7 のクリーン形成が ³¹P - NMR に見られた。緩徐な変換速度に起因して、我々は、DPP の量を 3 equiv. に増させ、副生成物の形成を伴うことなく 1 時間以内で完全変換を与えた。1 時間後、水及び Et₃N の添加により、混合エステル 7 を加水分解し、トリエチルアンモニウム 5' H - ホスホネートモノエステル 5 を与えた。抽出による後処理により、過剰の DPP からの残渣のほとんどを除去し、得られた粗製物を結晶化溶媒に関してスクリーニングした。EtOAc への溶媒交換によりモノエステル 5 を収率 75 % 及び純度 > 95 % で結晶化させた。

10

【化 19】

スキーム 3: H-ホスホネートモノエステル 5 の形成。



20

30

【0117】

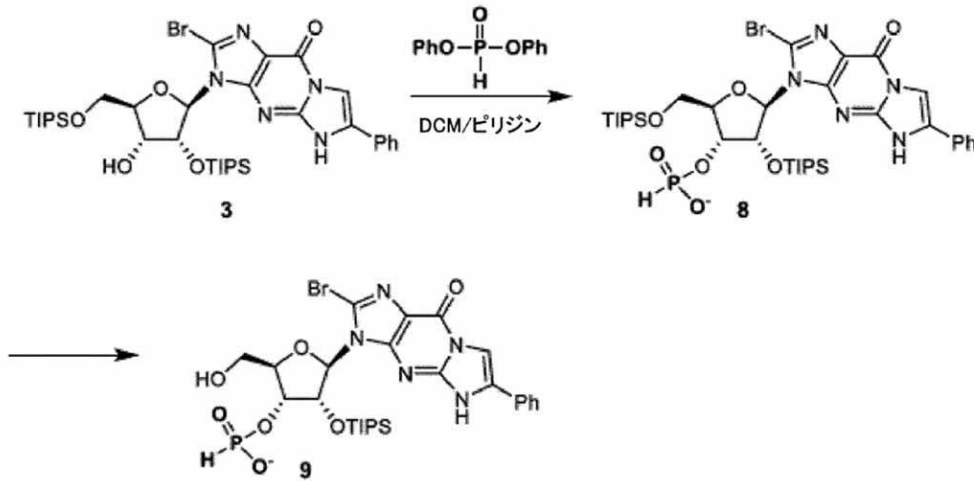
代替シーケンスもまた簡潔に探究した（スキーム 4）。ジシリル中間体 3 はまた、3' - OH でホスホニル化してモノエステル 8 を生成することも可能であった。5' - シリル基の酸性脱保護は、2' - 保護 - 3' - H - ホスホネート 9 を与えた。中間体 8 の初期結晶化の試みが望み通りにはうまくいかなかったので、我々は、このシーケンスをさらに探究しなかった。

40

50

【化20】

スキーム4: ジシリル化3'-H-ホスホネートモノエステル8を介する代替シーケンス。



10

【0118】

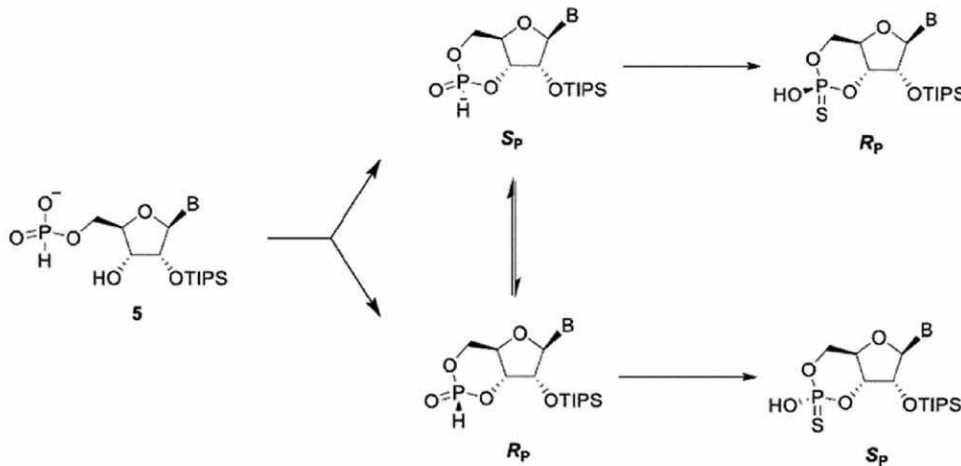
H-ホスホネート環化。我々は、初期に、カップリング剤としてピバロイルクロリド (Pv-Cl) を用いて、DCM/ピリジン 19 : 1 混合物の既知の条件を追跡した。(約 10 min 後に) 記録された最初の NMR スペクトル内に、 $S_P : R_P$ -環状 H-ホスホネートの形成に合致する 0.1 ppm ($1 \text{ JPH} = 734 \text{ Hz}$) 及び 5.8 ppm ($1 \text{ JPH} = 704 \text{ Hz}$) の 2 つのピーク間の 7 : 3 の比が観測された。20 min 後にこの混合物を元素硫黄で処理することにより、対応する 7 : 3 $R_P : S_P$ 環状ホスホチオエート混合物を生成した (立体配置保持、それぞれ、 56.4 及び 55.1 ppm 、 $3 \text{ JPH} = 18$ 及び 24 Hz)。

20

【化21】

スキーム5: エピマー化を受けるヌクレオシド環状H-ホスホネートの形成。

硫化は配置を保持しつつ行われ、所定の位置にジアステレオマー比をロックする。



30

40

【0119】

また、Stawinski のグループにより記載された環状 H-ホスホネートジアステレオマー間の異性化挙動も観測された。すなわち、閉環を一晩放置したところ、 $1 : 9 S_P : R_P$ 比 (それは望まれない $1 : 9 R_P : S_P$ 比で硫化生成物を生成するおそれがある) で環状 H-ホスホネートが生成され、初期に形成された速度論的生成物は所望の環状 S_P -H-ホスホネートであり、且つ平衡は、望まれないジアステレオマー優位であること

50

が示された。所望の速度論的生成物を保存するために、我々は、2, 6 - ルチジン及び D C M を探求した。というのは、両方ともピリジンとは対照的にエピマー化の速度を低減することが示されているからである。5 e q u i v . の 2, 6 - ルチジンの存在下で D C M 中で閉環を実施すると、所望のジアステレオマー優位の初期 19 : 1 比で環状 H - ホスホネートを与えた (約 10 m i n 後に)。反応は、この系ではより緩徐であり、完了に達するのに約 15 m i n が必要とされたが、これは、1 時間放置後、環状 H - ホスホネートで依然として見られた 15 : 1 S P : R P 比により立証される高度に抑制されたエピマー化により相殺された。1 時間後、反応物を硫化し、所望のジアステレオマー優位で約 10 : 1 比で生成物を与えた。通常、最終硫化混合物は、75 ~ 80 % の所望の生成物を含有し (31 P - N M R に基づく)、残部は、ホスフィット領域 (> 110 p p m) 及び生成物領域 (約 50 p p m) の望まれないジアステレオマー及び少量の不純物、さらにはわずかながらの量の出発材料である。他の通常使用されるカップリング剤の 1 つであるジフェニルクロロホスフェート (D P C P) もまた試したが、同一のジアステレオマー比を与え、利益を提供しなかった。大過剰のカップリング剤は、とくに D P C P の場合、いくつかの副生成物がより多く顕在化されるので、回避されるべきである。1.3 e q u i v . の P v - C l を用いた場合、完全変換にもさらには偶発水に対して耐性のある反応を与えるうえにも十分であることが見いだされた。

10

【0120】

S P : R P - H - ホスホネートを硫化するとき、我々は、50 % 過剰の硫黄及び E t 3 N で十分であることを見いだした。元素硫黄以外の他の硫化剤は評価しなかった。好適な硫化タイミングは、P v - C l の添加後の異なる時点で硫黄及び E t 3 N を含有するバイアルに反応アリコートを追加することにより決定した。硫黄を仕込んだ後、未反応中間体を 45 分放置したところ、もはや時間はジアステレオマー比の劣化に関連しなかった。しかしながら、硫黄 / E t 3 N の添加後、反応混合物は数晩にわたり安定であった。抽出による後処理及び残留硫黄を沈殿させるためのアセトニトリルへの溶媒交換の後、濾過及び蒸発により、粘性油として粗生成物を与えた。いくつかの溶媒のスクリーニングにもかかわらず、この粗製物からのトリエチルアンモニウム塩としての生成物の結晶化は、不成功であった。我々は、取扱いがより簡単である不純及びアモルファス固体として 1 M H B r (a q) の添加により生成物の沈殿を強制可能であった。

20

【0121】

2' - 保護 A P I の脱保護。溶媒としての M e C N、T H F、ジオキサン、及び E t O H 中の E t 3 N · 3 H F を用いた脱保護は、有益であることが証明された。2' - シリルは、観測可能な副反応をまったく伴うことなく除去され、我々は、喜ばしいことに、標的 c G M P S 1 a が 3 日間にわたり継続して沈殿し、母液は、望まれないジアステレオマー及び他の不純物で富化されることを見いだした。我々は、溶媒として T H F を探究することを選んだ。というのは、それが母液への最小損失を与えたからである。粗生成物は、L C によりほとんど純粋な淡黄色結晶性塩であった。しかしながら、その 1 H スペクトルは、真空乾燥にもかかわらず、2 当量のトリエチルアンモニウムの存在を明らかにした。19 F N M R は、おそらくトリエチルアンモニウムフルオリドであるフルオリド複合体の存在を示す - 162 p p m 付近に広幅のピークを示した。M e C N 中の再スラリーは、フルオリド、過剰 E t 3 N、さらにはすべての色を除去し、粗形態で生成物を生成した (約 1 % の望まれないジアステレオマー)。エタノールは、好適な再結晶化溶媒であることが見いだされ、生成物は、結晶性ヘミエタノール溶媒和物として回収された。この溶媒和物は、安定であり、真空乾燥にもかかわらずインタクト状態を維持し、加熱したとき、熱量測定分析は、吸熱もサンプル質量損失も示さなかった。粗生成物は、明らかな分解を伴うことなく 20 体積の沸騰 E t O H に可溶であるので、冷却再結晶化を実施可能である。このため、L C 純度 > 99.9 % の結晶性白色粉末として目標化合物が得られた。適正構造及びコンフォメーションの確認は、その分光学的データと以前に調製された材料のものとの比較に基づく。

30

40

【0122】

50

2.4 実験

8 - プロモ - フェニル - 1 , N 2 - エテノグアノシン (2) 。 8 - プロモグアノシン (6 8 3 g 、 1 . 8 6 m o l) を D M S O (3 . 4 1 L 、 5 v o l .) 及び D B U (7 0 6 g 、 2 . 5 e q . 、 4 . 6 4 m o l) 中に溶解させた。

2 - プロモアセトフェノン (4 4 3 g 、 1 . 5 e q . 、 2 . 2 3 m o l) をほぼ 2 5 に保たれた反応混合物に 3 0 分間にわたり滴状に仕込んだ。濃酢酸 (3 3 4 g 、 3 e q . 、 5 . 5 7 m o l) の添加前、反応物を 1 h 攪拌した。反応混合物に水 (2 . 7 L 、 4 v o l .) を徐々に添加することにより生成物を沈殿させ、濾過し、水 (5 . 5 L 、 8 v o l .) 続いて M e C N (5 . 5 L 、 8 v o l .) で洗浄した。

8 0 で 5 h 真空乾燥した後、ヌクレオシド 2 (6 1 3 g 、 7 1 . 5 %) を白色結晶性固体として回収した。M S (m - H) m / z : 4 6 0 . 0 2 5 7 、実測値 : 4 6 0 . 0 2 5 9 (E S -) 。

【 0 1 2 3 】

8 - プロモ - フェニル - 1 , N 2 - エテノ - 2 ' , 5 ' - ジトリイソプロピルシリルオキシグアノシン (3) 。出発ヌクレオシド 2 (4 8 0 g 、 0 . 9 9 m o l) を D M F (2 . 4 L 、 5 v o l .) 中に懸濁させた。イミダゾール (3 3 6 g 、 5 e q . 、 4 . 9 3 m o l) 、続いて T I P S - C l (9 5 1 g 、 5 e q . 、 0 . 5 4 m m o l) をサスペンションに添加し、出発材料を徐々に溶解させた。混合物を一晩攪拌した後、水 (1 7 8 m L 、 1 0 e q . 、 9 . 8 7 m o l) でクエンチし、その後、トルエン (7 . 2 L 、 1 5 v o l .) で希釈した有機相を水 (3 × 2 . 4 L) で洗浄し、蒸発させた。得られた粗油に i - P r O A c (2 . 4 L 、 5 v o l .) を添加し、一晩攪拌した。固形分を濾過し、1 ケーク体積 (6 7 2 m L) の i - P r O A c で洗浄し、3 5 で一晩真空乾燥させ、白色結晶性固体として二保護ヌクレオシド 3 (4 6 2 . 4 g 、 5 8 . 4 %) を与えた。M S (m - H) m / z :

7 7 2 . 2 9 2 5 、実測値 : 7 7 2 . 2 9 5 0 (E S -) 。

【 0 1 2 4 】

8 - プロモ - フェニル - 1 , N 2 - エテノ - 2 ' - トリイソプロピルシリルオキシグアノシン (4) 。 2 ' , 5 ' - ジシリル化ヌクレオシド 3 (4 6 1 g 、 0 . 5 7 m o l) を D C M (4 . 6 1 L 、 1 0 v o l .) 中に溶解させた。T F A (2 3 1 m L 、 0 . 5 v o l .) 及び水 (9 2 2 m L 、 2 v o l .) をベッセル中に仕込み、一晩攪拌した。混合物を 3 5 % a q . アンモニア (0 . 2 5 v o l .) で中和し、パックセライトに通して濾過することにより過加水分解副生成物を除去し、D C M (9 2 2 m L 、 2 v o l .) で洗浄した。有機相を水 (3 × 1 0 0 m L) で洗浄し、蒸発させて粗固形分を与え、M e C N (3 . 2 3 L 、 7 v o l .) 中に一晩再懸濁させた。濾過及び M e C N (4 6 1 m L 、 1 v o l .) による固形分の洗浄、続いて 3 5 で一晩真空乾燥を行って、白色結晶性固体として一保護ヌクレオシド 4 (2 5 7 g 、 7 4 . 2 %) を与えた。M S (m - H) m / z : 6 1 6 . 1 5 9 1 、実測値 : 6 1 6 . 1 6 1 5 (E S -) 。

【 0 1 2 5 】

トリエチルアンモニウム 8 - プロモ - フェニル - 1 , N 2 - エテノ - 2 ' - トリイソプロピルシリルオキシグアノシン - 5 ' - H - ホスホン酸 (5) 。化合物 4 (2 6 2 g 、 0 . 4 2 m o l) を D C M (4 . 9 8 L 、 1 9 v o l .) 及びピリジン (2 6 2 m L 、 1 v o l .) に溶解させた。ジフェニルホスフィット (2 9 2 g 、 3 e q . 1 . 2 5 m o l) を仕込み、反応物を混合した。2 時間後、反応を水 (2 6 2 m L 、 1 v o l .) 及び E t 3 N (2 6 2 m L 、 1 v o l .) でクエンチし、1 時間攪拌した。混合物を水 (2 × 2 . 5 L) で洗浄し、有機相を 2 - プロパノール続いてエチルアセテートで共蒸発させた。粗製物をエチルアセテート (2 . 6 2 L 、 1 0 v o l .) から再結晶し、固形分を濾過し、エチルアセテート (5 2 4 m L 、 2 v o l .) で洗浄し、白色結晶性粉末としてモノエステル 5 (3 1 2 g 、 9 0 . 0 %) を与えた。M S (M - E t 3 N H +) m / z : 6 8 0 . 1 3 0 5 、実測値 : 6 8 0 . 1 3 1 5 (E S -) 。

【 0 1 2 6 】

10

20

30

40

50

R p - 8 - プロモ - - フェニル - 1 , N 2 - エテノ - 2 ' - トリイソプロピルシリル
オキシグアノシン - 3 ' , 5 ' - 環状モノホスホロチオ酸 (6) 。 2 , 6 - ルチジン (1 9
9 g 、 5 e q . 1 . 8 6 m o l) を D C M (6 . 2 L 、 2 0 v o l .) 中の 5 (3 1 0 g
、 0 . 3 7 m o l) の溶液に添加し、続いてピバロイルクロリド (6 7 m L 、 1 . 5 e q
. 0 . 5 6 m o l) を添加した。1時間攪拌した後、硫黄 (1 8 g 、 1 . 5 e q . 、 0 .
5 6 m o l) 続いてトリエチルアミン (5 6 g 、 1 . 5 e q . 、 0 . 5 6 m o l) をベッ
セルに仕込んだ。1時間後、溶液を水 (2 x 1 . 2 4 L) で洗浄し、有機相を蒸発させた
。残渣を M e C N (1 . 5 5 L 、 5 v o l .) 中で攪拌し、硫黄を黄色結晶として沈殿させ、それを濾別した。得られた濾液に臭化水素酸 (3 . 1 L 、 1 0 v o l . 、 1 M) を添
加して粗固形分を沈殿させ、これを濾別し、M e C N (1 . 5 5 L 、 5 v o l .) 中に再
懸濁させ、濾過し、1ケーキ体積の M e C N で洗浄した。溶媒残渣の除去により、粗白色
固体としてチオリン酸 6 を与え、下記工程に使用した。M S (m - H) m / z : 6 9 4 .
0 9 2 0 、実測値 : 6 9 4 . 0 9 7 8 (E S -) 。

10

【 0 1 2 7 】

トリエチルアンモニウム R p - 8 - プロモ - - フェニル - 1 , N 2 - エテノグアノシ
ン - 3 ' , 5 ' - 環状チオリン酸 (1 a) 。 トリエチルアミントリスヒドロフルオリド (6
2 0 m L 、 2 v o l .) を T H F 中 (1 . 2 4 L 、 4 v o l .) の粗ホスホロチオ酸 6 の
溶液に仕込んだ。混合物にシードし、攪拌し、三晩にわたり沈殿を形成した。固形分を濾
別し、次いで、T H F (5 0 0 m L 、 1 . 6 v o l .) で洗浄し、M e C N (9 3 0 m L
、 3 v o l .) 中に 1 h 再懸濁させ、その後、濾過し、1ケーキ体積の M e C N で洗浄し
、結晶性 1 a を与えた。この材料を 2 0 体積の 9 9 % E t O H から冷却再結晶化させ、続
いて濾過し、1ケーキ体積の同一物で洗浄し、純度 > 9 9 . 9 % の白色結晶性粉末として
標的 c G M P S 1 a (1 2 6 . 5 g 、 4 9 . 5 % 、 2 ステップ) を与える。M S (M -
E t 3 N H +) m / z : 5 3 7 . 9 5 8 6 、実測値 : 5 3 7 . 9 5 8 1 (E S -) 。

20

【 0 1 2 8 】

2 . 5 結論

クロマトグラフィーもキラル補助剤も使用しない c G M P S 1 a の調製のための 6 ス
テップバッチプロセスを開発しアップスケールした。H - ホスホネートアプローチの使用
により、所望の R P 環状チオリン酸を望まれない S P ジアステレオマー 1 b に対して 9 :
1 の比で形成することを可能にした。所望の 2 ' , 5 ' - ジシリル化ヌクレオシドを 3 ' , 3 0
5 ' - 異性体に対して印象的な 8 6 : 1 4 の比で与えるように最適化可能なリボース上の
シリル保護ストラテジーを考案した。選択的結晶化は、すべての鍵を握るステップで可能
であるだった。プロセスは、合計で 1 2 6 グラムの純度 > 9 9 . 9 % の結晶性物質 1 a を
与えた (合計収率 1 3 . 8 %) 。

40

50

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2022/074740

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07H1/02 C07H19/213 ADD.		
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) C07H		
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) EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	GENIESER H. -G. ET AL: "Synthesis of the 3',5'-Cyclic Phosphates from Unprotected Nucleosides", SYNTHESIS, vol. 1989, no. 01, 1 January 1989 (1989-01-01), pages 53-54, XP055892477, STUTTGART, DE. ISSN: 0039-7881, DOI: 10.1055/s-1989-27150 the whole document -----	1-20
X	WO 2012/088155 A1 (ALIOS BIOPHARMA INC [US]; BEIGELMANN LEONID [US] ET AL.) 28 June 2012 (2012-06-28) examples page 42 ----- -/--	1-20
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> 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	"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	
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"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	
"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)	"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	
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 25 November 2022	Date of mailing of the international search report 02/12/2022	
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Klein, Didier	

1

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

page 1 of 5

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2022/074740

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2005/123755 A2 (LAURAS AS [NO]; UNDHEIM KJELL [NO] ET AL.) 29 December 2005 (2005-12-29) cited in the application page 18 - page 23 -----	1-20
X	GB 1 336 443 A (ANVAR) 7 November 1973 (1973-11-07) the whole document -----	1-20
X	JINLAI LIN ET AL: "Novel 3',5'-Cyclic Nucleotide Analogue: Adenosine 3',5'-Cyclic Boranomonophosphate", ORGANIC LETTERS, vol. 3, no. 6, 1 March 2001 (2001-03-01), pages 795-797, XP055001165, ISSN: 1523-7060, DOI: 10.1021/o10003230 scheme 2 -----	1-20
X	GHOSH P ET AL: "Synthesis and evaluation of potential inhibitors of eIF4E cap binding to 7-methyl GTP", BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 15, no. 8, 15 April 2005 (2005-04-15) , pages 2177-2180, XP027801762, ISSN: 0960-894X [retrieved on 2005-04-15] scheme 1 -----	12,13,20
X	WALCZAK SYLWIA ET AL: "Exploring the potential of phosphotriazole 5' mRNA cap analogues as efficient translation initiators", ORGANIC & BIOMOLECULAR CHEMISTRY , vol. 16, no. 36 18 July 2018 (2018-07-18), pages 6741-6748, XP055892408, ISSN: 1477-0520, DOI: 10.1039/C8OB01720D Retrieved from the Internet: URL:https://pubs.rsc.org/en/content/articlepdf/2018/ob/c8ob01720d figure 3; compound 8 ----- ----- -/--	12,13

10

20

30

40

1

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

page 2 of 5

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2022/074740

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>IMAI K-I ET AL: "SYNTHESIS OF COMPOUNDS RELATED TO INOSINE 5'-PHOSPHATE AND THEIR FLAVOR ENHANCING ACTIVITY. IV. 2-SUBSTITUTED INOSINE 5'-PHOSPHATES", CHEMICAL AND PHARMACEUTICAL BULLETIN, PHARMACEUTICAL SOCIETY OF JAPAN, JP, vol. 19, no. 3, 1 January 1971 (1971-01-01), pages 576-586, XP009025857, ISSN: 0009-2363 table VI; compound C</p> <p>-----</p>	12
X	<p>NOONAN ET AL: "Interaction of GTP derivatives with cellular and oncogenic ras-p21 proteins", JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, US, vol. 34, no. 4, 1 January 1991 (1991-01-01), pages 1302-1307, XP002270262, ISSN: 0022-2623, DOI: 10.1021/JM00108A010 scheme 1; compounds 1c-6c</p> <p>-----</p>	12
X	<p>ORTOLEVA-DONNELLY LORI ET AL: "Identifying RNA Minor Groove Tertiary Contacts by Nucleotide Analogue Interference Mapping with N 2 -Methylguanosine", BIOCHEMISTRY, vol. 37, no. 37 1 September 1998 (1998-09-01), pages 12933-12942, XP055892747, ISSN: 0006-2960, DOI: 10.1021/bi980723j Retrieved from the Internet: URL:https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/bi980723j figure 3</p> <p>-----</p>	12
X	<p>SAKO ET AL: "A Convenient Method for the Preparation of N2-Ethylguanine Nucleosides and Nucleotides", THE JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, vol. 64, no. 15, 1 January 1999 (1999-01-01), pages 5719-5721, XP002270261, ISSN: 0022-3263, DOI: 10.1021/J0990500E compounds 1e,1f</p> <p>-----</p>	12
1	<p>X WO 2004/039824 A1 (FRUCTAMINE SPA [IT]; FURIOSI CAROLA [IT] ET AL.) 13 May 2004 (2004-05-13) claim 7</p> <p>-----</p>	12
1	----- -/--	

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2022/074740

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>LI ZHENG ET AL: "Method for Quantification of Ribonucleotides and Deoxyribonucleotides in Human Cells Using (Trimethylsilyl)diazomethane Derivatization Followed by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry", ANALYTICAL CHEMISTRY, vol. 91, no. 1, 2 January 2019 (2019-01-02), pages 1019-1026, XP055892749, US ISSN: 0003-2700, DOI: 10.1021/acs.analchem.8b04281 Retrieved from the Internet: URL:https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/acs.analchem.8b04281 figure 1A</p>	12
X	<p>-----</p> <p>IREHARA MORIO ET AL: "Studies of Nucleosides and Nucleotides. XXXIX. Synthesis of 8-Substituted Purine Nucleotides by the Direct Replacement Reactions", CHEMICAL AND PHARMACEUTICAL BULLETIN, vol. 17, no. 5, 1 January 1969 (1969-01-01), pages 1019-1024, XP055892770, JP ISSN: 0009-2363, DOI: 10.1248/cpb.17.1019 page 1020</p>	12
X	<p>-----</p> <p>BENNETT G. N. ET AL: "Single addition substrates for the synthesis of specific oligoribonucleotides with polynucleotide phosphorylase. Synthesis of 2'-O-([alpha]-methoxyethyl)nucleoside 5'-diphosphates", BIOCHEMISTRY, vol. 14, no. 14, 15 July 1975 (1975-07-15), pages 3152-3158, XP055892773, ISSN: 0006-2960, DOI: 10.1021/bi00685a018 page 3158</p> <p>-----</p> <p style="text-align: center;">-/--</p>	12

1

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

page 4 of 5

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2022/074740

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>COLLIER ALICE ET AL: "A facile two-step synthesis of 8-arylated guanosine mono- and triphosphates (8-aryl GXPs)", ORGANIC & BIOMOLECULAR CHEMISTRY</p> <p>, vol. 4, no. 24 1 January 2006 (2006-01-01), page 4526, XP055892779, ISSN: 1477-0520, DOI: 10.1039/b614477b Retrieved from the Internet: URL:https://pubs.rsc.org/en/content/articlepdf/2006/ob/b614477b figure 1; table 3</p> <p>-----</p>	12
X	<p>ASAMI HIROYA ET AL: "Gas-phase isolation of diethyl guanosine 5'-monophosphate and its conformational assignment", PHYSICAL CHEMISTRY CHEMICAL PHYSICS</p> <p>, vol. 12, no. 42 1 January 2010 (2010-01-01), pages 13918-13921, XP055892780, ISSN: 1463-9076, DOI: 10.1039/c0cp01105c Retrieved from the Internet: URL:https://pubs.rsc.org/en/content/articlepdf/2010/cp/c0cp01105c compounds 2,3</p> <p>-----</p>	12

10

20

30

40

1

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2022/074740

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2012088155 A1	28-06-2012	AU 2011349278 A1	02-05-2013
		CA 2819041 A1	28-06-2012
		EP 2655392 A1	30-10-2013
		US 2012165286 A1	28-06-2012
		US 2014303108 A1	09-10-2014
		US 2017002037 A1	05-01-2017
		WO 2012088155 A1	28-06-2012
WO 2005123755 A2	29-12-2005	AU 2005254790 A1	29-12-2005
		CA 2568907 A1	29-12-2005
		CN 101001865 A	18-07-2007
		DK 1765844 T3	01-09-2014
		EP 1765844 A2	28-03-2007
		ES 2496946 T3	22-09-2014
		JP 5044750 B2	10-10-2012
		JP 2008502673 A	31-01-2008
		US 2008293665 A1	27-11-2008
		WO 2005123755 A2	29-12-2005
		GB 1336443 A	07-11-1973
GB 1336443 A	07-11-1973		
GB 1336444 A	07-11-1973		
WO 2004039824 A1	13-05-2004	AT 389665 T	15-04-2008
		AU 2003283306 A1	25-05-2004
		EP 1575974 A1	21-09-2005
		US 2005288499 A1	29-12-2005
		WO 2004039824 A1	13-05-2004

10

20

30

40

50

フロントページの続き

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,N
E,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,
CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,J
M,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,ST,SV,SY,T
H,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

ドイツ連邦共和国, 28201 プレーメン, クライストシュトラッセ 9

F ターム (参考) 4C057 AA18 BB02 DD03 LL03

4C086 AA03 AA04 EA17 MA01 MA04 NA20 ZA33