



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0106665
(43) 공개일자 2023년07월13일

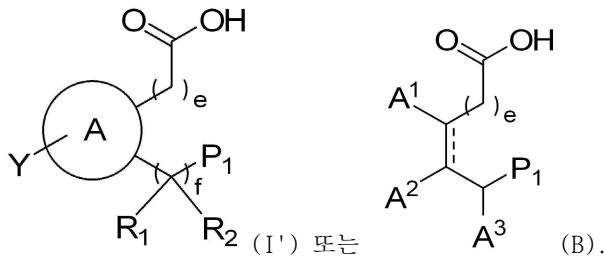
- | | |
|--|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 295/192 (2006.01) C07D 249/06 (2006.01)
C07H 1/00 (2006.01) C07H 21/00 (2006.01)
C07H 23/00 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
C07D 295/192 (2013.01)
C07D 249/06 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2023-7019471</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2021년11월10일
심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2023년06월09일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/US2021/058786</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2022/103842
국제공개일자 2022년05월19일</p> <p>(30) 우선권주장
63/112,281 2020년11월11일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인
바이오젠 엠에이 인코포레이티드
미국 02142 메사추세츠주 캄브리지 비니 스트리트 225</p> <p>(72) 발명자
안, 우명
미국 02142 메사추세츠 캄브릿지 비니 스트리트 225 바이오젠 엠에이 인코포레이티드 내
주, 슈안
미국 02142 메사추세츠 캄브릿지 비니 스트리트 225 바이오젠 엠에이 인코포레이티드 내
(뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인
양영준, 김영</p> |
|--|--|

전체 청구항 수 : 총 131 항

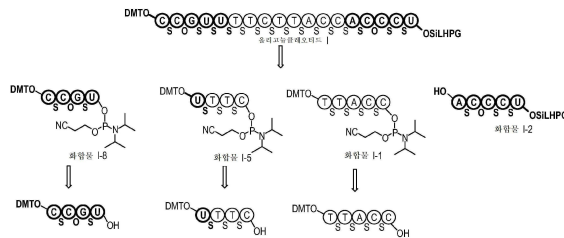
(54) 발명의 명칭 올리고뉴클레오타이드, 시약, 및 그의 제조 방법

(57) 요약

본 개시는 2 이상의 뉴클레오타이드를 갖는, 올리고뉴클레오타이드를 제조하기 위한 신규 시약 및 방법을 기술한다. 일 구현예에서, 상기 시약은 화학식 I' 또는 B로 표시된다.



대표도



(52) CPC특허분류

C07H 1/00 (2013.01)
C07H 21/00 (2013.01)
C07H 23/00 (2013.01)
Y02P 20/55 (2020.08)

(72) 발명자

시, 시양린

미국 02142 메사추세츠 캄브릿지 비니 스트리트
225 바이오젠 엠에이 인코포레이티드 내

안티아, 피로츠

미국 02142 메사추세츠 캄브릿지 비니 스트리트
225 바이오젠 엠에이 인코포레이티드 내

키즈만, 윌리엄, 에프.

미국 01778 메사추세츠 웨이랜드 그로브 스트리트
29

피용, 야닉

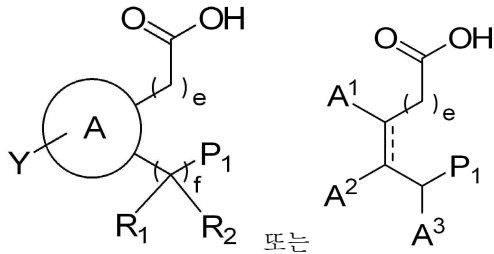
미국 02142 메사추세츠 캄브릿지 비니 스트리트
225 바이오젠 엠에이 인코포레이티드 내

명세서

청구범위

청구항 1

화학식 I' 또는 B의 화합물 또는 그의 염.



I' B

상기 식에서:

A^1 , A^2 및 A^3 중 하나는 Y^A 이고 나머지는 H이고;

===는 단일 결합 또는 이중 결합이고;

Y^A 는 $Y-(CH_2)_{a1}CH_2O(CH_2)_{a2}-$ 이고, 여기서 $a1$ 및 $a2$ 는 각각 독립적으로 0 또는 1 내지 10의 정수이고;

고리 A는 페닐, 8- 내지 10-원 비사이클릭 아릴, 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5- 내지 6-원 헤테로아릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로 원자를 갖는 7- 내지 10-원 비사이클릭 헤테로아릴이고;

Y는 H, 할로젠, OR^{1A} , $NR^{2A, 3A}$, SR^{4A} , $CR^{5A, 6A, 7A}$, 또는 탄소 원자수 10 이상의 지방족 탄화수소기를 하나 이상 함유하는 소수성 기이고; 여기서 R^{1A} , R^{2A} , R^{3A} , R^{4A} , R^{5A} , R^{6A} , 및 R^{7A} 는 각각 독립적으로 C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 알케닐, C_{1-6} 알키닐, 페닐, OR^{8A} , $-OC(O)R^{8A}$, $-C(O)OR^{8A}$, $NR^{8A, 9A}$, $-NR^{8A}COR^{9A}$, $-CONR^{8A, 9A}$, 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 카르보사이클릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 2개의 헤테로 원자를 갖는 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 헤테로사이클릴이고; 여기서 R^{8A} 및 R^{9A} 는 각 경우에 독립적으로 H 또는 C_{1-6} 알킬이고;

P_1 은 NO_2 또는 실릴 하이드록실 보호기이고;

R_1 및 R_2 는 독립적으로 H, C_{1-6} 알킬, 또는 페닐이고; 여기서 C_{1-6} 알킬 및 페닐은 1 내지 3개의 R_3 로 선택적으로 치환되고;

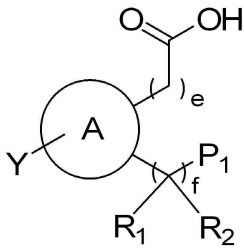
R_3 은 C_{1-30} 알콕시이고;

e는 0 내지 6의 정수이고;

f는 0 내지 6의 정수이다.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 화합물이 화학식 I'의 화합물인 화합물 또는 그의 염.



I'

상기 식에서:

고리 A는 페닐, 8- 내지 10-원 비사이클릭 아릴, 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5- 내지 6-원 헤테로아릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로 원자를 갖는 7- 내지 10-원 비사이클릭 헤테로아릴이고;

Y는 H, 할로젠, OR^{1A}, NR^{2A, 3A}, SR^{4A}, CR^{5A, 6A, 7A}, 또는 탄소 원자수 10 이상의 지방족 탄화수소기를 하나 이상 함유하는 소수성 기이고; 여기서 R^{1A}, R^{2A}, R^{3A}, R^{4A}, R^{5A}, R^{6A}, 및 R^{7A}는 각각 독립적으로 C₁₋₆알킬, C₁₋₆알케닐, C₁₋₆알키닐, 페닐, OR^{8A}, -OC(O)R^{8A}, -C(O)OR^{8A}, NR^{8A, 9A}, -NR^{8A}COR^{9A}, -CONR^{8A, 9A}, 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 카르보사이클릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 선택된 1 내지 2개의 헤테로 원자를 갖는 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 헤테로사이클릴이고; 여기서 R^{8A} 및 R^{9A}는 각 경우에 독립적으로 H 또는 C₁₋₆알킬이고;

P₁은 NO₂ 또는 실릴 하이드록실 보호기이고;

R₁ 및 R₂는 독립적으로 H, C₁₋₆알킬, 또는 페닐이고; 여기서 C₁₋₆알킬 및 페닐은 1 내지 3개의 R₃로 선택적으로 치환되고;

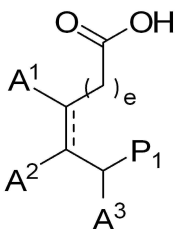
R₃은 C₁₋₃₀알콕시이고;

e는 0 내지 6의 정수이고;

f는 0 내지 6의 정수이다.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 화합물이 화학식 B의 화합물인 화합물:

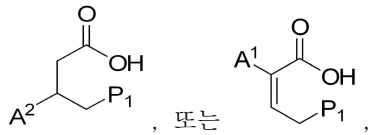


B

또는 그의 염.

청구항 4

청구항 3에 있어서, 화합물이 하기 식 중 어느 하나로 표시되는 화합물:



B-1 B-2

또는 그의 염.

청구항 5

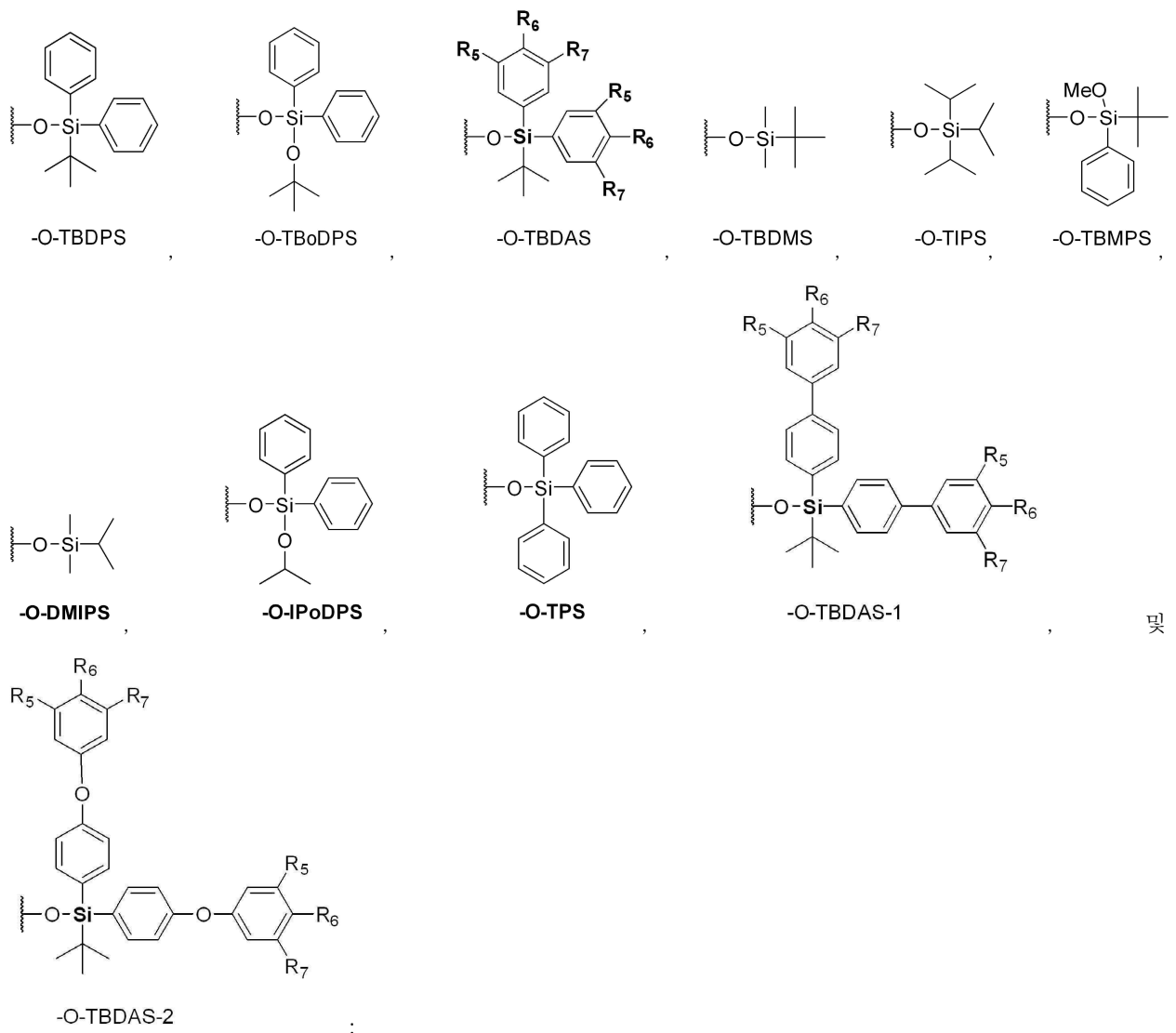
청구항 1 내지 청구항 4 중 어느 한 항에 있어서, Y가 탄소 원자수 10 이상의 지방족 탄화수소기를 하나 이상 함유하는 소수성 기인, 화합물 또는 그의 염.

청구항 6

청구항 1, 청구항 2 및 청구항 5 중 어느 한 항에 있어서, 고리 A가 페닐 또는 나프탈레닐인, 화합물 또는 그의 염.

청구항 7

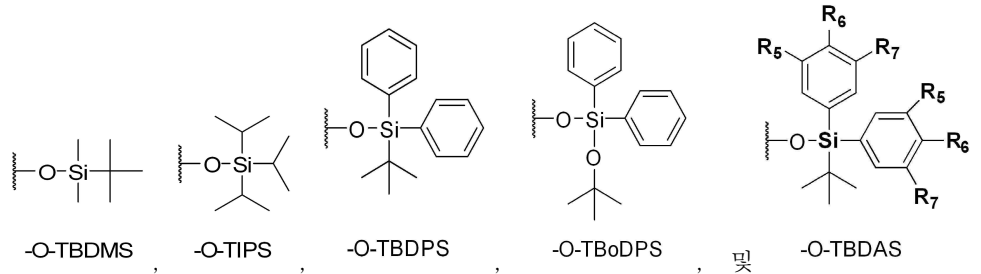
청구항 1 내지 청구항 6 중 어느 한 항에 있어서, P₁이 하기로부터 선택된 실릴 하이드록실 보호기인, 화합물 또는 그의 염.



상기 식에서 --- 는 P₁의 부착 지점을 나타내고, R₅, R₆ 및 R₇은 각각 독립적으로 H, C₁₋₃₀알킬, 또는 C₁₋₃₀알콕시이다.

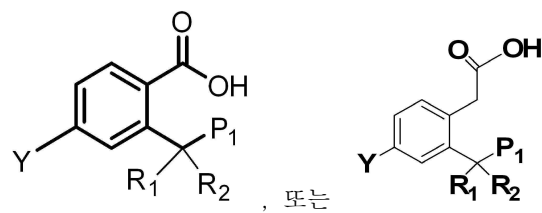
청구항 8

청구항 1 내지 청구항 7 중 어느 한 항에 있어서, P₁이 -O-TBDMS, -O-TIPS, -O-TBDPS, -O-TBoDPS, 및 -O-TBDAS로 구성된 군으로부터 선택되는, 화합물 또는 그의 염.



청구항 9

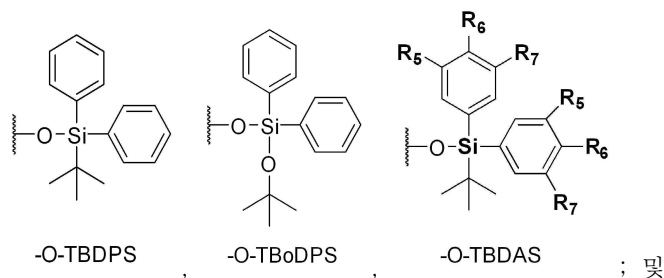
청구항 1, 청구항 2, 및 청구항 5 내지 청구항 8 중 어느 한 항에 있어서, 화학식 I 또는 Ia로 표시되는 화합물:



I Ia

또는 그의 염.

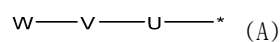
상기 식에서 P₁은 -O-TBDPS, -O-TBoDPS, 및 -O-TBDAS로 구성된 군으로부터 선택되고:



R₅, R₆ 및 R₇은 각각 독립적으로 H, C₁₋₃₀알킬, 또는 C₁₋₃₀알콕시이다.

청구항 10

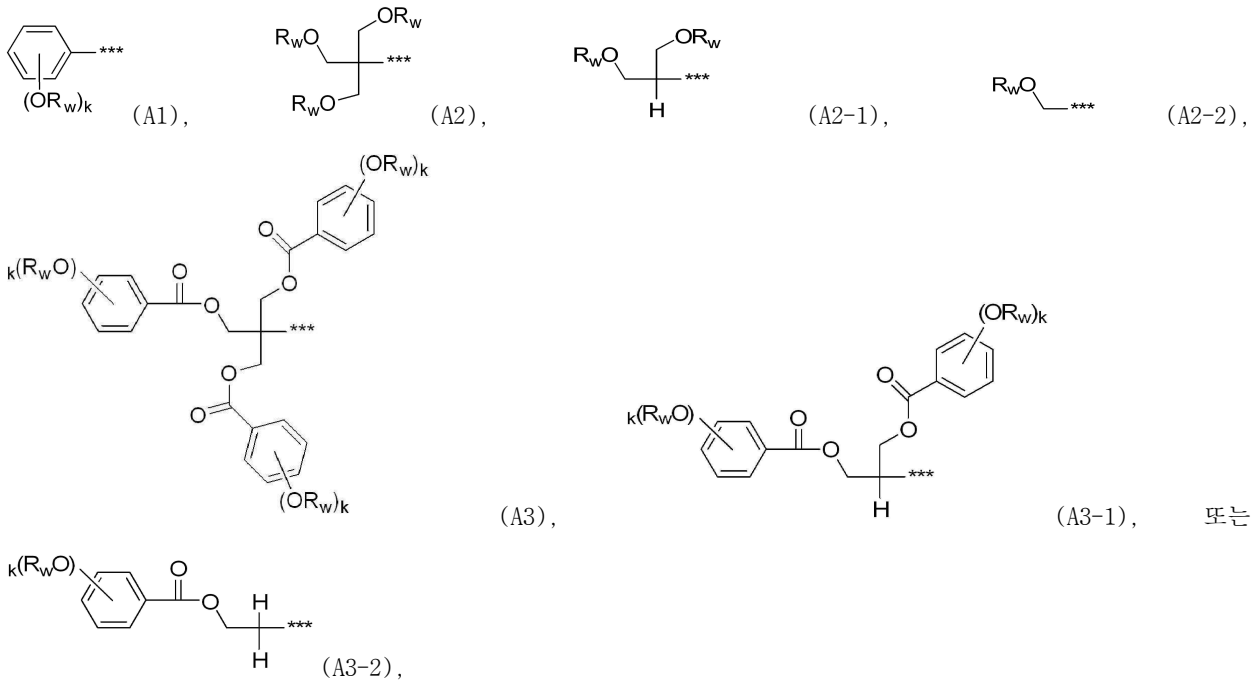
청구항 1 내지 청구항 9 중 어느 한 항에 있어서, Y가 화학식 A로 표시되는 화합물.



상기 식에서

* 는 Y에 대한 부착 지점을 나타내고;

W는 화학식 A1, A2, A2-1, A2-2, A3, A3-1, 또는 A3-2로 표시되고:



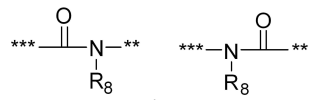
상기 식에서

—*** 는 W와 V가 연결되는 지점을 나타내고;

R_w은 각각 독립적으로 10개 이상의 탄소 원자를 갖는 지방족 탄화수소기이고;

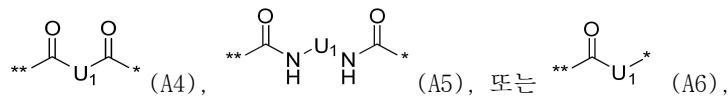
k는 1 내지 5의 정수이고;

V는 결합, 산소, C₁₋₂₀알킬렌, C₁₋₆알킬닐렌, —C(=O)—, ***-C(=O)-O-**, ***-O-C(=O)-**, $\begin{matrix} \text{***-N-**} \\ | \\ \text{R}_8 \end{matrix}$,



, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖고, 1 내지 3개의 R₈로 선택적으로 치환된, 5 내지 7원 헤테로아릴이고; 여기서 —**는 V와 U가 연결되는 지점을 나타내고; R₈은 H 또는 C₁₋₃₀알킬이고;

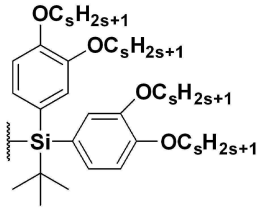
U는 결합, 산소, C₁₋₂₀알킬렌, 카르보닐, ***-O-C(=O)-**, 산소, 질소, 및 황으로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5 내지 7원 헤테로사이클릴; 산소, 질소, 및 황으로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖고, 1 내지 3개의 R₈로 선택적으로 치환된, 5 내지 7원 헤테로아릴; 또는 화학식 A4, A5, 또는 A6으로 표시되는 기이고:



상기 식에서 U₁은 C₁₋₆알킬렌, C₁₋₆알킬렌옥시, 산소, 질소, 및 황으로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5 내지 7원 헤테로사이클릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5 내지 7원 헤테로아릴이다.

청구항 11

청구항 7 내지 청구항 10 중 어느 한 항에 있어서, TBDAS기가 하기의 기인, 화합물 또는 그의 염.



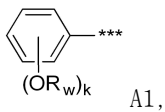
상기 식에서 s는 1 내지 30의 정수이다.

청구항 12

청구항 1 내지 청구항 11 중 어느 한 항에 있어서, P₁이 -O-TBDPS인, 화합물 또는 그의 염.

청구항 13

청구항 10 내지 청구항 12 중 어느 한 항에 있어서, W가 화학식 A1으로 표시되는, 화합물 또는 그의 염.



상기 식에서 R_w는 C_nH_{2n+1}이고;

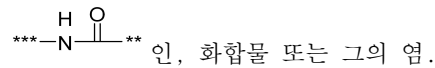
n은 1 내지 30의 정수이다.

청구항 14

청구항 10 내지 청구항 13 중 어느 한 항에 있어서, R_w가 C₁₂H₂₅, C₁₈H₃₇, C₂₀H₄₁, C₂₂H₄₅, C₂₄H₄₉, C₂₆H₅₃, 및 C₂₈H₅₇으로 구성된 군으로부터 선택되는, 화합물 또는 그의 염.

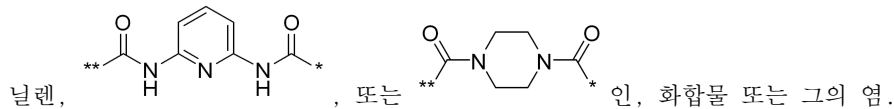
청구항 15

청구항 10 내지 청구항 14 중 어느 한 항에 있어서, V가 결합, CH₂, CH₂CH₂, C(=O)-, ***-C(=O)-O-**, 또는



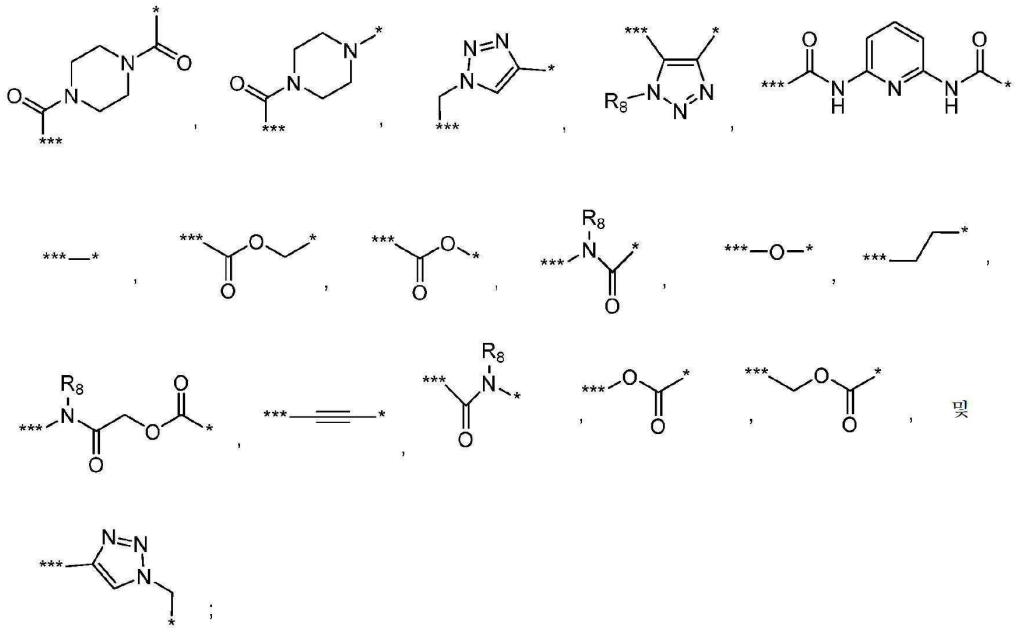
청구항 16

청구항 10 내지 청구항 15 중 어느 한 항에 있어서, U가 결합, CH₂, CH₂CH₂, 카르보닐, 트리아졸릴렌, 피페라지



청구항 17

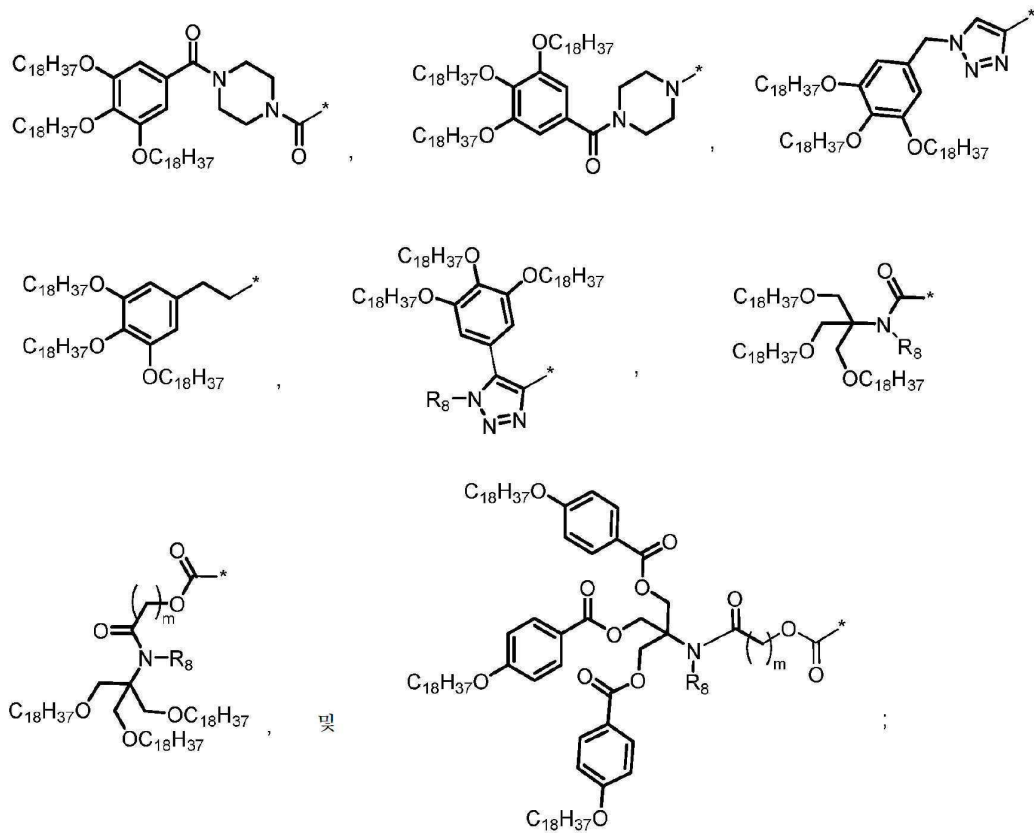
청구항 10 내지 청구항 14 중 어느 한 항에 있어서, U-V가 하기로 구성된 군으로부터 선택되는, 화합물 또는 그의 염.



상기 식에서 R_8 은 H 또는 C_{1-6} 알킬이다.

청구항 18

청구항 1 내지 청구항 12 중 어느 한 항에 있어서, Y가 하기로 구성된 군으로부터 선택되는, 화합물 또는 그의 염.



상기 식에서

R_8 은 H 또는 C_{1-6} 알킬이고;

m은 1 내지 5의 정수이다.

청구항 19

청구항 1, 청구항 2, 및 청구항 5 내지 청구항 18 중 어느 한 항에 있어서, R₁ 및 R₂가 독립적으로 H 또는 CH₃인, 화합물 또는 그의 염.

청구항 20

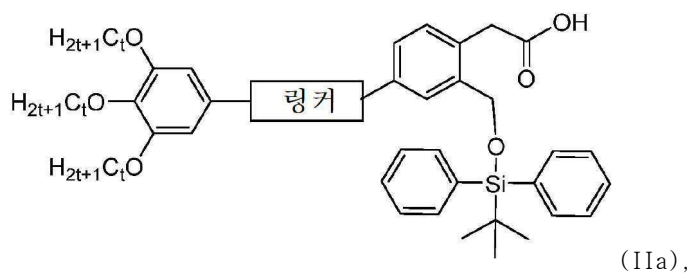
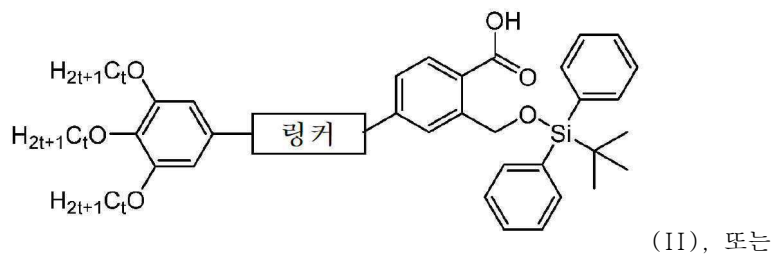
청구항 1, 청구항 2, 및 청구항 5 내지 청구항 19 중 어느 한 항에 있어서, e가 0, 1, 또는 2이고; f가 0, 1, 또는 2인, 화합물 또는 그의 염.

청구항 21

청구항 10 내지 청구항 20 중 어느 한 항에 있어서, R₃이 H 또는 C₁₋₄알킬인, 화합물 또는 그의 염.

청구항 22

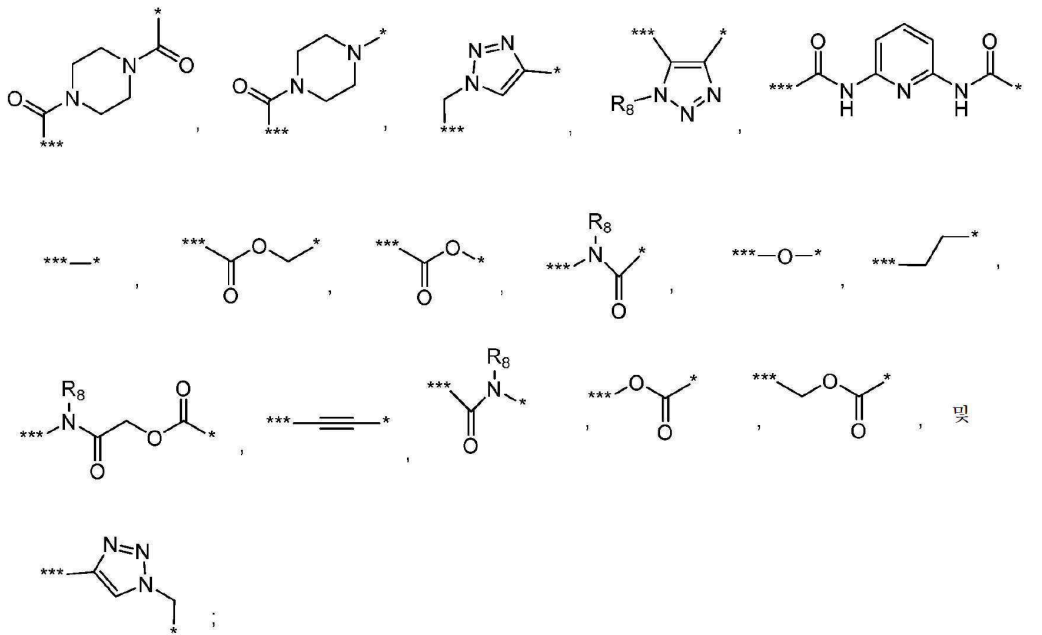
청구항 1에 있어서, 화학식 II 또는 IIa로 표시되는 화합물 또는 그의 염.



상기 식에서

t는 10 내지 30의 정수이고;

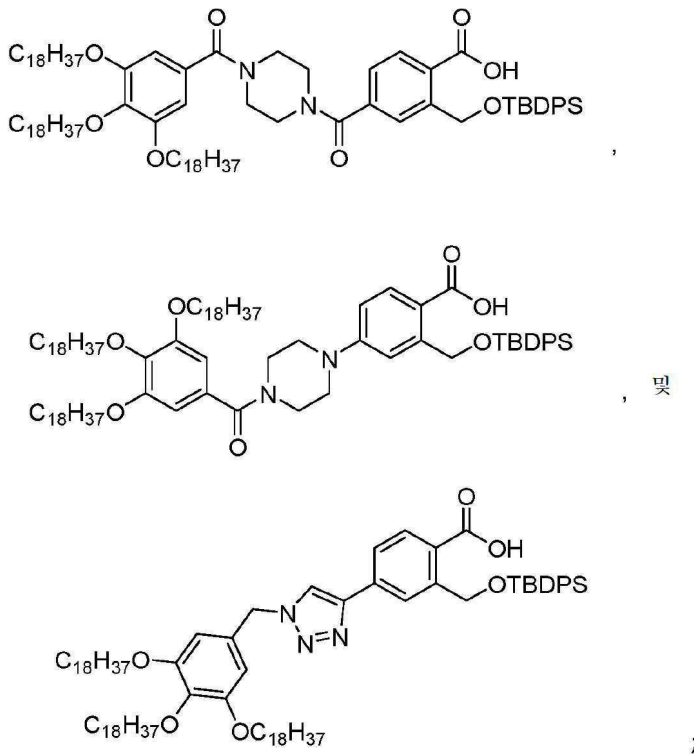
링커는 하기로 구성된 군으로부터 선택되고;



상기 식에서 R₈은 H 또는 C₁₋₆알킬이다.

청구항 23

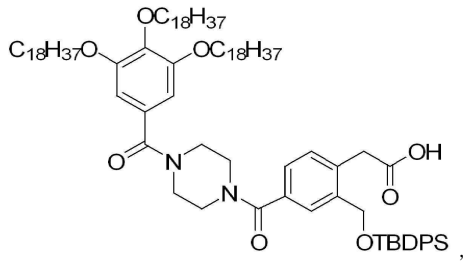
청구항 22에 있어서, 하기로 구성된 군으로부터 선택되는 화합물:



또는 그의 염.

청구항 24

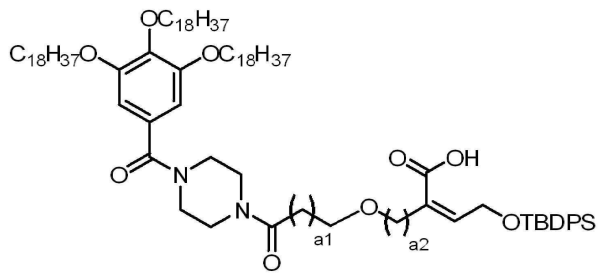
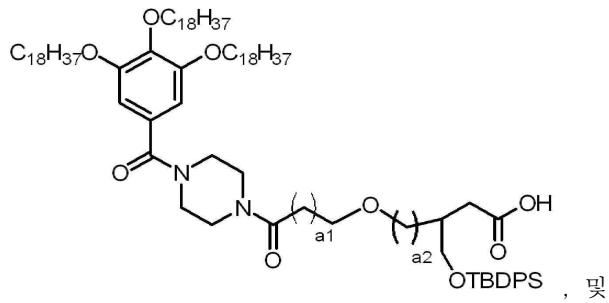
청구항 1에 있어서, 하기 화합물:



또는 그의 염.

청구항 25

청구항 1에 있어서, 하기 화학식 중 하나로부터 선택되는, 화합물:



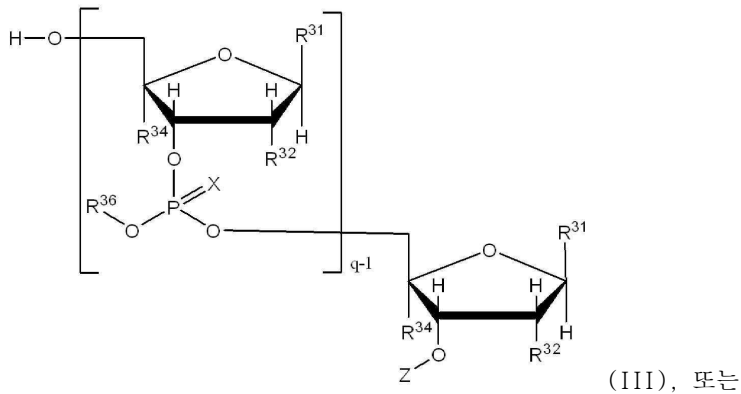
또는 그의 염.

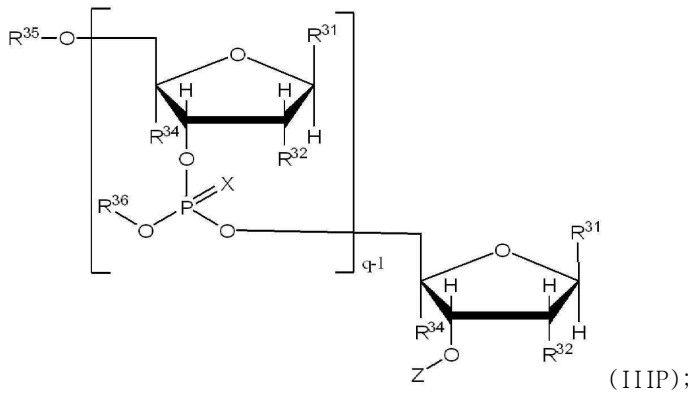
청구항 26

표 1의 화합물 또는 그의 염.

청구항 27

화학식 III 또는 IIIP로 표시되는 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염.





상기 식에서

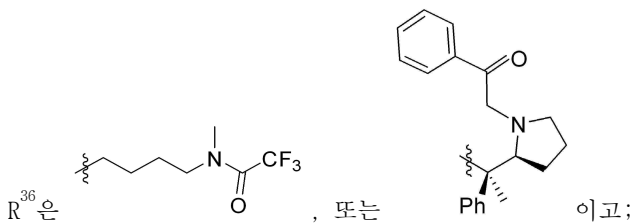
R^{31} 은 각 경우에 독립적으로 핵염기이고, 핵염기의 NH_2 는 존재하는 경우 아민 보호기에 의해 선택적으로 보호되고;

R^{32} 는 각 경우에 독립적으로 H, 할로, OH, 및 C_{1-6} 알콕시로 선택적으로 치환된 C_{1-6} 알콕시로 구성된 군으로부터 선택되고; 여기서 OH기는 하이드록실 보호기에 의해 선택적으로 보호되고;

R^{34} 는 각 경우에 독립적으로 H이거나 또는 R^{32} 의 알콕시기와 고리를 형성하고;

R^{35} 는 하이드록실 보호기이고;

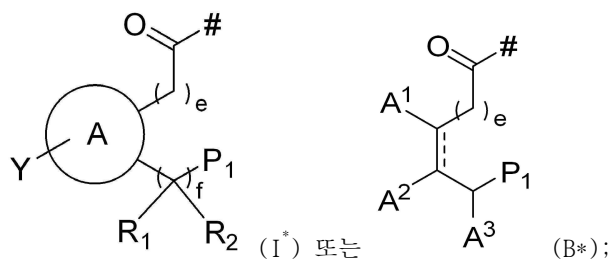
R^{36} 은 각 경우에 독립적으로 H, C_{1-6} 알킬기, C_{2-6} 알케닐기, 페닐 또는 벤질기이며, 이들은 각각 $-CN$, $-NO_2$ 또는 할로겐으로 선택적으로 치환되거나; 또는



q 는 1 내지 20의 정수이고;

X 는 각 경우에 독립적으로 O 또는 S이고;

Z 는 화학식 I^* 또는 B^* 로 표시되는 기이고;



상기 식에서

—#는 Z 에 대한 부착 지점을 나타내고;

A^1 , A^2 및 A^3 중 하나는 Y^A 이고 나머지는 H이고;

===는 단일 결합 또는 이중 결합이고;

Y^A 는 $Y-(CH_2)_{a1}CH_2O(CH_2)_{a2}-$ 이고, 여기서 a_1 및 a_2 는 각각 독립적으로 0 또는 1 내지 10의 정수이고;

고리 A는 페닐, 8- 내지 10-원 비사이클릭 아릴, 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5- 내지 6-원 헤테로아릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로 원자를 갖는 7- 내지 10-원 비사이클릭 헤테로아릴이고;

Y 는 H, 할로젠, OR^{1A} , $NR^{2A}R^{3A}$, SR^{4A} , $CR^{5A}R^{6A}R^{7A}$, 또는 탄소 원자수 10 이상의 지방족 탄화수소기를 하나 이상 함유하는 소수성 기이고; 여기서 R^{1A} , R^{2A} , R^{3A} , R^{4A} , R^{5A} , R^{6A} , 및 R^{7A} 는 각각 독립적으로 C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 알케닐, C_{1-6} 알키닐, 페닐, OR^{8A} , $-OC(O)R^{8A}$, $-C(O)OR^{8A}$, $NR^{8A}R^{9A}$, $-NR^{8A}COR^{9A}$, $-CONR^{8A}R^{9A}$, 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 카르보사이클릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 2개의 헤테로 원자를 갖는 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 헤테로사이클릴이고; 여기서 R^{8A} 및 R^{9A} 는 각 경우에 독립적으로 H 또는 C_{1-6} 알킬이고;

P_1 은 NO_2 또는 실릴 하이드록실 보호기이고;

R_1 및 R_2 는 독립적으로 H, C_{1-6} 알킬, 또는 페닐이고; 여기서 C_{1-6} 알킬 및 페닐은 1 내지 3개의 R_3 로 선택적으로 치환되고;

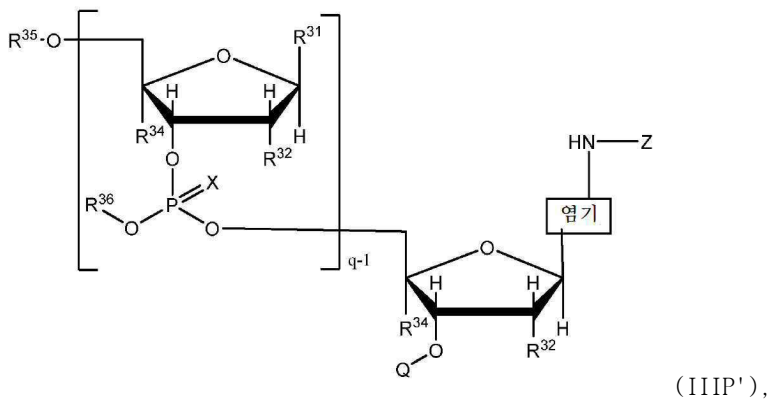
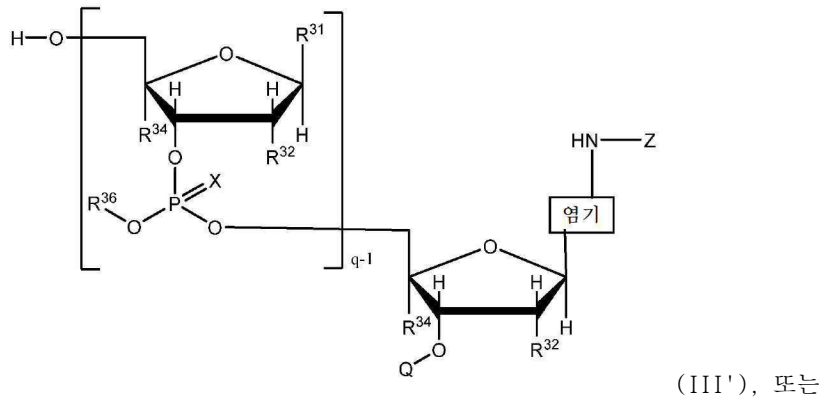
R_3 은 C_{1-30} 알콕시이고;

e 는 0 내지 6의 정수이고;

f 는 0 내지 6의 정수이다.

청구항 28

화학식 III' 또는 IIIP'로 표시되는 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드, 또는 그의 염.



상기 식에서:

Q는 하이드록실 보호기이고;

염기 는 Z에 의해 변형된 NH₂기를 함유하는 핵염기이고;

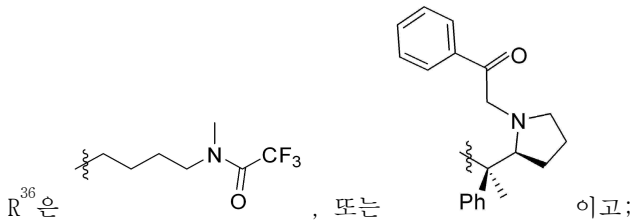
R³¹은 각 경우에 독립적으로 핵염기이고, 핵염기의 NH₂는 존재하는 경우 아민 보호기에 의해 선택적으로 보호되고;

R³²는 각 경우에 독립적으로 H, 할로, OH, 및 C₁₋₆알콕시로 선택적으로 치환된 C₁₋₆알콕시로 구성된 군으로부터 선택되고; 여기서 OH기는 하이드록실 보호기에 의해 선택적으로 보호되고;

R³⁴는 각 경우에 독립적으로 H이거나 또는 R³²의 알콕시기와 고리를 형성하고;

R³⁵는 하이드록실 보호기이고;

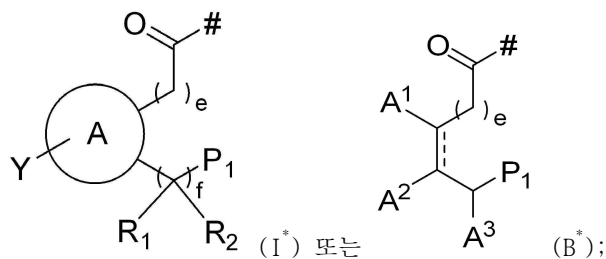
R³⁶은 각 경우에 독립적으로 H, C₁₋₆알킬기, C₂₋₆알케닐기, 페닐 또는 벤질기이며, 이들은 각각 -CN, -NO₂ 또는 할로젠으로 선택적으로 치환되거나; 또는



q는 1 내지 20의 정수이고;

X는 각 경우에 독립적으로 0 또는 S이고;

Z는 화학식 I* 또는 B*로 표시되는 기이고;



상기 식에서

—#는 Z에 대한 부착 지점을 나타내고;

A¹, A² 및 A³ 중 하나는 Y^A이고 나머지는 H이고;

===는 단일 결합 또는 이중 결합이고;

Y^A는 Y-(CH₂)_{a1}CH₂O(CH₂)_{a2}-이고, 여기서 a1 및 a2는 각각 독립적으로 0 또는 1 내지 10의 정수이고;

고리 A는 페닐, 8- 내지 10-원 비사이클릭 아릴, 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5- 내지 6-원 헤테로아릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로 원자를 갖는 7- 내지 10-원 비사이클릭 헤테로아릴이고;

Y는 H, 할로젠, OR^{1A}, NR^{2A, 3A}, SR^{4A}, CR^{5A, 6A, 7A}, 또는 탄소 원자수 10 이상의 지방족 탄화수소기를 하나 이상 함유하는 소수성 기이고; 여기서 R^{1A}, R^{2A}, R^{3A}, R^{4A}, R^{5A}, R^{6A}, 및 R^{7A}는 각각 독립적으로 C₁₋₆알킬, C₁₋₆알케닐, C₁₋₆알키

닐, 페닐, OR^{8A} , $-OC(O)R^{8A}$, $-C(O)OR^{8A}$, $NR^{8A}R^{9A}$, $-NR^{8A}COR^{9A}$, $-CONR^{8A}R^{9A}$, 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 카르보사이클릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 2개의 헤테로 원자를 갖는 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 헤테로사이클릴이고; 여기서 R^{8A} 및 R^{9A} 는 각 경우에 독립적으로 H 또는 C_{1-6} 알킬이고;

P_1 은 NO_2 또는 실릴 하이드록실 보호기이고;

R_1 및 R_2 는 독립적으로 H, C_{1-6} 알킬, 또는 페닐이고; 여기서 C_{1-6} 알킬 및 페닐은 1 내지 3개의 R_3 로 선택적으로 치환되고;

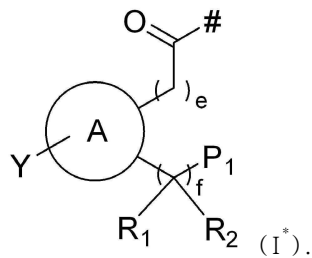
R_3 은 C_{1-30} 알콕시이고;

e 는 0 내지 6의 정수이고;

f 는 0 내지 6의 정수이다.

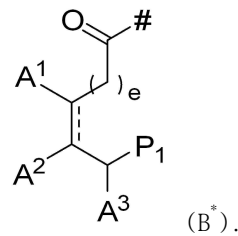
청구항 29

청구항 27 또는 청구항 28에 있어서, Z가 화학식 I*로 표시되는 기인, 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드.



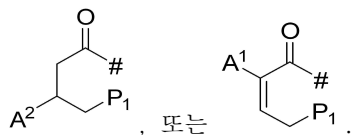
청구항 30

청구항 27 또는 청구항 28에 있어서, Z가 화학식 B*로 표시되는 기인, 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드.



청구항 31

청구항 30에 있어서, Z가 화학식 B-1* 또는 B-2*로 표시되는 기인, 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드.



B-1* B-2*

청구항 32

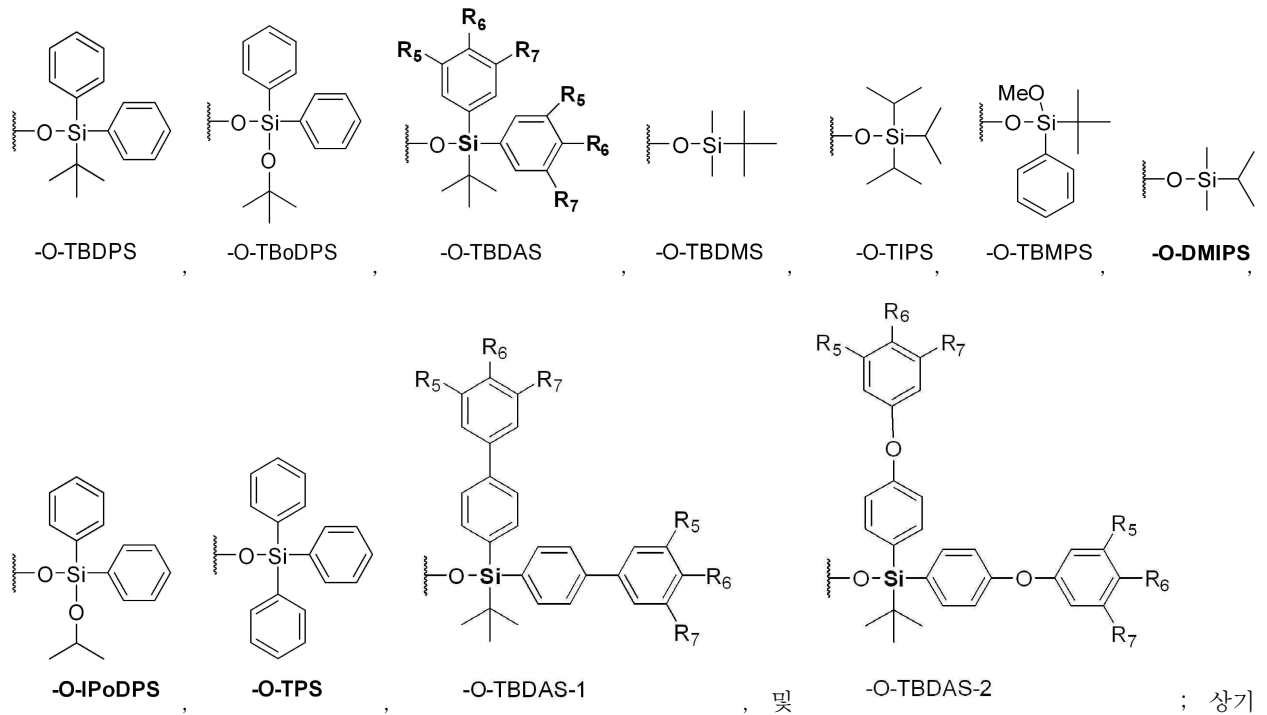
청구항 27 내지 청구항 31 중 어느 한 항에 있어서, Y가 탄소 원자수 10 이상의 지방족 탄화수소기를 하나 이상 함유하는 소수성 기인, 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염.

청구항 33

청구항 27, 청구항 28, 또는 청구항 32 중 어느 한 항에 있어서, 고리 A가 페닐 또는 나프탈레닐인, 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염.

청구항 34

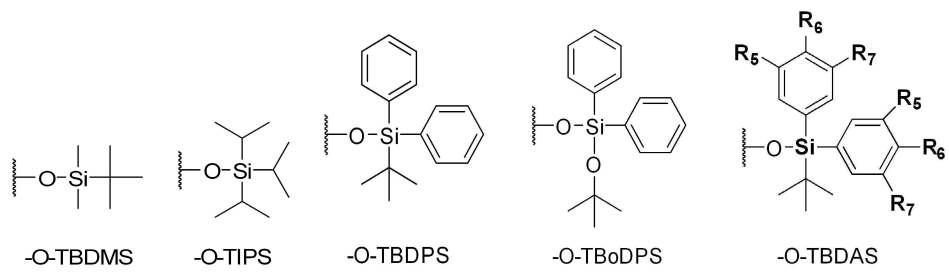
청구항 27 내지 청구항 33 중 어느 한 항에 있어서, P₁이 하기로부터 선택된 실릴 하이드록실 보호기인, 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염.



식에서 --- 는 P₁의 부착 지점을 나타내고, R₅, R₆ 및 R₇은 각각 독립적으로 H, C₁₋₃₀알킬, 또는 C₁₋₃₀알콕시이다.

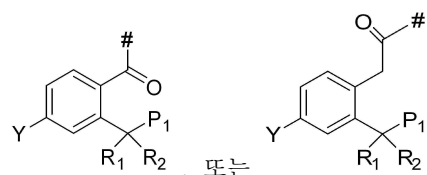
청구항 35

청구항 27 내지 청구항 34 중 어느 한 항에 있어서, P₁이 -O-TBDMS, -O-TIPS, -O-TBDPS, -O-TBoDPS, 및 -O-TBDAS로 구성된 군으로부터 선택되는, 화합물, 또는 그의 염.



청구항 36

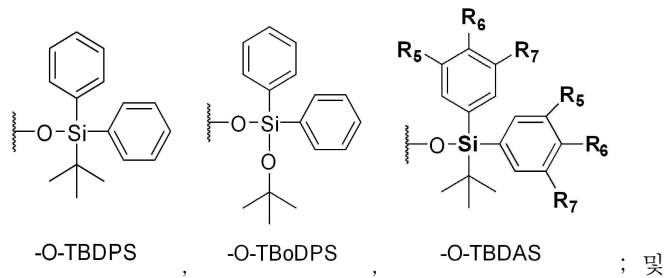
청구항 27 내지 청구항 35 중 어느 한 항에 있어서, Z가 화학식 I^{**} 또는 Ia^{**}로 표시되는 기 또는 그의 염인, 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염.



I^{**} Ia^{**}

또는 그의 염:

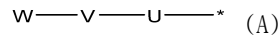
상기 식에서 P₁은 -O-TBDPS, -O-TBoDPS, 및 -O-TBDAS로 구성된 군으로부터 선택되고:



R₅, R₆ 및 R₇은 각각 독립적으로 H, C1-30알킬, 또는 C1-30알콕시이다.

청구항 37

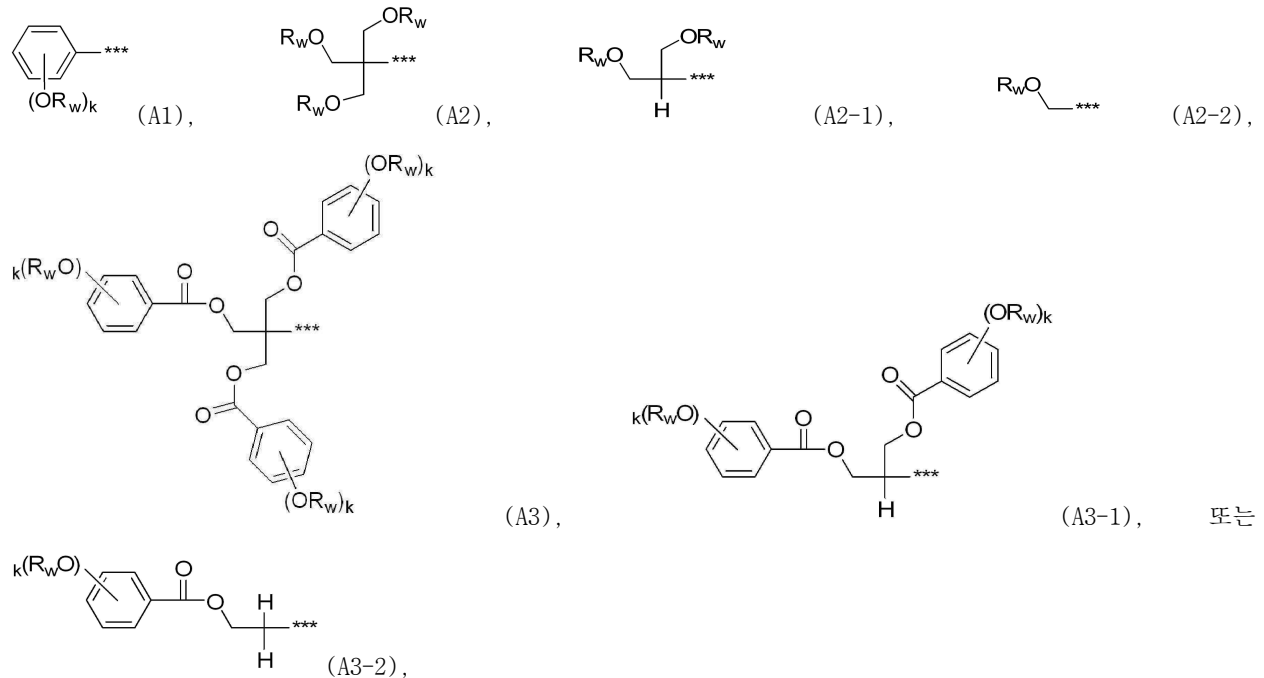
청구항 27 내지 청구항 36 중 어느 한 항에 있어서, Y가 화학식 A로 표시되는, 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염.



상기 식에서

—*는 Y에 대한 부착 지점을 나타내고;

W는 화학식 A1, A2, A2-1, A2-2, A3, A3-1, 또는 A3-2로 표시되고:



상기 식에서

—***는 W와 V가 연결되는 지점을 나타내고;

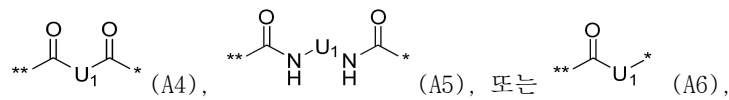
R_w은 각각 독립적으로 10개 이상의 탄소 원자를 갖는 지방족 탄화수소기이고;

k는 1 내지 5의 정수이고;

V는 결합, 산소, C₁₋₂₀알킬렌, C₁₋₆알킬닐렌, -C(=O)-, ***-C(=O)-O-**, ***-O-C(=O)-**, $\begin{matrix} ***-N-*** \\ | \\ R_8 \end{matrix}$,

$\begin{matrix} O \\ || \\ ***-N-*** \\ | \\ R_8 \end{matrix}$, $\begin{matrix} O \\ || \\ ***-N- \\ | \\ R_8 \end{matrix}$, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖고, 1 내지 3개의 R₈로 선택적으로 치환된, 5 내지 7원 헤테로아릴이고; 여기서 —**는 V와 U가 연결되는 지점을 나타내고; R₈은 H 또는 C₁₋₃₀알킬이고;

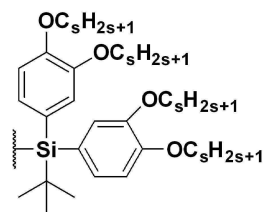
U는 결합, 산소, C₁₋₂₀알킬렌, 카르보닐, ***-O-C(=O)-**, 산소, 질소, 및 황으로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5 내지 7원 헤테로사이클릴; 산소, 질소, 및 황으로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖고, 1 내지 3개의 R₈로 선택적으로 치환된, 5 내지 7원 헤테로아릴; 또는 화학식 A4, A5, 또는 A6으로 표시되는 기이고:



상기 식에서 U₁은 C₁₋₆알킬렌, C₁₋₆알킬렌옥시, 산소, 질소, 및 황으로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5 내지 7원 헤테로사이클릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5 내지 7원 헤테로아릴이다.

청구항 38

청구항 34 내지 청구항 37 중 어느 한 항에 있어서, TBDAS기가 하기의 기인, 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염.



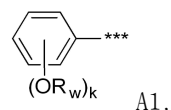
상기 식에서 s는 1 내지 30의 정수이다.

청구항 39

청구항 27 내지 청구항 37 중 어느 한 항에 있어서, P₁이 TBDPS인, 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염.

청구항 40

청구항 37 내지 청구항 39 중 어느 한 항에 있어서, W가 화학식 A1으로 표시되는, 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염.



상기 식에서 R_w는 C_nH_{2n+1}이고;

n은 1 내지 30의 정수이다.

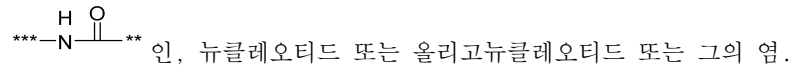
청구항 41

청구항 37 내지 청구항 40 중 어느 한 항에 있어서, R_w가 C₁₂H₂₅, C₁₈H₃₇, C₂₀H₄₁, C₂₂H₄₅, C₂₄H₄₉, C₂₆H₅₃, 및 C₂₈H₅₇으

로 구성된 군으로부터 선택되는, 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염.

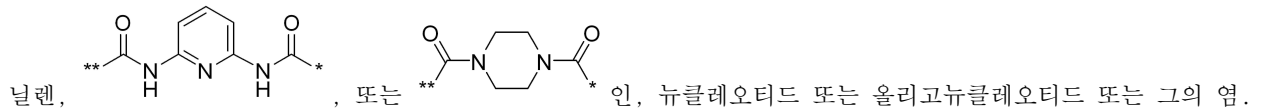
청구항 42

청구항 37 내지 청구항 41 중 어느 한 항에 있어서, V가 결합, CH₂, CH₂CH₂, C(=O)-, ***-C(=O)-O-**, 또는



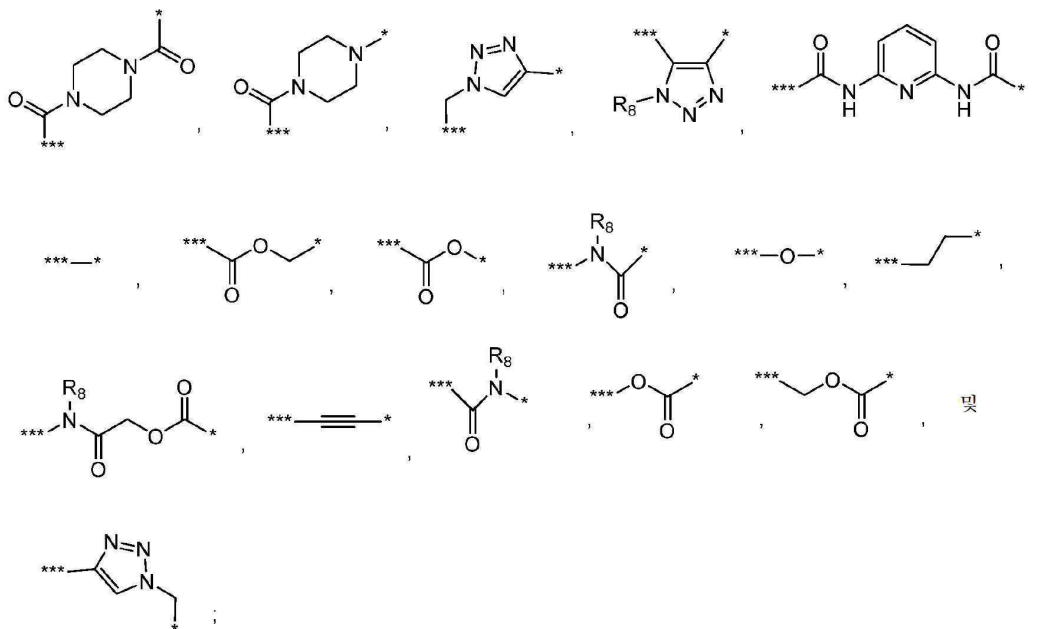
청구항 43

청구항 37 내지 청구항 42 중 어느 한 항에 있어서, U가 결합, CH₂, CH₂CH₂, 카르보닐, 트리아졸릴렌, 피페라지



청구항 44

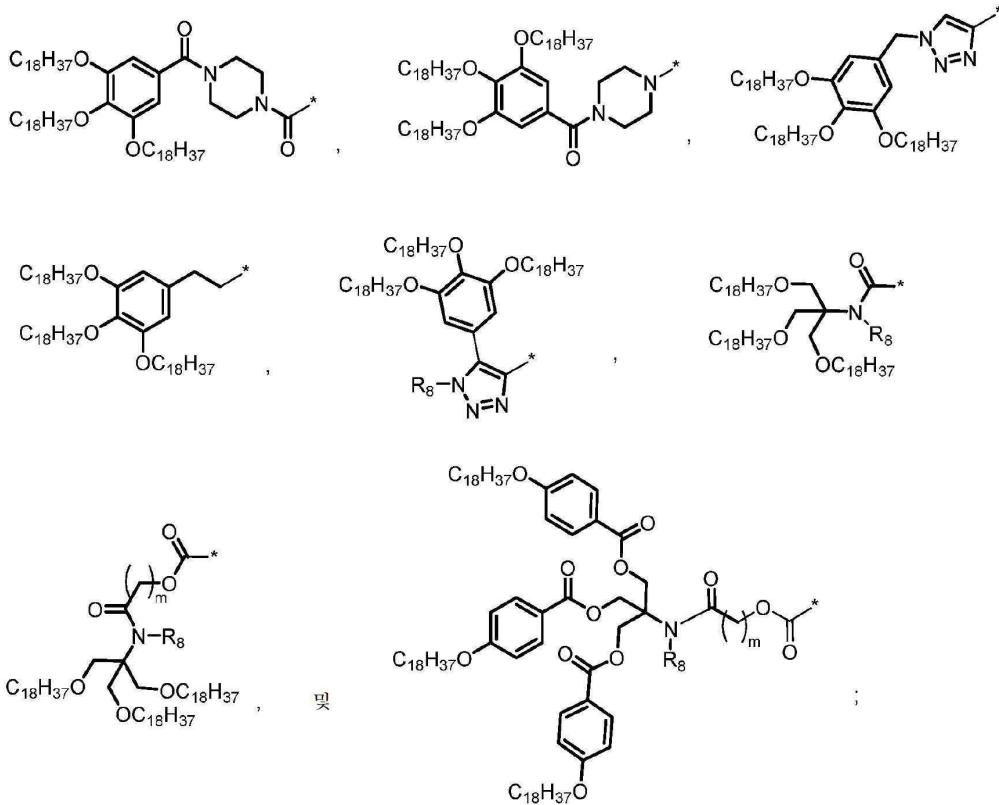
청구항 37 내지 청구항 41 중 어느 한 항에 있어서, U-V가 하기로 구성된 군으로부터 선택되는, 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염.



상기 식에서 R₈은 H 또는 C₁₋₆알킬이다.

청구항 45

청구항 27 내지 청구항 39 중 어느 한 항에 있어서, Y가 하기로 구성된 군으로부터 선택되는, 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염.



상기 식에서

R₈은 H 또는 C₁₋₆알킬이고;

m은 1 내지 5의 정수이다.

청구항 46

청구항 27 내지 청구항 45 중 어느 한 항에 있어서, R₁ 및 R₂가 독립적으로 H 또는 CH₃인, 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염.

청구항 47

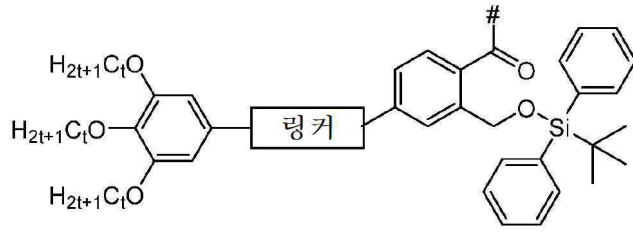
청구항 27 내지 청구항 46 중 어느 한 항에 있어서, e가 0, 1, 또는 2이고; f가 0, 1, 또는 2인, 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염.

청구항 48

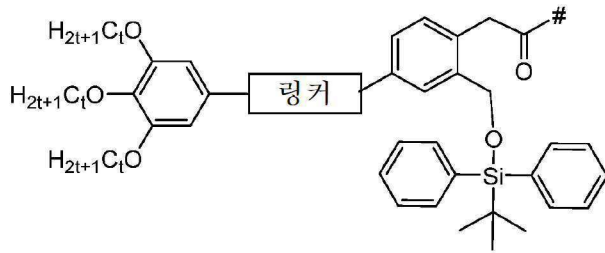
청구항 37 내지 청구항 47 중 어느 한 항에 있어서, R₈이 H 또는 C₁₋₄알킬인, 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염.

청구항 49

청구항 27 또는 청구항 28에 있어서, Z가 화학식 II* 또는 IIa*로 표시되는, 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염.



II*

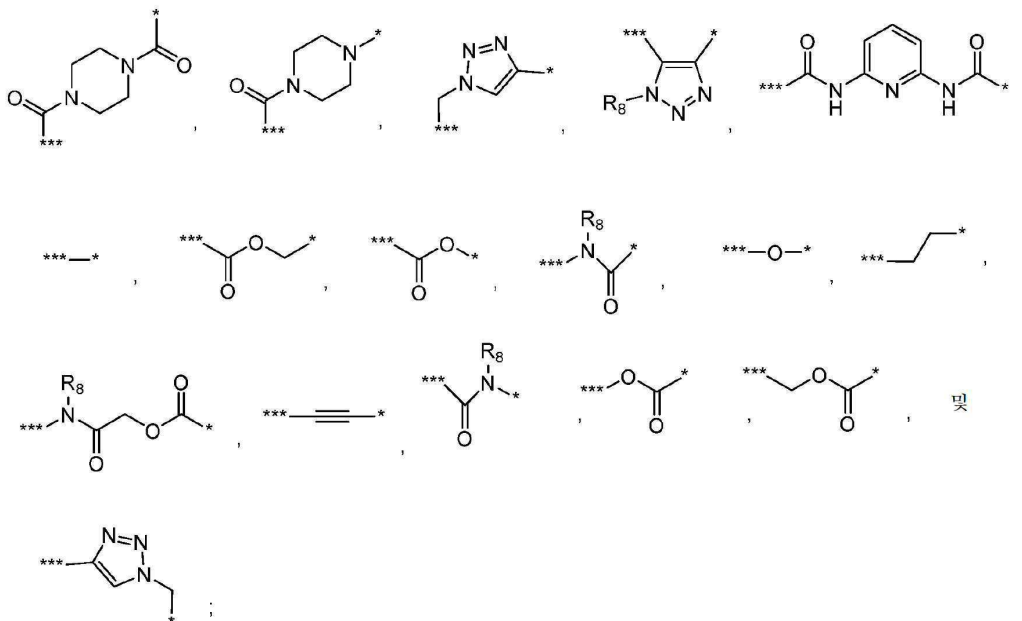


IIa*

상기 식에서

t는 10 내지 30의 정수이고;

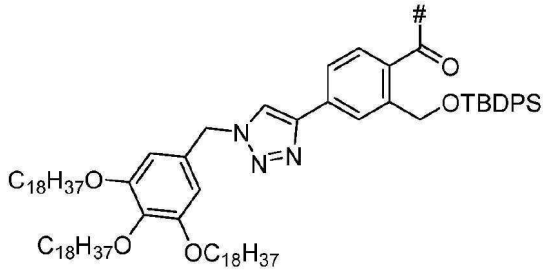
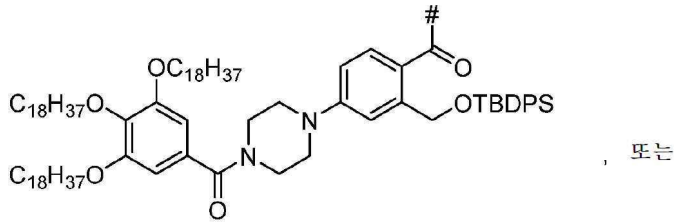
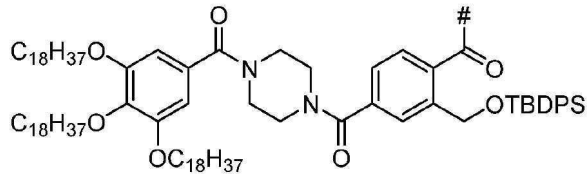
링커 는 하기로 구성된 군으로부터 선택되고;



상기 식에서 R₈은 H 또는 C₁₋₆알킬이다.

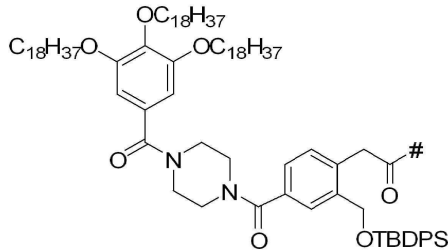
청구항 50

청구항 49에 있어서, Z가 하기인, 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염.



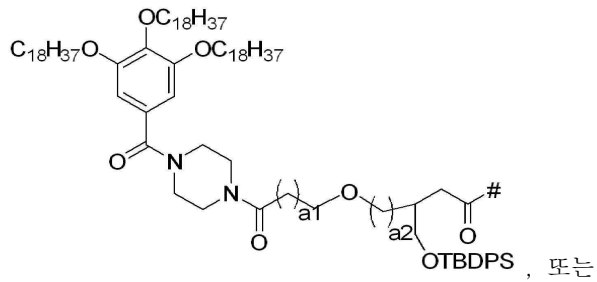
청구항 51

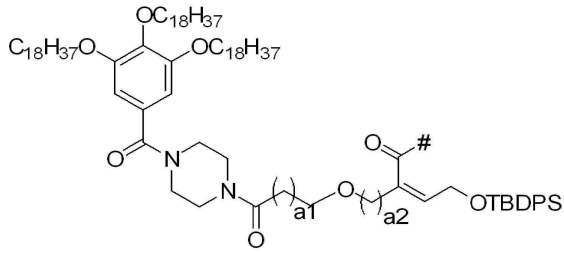
청구항 27 또는 청구항 28에 있어서, Z가 하기인, 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염.



청구항 52

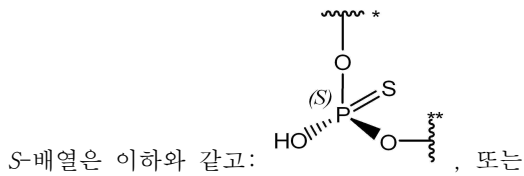
청구항 27 또는 청구항 28에 있어서, Z가 하기인, 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염.



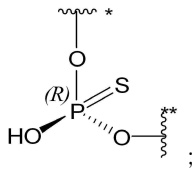


청구항 53

청구항 27 내지 청구항 52 중 어느 한 항에 있어서, X가 S일 때, 포스포로티올레이트기가 하기에 나타낸 바와 같은 S-배열 또는 R-배열을 갖는, 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염.



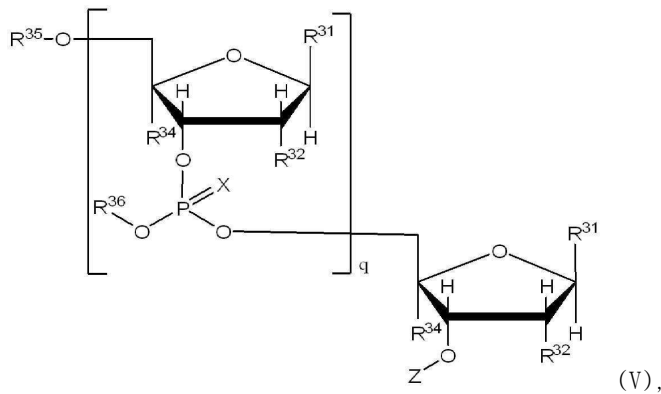
R-배열은 이하와 같고:



상기 식에서 \sim^* 는 3'-OH기에 대한 연결 지점을 나타내고 \sim^{**} 는 5'-OH기에 대한 연결 지점을 나타낸다.

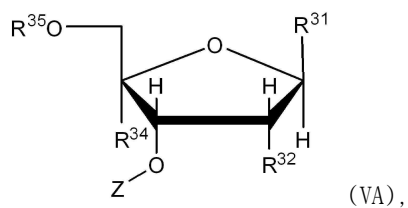
청구항 54

화학식 (V)의 올리고뉴클레오티드 단편:

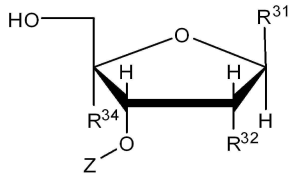


또는 그의 염의 제조 방법으로서, 하기의 단계들을 포함하는 방법.

1) 화학식 (VA)의 화합물, 또는 그의 염을 탈보호하여,

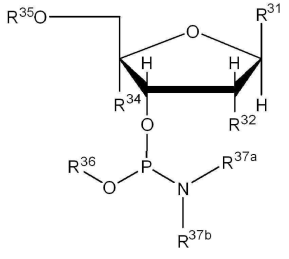


화학식 (VB)의 화합물을 형성하거나,



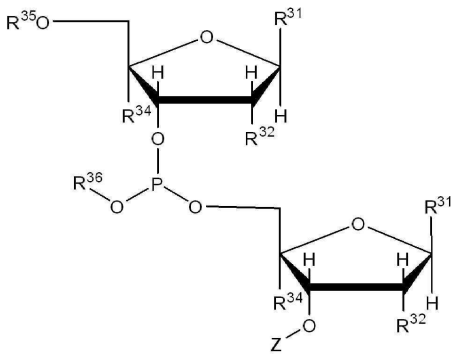
(VB), 또는 그의 염을 형성하는 단계;

2) 화학식 (VB)의 화합물, 또는 그의 염을, 화학식 (VC)의 화합물, 또는 그의 염과 반응시켜서,



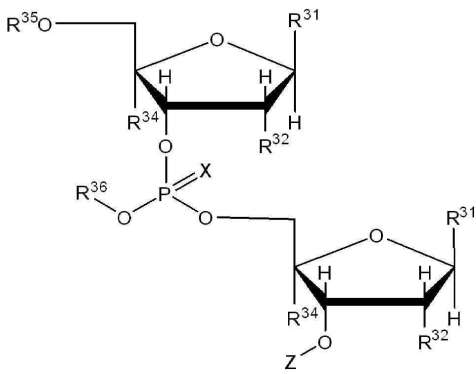
(VC),

화학식 (VD)의 화합물을 형성하거나,



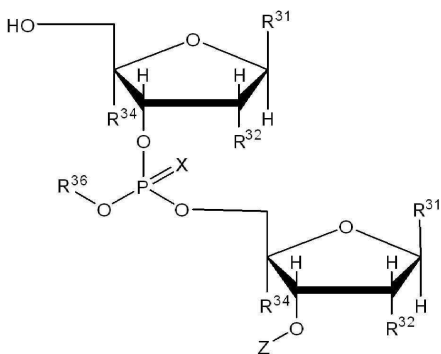
(VD), 또는 그의 염을 형성하는 단계;

3) 화학식 (VD)의 화합물, 또는 그의 염을, 황화제 또는 산화제로 황화 또는 산화시켜 화학식 (VE)의 화합물을 형성하거나,



(VE), 또는 그의 염을 형성하는 단계;

4) 화학식 (VE)의 화합물, 또는 그의 염을 탈보호하여 화학식 (VF)의 화합물을 형성하거나,



(VF), 또는 그의 염을 형성하는 단계;

5) q가 2 이상인 경우, 화학식 (VF)의 화합물로 출발하여, 단계 2), 3) 및 4)를 q-2회 반복한 다음, 단계 2) 및 3)을 거쳐 화학식 (V)의 단편, 또는 그의 염을 얻는 단계, 상기 식에서:

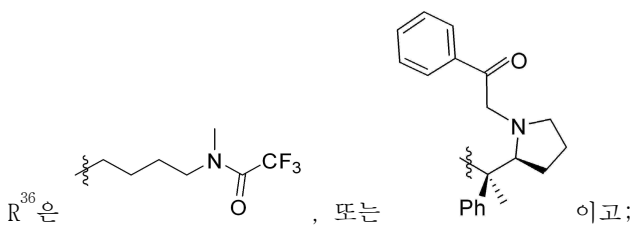
R³¹은 각 경우에 독립적으로 핵염기이고, 핵염기의 NH₂는 존재하는 경우 아민 보호기에 의해 보호되고;

R³²는 각 경우에 독립적으로 H, 할로, OH, 및 C₁₋₆알콕시로 선택적으로 치환된 C₁₋₆알콕시로 구성된 군으로부터 선택되고; 여기서 OH기는 하이드록실 보호기에 의해 선택적으로 보호되고;

R³⁴는 각 경우에 독립적으로 H이거나 또는 R³²의 알콕시기와 고리를 형성하고;

R³⁵는 하이드록실 보호기이고;

R³⁶은 각 경우에 독립적으로 C₁₋₆알킬기, C₂₋₆알케닐기, 페닐 또는 벤질기이며, 이들은 각각 -CN, -NO₂ 또는 할로겐으로 선택적으로 치환되거나; 또는

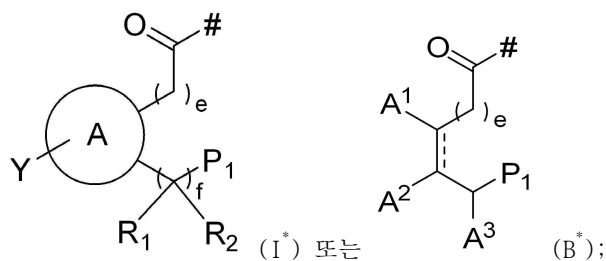


R^{37a} 및 R^{37b}는 독립적으로 C₁₋₆알킬이고;

q는 1 내지 20의 정수이고;

X는 각 경우에 독립적으로 0 또는 S이고;

Z는 화학식 I* 또는 B*로 표시되는 기이고;



상기 식에서

—#는 Z에 대한 부착 지점을 나타내고;

A¹, A² 및 A³ 중 하나는 Y^A이고 나머지는 H이고;

===는 단일 결합 또는 이중 결합이고;

Y^A는 Y-(CH₂)_{a1}CH₂O(CH₂)_{a2}-이고, 여기서 a1 및 a2는 각각 독립적으로 0 또는 1 내지 10의 정수이고;

고리 A는 페닐, 8- 내지 10-원 비사이클릭 아릴, 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5- 내지 6-원 헤테로아릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로 원자를 갖는 7- 내지 10-원 비사이클릭 헤테로아릴이고;

Y는 H, 할로젠, OR^{1A}, NR^{2A}R^{3A}, SR^{4A}, CR^{5A}R^{6A}R^{7A}, 또는 탄소 원자수 10 이상의 지방족 탄화수소기를 하나 이상 함유하는 소수성 기이고; 여기서 R^{1A}, R^{2A}, R^{3A}, R^{4A}, R^{5A}, R^{6A}, 및 R^{7A}는 각각 독립적으로 C₁₋₆알킬, C₁₋₆알케닐, C₁₋₆알키

닐, 페닐, OR^{8A} , $-OC(O)R^{8A}$, $-C(O)OR^{8A}$, $NR^{8A}R^{9A}$, $-NR^{8A}COR^{9A}$, $-CONR^{8A}R^{9A}$, 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 카르보사이클릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 2개의 헤테로 원자를 갖는 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 헤테로사이클릴이고; 여기서 R^{8A} 및 R^{9A} 는 각 경우에 독립적으로 H 또는 C_{1-6} 알킬이고;

P_1 은 NO_2 또는 실릴 하이드록실 보호기이고;

R_1 및 R_2 는 독립적으로 H, C_{1-6} 알킬, 또는 페닐이고; 여기서 C_{1-6} 알킬 및 페닐은 1 내지 3개의 R_3 로 선택적으로 치환되고;

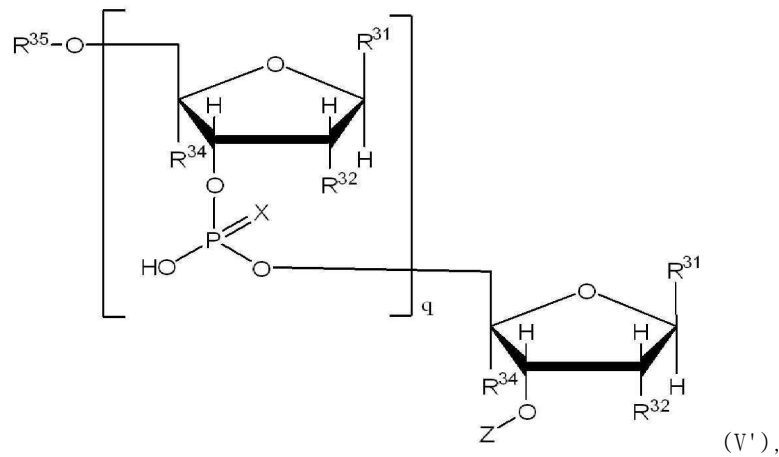
R_3 은 C_{1-30} 알콕시이고;

e 는 0 내지 6의 정수이고;

f 는 0 내지 6의 정수이다.

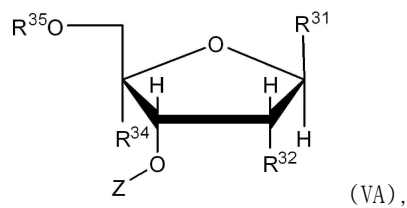
청구항 55

화학식 (V')의 올리고뉴클레오타이드 단편:

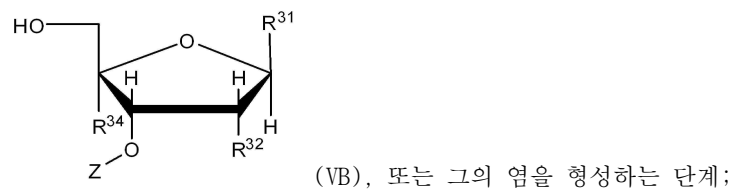


또는 그의 염의 제조 방법으로서, 하기의 단계들을 포함하는 방법.

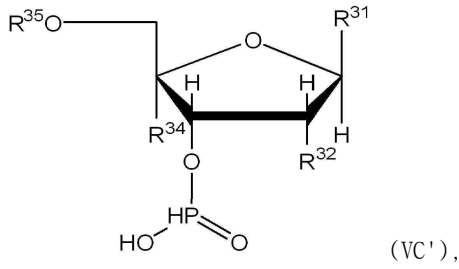
1) 화학식 (VA)의 화합물, 또는 그의 염을 탈보호하여,



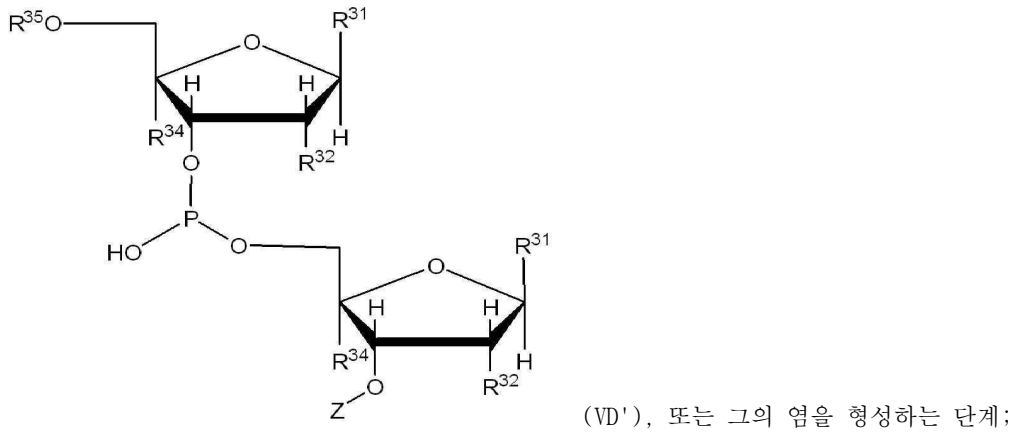
화학식 (VB)의 화합물을 형성하거나,



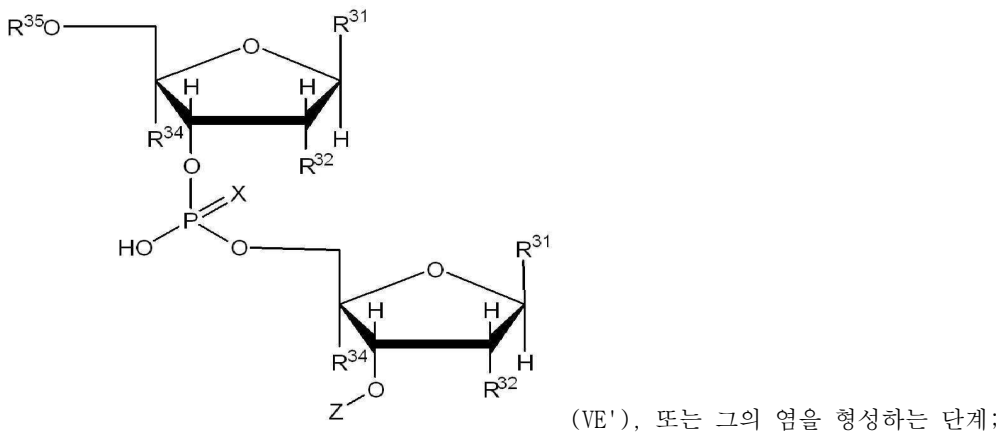
2) 화학식 (VB)의 화합물, 또는 그의 염, 화학식 (VC')의 화합물, 또는 그의 염과 반응시켜서,



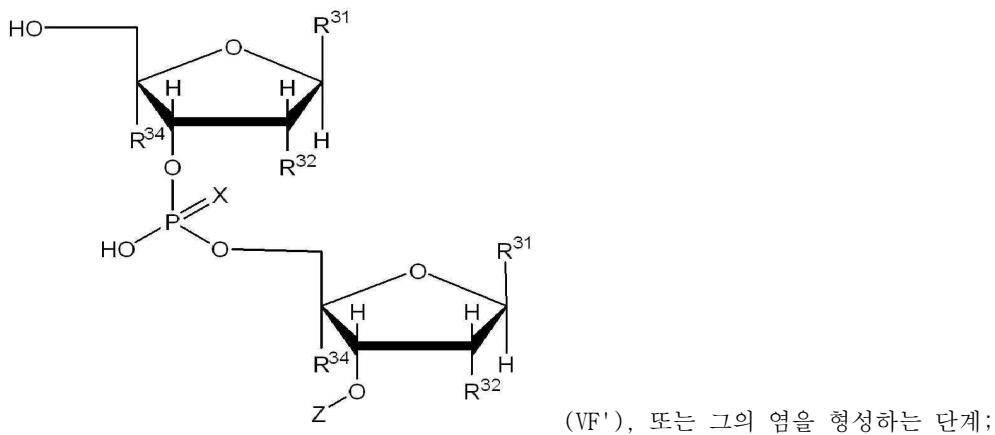
화학식 (VD')의 화합물을 형성하거나,



3) 화학식 (VD')의 화합물, 또는 그의 염을, 황화제 또는 산화제로 황화 또는 산화시켜 화학식 (VE')의 화합물을 형성하거나,



4) 화학식 (VE')의 화합물, 또는 그의 염을 탈보호하여 화학식 (VF')의 화합물을 형성하거나,



5) q가 2 이상인 경우, 화학식 (VF')의 화합물로 출발하여, 단계 2), 3) 및 4)를 q-2회 반복한 다음, 단계 2)

및 3)을 거쳐 화학식 (V')의 단편, 또는 그의 염을 얻는 단계, 상기 식에서:

R^{31} 은 각 경우에 독립적으로 핵염기이고, 핵염기의 NH_2 는 존재하는 경우 아민 보호기에 의해 보호되고;

R^{32} 는 각 경우에 독립적으로 H, 할로, OH, 및 C_{1-6} 알콕시로 선택적으로 치환된 C_{1-6} 알콕시로 구성된 군으로부터 선택되고; 여기서 OH기는 하이드록실 보호기에 의해 선택적으로 보호되고;

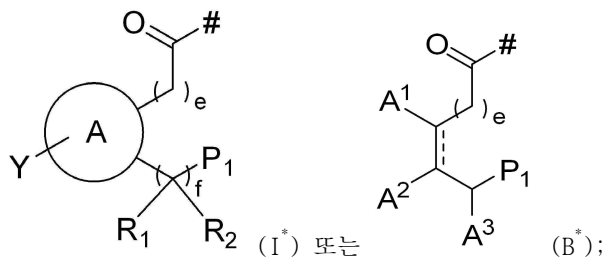
R^{34} 는 각 경우에 독립적으로 H이거나 또는 R^{32} 의 알콕시기와 고리를 형성하고;

R^{35} 는 하이드록실 보호기이고;

q는 1 내지 20의 정수이고;

X는 각 경우에 독립적으로 0 또는 S이고;

Z는 화학식 I^* 또는 B^* 로 표시되는 기이고;



상기 식에서

—#는 Z에 대한 부착 지점을 나타내고;

A^1 , A^2 및 A^3 중 하나는 Y^A 이고 나머지는 H이고;

===는 단일 결합 또는 이중 결합이고;

Y^A 는 $Y-(CH_2)_{a1}CH_2O(CH_2)_{a2}-$ 이고, 여기서 a_1 및 a_2 는 각각 독립적으로 0 또는 1 내지 10의 정수이고;

고리 A는 페닐, 8- 내지 10-원 비사이클릭 아릴, 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5- 내지 6-원 헤테로아릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로 원자를 갖는 7- 내지 10-원 비사이클릭 헤테로아릴이고;

Y는 H, 할로젠, OR^{1A} , $NR^{2A, 3A}$, SR^{4A} , $CR^{5A, 6A, 7A}$, 또는 탄소 원자수 10 이상의 지방족 탄화수소기를 하나 이상 함유하는 소수성 기이고; 여기서 R^{1A} , R^{2A} , R^{3A} , R^{4A} , R^{5A} , R^{6A} , 및 R^{7A} 는 각각 독립적으로 C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 알케닐, C_{1-6} 알키닐, 페닐, OR^{8A} , $-OC(O)R^{8A}$, $-C(O)OR^{8A}$, $NR^{8A, 9A}$, $-NR^{8A}COR^{9A}$, $-CONR^{8A, 9A}$, 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 카르보사이클릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 2개의 헤테로 원자를 갖는 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 헤테로사이클릴이고; 여기서 R^{8A} 및 R^{9A} 는 각 경우에 독립적으로 H 또는 C_{1-6} 알킬이고;

P_1 은 NO_2 또는 실릴 하이드록실 보호기이고;

R_1 및 R_2 는 독립적으로 H, C_{1-6} 알킬, 또는 페닐이고; 여기서 C_{1-6} 알킬 및 페닐은 1 내지 3개의 R_3 로 선택적으로 치환되고;

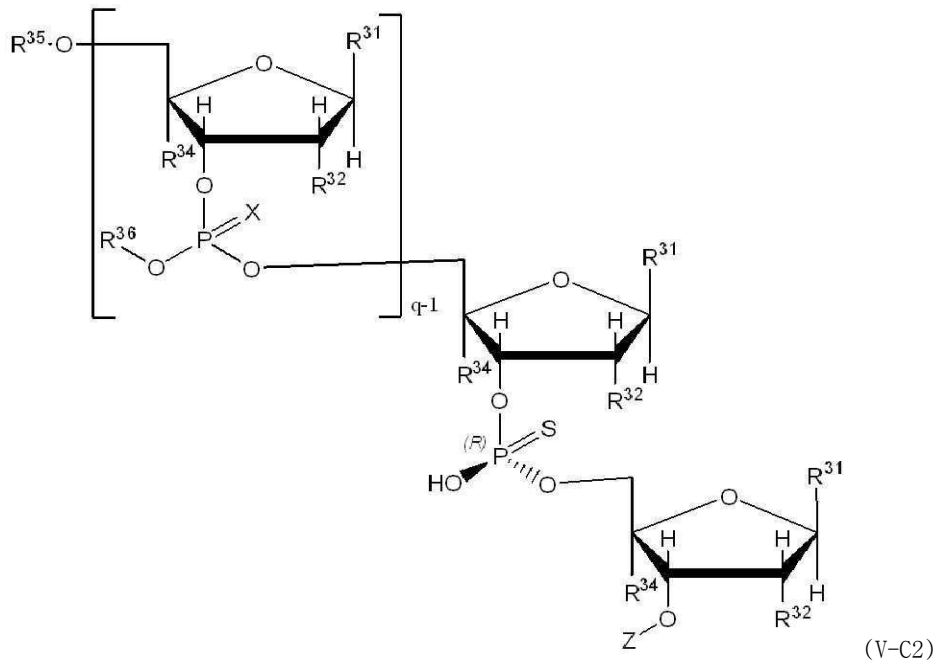
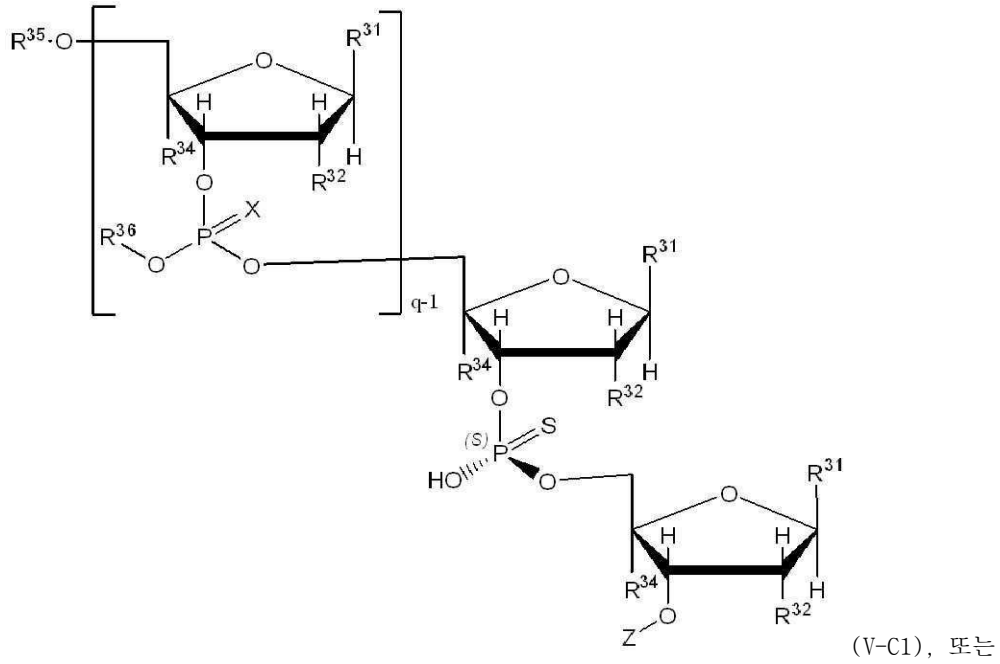
R_3 은 C_{1-30} 알콕시이고;

e는 0 내지 6의 정수이고;

f는 0 내지 6의 정수이다.

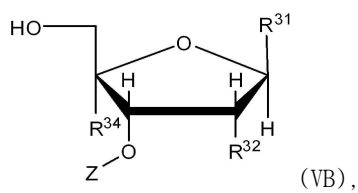
청구항 56

화학식 (V-C1) 또는 (V-C2)의 올리고뉴클레오타이드 단편:

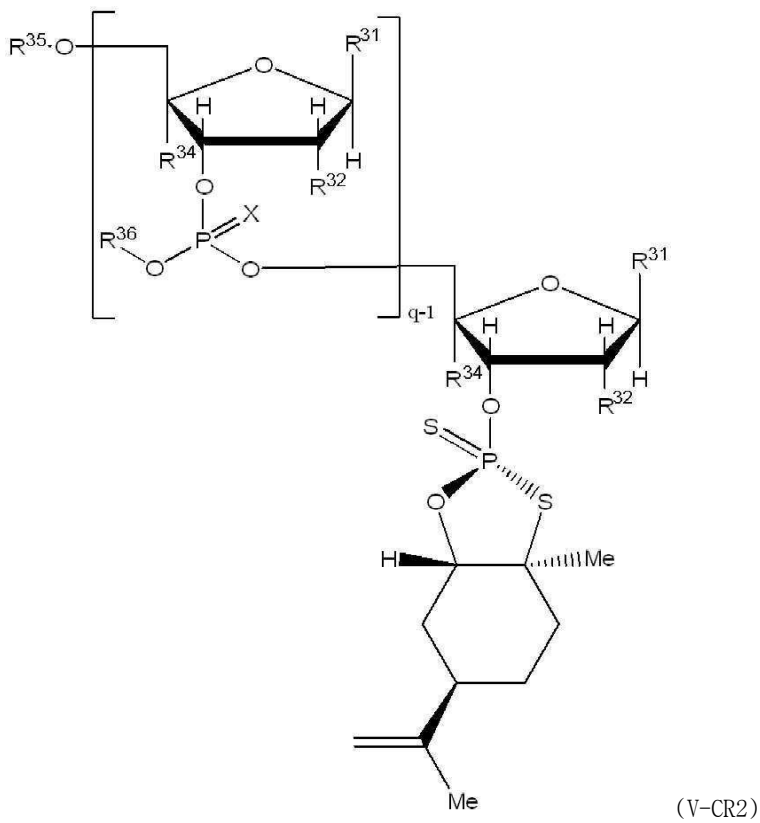
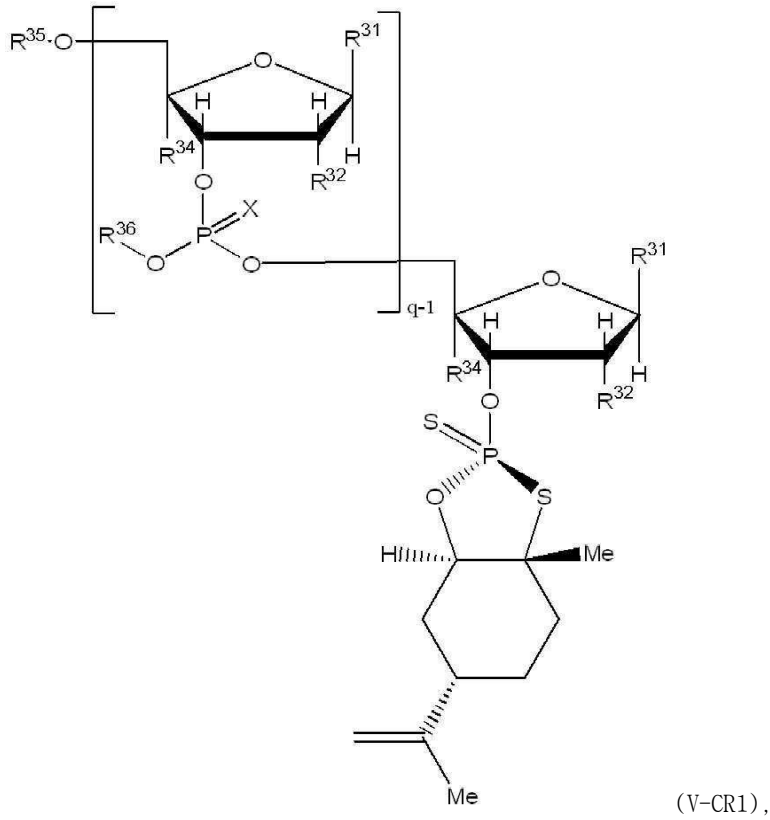


또는 그의 염의 제조 방법으로서, 하기의 단계들을 포함하는 방법.

1) 화학식 (VB)의 화합물:



또는 그의 염을, 화학식 (V-CR1) 또는 (V-CR2)의 화합물:



또는 그의 염, 및 염기와 반응시켜서, 화학식 (V-C1) 또는 (V-C2)의 화합물을 형성하는 단계, 상기 식에서:

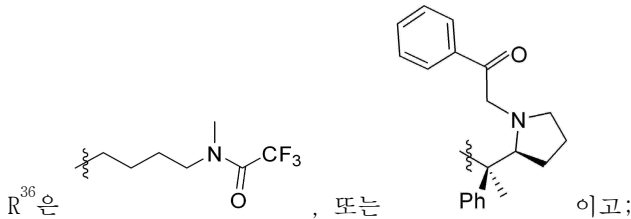
R^{31} 은 각 경우에 독립적으로 핵염기이고, 핵염기의 NH_2 는 존재하는 경우 아민 보호기에 의해 보호되고;

R^{32} 는 각 경우에 독립적으로 H, 할로, OH, 및 C_{1-6} 알콕시로 선택적으로 치환된 C_{1-6} 알콕시로 구성된 군으로부터 선택되고; 여기서 OH기는 하이드록실 보호기에 의해 선택적으로 보호되고;

R³⁴는 각 경우에 독립적으로 H이거나 또는 R³²의 알콕시기와 고리를 형성하고;

R³⁵는 하이드록실 보호기이고;

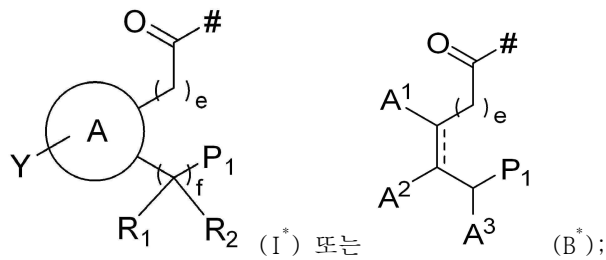
R³⁶은 각 경우에 독립적으로 C₁₋₆알킬기, C₂₋₆알케닐기, 페닐 또는 벤질기이며, 이들은 각각 -CN, -NO₂ 또는 할로겐으로 선택적으로 치환되거나; 또는



q는 1 내지 20의 정수이고;

X는 각 경우에 독립적으로 0 또는 S이되, 단 X가 S인 경우, 포스포로티올레이트기는 S-배열, R-배열 또는 이들의 혼합물(예컨대, 라세미 혼합물)을 갖고;

Z는 화학식 I* 또는 B*로 표시되는 기이고;



상기 식에서

—#는 Z에 대한 부착 지점을 나타내고;

A¹, A² 및 A³ 중 하나는 Y^A이고 나머지는 H이고;

===는 단일 결합 또는 이중 결합이고;

Y^A는 Y-(CH₂)_{a1}CH₂O(CH₂)_{a2}-이고, 여기서 a1 및 a2는 각각 독립적으로 0 또는 1 내지 10의 정수이고;

고리 A는 페닐, 8- 내지 10-원 비사이클릭 아릴, 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5- 내지 6-원 헤테로아릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로 원자를 갖는 7- 내지 10-원 비사이클릭 헤테로아릴이고;

Y는 H, 할로젠, OR^{1A}, NR^{2A, 3A}, SR^{4A}, CR^{5A, 6A, 7A}, 또는 탄소 원자수 10 이상의 지방족 탄화수소기를 하나 이상 함유하는 소수성 기이고; 여기서 R^{1A}, R^{2A}, R^{3A}, R^{4A}, R^{5A}, R^{6A}, 및 R^{7A}는 각각 독립적으로 C₁₋₆알킬, C₁₋₆알케닐, C₁₋₆알키닐, 페닐, OR^{8A}, -OC(O)R^{8A}, -C(O)OR^{8A}, NR^{8A, 9A}, -NR^{8A}COR^{9A}, -CONR^{8A, 9A}, 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 카르보사이클릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 2개의 헤테로 원자를 갖는 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 헤테로사이클릴이고; 여기서 R^{8A} 및 R^{9A}는 각 경우에 독립적으로 H 또는 C₁₋₆알킬이고;

P₁은 NO₂ 또는 실릴 하이드록실 보호기이고;

R₁ 및 R₂는 독립적으로 H, C₁₋₆알킬, 또는 페닐이고; 여기서 C₁₋₆알킬 및 페닐은 1 내지 3개의 R₃로 선택적으로 치

환되고;

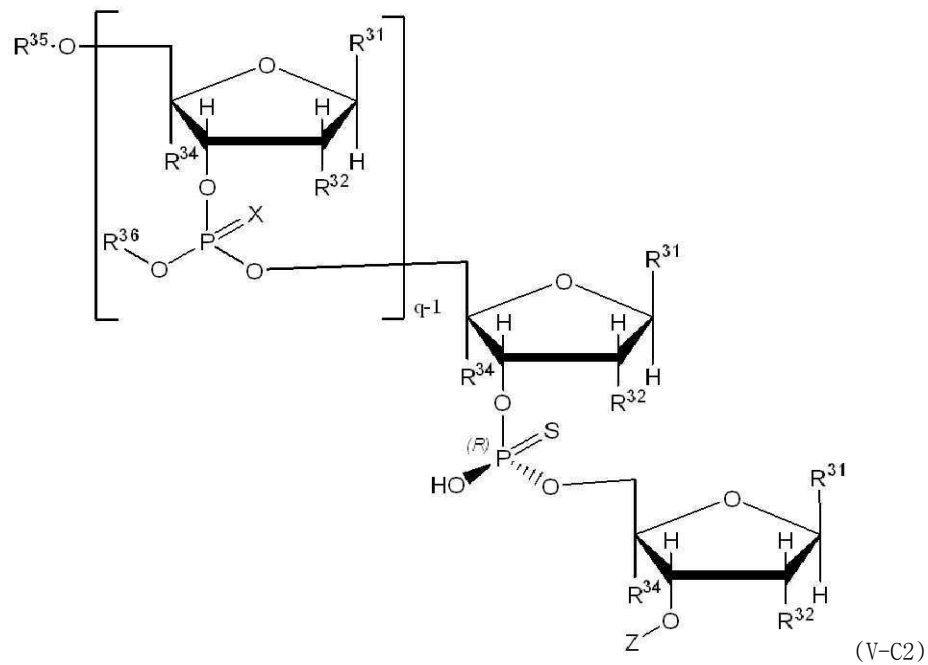
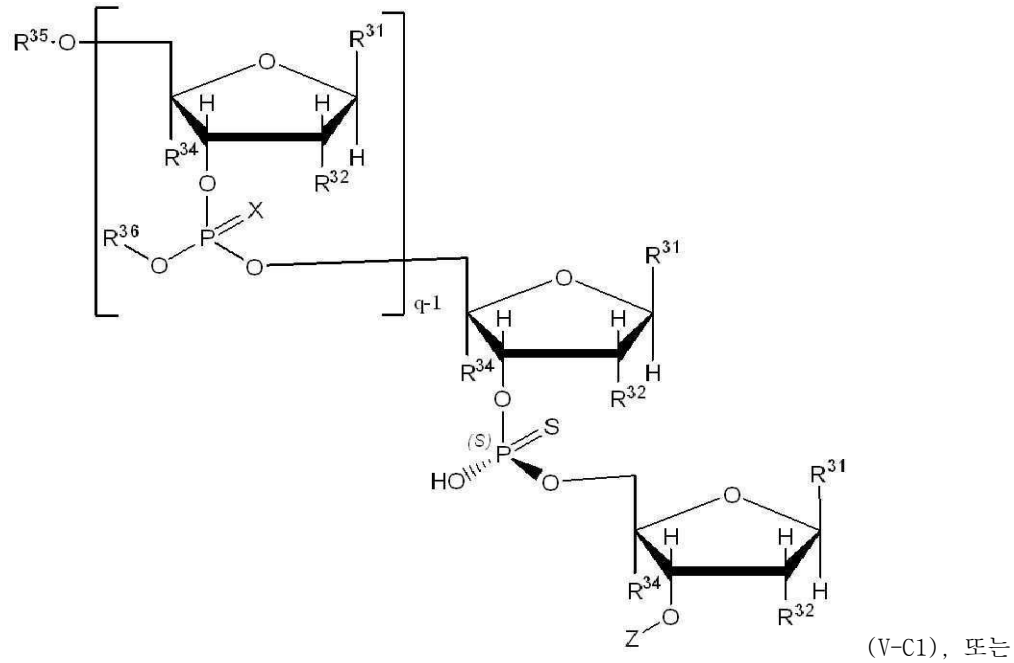
R₃은 C₁₋₃₀알콕시이고;

e는 0 내지 6의 정수이고;

f는 0 내지 6의 정수이다.

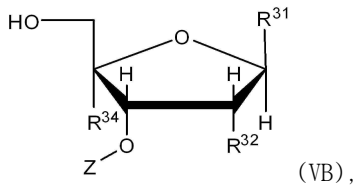
청구항 57

화학식 (V-C1) 또는 (V-C2)의 올리고뉴클레오티드 단편:

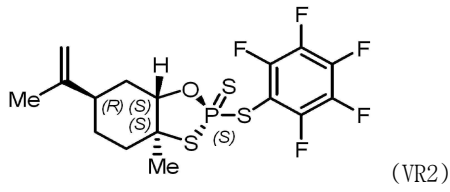
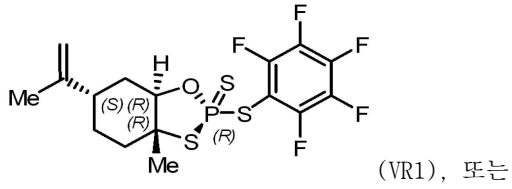


또는 그의 염의 제조 방법으로서, 하기의 단계들을 포함하는 방법.

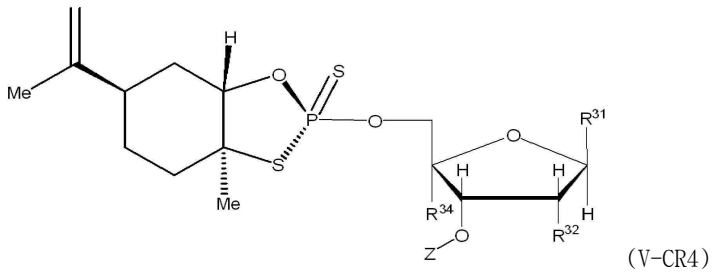
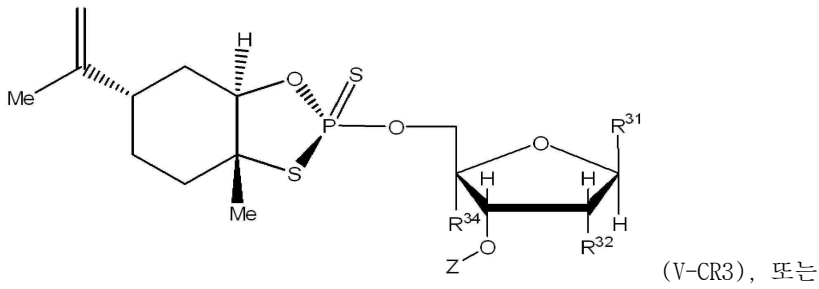
1) 화학식 (VB)의 화합물:



또는 그의 염을, 화학식 (VR1) 또는 (VR2)의 시약과 반응시켜서,

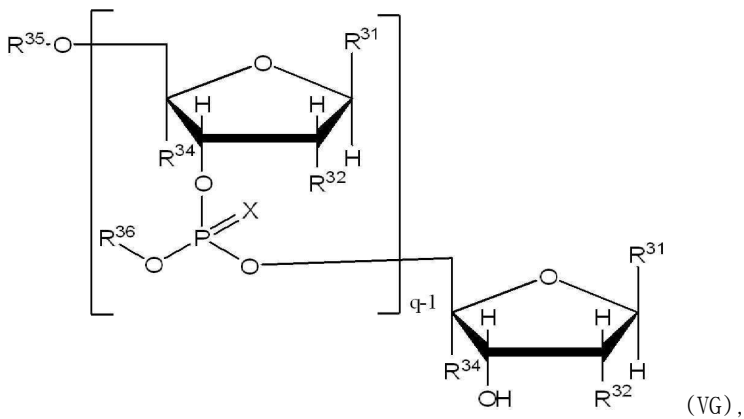


화학식 (V-CR3) 또는 (V-CR4)의 화합물을 형성하거나,



또는 그의 염을 형성하는 단계;

2) 화학식 (V-CR3) 또는 (V-CR4)의 화합물, 또는 그의 염을, 화학식 (VG)의 화합물:



또는 그의 염, 및 염기와 반응시켜서, 화학식 (V-C1) 또는 (V-C2)의 화합물을 형성하는 단계, 상기 식에서:

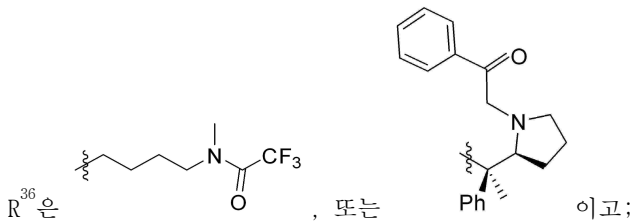
R³¹은 각 경우에 독립적으로 핵염기이고, 핵염기의 NH₂는 존재하는 경우 아민 보호기에 의해 보호되고;

R³²는 각 경우에 독립적으로 H, 할로, OH, 및 C₁₋₆알콕시로 선택적으로 치환된 C₁₋₆알콕시로 구성된 군으로부터 선택되고; 여기서 OH기는 하이드록실 보호기에 의해 선택적으로 보호되고;

R³⁴는 각 경우에 독립적으로 H이거나 또는 R³²의 알콕시기와 고리를 형성하고;

R³⁵는 하이드록실 보호기이고;

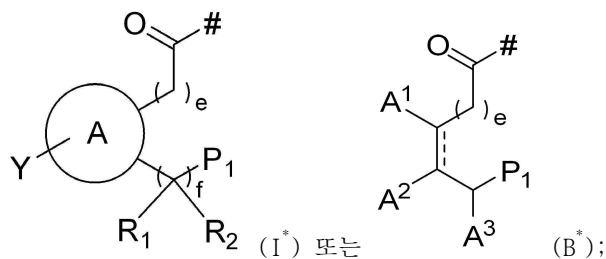
R³⁶은 각 경우에 독립적으로 C₁₋₆알킬기, C₂₋₆알케닐기, 페닐 또는 벤질기이며, 이들은 각각 -CN, -NO₂ 또는 할로겐으로 선택적으로 치환되거나; 또는



q는 1 내지 20의 정수이고;

X는 각 경우에 독립적으로 0 또는 S이되, 단 X가 S인 경우, 포스포로티올레이트기는 S-배열, R-배열 또는 이들의 혼합물(예컨대, 라세미 혼합물)을 갖고;

Z는 화학식 I* 또는 B*로 표시되는 기이고;



상기 식에서

—#는 Z에 대한 부착 지점을 나타내고;

A¹, A² 및 A³ 중 하나는 Y^A이고 나머지는 H이고;

===는 단일 결합 또는 이중 결합이고;

Y^A는 Y-(CH₂)_{a1}CH₂O(CH₂)_{a2}-이고, 여기서 a1 및 a2는 각각 독립적으로 0 또는 1 내지 10의 정수이고;

고리 A는 페닐, 8- 내지 10-원 비사이클릭 아릴, 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5- 내지 6-원 헤테로아릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로 원자를 갖는 7- 내지 10-원 비사이클릭 헤테로아릴이고;

Y는 H, 할로겐, OR^{1A}, NR^{2A}R^{3A}, SR^{4A}, CR^{5A}R^{6A}R^{7A}, 또는 탄소 원자수 10 이상의 지방족 탄화수소기를 하나 이상 함유하는 소수성 기이고; 여기서 R^{1A}, R^{2A}, R^{3A}, R^{4A}, R^{5A}, R^{6A}, 및 R^{7A}는 각각 독립적으로 C₁₋₆알킬, C₁₋₆알케닐, C₁₋₆알키닐, 페닐, OR^{8A}, -OC(O)R^{8A}, -C(O)OR^{8A}, NR^{8A}R^{9A}, -NR^{8A}COR^{9A}, -CONR^{8A}R^{9A}, 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 카르보사이클릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 2개의 헤테로 원자를

갖는 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 헤테로사이클릭이고; 여기서 R^{8A} 및 R^{9A} 는 각 경우에 독립적으로 H 또는 C_{1-6} 알킬이고;

P_1 은 NO_2 또는 실릴 하이드록실 보호기이고;

R_1 및 R_2 는 독립적으로 H, C_{1-6} 알킬, 또는 페닐이고; 여기서 C_{1-6} 알킬 및 페닐은 1 내지 3개의 R_3 로 선택적으로 치환되고;

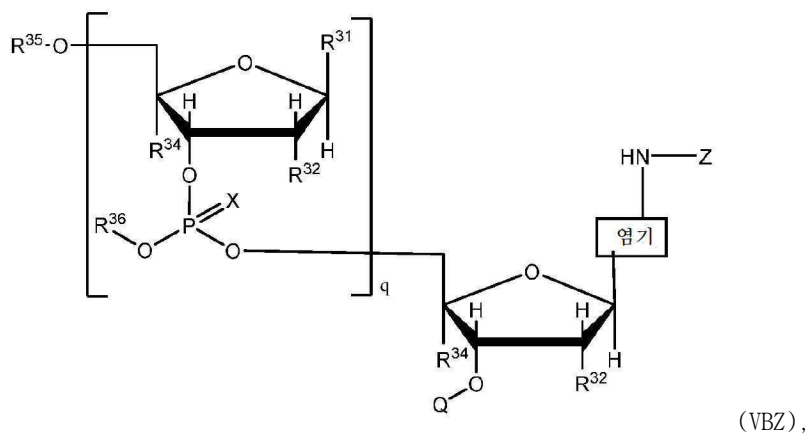
R_3 은 C_{1-30} 알콕시이고;

e는 0 내지 6의 정수이고;

f는 0 내지 6의 정수이다.

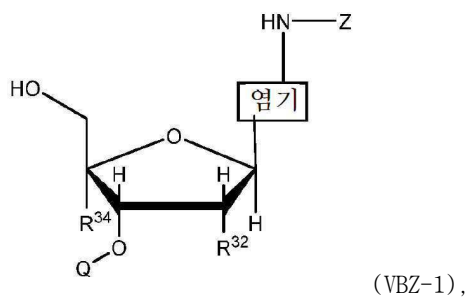
청구항 58

화학식 (VBZ)의 올리고뉴클레오타이드 단편:

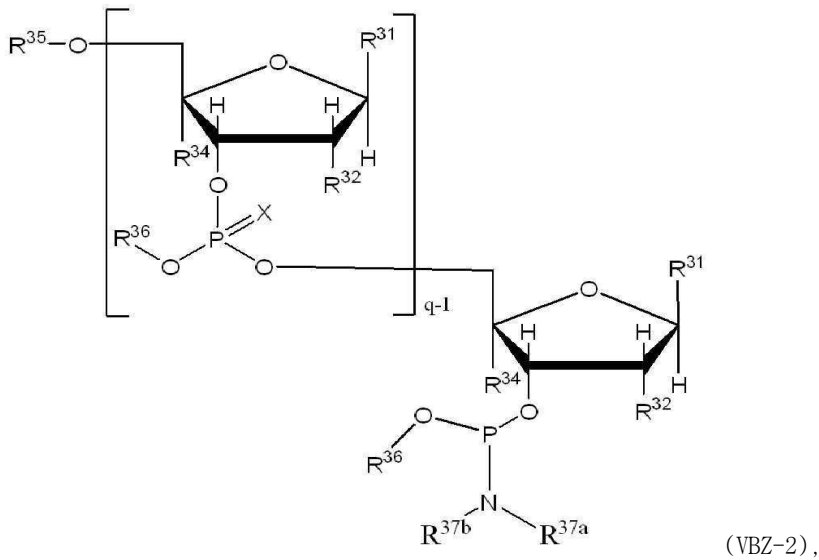


또는 그의 염의 제조 방법으로서, 하기의 단계들을 포함하는 방법.

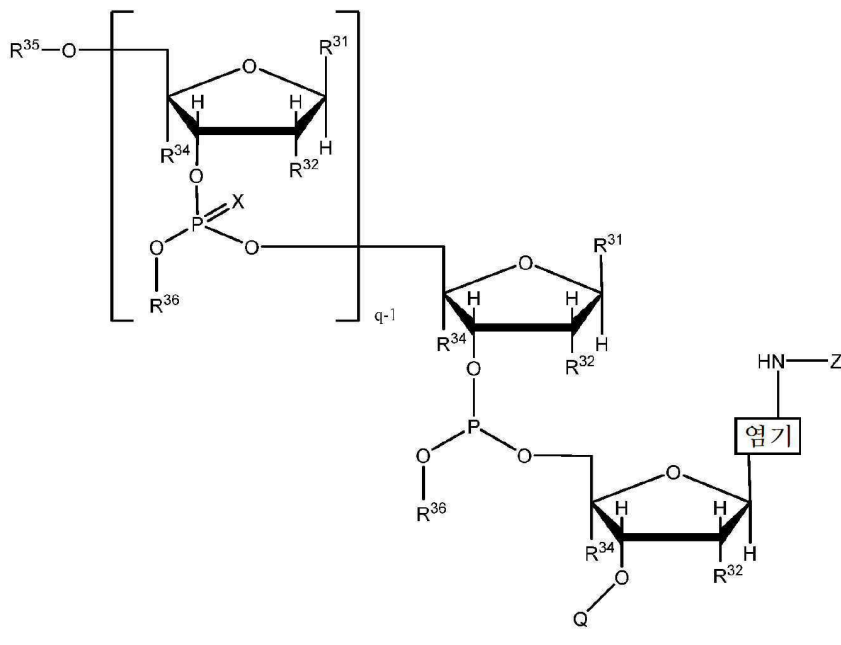
1) 화학식 (VBZ-1)의 화합물:



또는 그의 염을, 화학식 (VBZ-2)의 화합물:



또는 그의 염과 반응시켜서, 화학식 (VBZ-3)의 화합물을 형성하거나,



는 단계;

2) 화학식 (VBZ-3)의 화합물, 또는 그의 염을, 황화제 또는 산화제로 황화 또는 산화시켜 화학식 (VBZ)의 화합물, 또는 그의 염을 형성하는 단계;

상기 식에서:

Q는 하이드록실 보호기이고;

염기 는 Z에 의해 변형된 NH₂기를 함유하는 핵염기이고;

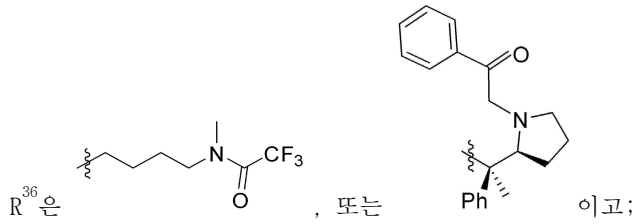
R³¹은 각 경우에 독립적으로 핵염기이고, 핵염기의 NH₂는 존재하는 경우 아민 보호기에 의해 보호되고;

R³²는 각 경우에 독립적으로 H, 할로, OH, 및 C₁₋₆알콕시로 선택적으로 치환된 C₁₋₆알콕시로 구성된 군으로부터 선택되고; 여기서 OH기는 하이드록실 보호기에 의해 선택적으로 보호되고;

R³⁴는 각 경우에 독립적으로 H이거나 또는 R³²의 알콕시기와 고리를 형성하고;

R³⁵는 하이드록실 보호기이고;

R³⁶은 각 경우에 독립적으로 C₁₋₆알킬기, C₂₋₆알케닐기, 페닐 또는 벤질기이며, 이들은 각각 -CN, -NO₂ 또는 할로겐으로 선택적으로 치환되거나; 또는

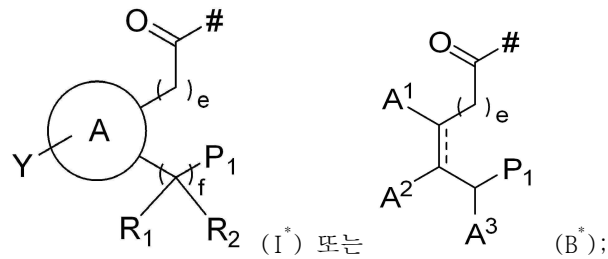


R^{37a} 및 R^{37b}는 독립적으로 C₁₋₆알킬이고;

q는 1 내지 20의 정수이고;

X는 각 경우에 독립적으로 O 또는 S이고;

Z는 화학식 I* 또는 B*로 표시되는 기이고;



상기 식에서

—#는 Z에 대한 부착 지점을 나타내고;

A¹, A² 및 A³ 중 하나는 Y^A이고 나머지는 H이고;

===는 단일 결합 또는 이중 결합이고;

Y^A는 Y-(CH₂)_{a1}CH₂O(CH₂)_{a2}-이고, 여기서 a1 및 a2는 각각 독립적으로 0 또는 1 내지 10의 정수이고;

고리 A는 페닐, 8- 내지 10-원 비사이클릭 아릴, 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5- 내지 6-원 헤테로아릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로 원자를 갖는 7- 내지 10-원 비사이클릭 헤테로아릴이고;

Y는 H, 할로젠, OR^{1A}, NR^{2A}R^{3A}, SR^{4A}, CR^{5A}R^{6A}R^{7A}, 또는 탄소 원자수 10 이상의 지방족 탄화수소기를 하나 이상 함유하는 소수성 기이고; 여기서 R^{1A}, R^{2A}, R^{3A}, R^{4A}, R^{5A}, R^{6A}, 및 R^{7A}는 각각 독립적으로 C₁₋₆알킬, C₁₋₆알케닐, C₁₋₆알키닐, 페닐, OR^{8A}, -OC(O)R^{8A}, -C(O)OR^{8A}, NR^{8A}R^{9A}, -NR^{8A}COR^{9A}, -CONR^{8A}R^{9A}, 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 카르보사이클릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 2개의 헤테로 원자를 갖는 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 헤테로사이클릴이고; 여기서 R^{8A} 및 R^{9A}는 각 경우에 독립적으로 H 또는 C₁₋₆알킬이고;

P₁은 NO₂ 또는 실릴 하이드록실 보호기이고;

R₁ 및 R₂는 독립적으로 H, C₁₋₆알킬, 또는 페닐이고; 여기서 C₁₋₆알킬 및 페닐은 1 내지 3개의 R₃로 선택적으로 치환되고;

R₃은 C₁₋₃₀알콕시이고;

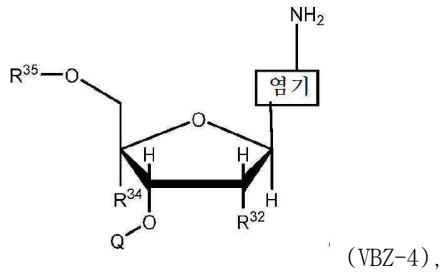
e는 0 내지 6의 정수이고;

f는 0 내지 6의 정수이다.

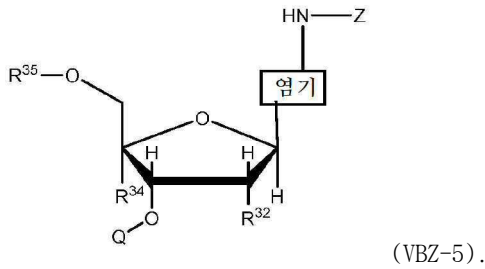
청구항 59

청구항 58에 있어서, 화학식 VBZ-1의 화합물이 하기의 단계들에 의해 제조되는, 방법.

i) 화학식 (VBZ-4)의 화합물,



또는 그의 염을, Z-OH와 반응시켜서 화학식 VBZ-5의 화합물을 형성하거나,



또는 그의 염을 형성하는 단계; 및

ii) 화학식 (VBZ-5)의 화합물을 탈보호하여 화학식 (VBZ-1)의 화합물을 형성하는 단계.

청구항 60

청구항 54 내지 청구항 59 중 어느 한 항에 있어서, Y가 탄소 원자수 10 이상의 지방족 탄화수소기를 하나 이상 함유하는 소수성 기인, 방법.

청구항 61

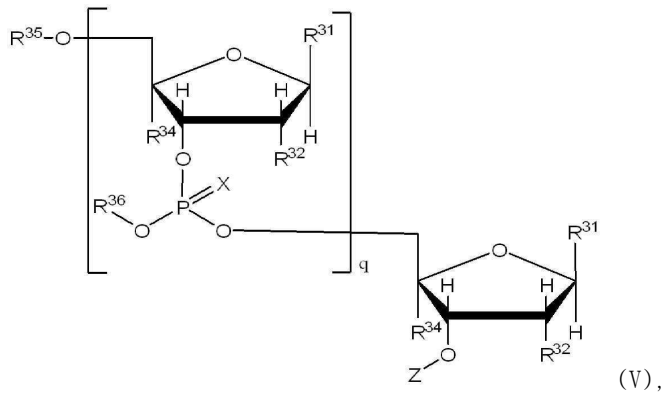
청구항 54 내지 청구항 60 중 어느 한 항에 있어서, 단계 1), 2), 3) 및 4) 중 어느 하나의 반응 생성물을 정제하기 위해 크로마토그래피를 사용하지 않는, 방법.

청구항 62

청구항 54 내지 청구항 61 중 어느 한 항에 있어서, 단계 1), 2), 3) 및 4) 중 어느 하나의 반응 생성물을 선택적 석출에 의해 정제하는, 방법.

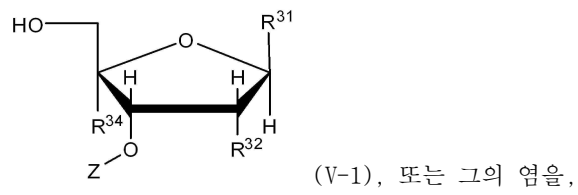
청구항 63

화학식 (V)의 올리고뉴클레오티드 단편:

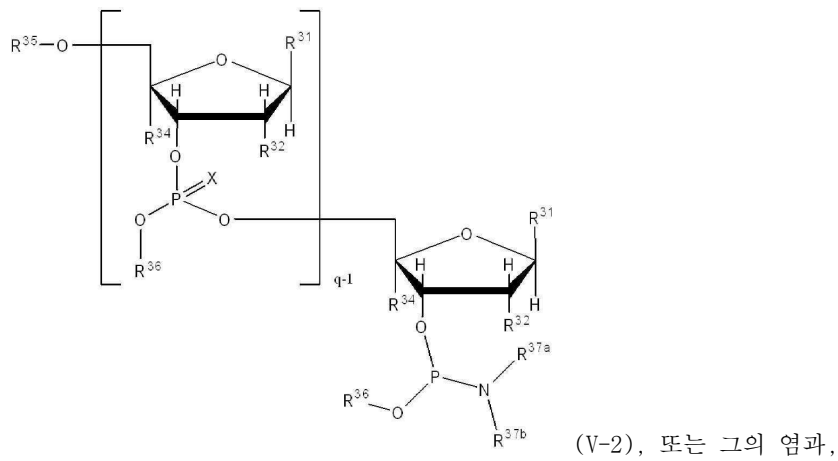


또는 그의 염의 제조 방법으로서, 하기의 단계들을 포함하는 방법.

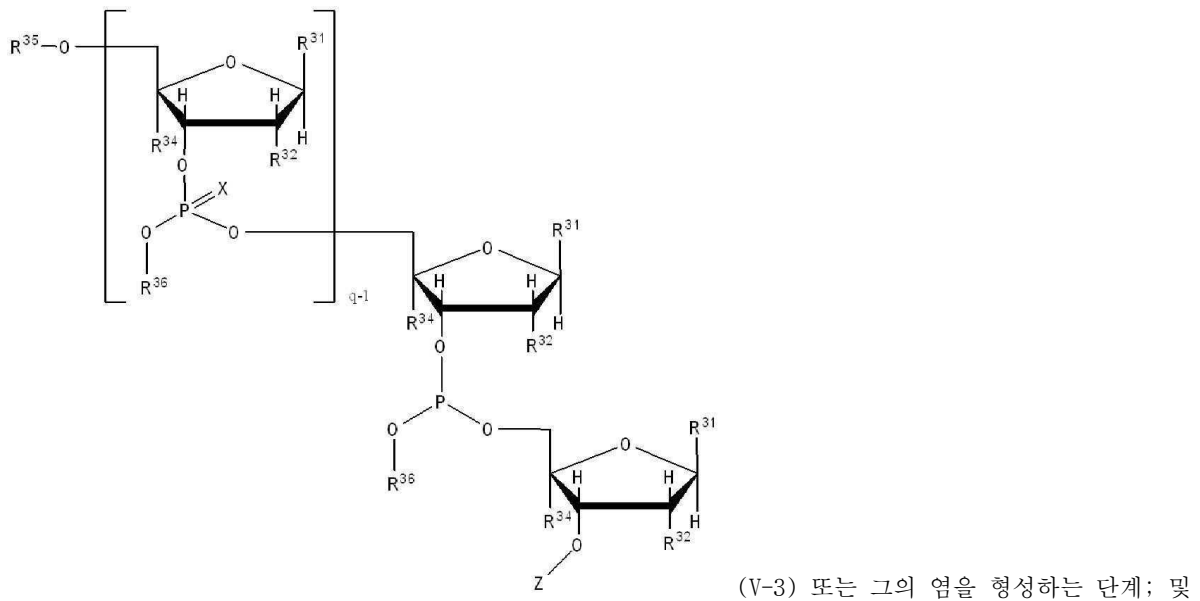
c) 화학식 (V-1)의 뉴클레오티드:



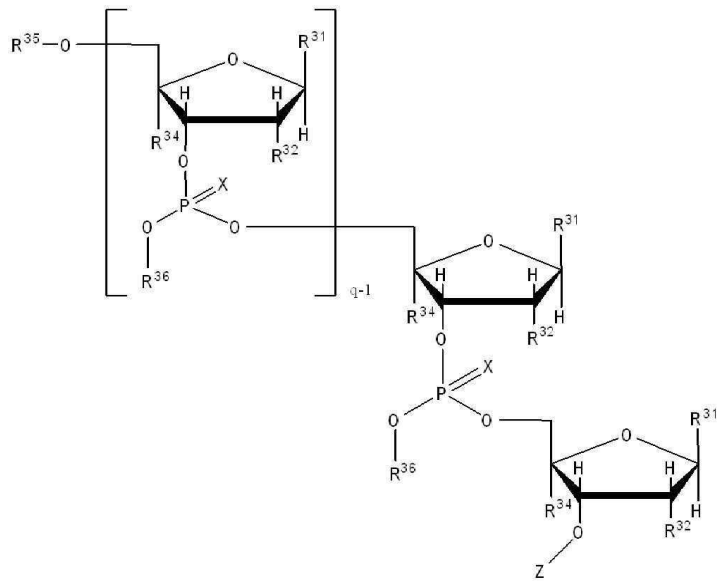
화학식 (V-2)의 올리고뉴클레오티드 단편:



용액 중에서 커플링시켜 화학식 (V-3)의 올리고뉴클레오티드 단편:



d) 화학식 (V-3)의 올리고뉴클레오타이드, 또는 그의 염을, 황화 또는 산화시켜, 화학식 (V)의 올리고뉴클레오타이드:



(V) 또는 그의 염을 형성하는 단계;

상기 식에서:

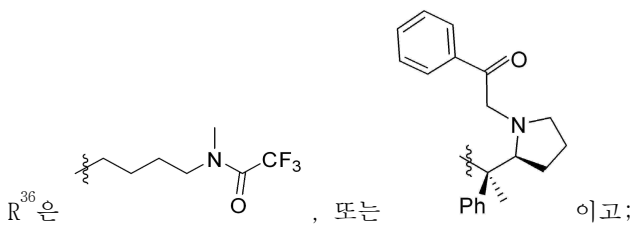
R^{31} 은 각 경우에 독립적으로 핵염기이고, 핵염기의 NH_2 는 존재하는 경우 아민 보호기에 의해 보호되고;

R^{32} 는 각 경우에 독립적으로 H, 할로, OH, 및 C_{1-6} 알콕시로 선택적으로 치환된 C_{1-6} 알콕시로 구성된 군으로부터 선택되고; 여기서 OH기는 하이드록실 보호기에 의해 선택적으로 보호되고;

R^{34} 는 각 경우에 독립적으로 H이거나 또는 R^{32} 의 알콕시기와 고리를 형성하고;

R^{35} 는 하이드록실 보호기이고;

R^{36} 은 각 경우에 독립적으로 C_{1-6} 알킬기, C_{2-6} 알케닐기, 페닐 또는 벤질기이며, 이들은 각각 $-CN$, $-NO_2$ 또는 할로겐으로 선택적으로 치환되거나; 또는

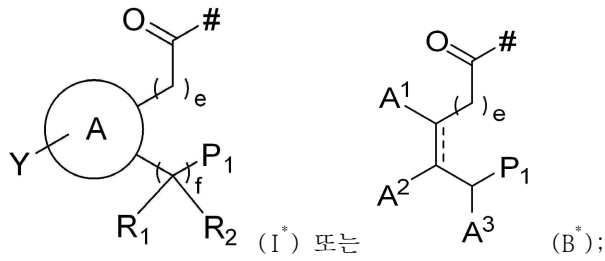


R^{37a} 및 R^{37b} 는 독립적으로 C_{1-6} 알킬이고;

q는 1 내지 20의 정수이고;

X는 각 경우에 독립적으로 O 또는 S이고;

Z는 화학식 I* 또는 B*로 표시되는 기이고;



상기 식에서

—# 는 Z에 대한 부착 지점을 나타내고;

A^1 , A^2 및 A^3 중 하나는 Y^A 이고 나머지는 H이고;

=== 는 단일 결합 또는 이중 결합이고;

Y^A 는 $Y-(CH_2)_{a1}CH_2O(CH_2)_{a2}-$ 이고, 여기서 a_1 및 a_2 는 각각 독립적으로 0 또는 1 내지 10의 정수이고;

고리 A는 페닐, 8- 내지 10-원 비사이클릭 아릴, 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5- 내지 6-원 헤테로아릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로 원자를 갖는 7- 내지 10-원 비사이클릭 헤테로아릴이고;

Y는 H, 할로젠, OR^{1A} , $NR^{2A}R^{3A}$, SR^{4A} , $CR^{5A}R^{6A}R^{7A}$, 또는 탄소 원자수 10 이상의 지방족 탄화수소기를 하나 이상 함유하는 소수성 기이고; 여기서 R^{1A} , R^{2A} , R^{3A} , R^{4A} , R^{5A} , R^{6A} , 및 R^{7A} 는 각각 독립적으로 C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 알케닐, C_{1-6} 알키닐, 페닐, OR^{8A} , $-OC(O)R^{8A}$, $-C(O)OR^{8A}$, $NR^{8A}R^{9A}$, $-NR^{8A}COR^{9A}$, $-CONR^{8A}R^{9A}$, 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 카르보사이클릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 2개의 헤테로 원자를 갖는 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 헤테로사이클릴이고; 여기서 R^{8A} 및 R^{9A} 는 각 경우에 독립적으로 H 또는 C_{1-6} 알킬이고;

P_1 은 NO_2 또는 실릴 하이드록실 보호기이고;

R_1 및 R_2 는 독립적으로 H, C_{1-6} 알킬, 또는 페닐이고; 여기서 C_{1-6} 알킬 및 페닐은 1 내지 3개의 R_3 로 선택적으로 치환되고;

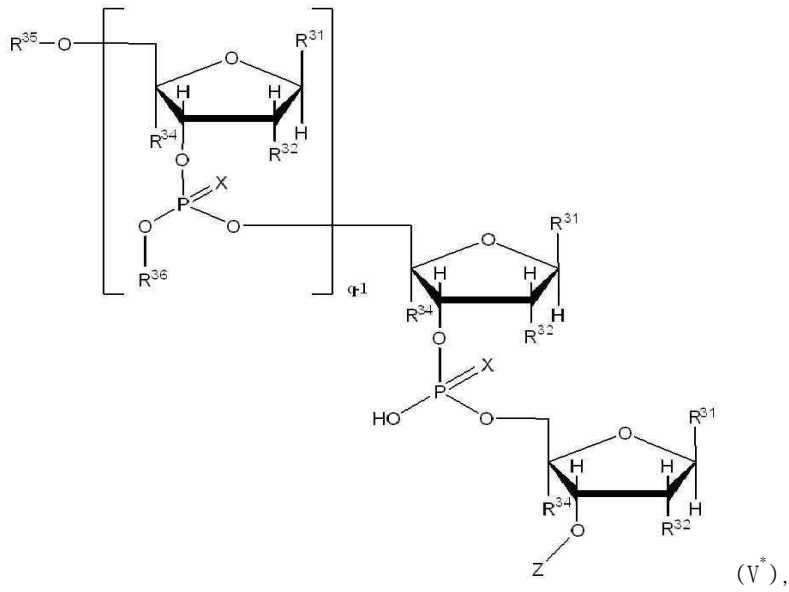
R_3 은 C_{1-30} 알콕시이고;

e는 0 내지 6의 정수이고;

f는 0 내지 6의 정수이다.

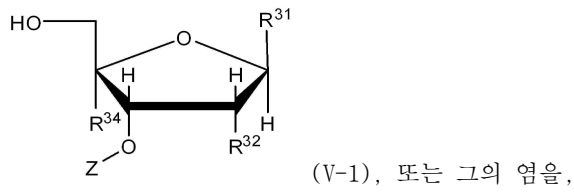
청구항 64

화학식 (V*)의 올리고뉴클레오티드 단편:

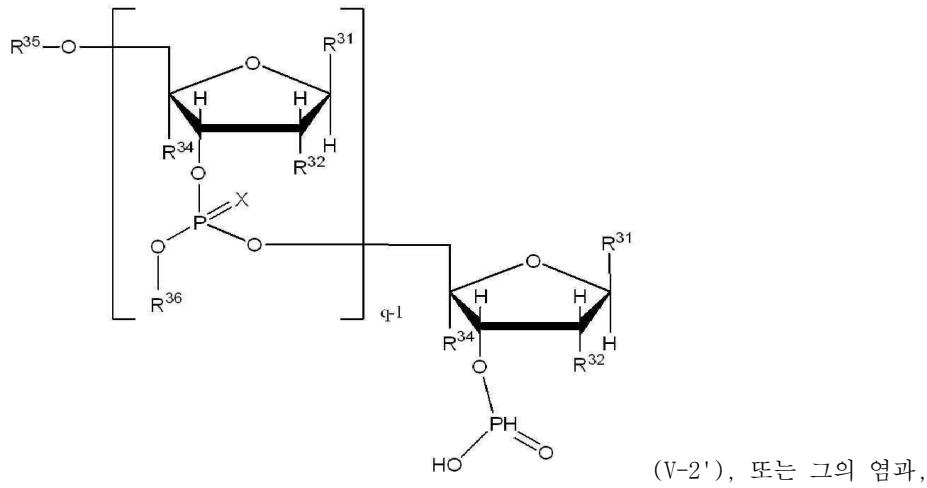


또는 그의 염의 제조 방법으로서, 하기의 단계들을 포함하는 방법.

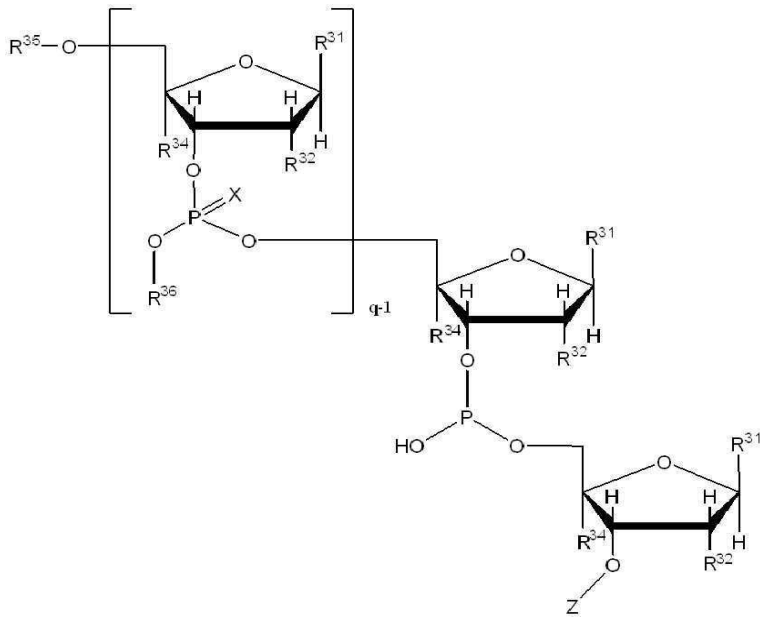
a) 화학식 (V-1)의 뉴클레오티드:



화학식 (V-2')의 올리고뉴클레오티드 단편:



용액 중에서 커플링시켜 화학식 (V-3')의 올리고뉴클레오티드 단편을 형성하거나,



(V-3') 또는 그의 염을 형성하는 단계; 및

b) 화학식 (V-3')의 올리고뉴클레오티드, 또는 그의 염을 황화 또는 산화시켜, 화학식 (V*)의 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염을 형성하는 단계;

상기 식에서:

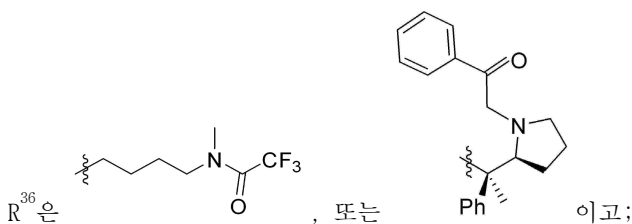
R^{31} 은 각 경우에 독립적으로 핵염기이고, 핵염기의 NH_2 는 존재하는 경우 아민 보호기에 의해 보호되고;

R^{32} 는 각 경우에 독립적으로 H, 할로, OH, 및 C_{1-6} 알콕시로 선택적으로 치환된 C_{1-6} 알콕시로 구성된 군으로부터 선택되고; 여기서 OH기는 하이드록실 보호기에 의해 선택적으로 보호되고;

R^{34} 는 각 경우에 독립적으로 H이거나 또는 R^{32} 의 알콕시기와 고리를 형성하고;

R^{35} 는 하이드록실 보호기이고;

R^{36} 은 각 경우에 독립적으로 H, C_{1-6} 알킬기, C_{2-6} 알케닐기, 페닐 또는 벤질기이며, 이들은 각각 $-CN$, $-NO_2$ 또는 할로젠으로 선택적으로 치환되거나; 또는

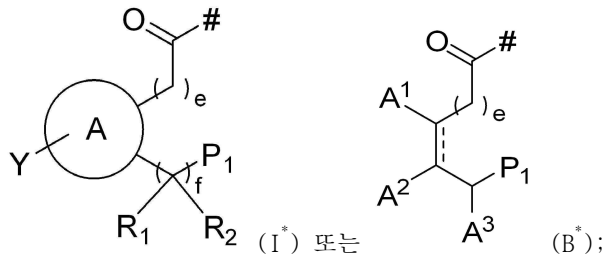


R^{37a} 및 R^{37b} 는 독립적으로 C_{1-6} 알킬이고;

q는 1 내지 20의 정수이고;

X는 각 경우에 독립적으로 O 또는 S이고;

Z는 화학식 I* 또는 B*로 표시되는 기이고;



상기 식에서

—# 는 Z에 대한 부착 지점을 나타내고;

A^1 , A^2 및 A^3 중 하나는 Y^A 이고 나머지는 H이고;

—는 단일 결합 또는 이중 결합이고;

Y^A 는 $Y-(CH_2)_{a1}CH_2O(CH_2)_{a2}-$ 이고, 여기서 $a1$ 및 $a2$ 는 각각 독립적으로 0 또는 1 내지 10의 정수이고;

고리 A는 페닐, 8- 내지 10-원 비사이클릭 아릴, 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5- 내지 6-원 헤테로아릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로 원자를 갖는 7- 내지 10-원 비사이클릭 헤테로아릴이고;

Y는 H, 할로젠, OR^{1A} , $NR^{2A}R^{3A}$, SR^{4A} , $CR^{5A}R^{6A}R^{7A}$, 또는 탄소 원자수 10 이상의 지방족 탄화수소기를 하나 이상 함유하는 소수성 기이고; 여기서 R^{1A} , R^{2A} , R^{3A} , R^{4A} , R^{5A} , R^{6A} , 및 R^{7A} 는 각각 독립적으로 C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 알케닐, C_{1-6} 알키닐, 페닐, OR^{8A} , $-OC(O)R^{8A}$, $-C(O)OR^{8A}$, $NR^{8A}R^{9A}$, $-NR^{8A}COR^{9A}$, $-CONR^{8A}R^{9A}$, 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 카르보사이클릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 2개의 헤테로 원자를 갖는 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 헤테로사이클릴이고; 여기서 R^{8A} 및 R^{9A} 는 각 경우에 독립적으로 H 또는 C_{1-6} 알킬이고;

P_1 은 NO_2 또는 실릴 하이드록실 보호기이고;

R_1 및 R_2 는 독립적으로 H, C_{1-6} 알킬, 또는 페닐이고; 여기서 C_{1-6} 알킬 및 페닐은 1 내지 3개의 R_3 로 선택적으로 치환되고;

R_3 은 C_{1-30} 알콕시이고;

e는 0 내지 6의 정수이고;

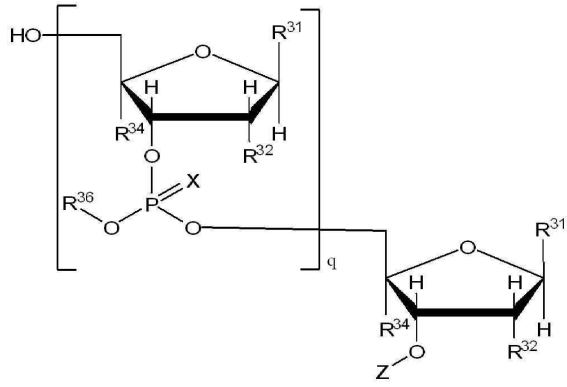
f는 0 내지 6의 정수이다.

청구항 65

청구항 63 또는 청구항 64에 있어서, Y가 탄소 원자수 10 이상의 지방족 탄화수소기를 하나 이상 함유하는 소수성 기인, 방법.

청구항 66

청구항 54 또는 청구항 63에 있어서, 화학식 (V)의 단편을 탈보호하여 화학식 (VI)의 탈보호된 단편:

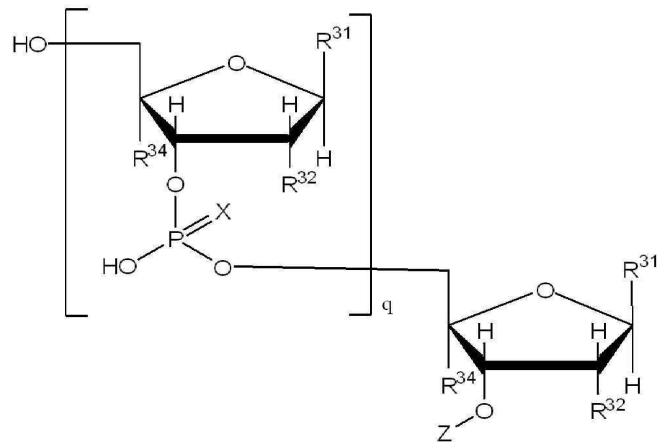


(VH), 또는 그의 염을 형성하는 것을 추가로 포함하는,

방법.

청구항 67

청구항 55에 있어서, 화학식 (V')의 단편을 탈보호하여 화학식 (VH')의 탈보호된 단편:

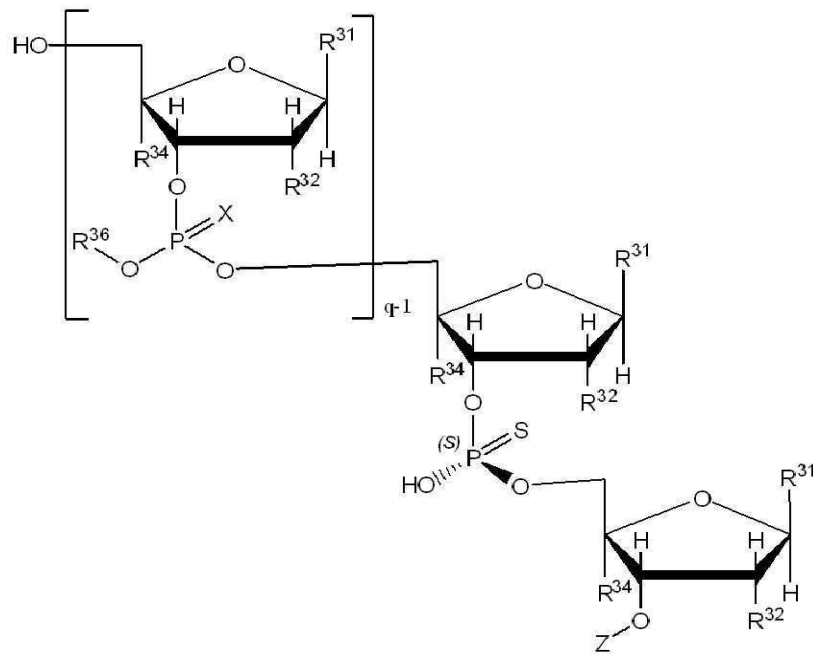


(VH'), 또는 그의 염을 형성하는 것을 추가로 포함

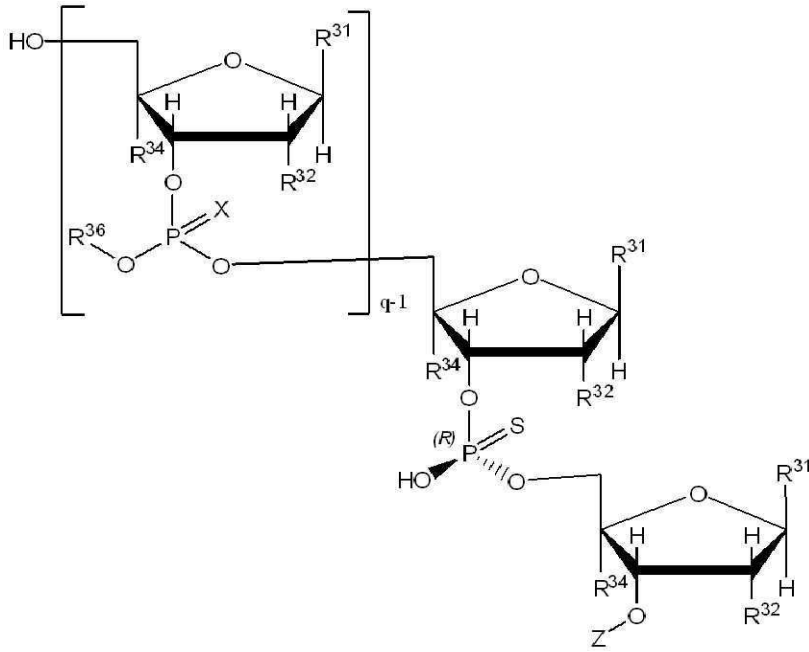
하는, 방법.

청구항 68

청구항 56 또는 청구항 57에 있어서, 화학식 (V-C1) 또는 (V-C2)의 단편을 탈보호하여 화학식 (V-C3) 또는 (V-C4)의 탈보호된 단편:



(V-C3), 또는 그의 염, 또는

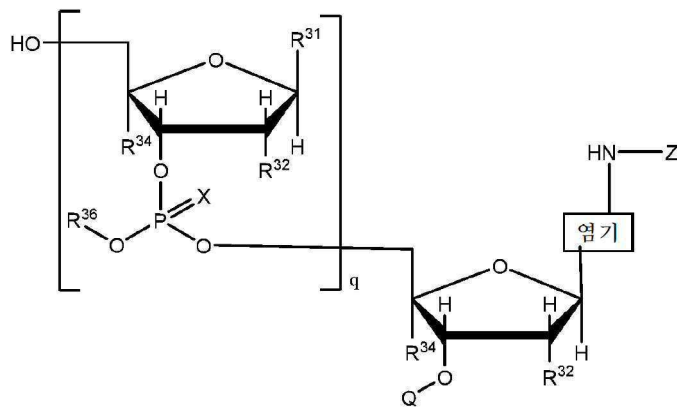


(V-C4), 또는 그의 염을 형성하는 것

을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 69

청구항 58에 있어서, 화학식 (VBZ)의 단편을 탈보호하여 화학식 (VBZ-6)의 탈보호된 단편:

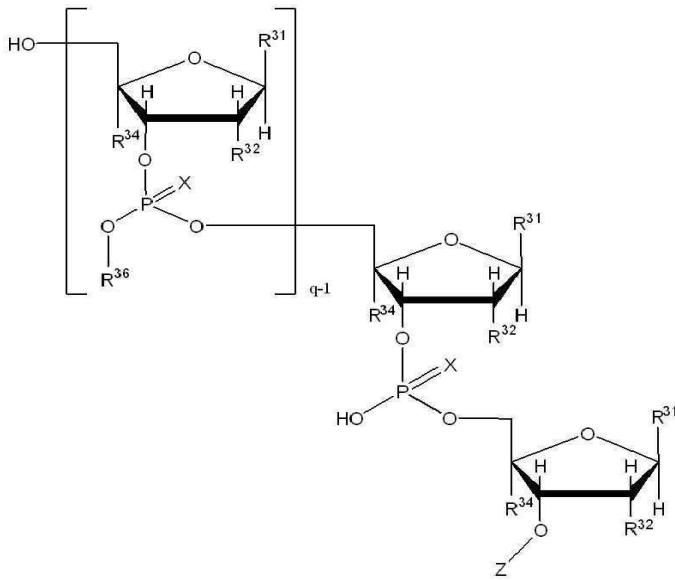


(VBZ-6), 또는 그의 염을 형성하는 것을 추가로

포함하는, 방법.

청구항 70

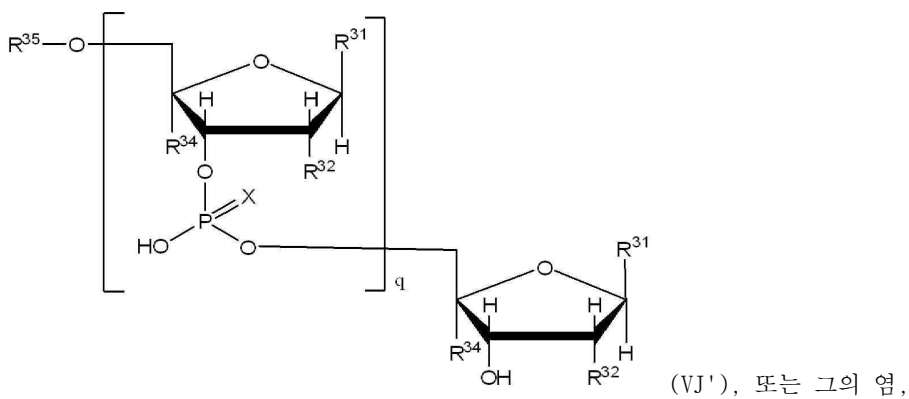
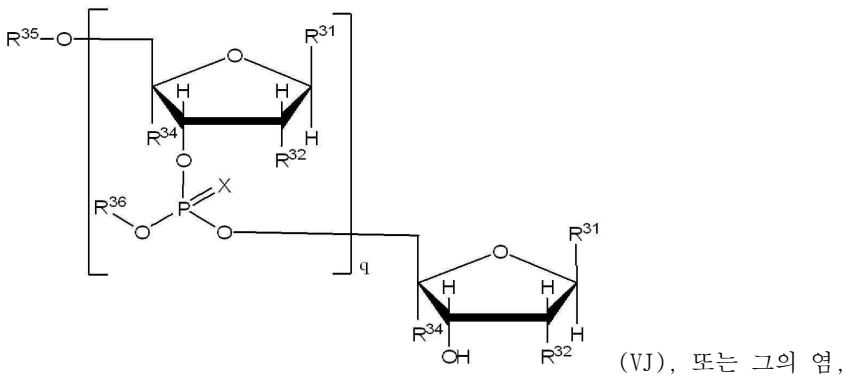
청구항 64에 있어서, 화학식 (V*)의 단편을 탈보호하여 화학식 (V*-1)의 탈보호된 단편:

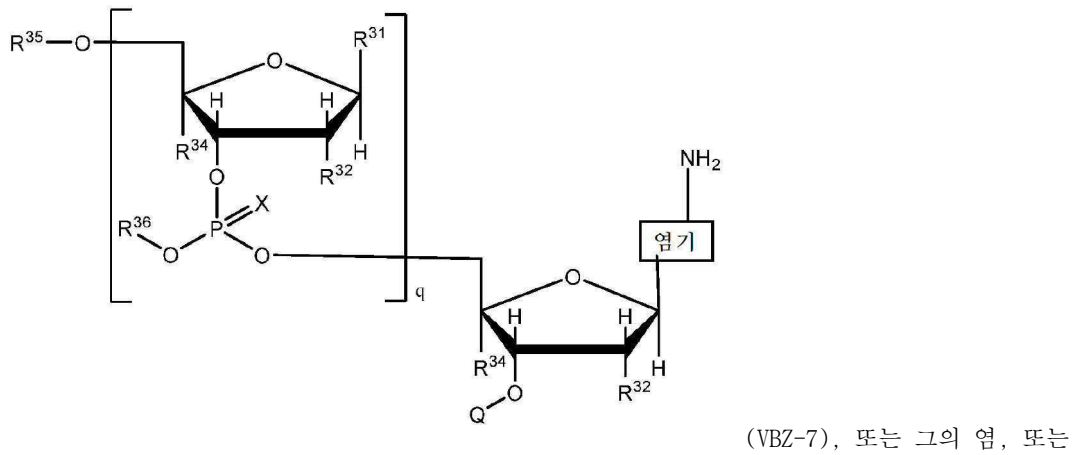
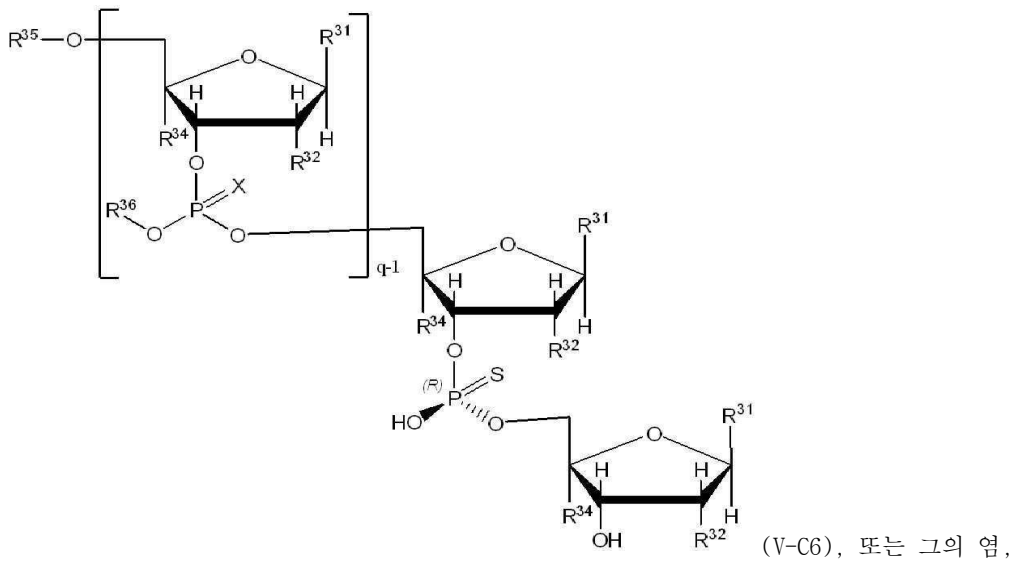
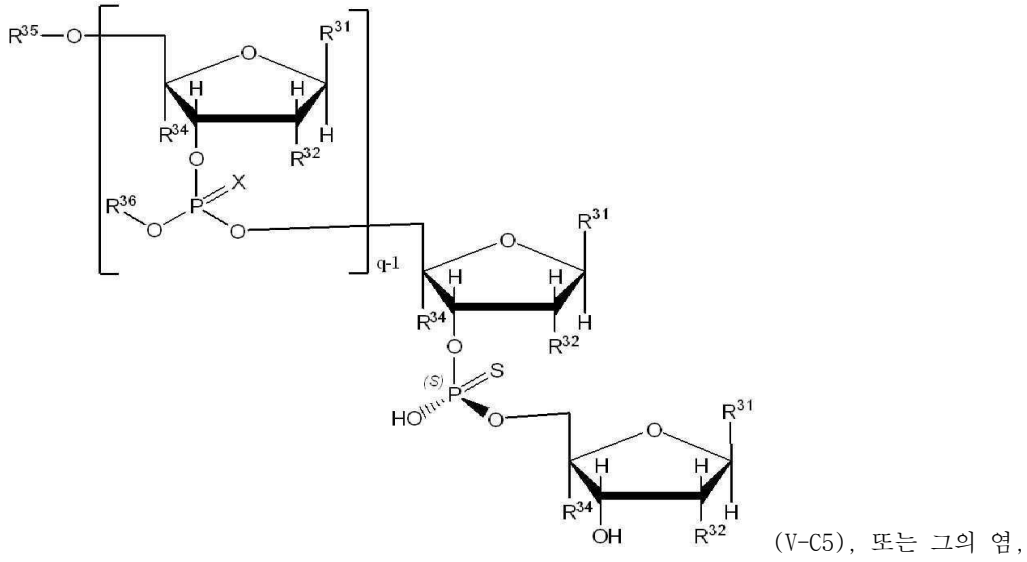


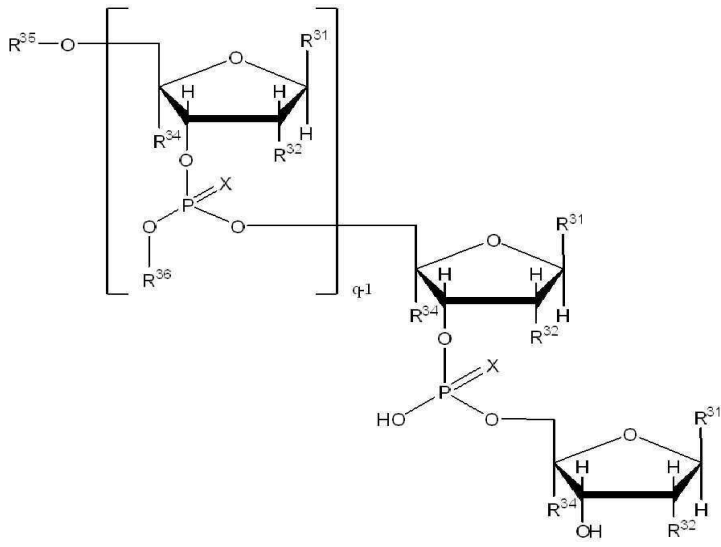
함하는, 방법.

청구항 71

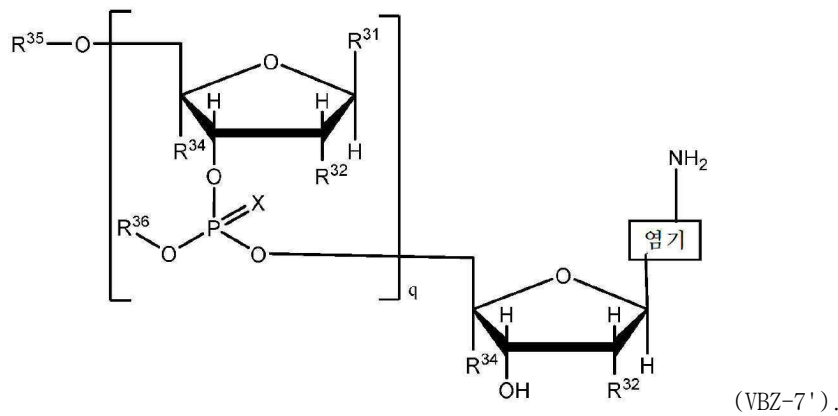
청구항 54 내지 청구항 58, 청구항 63, 및 청구항 64 중 어느 한 항에 있어서, 화학식 (V), (V'), (V-C1), (V-C2), (VBZ), 또는 (V^{*})의 단편을 탈실릴화하여 화학식 (VJ), (VJ'), (V-C5), (V-C6), (VBZ-7), 또는 (V^{*}-2)의 단편:







단 Q 및 P₁이 동일한 경우, 화학식 (VBZ)의 단편을 탈실릴화하여 화학식 (VBZ-7')의 단편을 형성하는 것을 추가로 포함하는, 방법.



청구항 72

청구항 71에 있어서, 상기 탈실릴화 반응을 화학식 (V), (V'), (V-C1), (V-C2), (VBZ), 또는 (V^{*})의 단편을 염기의 존재 하에 HF와 반응시킴으로써 수행하는, 방법.

청구항 73

청구항 72에 있어서, 상기 염기가 이미다졸 또는 피리딘이고, 이미다졸 또는 피리딘이 선택적으로 치환되는, 방법.

청구항 74

청구항 71에 있어서, 상기 탈실릴화 반응을 화학식 (V), (V'), (V-C1), (V-C2), (VBZ), 또는 (V^{*})의 단편을 피리딘 및 이미다졸의 존재 하에 HF와 반응시킴으로써 수행하는, 방법.

청구항 75

청구항 74에 있어서, 이미다졸 대 HF의 몰비가 0.5:1 내지 10:1의 범위인, 방법.

청구항 76

청구항 75에 있어서, 이미다졸 대 HF의 몰비가 1.1:1 내지 5:1의 범위인, 방법.

청구항 77

청구항 76에 있어서, 이미다졸 대 HF의 몰비가 2:1인, 방법.

청구항 78

청구항 74 내지 청구항 77 중 어느 한 항에 있어서, 피리딘 대 HF의 몰비가 100:1 내지 1:1의 범위인, 방법.

청구항 79

청구항 74 내지 청구항 77 중 어느 한 항에 있어서, 피리딘 대 HF의 몰비가 1:1인, 방법.

청구항 80

청구항 54 내지 청구항 71 중 어느 한 항에 있어서, 화학식 (V), (V'), (V-C1), (V-C2), (VBZ), (V*), (VH), (VH'), (V-C3), (V-C4), (VBZ-6), (V*-1), (VJ), (VJ'), (V-C5), (V-C6), (VBZ-7), (VBZ-7') 또는 (V*-2)의 단편이 크로마토그래피로 정제되지 않는, 방법.

청구항 81

청구항 80에 있어서, 화학식 (V), (V'), (V-C1), (V-C2), (VBZ), (V*), (VH), (VH'), (V-C3), (V-C4), (VBZ-6), (V*-1), (VJ), (VJ'), (V-C5), (V-C6), (VBZ-7), (VBZ-7') 또는 (V*-2)의 단편이 선택적 석출 및/또는 추출에 의해 정제되는, 방법.

청구항 82

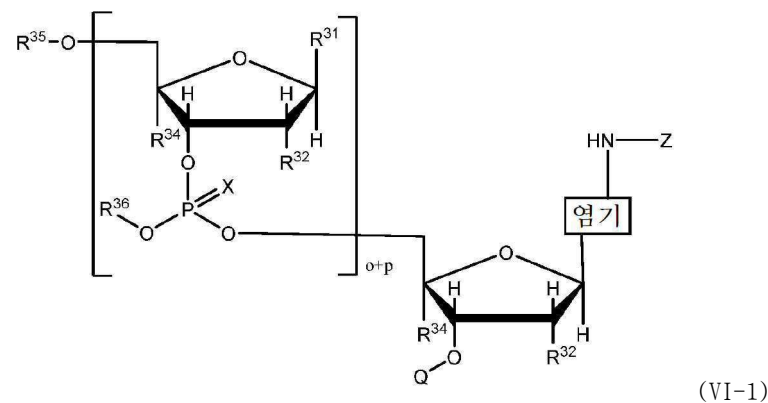
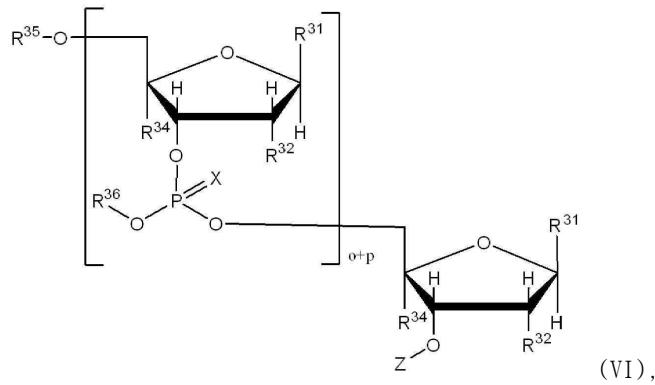
청구항 54 내지 청구항 81 중 어느 한 항에 있어서, q가 2 내지 5인, 방법.

청구항 83

청구항 82에 있어서, q가 4인, 방법.

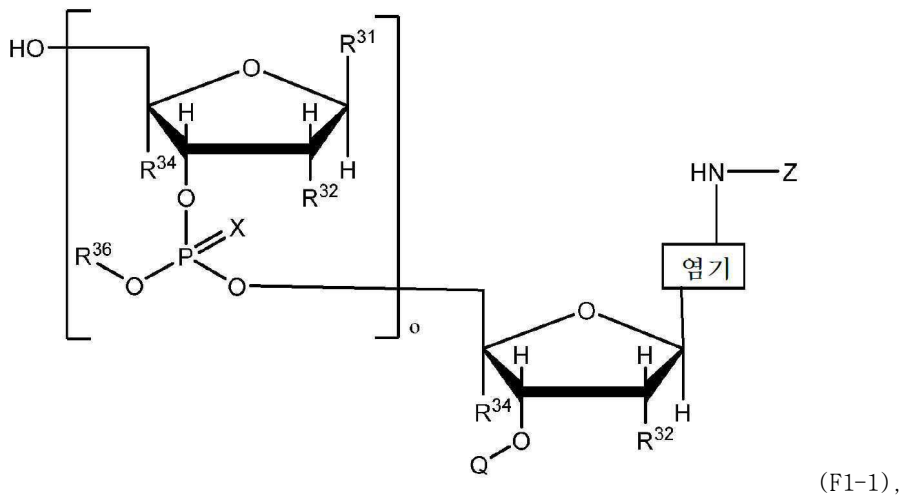
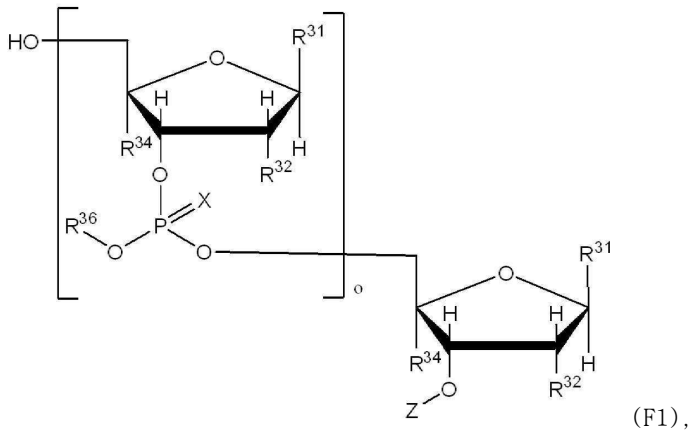
청구항 84

화학식 (VI) 또는 (VI-1)의 올리고뉴클레오타이드:

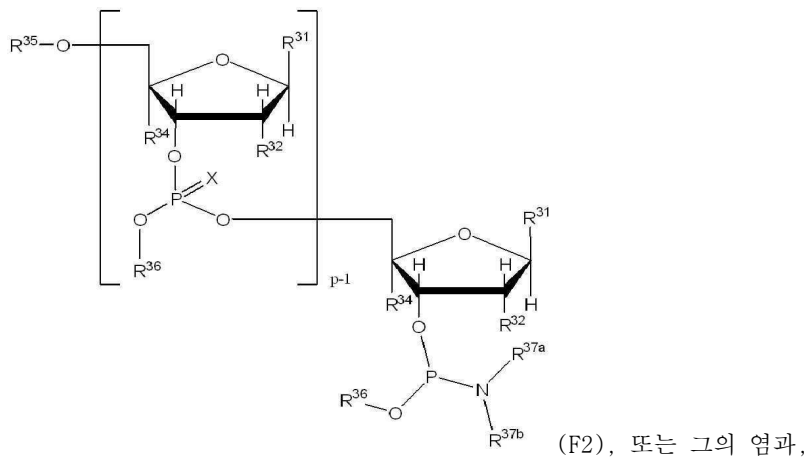


또는 그의 염의 제조 방법으로서, 하기의 단계들을 포함하는 방법.

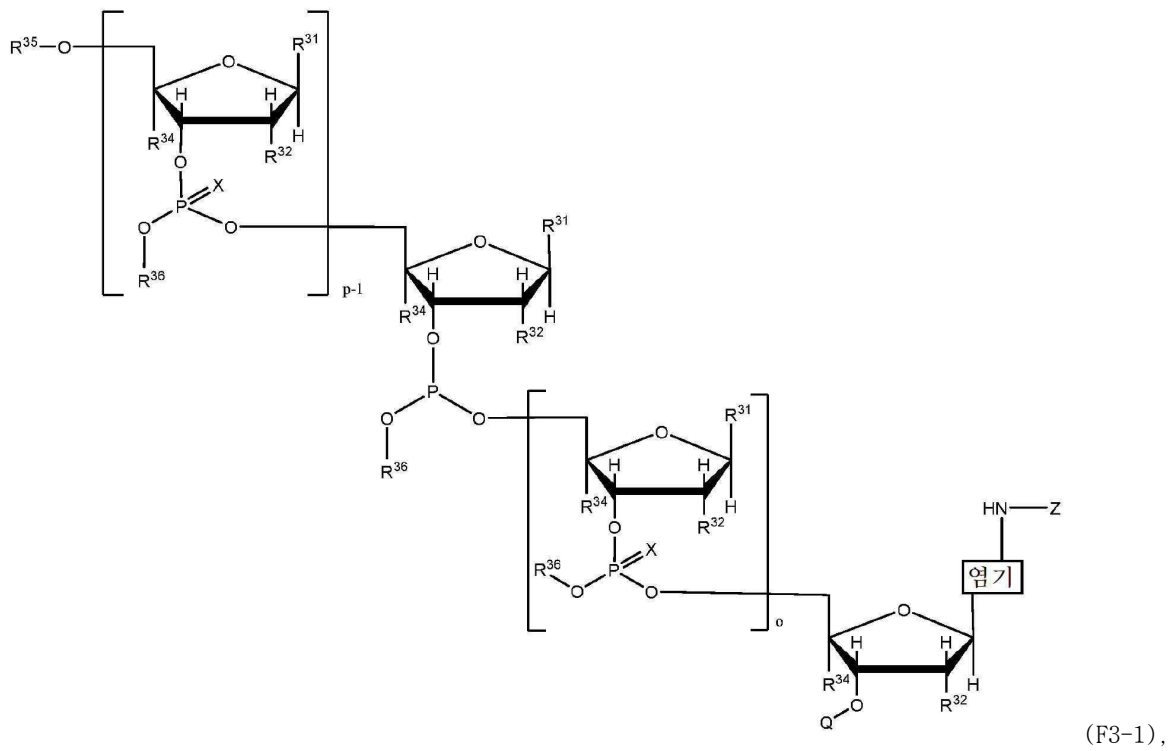
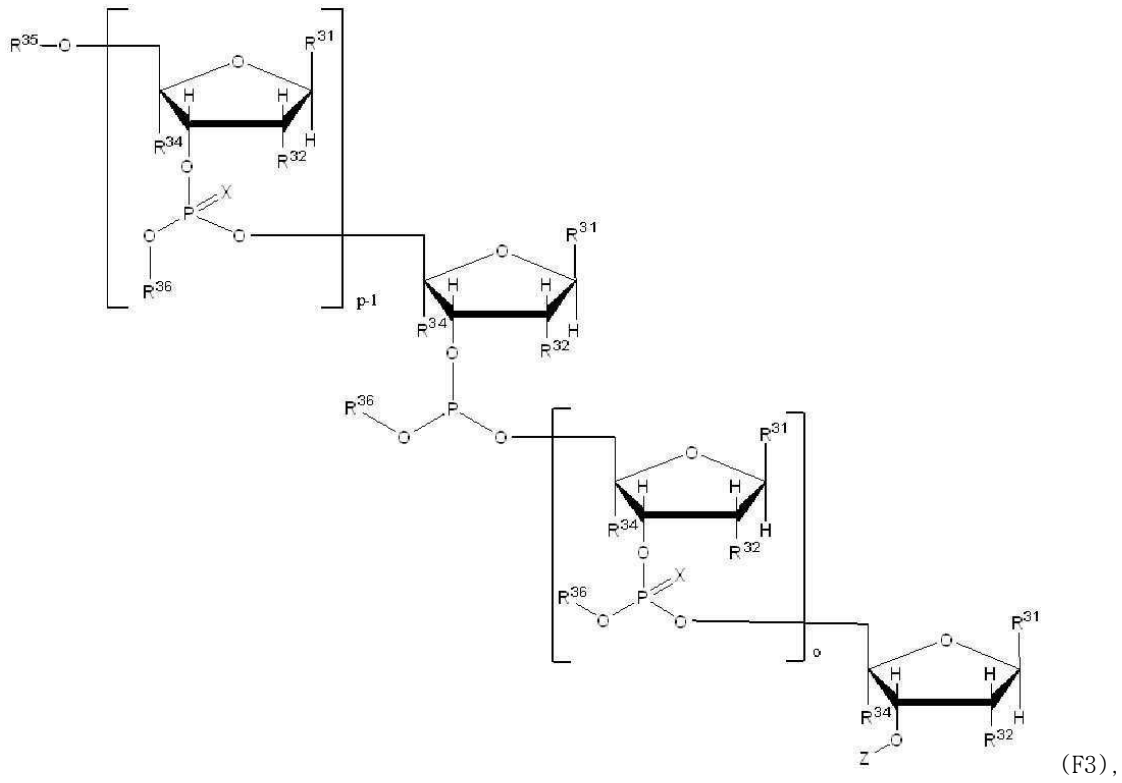
a) 화학식 (F1) 또는 (F1-1)의 올리고뉴클레오티드 단편:



또는 그의 염을, 화학식 (F2)의 올리고뉴클레오티드 단편:



용액 중에서 커플링시켜 화학식 (F3) 또는 (F3-1)의 올리고뉴클레오티드 단편을 형성하거나,



또는 그의 염을 형성하는 단계; 및

b) 화학식 (F3) 또는 (F3-1)의 올리고뉴클레오타이드 단편, 또는 그의 염을 황화 또는 산화시켜, 화학식 (VI) 또는 (VI-1)의 올리고뉴클레오타이드 또는 그의 염을 형성하는 단계,

상기 식에서:

Q는 하이드록실 보호기이고;

염기 는 Z에 의해 변형된 NH₂기를 함유하는 핵염기이고;

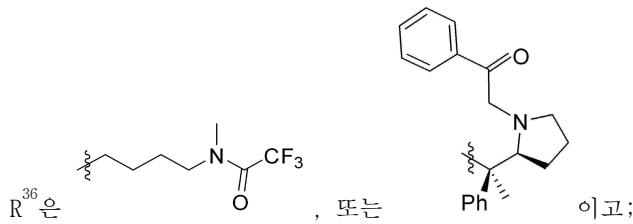
R³¹은 각 경우에 독립적으로 핵염기이고, 핵염기의 NH₂는 존재하는 경우 아민 보호기에 의해 보호되고;

R³²는 각 경우에 독립적으로 H, 할로, OH, 및 C₁₋₆알콕시로 선택적으로 치환된 C₁₋₆알콕시로 구성된 군으로부터 선택되고; 여기서 OH기는 하이드록실 보호기에 의해 선택적으로 보호되고;

R³⁴는 각 경우에 독립적으로 H이거나 또는 R³²의 알콕시기와 고리를 형성하고;

R³⁵는 하이드록실 보호기이고;

R³⁶은 각 경우에 독립적으로 C₁₋₆알킬기, C₂₋₆알케닐기, 페닐 또는 벤질기이며, 이들은 각각 -CN, -NO₂ 또는 할로겐으로 선택적으로 치환되거나; 또는



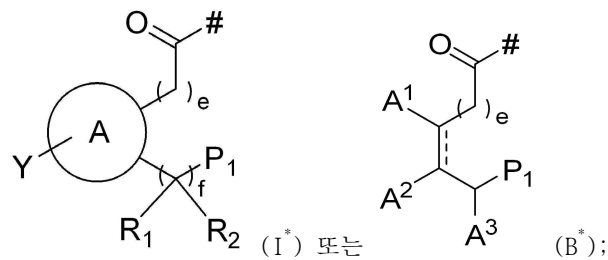
R^{37a} 및 R^{37b}는 독립적으로 C₁₋₆알킬이고;

p는 2 내지 20의 정수이고;

o는 1 내지 200의 정수이고;

X는 각 경우에 독립적으로 O 또는 S이고;

Z는 화학식 I* 또는 B*로 표시되는 기이고;



상기 식에서

—#는 Z에 대한 부착 지점을 나타내고;

A¹, A² 및 A³ 중 하나는 Y^A이고 나머지는 H이고;

===는 단일 결합 또는 이중 결합이고;

Y^A는 Y-(CH₂)_{a1}CH₂O(CH₂)_{a2}-이고, 여기서 a1 및 a2는 각각 독립적으로 0 또는 1 내지 10의 정수이고;

고리 A는 페닐, 8- 내지 10-원 비사이클릭 아릴, 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5- 내지 6-원 헤테로아릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로 원자를 갖는 7- 내지 10-원 비사이클릭 헤테로아릴이고;

Y는 H, 할로젠, OR^{1A}, NR^{2A, 3A}, SR^{4A}, CR^{5A, 6A, 7A}, 또는 탄소 원자수 10 이상의 지방족 탄화수소기를 하나 이상 함유하는 소수성 기이고; 여기서 R^{1A}, R^{2A}, R^{3A}, R^{4A}, R^{5A}, R^{6A}, 및 R^{7A}는 각각 독립적으로 C₁₋₆알킬, C₁₋₆알케닐, C₁₋₆알케닐, 페닐, OR^{8A}, -OC(O)R^{8A}, -C(O)OR^{8A}, NR^{8A, 9A}, -NR^{8A, 9A}COR^{9A}, -CONR^{8A, 9A}R^{9A}, 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모

노사이클릭 카르보사이클릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 2개의 헤테로 원자를 갖는 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 헤테로사이클릴이고; 여기서 R^{8A} 및 R^{9A} 는 각 경우에 독립적으로 H 또는 C_{1-6} 알킬이고;

P_1 은 NO_2 또는 실릴 하이드록실 보호기이고;

R_1 및 R_2 는 독립적으로 H, C_{1-6} 알킬, 또는 페닐이고; 여기서 C_{1-6} 알킬 및 페닐은 1 내지 3개의 R_3 로 선택적으로 치환되고;

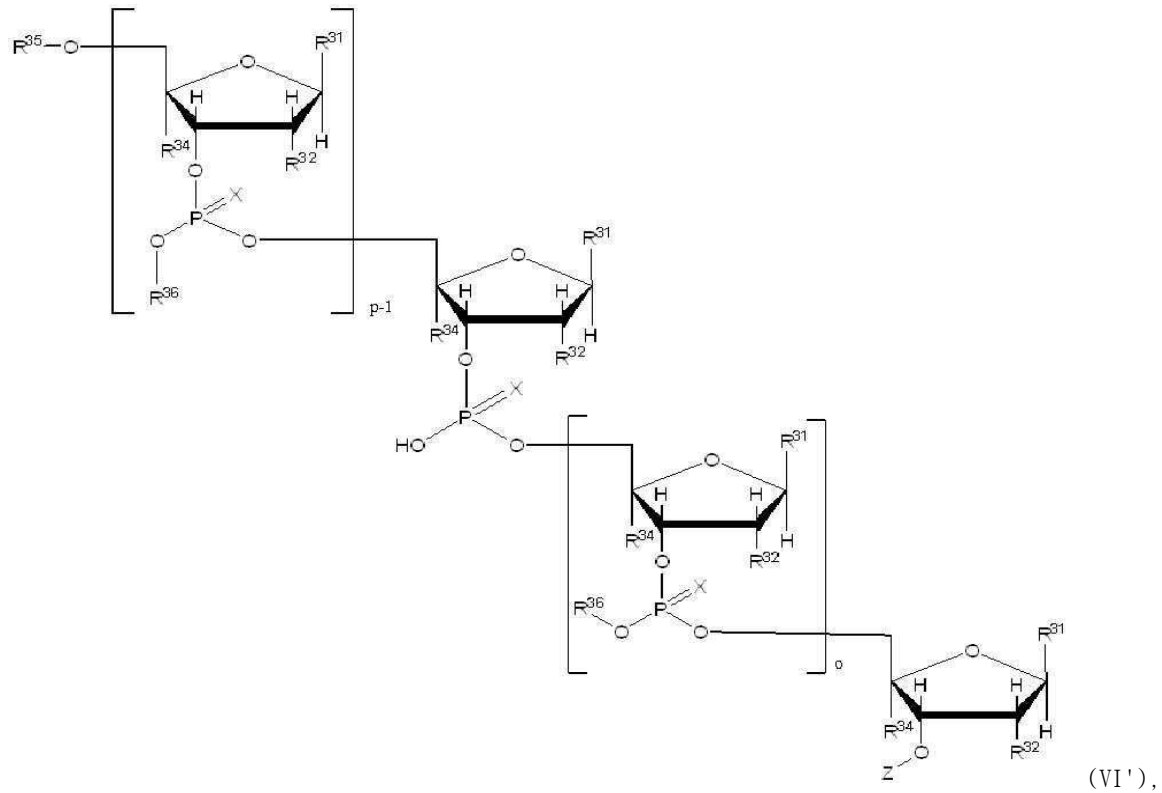
R_3 은 C_{1-30} 알콕시이고;

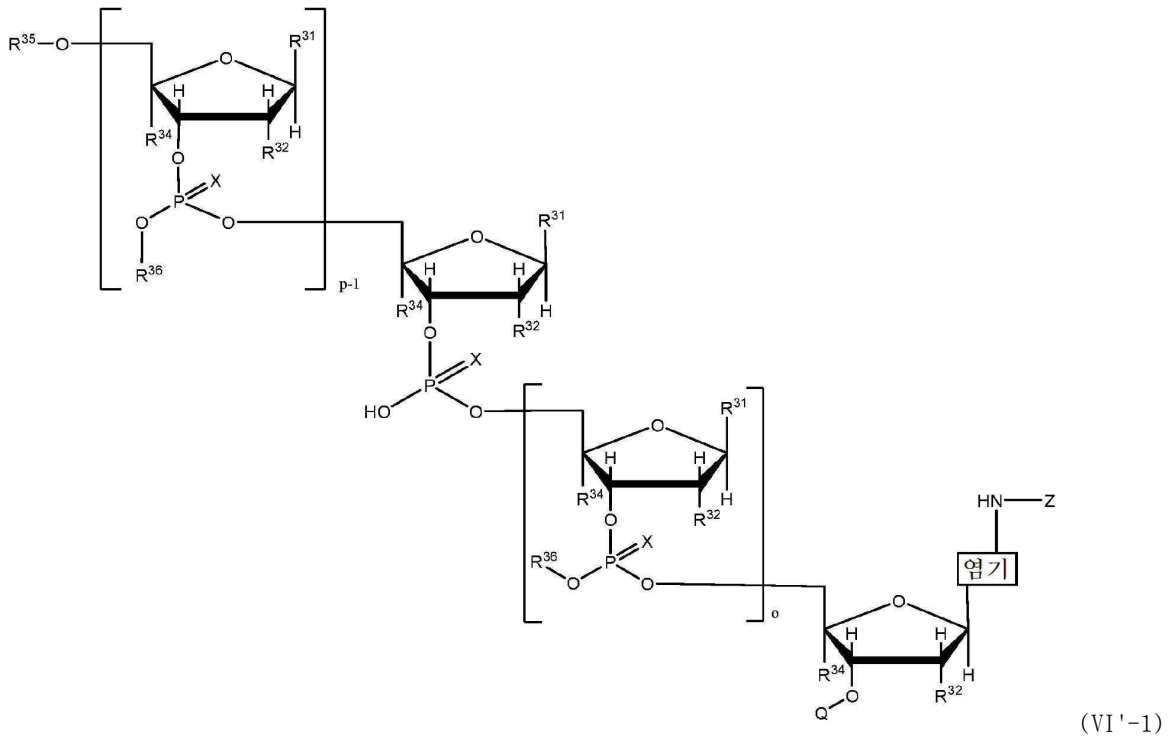
e 는 0 내지 6의 정수이고;

f 는 0 내지 6의 정수이다.

청구항 85

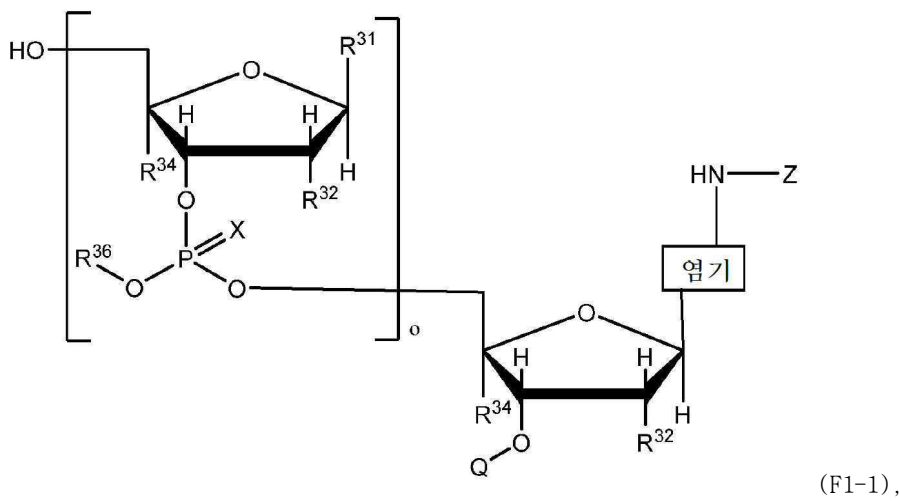
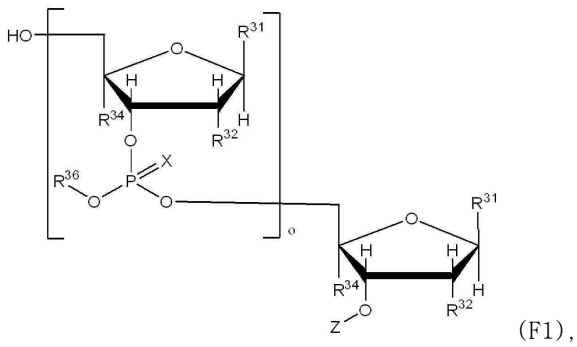
화학식 (VI') 또는 (VI'-1)의 올리고뉴클레오타이드:



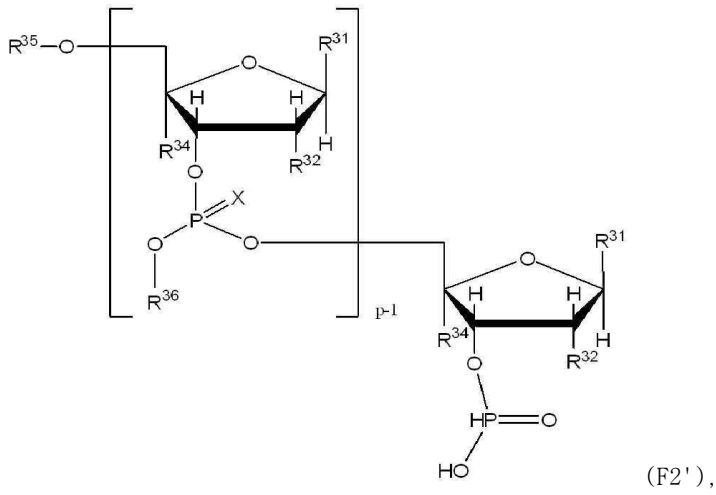


또는 그의 염의 제조 방법으로서, 하기의 단계들을 포함하는 방법.

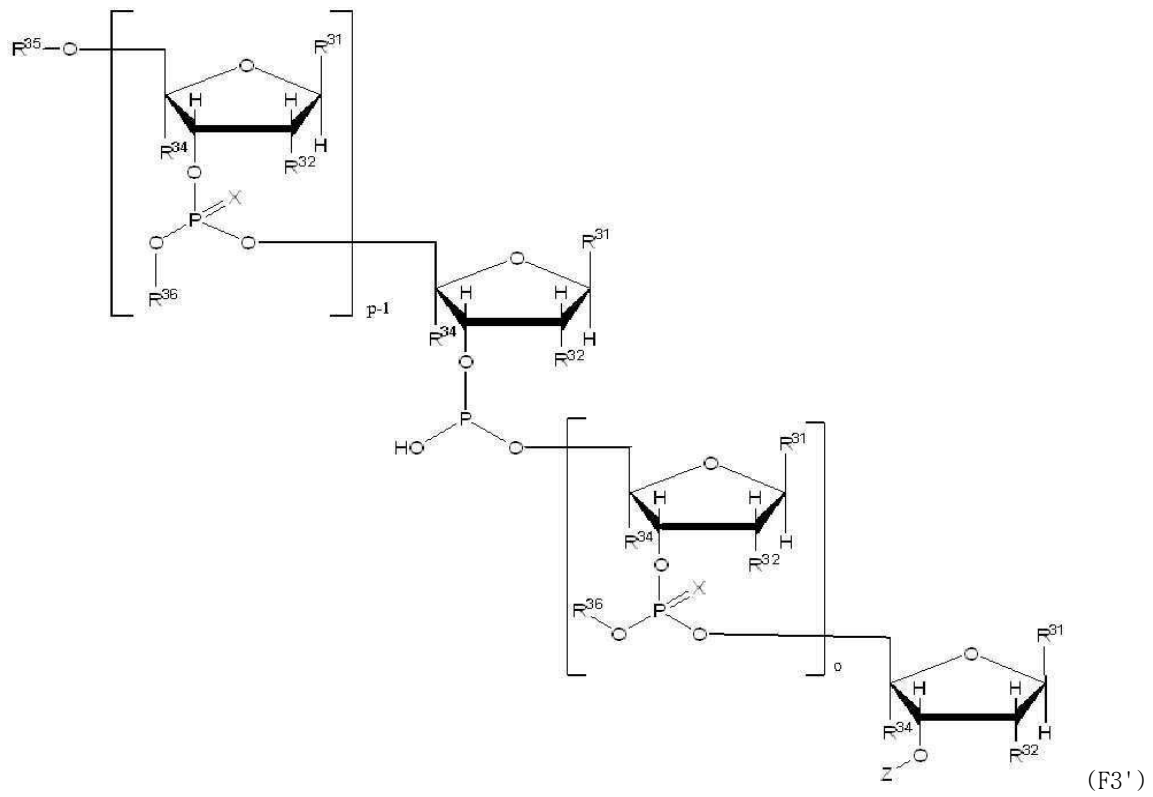
a) 화학식 (F1) 또는 (F1-1)의 올리고뉴클레오티드 단편:

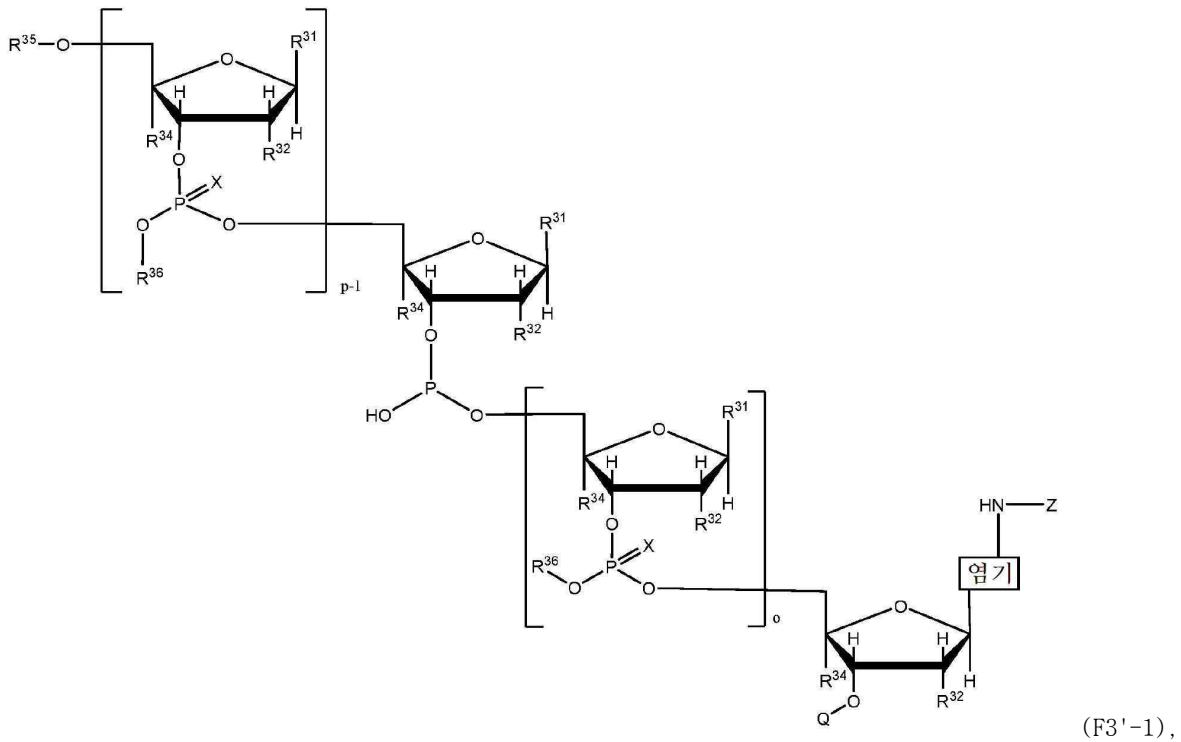


또는 그의 염을, 화학식 (F2')의 올리고뉴클레오티드 단편:



또는 그의 염과, 용액 중에서 커플링시켜 화학식 (F3') 또는 (F3'-1)의 올리고뉴클레오타이드 단편을 형성하거나,





또는 그의 염을 형성하는 단계; 및

b) 화학식 (F3') 또는 (F3'-1)의 올리고뉴클레오타이드 단편, 또는 그의 염을 황화 또는 산화시켜, 화학식 (VI') 또는 (VI'-1)의 올리고뉴클레오타이드 또는 그의 염을 형성하는 단계,

상기 식에서:

Q는 하이드록실 보호기이고;

염기 는 Z에 의해 변형된 NH₂기를 함유하는 핵염기이고;

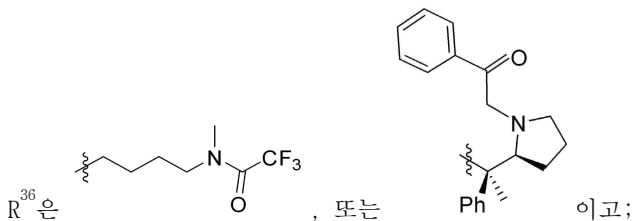
R³¹은 각 경우에 독립적으로 핵염기이고, 핵염기의 NH₂는 존재하는 경우 아민 보호기에 의해 보호되고;

R³²는 각 경우에 독립적으로 H, 할로, OH, 및 C₁₋₆알콕시로 선택적으로 치환된 C₁₋₆알콕시로 구성된 군으로부터 선택되고; 여기서 OH기는 하이드록실 보호기에 의해 선택적으로 보호되고;

R³⁴는 각 경우에 독립적으로 H이거나 또는 R³²의 알콕시기와 고리를 형성하고;

R³⁵는 하이드록실 보호기이고;

R³⁶은 각 경우에 독립적으로 C₁₋₆알킬기, C₂₋₆알케닐기, 페닐 또는 벤질기이며, 이들은 각각 -CN, -NO₂ 또는 할로겐으로 선택적으로 치환되거나; 또는



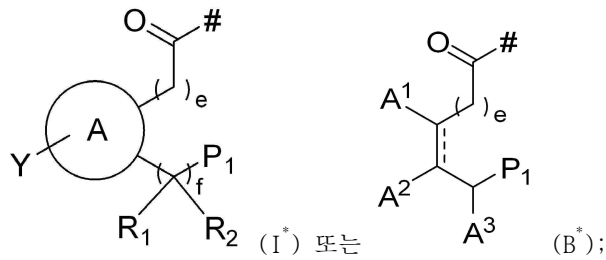
R^{37a} 및 R^{37b}는 독립적으로 C₁₋₆알킬기이고;

p는 2 내지 20의 정수이고;

o는 1 내지 200의 정수이고;

X는 각 경우에 독립적으로 O 또는 S이고;

Z는 화학식 I* 또는 B*로 표시되는 기이고;



상기 식에서

—#는 Z에 대한 부착 지점을 나타내고;

A¹, A² 및 A³ 중 하나는 Y^A이고 나머지는 H이고;

===는 단일 결합 또는 이중 결합이고;

Y^A는 Y-(CH₂)_{a1}CH₂O(CH₂)_{a2}-이고, 여기서 a1 및 a2는 각각 독립적으로 0 또는 1 내지 10의 정수이고;

고리 A는 페닐, 8- 내지 10-원 비사이클릭 아릴, 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5- 내지 6-원 헤테로아릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로 원자를 갖는 7- 내지 10-원 비사이클릭 헤테로아릴이고;

Y는 H, 할로젠, OR^{1A}, NR^{2A}R^{3A}, SR^{4A}, CR^{5A}R^{6A}R^{7A}, 또는 탄소 원자수 10 이상의 지방족 탄화수소기를 하나 이상 함유하는 소수성 기이고; 여기서 R^{1A}, R^{2A}, R^{3A}, R^{4A}, R^{5A}, R^{6A}, 및 R^{7A}는 각각 독립적으로 C₁₋₆알킬, C₁₋₆알케닐, C₁₋₆알키닐, 페닐, OR^{8A}, -OC(O)R^{8A}, -C(O)OR^{8A}, NR^{8A}R^{9A}, -NR^{8A}COR^{9A}, -CONR^{8A}R^{9A}, 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 카르보사이클릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 2개의 헤테로 원자를 갖는 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 헤테로사이클릴이고; 여기서 R^{8A} 및 R^{9A}는 각 경우에 독립적으로 H 또는 C₁₋₆알킬이고;

P₁은 NO₂ 또는 실릴 하이드록실 보호기이고;

R₁ 및 R₂는 독립적으로 H, C₁₋₆알킬, 또는 페닐이고; 여기서 C₁₋₆알킬 및 페닐은 1 내지 3개의 R₃로 선택적으로 치환되고;

R₃은 C₁₋₃₀알콕시이고;

e는 0 내지 6의 정수이고;

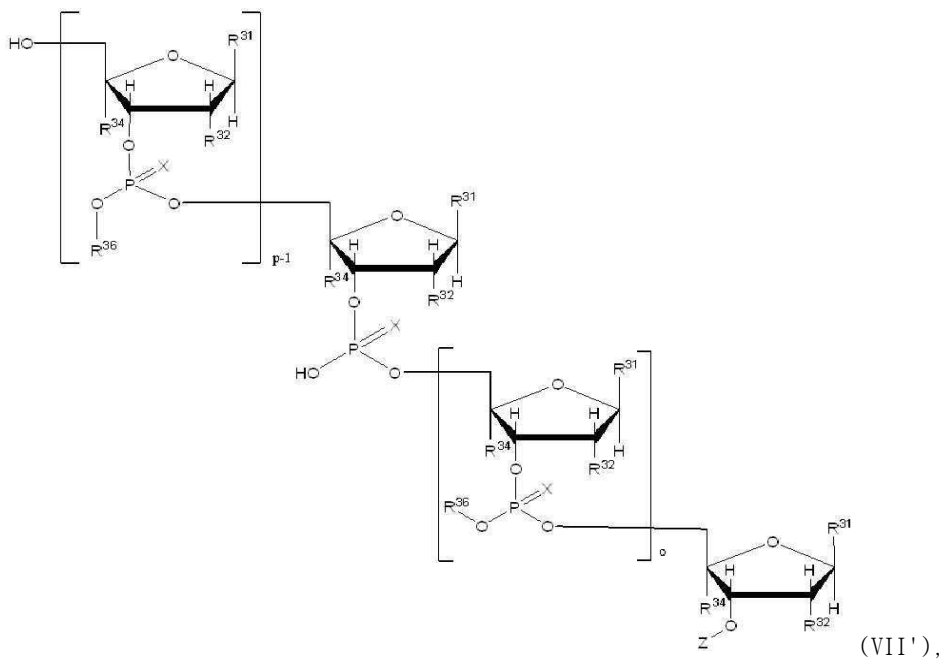
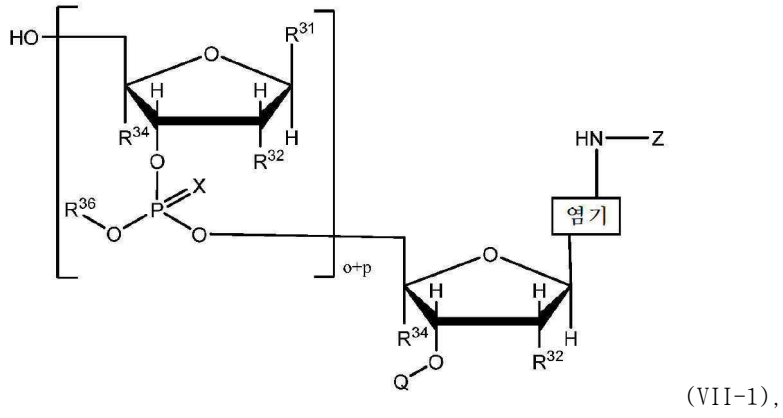
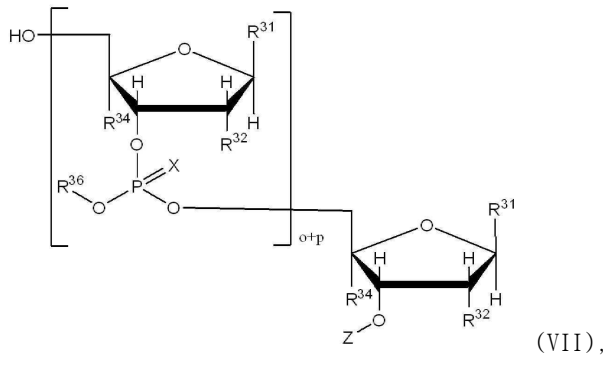
f는 0 내지 6의 정수이다.

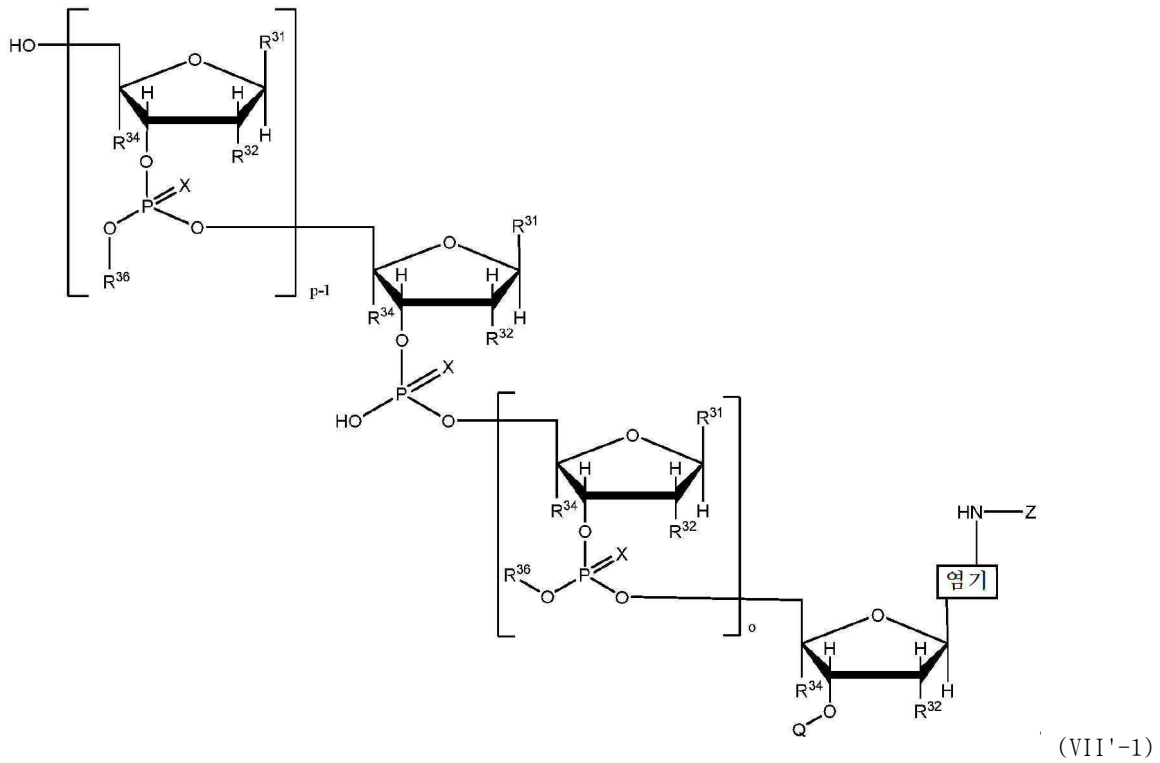
청구항 86

청구항 84 또는 청구항 85에 있어서, Y가 탄소 원자수 10 이상의 지방족 탄화수소기를 하나 이상 함유하는 소수성 기인, 방법.

청구항 87

청구항 84 또는 청구항 85에 있어서, c) 화학식 (VI), (VI'), (VI-1), 또는 (VI'-1)의 올리고뉴클레오티드를 탈보호하여 화학식 (VII), (VII-1), (VII'), 또는 (VII'-1)의 올리고뉴클레오티드:





또는 그의 염을 형성하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 88

청구항 87에 있어서, 화학식 (VII), (VII-1), (VII'), 또는 (VII'-1)의 올리고뉴클레오티드로부터 출발하여, 단계 a), b) 및 c)를 1 내지 10회 반복한 후, 단계 a) 및 b)를 거치는 것을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 89

청구항 88에 있어서, 단계 a), b) 및 c)를 1 내지 3회 반복한 후, 단계 a) 및 b)를 거치는 것을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 90

청구항 84 내지 청구항 89 중 어느 한 항에 있어서, o가 2 내지 20의 정수인, 방법.

청구항 91

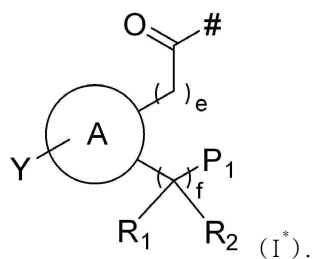
청구항 90에 있어서, o가 2 내지 5인, 방법.

청구항 92

청구항 91에 있어서, o가 4인, 방법.

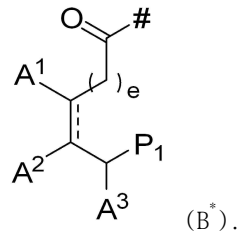
청구항 93

청구항 54 내지 청구항 92 중 어느 한 항에 있어서, Z가 화학식 I*로 표시되는 기인, 방법.



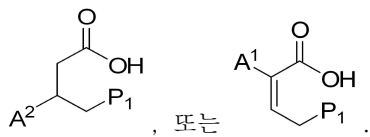
청구항 94

청구항 54 내지 청구항 92 중 어느 한 항에 있어서, Z가 화학식 B*로 표시되는 기인, 방법.



청구항 95

청구항 54 내지 청구항 92 중 어느 한 항에 있어서, Z가 화학식 B-1* 또는 B-2*로 표시되는 기인, 방법.



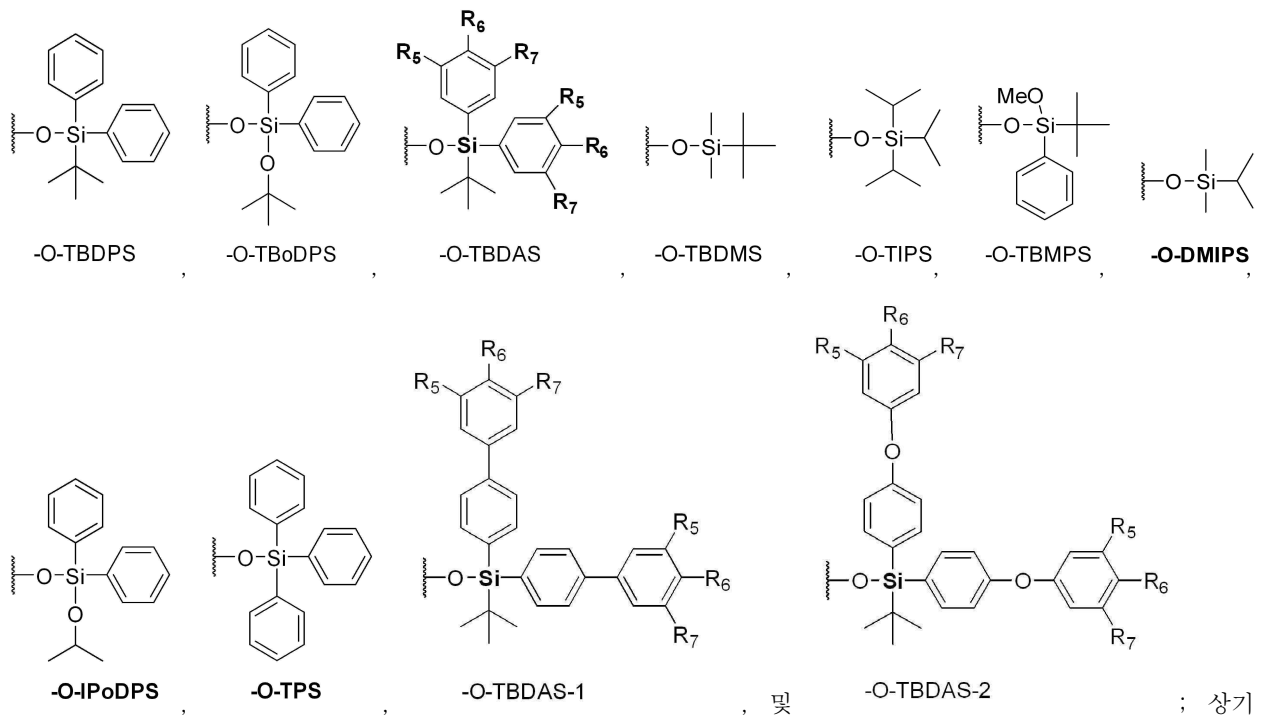
B-1* B-2*

청구항 96

청구항 54 내지 청구항 92 중 어느 한 항에 있어서, 고리 A가 페닐 또는 나프탈레닐인, 방법.

청구항 97

청구항 54 내지 청구항 96 중 어느 한 항에 있어서, P1이 하기로부터 선택된 실릴 하이드록실 보호기인, 방법.

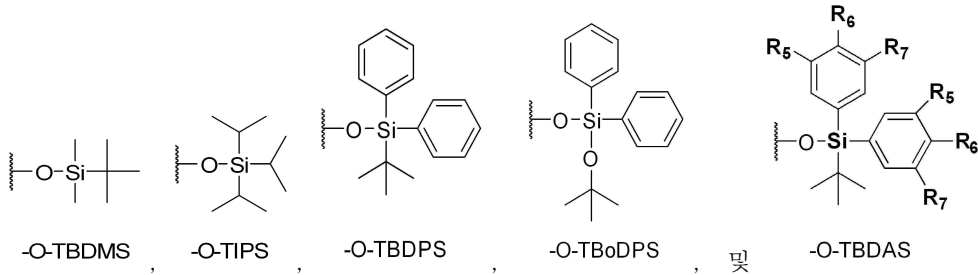


식에서 는 P1의 부착 지점을 나타내고, R5, R6 및 R7은 각각 독립적으로 H, C1-30알킬, 또는 C1-30알콕시이다.

청구항 98

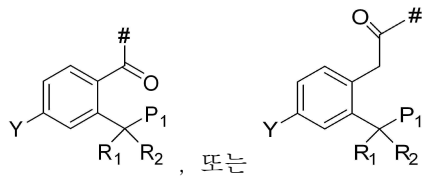
청구항 97에 있어서, P1이 -O-TBDMS, -O-TIPS, -O-TBDPS, -O-TBoDPS, 및 -O-TBDAS로 구성된 군으로부터 선택되

는, 방법.



청구항 99

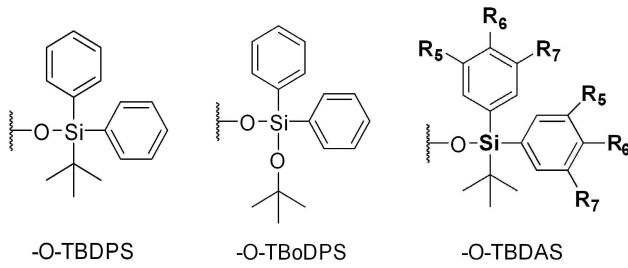
청구항 93에 있어서, Z가 화학식 I^{**} 또는 Ia^{**}로 표시되는 기:



I^{**} Ia^{**}

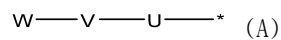
또는 그의 염인, 방법.

상기식에서 P₁은 -O-TBDPS, -O-TBoDPS 및 -O-TBDAS의 군으로부터 선택된다.



청구항 100

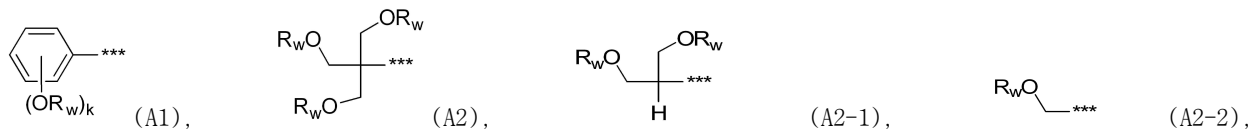
청구항 54 내지 청구항 99 중 어느 한 항에 있어서, Y가 화학식 A로 표시되는, 방법.

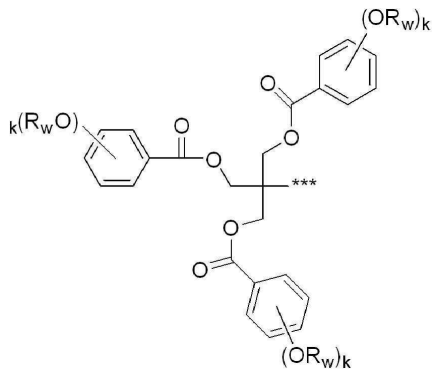


상기 식에서

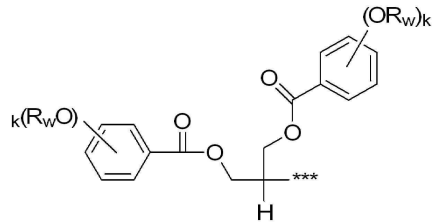
—*는 Y에 대한 부착 지점을 나타내고;

W는 화학식 A1, A2, A2-1, A2-2, A3, A3-1, 또는 A3-2로 표시되고:

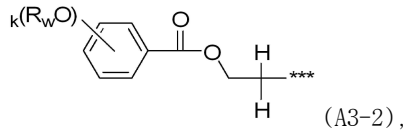




(A3),



(A3-1), 또는



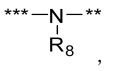
(A3-2),

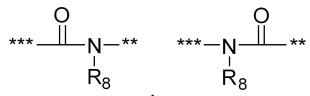
상기 식에서

—*** 는 W와 V가 연결되는 지점을 나타내고;

R_w은 각각 독립적으로 10개 이상의 탄소 원자를 갖는 지방족 탄화수소기이고;

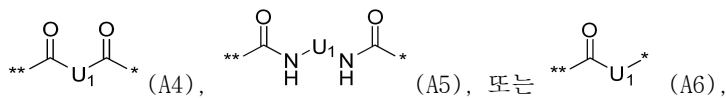
k는 1 내지 5의 정수이고;

V는 결합, 산소, C₁₋₂₀알킬렌, C₁₋₆알킬닐렌, -C(=O)-, ***-C(=O)-O-**, ***-O-C(=O)-**, ,



, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖고, 1 내지 3개의 R₈로 선택적으로 치환된, 5 내지 7원 헤테로아릴이고; 여기서 —**는 V와 U가 연결되는 지점을 나타내고; R₈은 H 또는 C₁₋₃₀알킬이고;

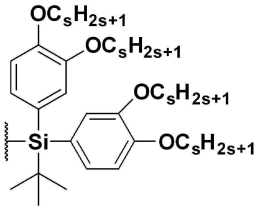
U는 결합, 산소, C₁₋₂₀알킬렌, 카르보닐, ***-O-C(=O)-**, 산소, 질소, 및 황으로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5 내지 7원 헤테로사이클릴; 산소, 질소, 및 황으로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖고, 1 내지 3개의 R₈로 선택적으로 치환된, 5 내지 7원 헤테로아릴; 또는 화학식 A4, A5, 또는 A6으로 표시되는 기이고:



상기 식에서 U₁은 C₁₋₆알킬렌, C₁₋₆알킬렌옥시, 산소, 질소, 및 황으로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5 내지 7원 헤테로사이클릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5 내지 7원 헤테로아릴이다.

청구항 101

청구항 97 내지 청구항 100 중 어느 한 항에 있어서, TBDAS기가 하기의 기인, 방법.



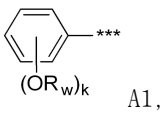
상기 식에서 s는 1 내지 30의 정수이다.

청구항 102

청구항 54 내지 청구항 100 중 어느 한 항에 있어서, P₁이 TBDPS인, 방법.

청구항 103

청구항 100 내지 청구항 102 중 어느 한 항에 있어서, W가 화학식 A1로 표시되는, 방법.



상기 식에서 R_w는 C_nH_{2n+1}이고;

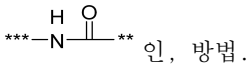
n은 1 내지 30의 정수이다.

청구항 104

청구항 100 내지 청구항 103 중 어느 한 항에 있어서, R_w가 C₁₂H₂₅, C₁₈H₃₇, C₂₀H₄₁, C₂₂H₄₅, C₂₄H₄₉, C₂₆H₅₃, 및 C₂₈H₅₇로 구성된 군으로부터 선택되는, 방법.

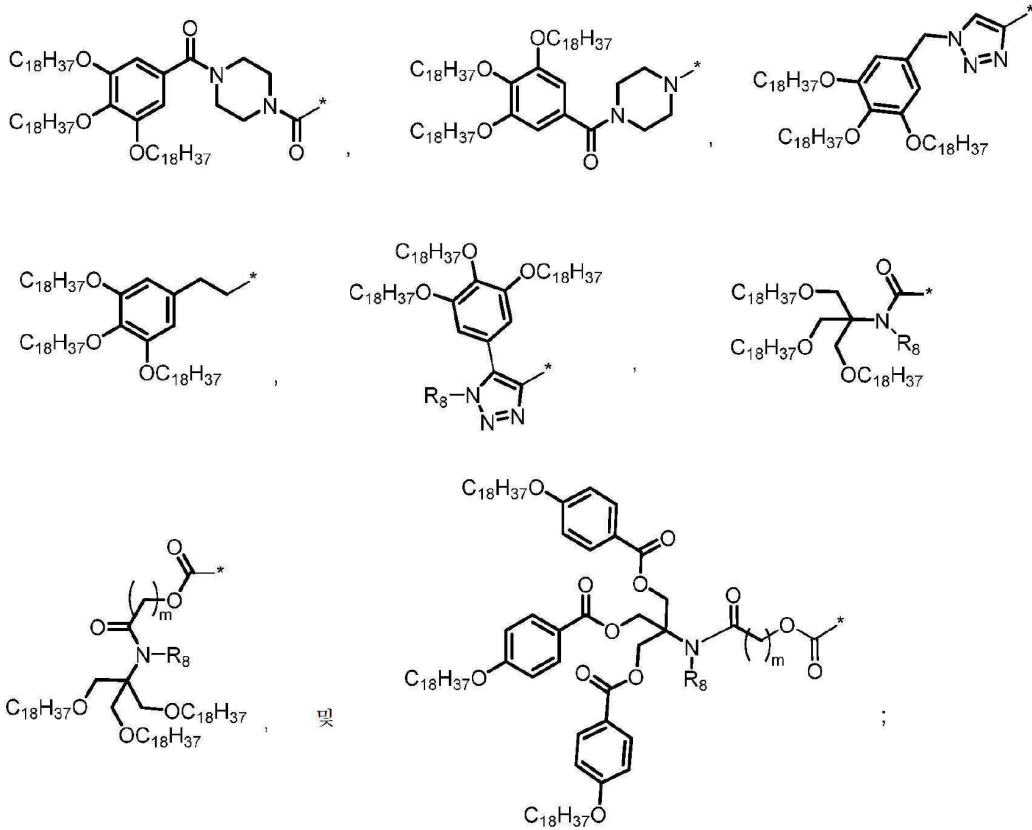
청구항 105

청구항 100 내지 청구항 104 중 어느 한 항에 있어서, V가 결합, CH₂, CH₂CH₂, C(=O)-, ***-C(=O)-O-**, 또는



청구항 106

청구항 54 내지 청구항 100 중 어느 한 항에 있어서, Y가 하기로 구성된 군으로부터 선택되는, 방법.



상기 식에서

R₈은 H 또는 C₁₋₆알킬이고;

m은 1 내지 5의 정수이다.

청구항 107

청구항 54 내지 청구항 106 중 어느 한 항에 있어서, R₁ 및 R₂가 독립적으로 H 또는 CH₃인, 방법.

청구항 108

청구항 54 내지 청구항 107 중 어느 한 항에 있어서, e가 0, 1, 또는 2이고; f가 0, 1, 또는 2인, 방법.

청구항 109

청구항 54 내지 청구항 108 중 어느 한 항에 있어서, e가 1이고; f가 1인, 방법.

청구항 110

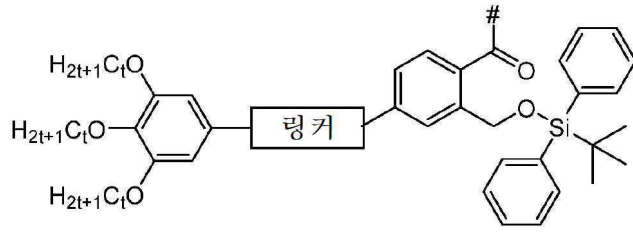
청구항 54 내지 청구항 108 중 어느 한 항에 있어서, e가 0이고; f가 1이거나 또는 e가 1이고; f가 0인, 방법.

청구항 111

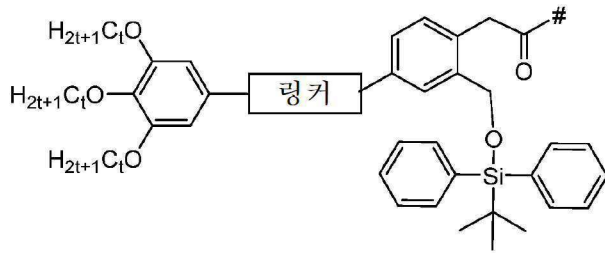
청구항 54 내지 청구항 110 중 어느 한 항에 있어서, R₈이 H 또는 C₁₋₄알킬인, 방법.

청구항 112

청구항 54 내지 청구항 111 중 어느 한 항에 있어서, Z가 화학식 II* 또는 IIa*로 표시되는, 방법.



II*

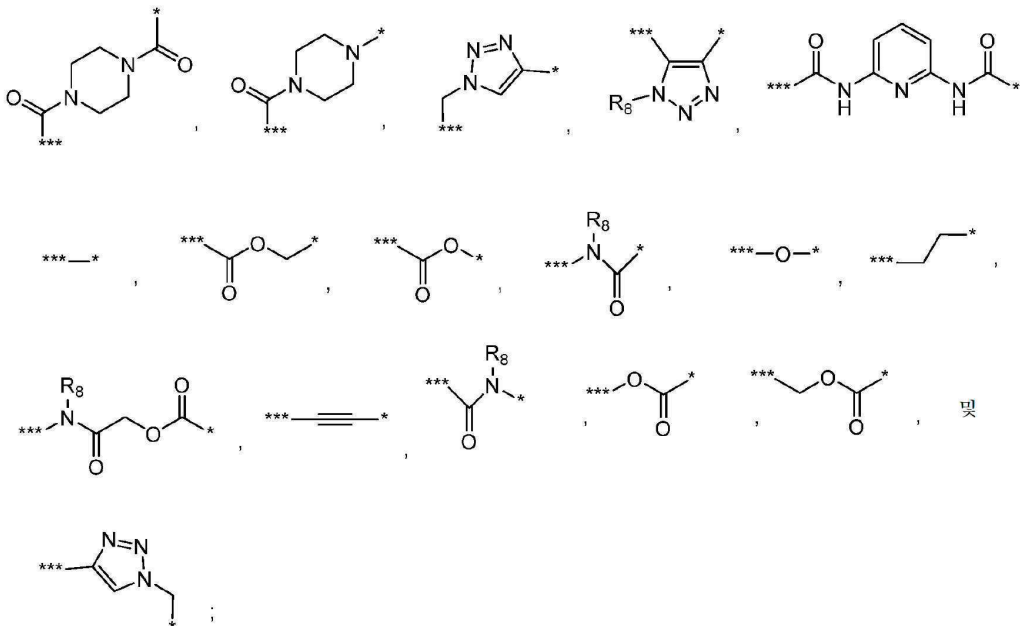


IIa*

상기 식에서

t는 10 내지 30의 정수이고;

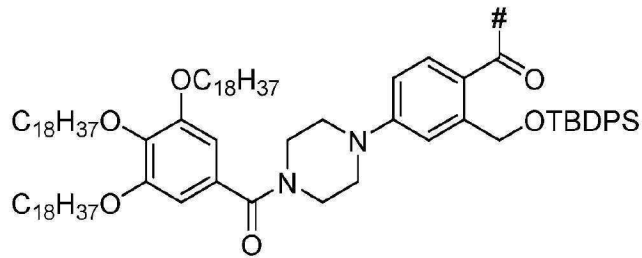
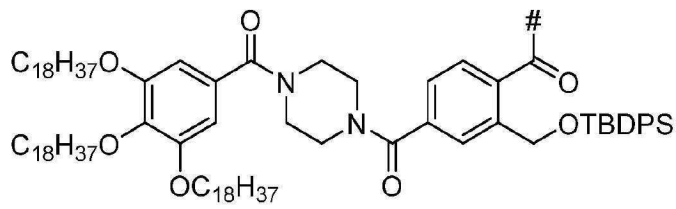
링커 는 하기로 구성된 군으로부터 선택되고;



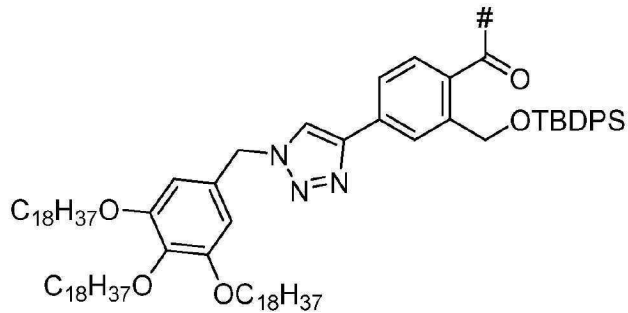
상기 식에서 R_8 은 H 또는 C_{1-6} 알킬이다.

청구항 113

청구항 54 내지 청구항 112 중 어느 한 항에 있어서, Z가 하기인, 방법.

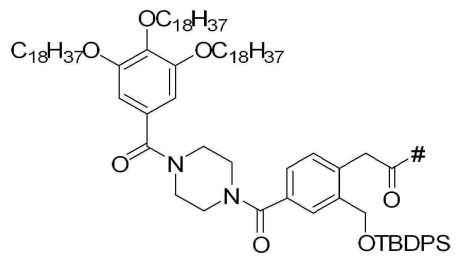


, 또는



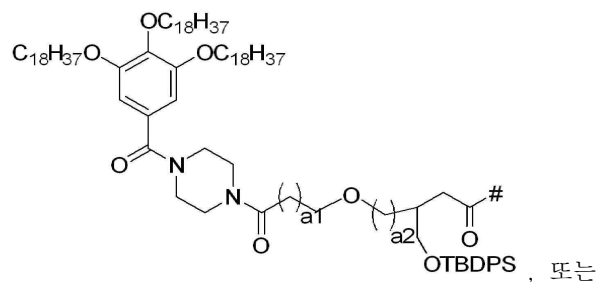
청구항 114

청구항 54 내지 청구항 93 중 어느 한 항에 있어서, Z가 하기인, 방법.

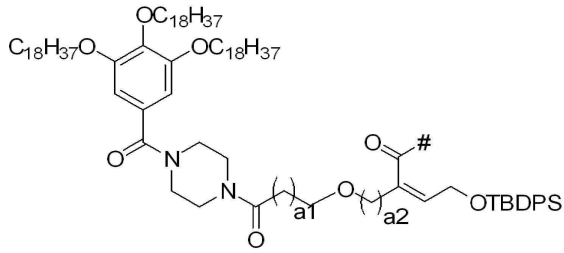


청구항 115

청구항 54 내지 청구항 93 중 어느 한 항에 있어서, Z가 하기인, 방법.



, 또는



청구항 116

뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드의 모든 P=X 기가 P=S인, 청구항 27 내지 청구항 53 중 어느 한 항에 따른 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 청구항 54 내지 청구항 115 중 어느 한 항에 따른 방법.

청구항 117

뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드의 모든 P=X 기가 P=O인, 청구항 27 내지 청구항 53 중 어느 한 항에 따른 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 청구항 54 내지 청구항 115 중 어느 한 항에 따른 방법.

청구항 118

화합물 또는 올리고뉴클레오티드의 P=X 기의 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90% 초과가 P=S인, 청구항 27 내지 청구항 53 중 어느 한 항에 따른 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 청구항 54 내지 청구항 115 중 어느 한 항에 따른 방법.

청구항 119

화합물 또는 올리고뉴클레오티드의 P=X 기의 10-90%, 20-80%, 30-70% 또는 40-60%가 P=S인, 청구항 27 내지 청구항 53 중 어느 한 항에 따른 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 청구항 54 내지 청구항 115 중 어느 한 항에 따른 방법.

청구항 120

핵염기가 시토신, 구아닌, 아데닌, 티민, 우라실, 하이포크산틴, 크산틴, 7-메틸구아닌, 5,6-디하이드로우라실, 5-메틸시토신, 및 5-하이드록시메틸시토신으로 구성된 군으로부터 선택되며, 핵염기의 NH₂기가, 존재하는 경우, PhCO-, CH₃CO-, *i*PrCO-, Me₂N-CH=, 또는 Me₂N-CMe=에 의해 보호되는, 청구항 27 내지 청구항 53 중 어느 한 항에 따른 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 청구항 54 내지 청구항 115 중 어느 한 항에 따른 방법.

청구항 121

핵염기가 시토신, 구아닌, 아데닌, 티민, 우라실, 및 5-메틸시토신으로 구성된 군으로부터 선택되며, 핵염기의 NH₂기가, 존재하는 경우, PhCO-, CH₃CO-, *i*PrCO-, Me₂N-CH=, 또는 Me₂N-CMe=에 의해 보호되는, 청구항 27 내지 청구항 53 중 어느 한 항에 따른 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 청구항 54 내지 청구항 115 중 어느 한 항에 따른 방법.

청구항 122

청구항 27 내지 청구항 53 중 어느 한 항에 따른 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 청구항 54 내지 청구항 121 중 어느 한 항에 따른 방법으로서,

R³²가 각각 독립적으로 H, F, 및 C₁₋₄알콕시로 선택적으로 치환된 C₁₋₄알콕시로 구성된 군으로부터 선택되고;

R³⁴가 각각 독립적으로 H이거나 또는 R²의 알콕시기와 고리를 형성하고; 여기서 고리는 1 내지 3개의 C₁₋₄ 알킬기로 선택적으로 치환된 5 또는 6-원 고리이고;

R³⁵가 각각 4,4'-디메톡시티르틸기(4,4'-dimethoxytirtyl group)이고;

R^{36} 이 $-CH_2CH_2CN$ 이고;

R^{37a} 및 R^{37b} 가 독립적으로 C_{1-4} 알킬인, 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 방법.

청구항 123

청구항 27 내지 청구항 53 중 어느 한 항에 따른 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 청구항 54 내지 청구항 121 중 어느 한 항에 따른 방법으로서,

R^{32} 가 각각 독립적으로 H, F, $-OCH_3$, $-OCH_2CH_2OCH_3$, 및 $-OTBDMS$ 로 구성된 군으로부터 선택되고;

R^{34} 가 각각 독립적으로 H이거나 또는 R^{32} 의 알콕시기와 함께 고리를 형성하고, 여기서 고리는 5-원 고리인, 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 방법.

청구항 124

청구항 27 내지 청구항 53 중 어느 한 항에 따른 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 청구항 54 내지 청구항 121 중 어느 한 항에 따른 방법으로서, R^{34} 가 각각 독립적으로 H이거나 또는 R^{32} 의 알콕시기와 함께 $-CH_2-O-$ 를 형성하는, 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 방법.

청구항 125

청구항 27 내지 청구항 53 중 어느 한 항에 따른 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 청구항 54 내지 청구항 121 중 어느 한 항에 따른 방법으로서,

R^{32} 가 각각 독립적으로 H 또는 $-OCH_2CH_2OMe$ 로부터 선택되고;

R^{34} 가 각각 H이고;

R^{35} 가 각각 4,4'-디메톡시티르틸기(4,4'-dimethoxytirtyl group)이고;

R^{36} 이 $-CH_2CH_2CN$ 이고;

R^{37a} 및 R^{37b} 가 둘 다 $-CH(CH_3)_2$ 인, 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 방법.

청구항 126

청구항 55, 청구항 64, 및 청구항 85 중 어느 한 항에 있어서, 화학식 (VD'), (V-2'), 또는 (F2')의 화합물의 염이 트리메틸 아민염, 트리에틸 아민염, 및 트리이소프로필 아민염으로부터 선택되는, 방법.

청구항 127

청구항 126에 있어서, 화학식 (VD'), (V-2'), 또는 (F2')의 화합물의 염이 트리에틸 아민염인, 방법.

청구항 128

염기가 아데닌, 시토신, 또는 구아닌인, 청구항 28에 따른 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드, 또는 청구항 58, 청구항 59, 청구항 69, 및 청구항 71 내지 청구항 92 중 어느 한 항에 따른 방법.

청구항 129

Q가 실릴 보호기인, 청구항 28에 따른 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드, 또는 청구항 58, 청구항 59, 청구항 69, 및 청구항 71 내지 청구항 92 중 어느 한 항에 따른 방법.

청구항 130

Q가 트리메틸실릴, 트리에틸실릴, 트라이소프로필실릴, 디메틸이소프로필실릴, 디에틸이소프로필실릴, 디메틸헥실실릴, t-부틸디메틸실릴, t-부틸디페닐실릴, 트리벤질실릴, 트리-p-자일릴실릴, 트리페닐실릴, 디페닐메틸실릴, 디-t-부틸메틸실릴 트리(트리메틸실릴)실릴, t-부틸메톡시페닐실릴, 및 t-부톡시디페닐실릴으로 구성된 군으로부터 선택되는, 청구항 28에 따른 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드, 또는 청구항 58, 청구항 59, 청구항 69, 및 청구항 71 내지 청구항 92 중 어느 한 항에 따른 방법.

청구항 131

Q가 t-부틸디페닐실릴인, 청구항 28에 따른 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드, 또는 청구항 58, 청구항 59, 청구항 69, 및 청구항 71 내지 청구항 92 중 어느 한 항에 따른 방법.

발명의 설명

기술 분야

관련 출원

본 출원은 35 U.S.C. § 119(e)에 따라 2020년 11월 11일에 출원된 미국 가특허 출원 제63/112,281호의 출원일의 우선권을 주장하며, 이의 전문은 본 명세서에서 참조로 포함한다.

발명의 분야

본 발명은 올리고뉴클레오티드, 시약, 및 올리고뉴클레오티드의 제조 방법에 관한 것이다.

배경 기술

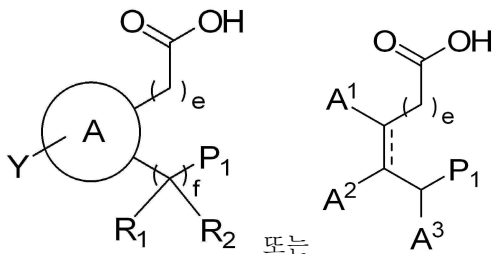
올리고뉴클레오티드는 광범위한 적용을 위해 화학적으로 합성될 수 있는 짧은 DNA 또는 RNA 올리고머이다. 치료제로서 합성 올리고뉴클레오티드를 이용하려는 최근의 개발은 고효율 및 고순도로 올리고뉴클레오티드를 대량 생산할 수 있는 합성 방법에 대한 요구를 증가시키고 있다.

전통적으로, 올리고뉴클레오티드는 2몰 미만의 규모로 제한되는 포스포르아미다이트 화학을 활용하는 고상 자동화 합성기에 의해 합성된다. 따라서, 고상 합성은 대규모 적용증에서 올리고뉴클레오티드 약물의 임상 개발 및 상업화에 필요한 물질의 생산에는 불충분하다. 또한, 고상 합성은 종종 과잉 시약의 사용을 필요로 하고 결과적으로 표적 올리고뉴클레오티드의 생산과 관련된 비용을 증가시킨다.

따라서, 고효율 및 고순도로 대규모 제조 공정에 적합한 올리고뉴클레오티드를 합성하기 위한 새로운 시약 및 강력한 방법이 요구되고 있다.

발명의 내용

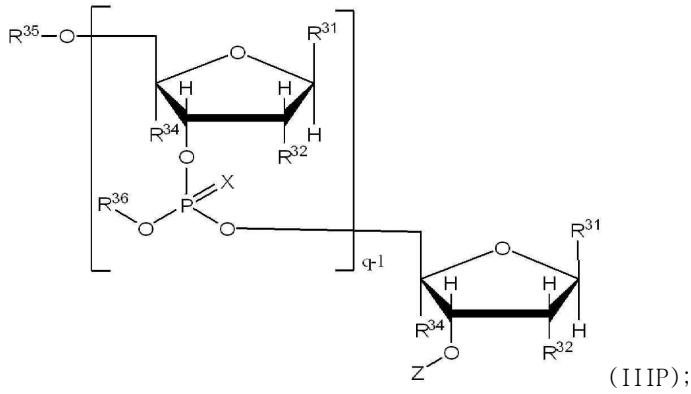
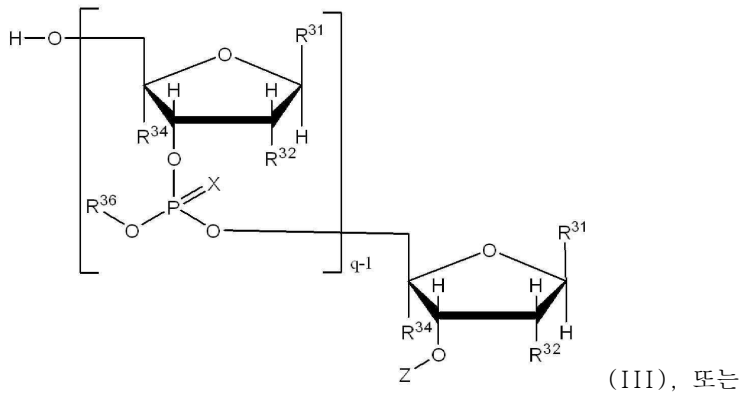
본 개시의 한 측면은 화학식 I' 또는 B의 화합물 또는 그의 염에 관한 것이다:



I' B

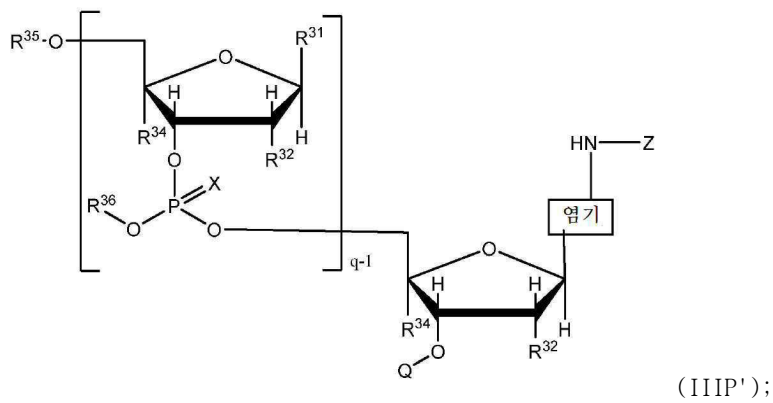
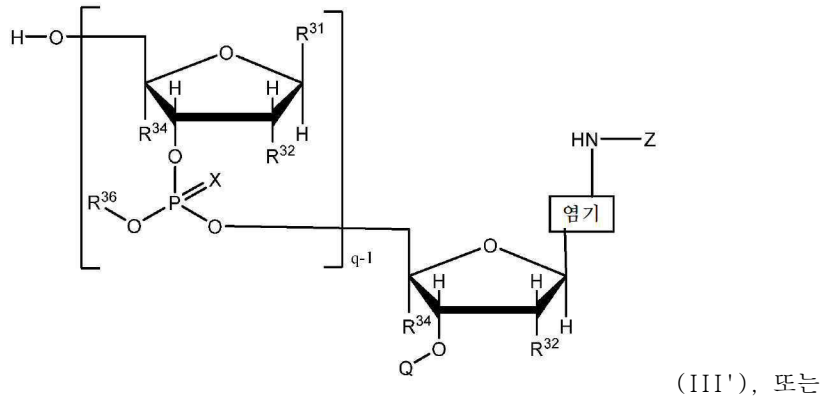
상기 식에서, 고리 A, A¹, A², A³, R₁, R₂, P₁, Y, e, 및 f는 하기에 정의된다.

본 개시의 한 측면은 화학식 III 또는 IIIP로 표시되는 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염에 관한 것이다:



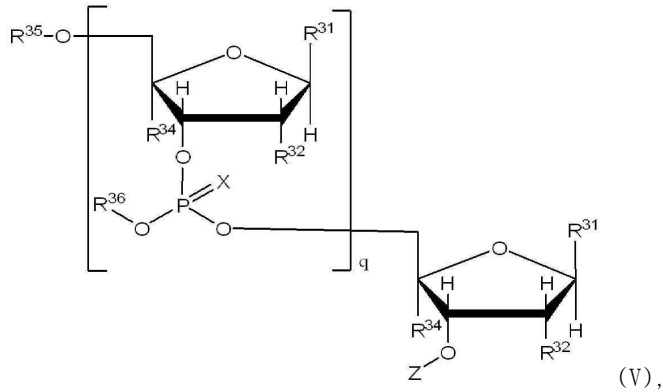
상기 식에서 R^{31} , R^{32} , R^{34} , R^{35} , R^{36} , q , X , 및 Z 는 하기에 정의된다.

본 개시의 한 측면은 화학식 III' 또는 IIIP'로 표시되는 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염에 관한 것이다:



상기 식에서 R^{31} , R^{32} , R^{34} , R^{35} , R^{36} , q , Q , X , 염기 및 Z 는 하기에 정의된다.

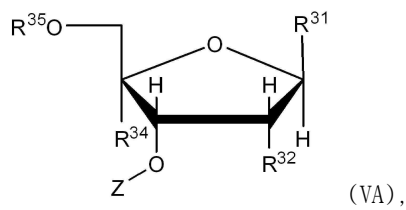
[0020] 본 개시의 한 측면은 화학식 (V)의 올리고뉴클레오타이드 단편 또는 그의 염의 제조 방법에 관한 것으로서,



[0021]

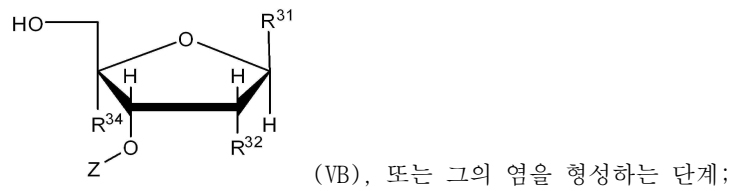
[0022] 상기 방법은 하기의 단계들을 포함한다:

[0023] 1) 화학식 (VA)의 화합물, 또는 그의 염을 탈보호하여,



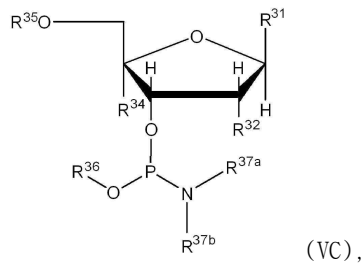
[0024]

[0025] 화학식 (VB)의 화합물을 형성하거나,



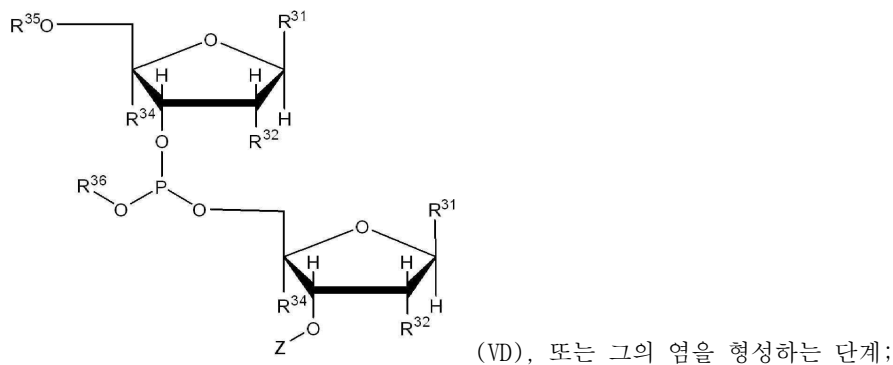
[0026]

[0027] 2) 화학식 (VB)의 화합물, 또는 그의 염을, 화학식 (VC)의 화합물, 또는 그의 염과 반응시켜서,



[0028]

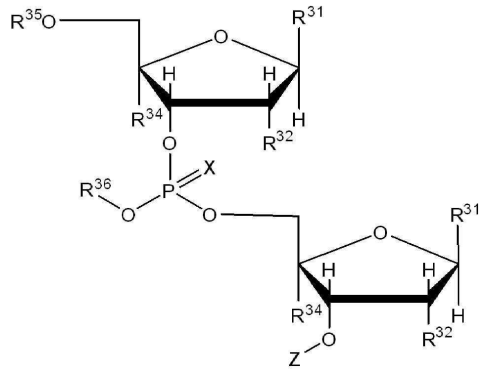
[0029] 화학식 (VD)의 화합물을 형성하거나,



[0030]

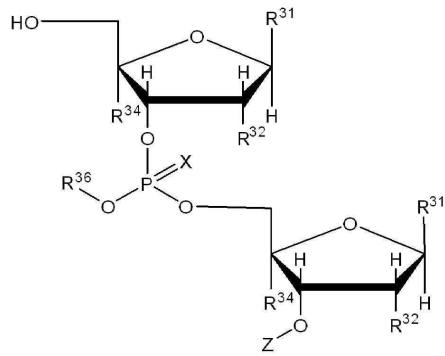
[0031] 3) 화학식 (VD)의 화합물, 또는 그의 염을, 황화제 또는 산화제로 황화 또는 산화시켜 화학식 (VE)의 화합물을

형성하거나,



[0032] (VE), 또는 그의 염을 형성하는 단계;

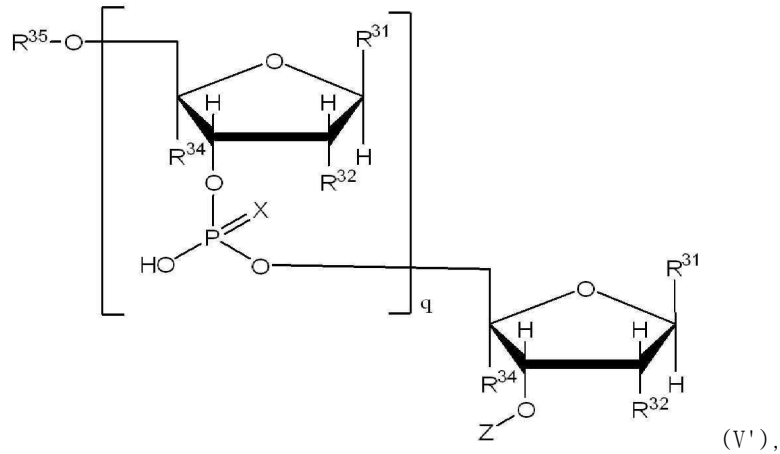
[0033] 4) 화학식 (VE)의 화합물, 또는 그의 염을 탈보호하여 화학식 (VF)의 화합물을 형성하거나,



[0034] (VF), 또는 그의 염을 형성하는 단계;

[0035] 5) q가 2 이상인 경우, 화학식 (VF)의 화합물로 출발하여, 단계 2), 3) 및 4)를 q-2회 반복한 다음, 단계 2) 및 3)을 거쳐 화학식 (V)의 단편, 또는 그의 염을 얻는 단계; 상기 식에서 R³¹, R³², R³⁴, R³⁵, R³⁶, q, X, 및 Z는 하기에 정의된다.

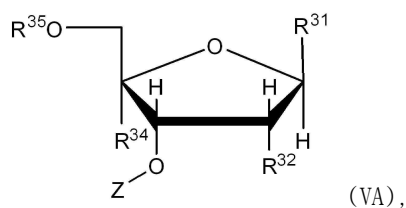
[0036] 본 개시의 한 측면은 화학식 (V')의 올리고뉴클레오타이드 단편, 또는 그의 염의 제조 방법에 관한 것으로서,



[0037] (V'),

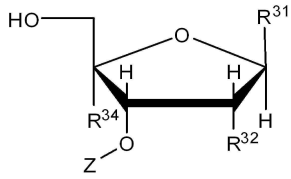
[0038] 상기 방법은 하기의 단계들을 포함한다:

[0039] 1) 화학식 (VA)의 화합물, 또는 그의 염을 탈보호하여,



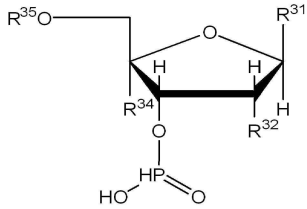
[0040] (VA),

[0041] 화학식 (VB)의 화합물을 형성하거나,



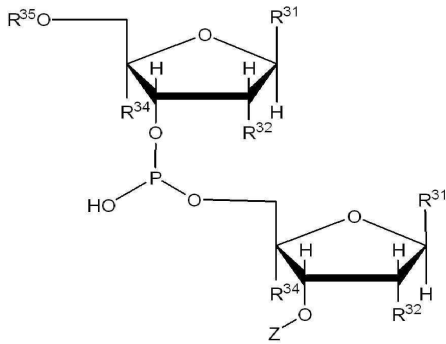
[0042] (VB), 또는 그의 염을 형성하는 단계;

[0043] 2) 화학식 (VB)의 화합물, 또는 그의 염을, 화학식 (VC')의 화합물, 또는 그의 염과 반응시켜서,



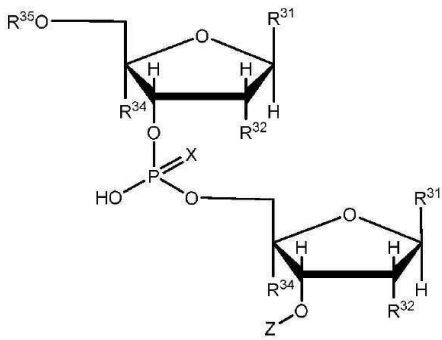
[0044] (VC'),

[0045] 화학식 (VD')의 화합물을 형성하거나,



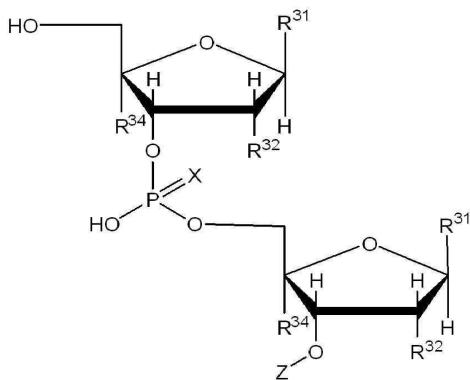
[0046] (VD'), 또는 그의 염을 형성하는 단계;

[0047] 3) 화학식 (VD')의 화합물, 또는 그의 염을, 황화제 또는 산화제로 황화 또는 산화시켜 화학식 (VE')의 화합물을 형성하거나,



[0048] (VE'), 또는 그의 염을 형성하는 단계;

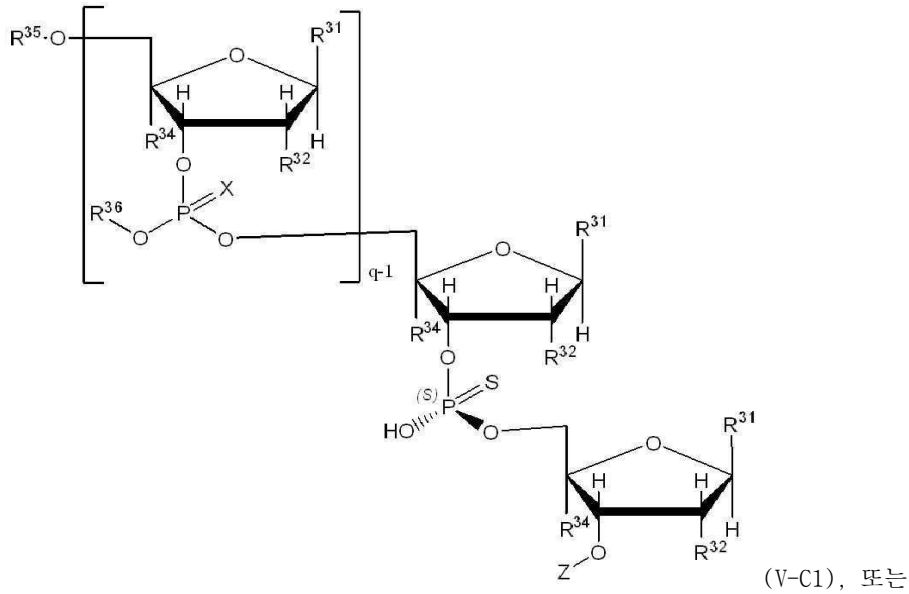
[0049] 4) 화학식 (VE')의 화합물, 또는 그의 염을 탈보호하여 화학식 (VF')의 화합물을 형성하거나,



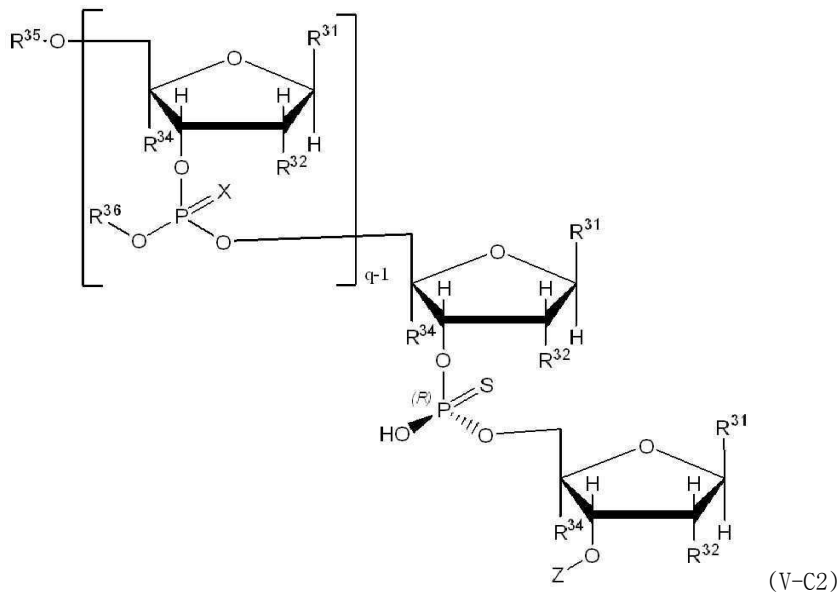
[0050] (VF'), 또는 그의 염을 형성하는 단계;

[0051] 5) q가 2 이상인 경우, 화학식 (VF')의 화합물로 출발하여, 단계 2), 3) 및 4)를 q-2회 반복한 다음, 단계 2) 및 3)을 거쳐 화학식 (V')의 단편, 또는 그의 염을 얻는 단계; 상기 식에서 R³¹, R³², R³⁴, R³⁵, q, X, 및 Z는 하기에 정의된다.

[0052] 본 개시의 한 측면은 화학식 (V-C1) 또는 (V-C2)의 올리고뉴클레오타이드 단편, 또는 그의 염의 제조 방법에 관한 것으로서,



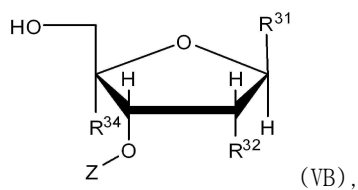
[0053]



[0054]

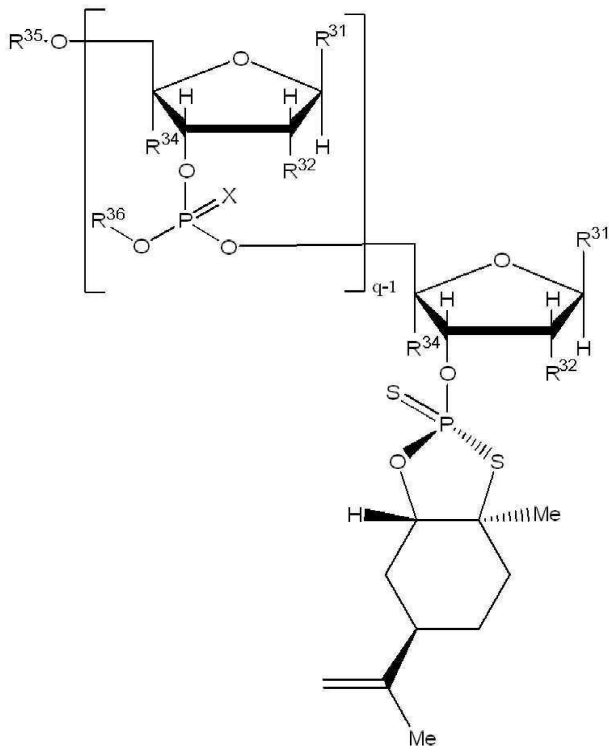
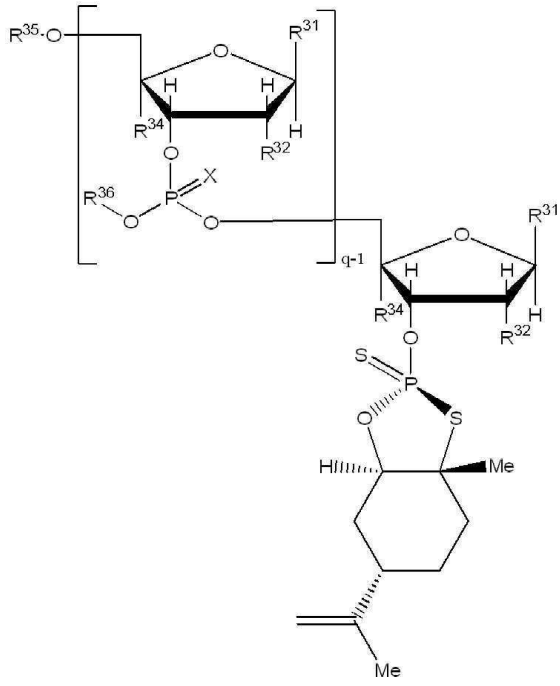
[0055] 상기 방법은 하기의 단계들을 포함한다:

[0056] 1) 화학식 (VB)의 화합물:



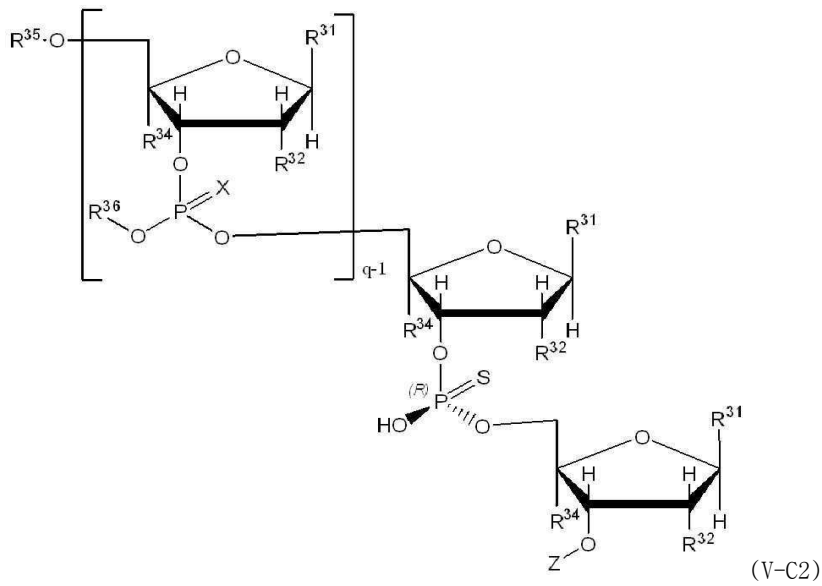
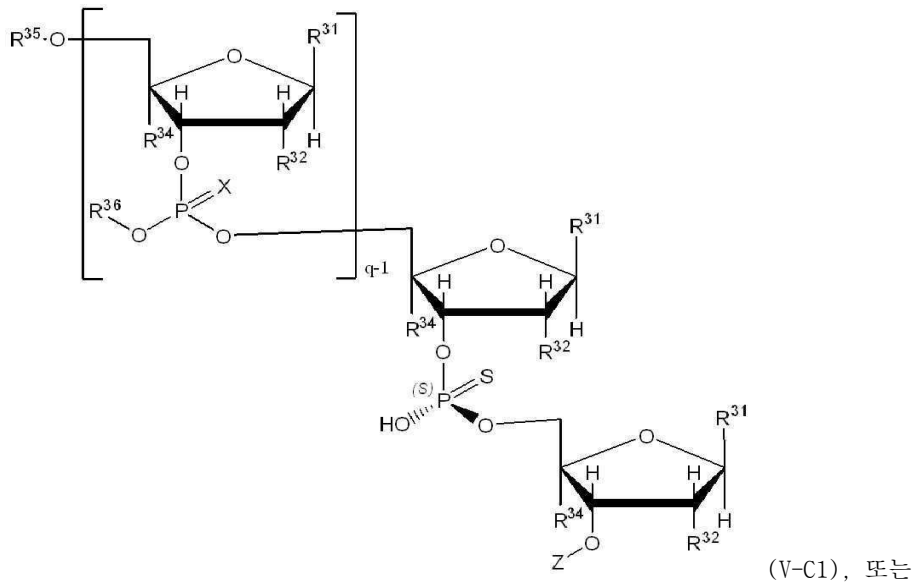
[0057]

[0058] 또는 그의 염을, 화학식 (V-CR1) 또는 (V-CR2)의 화합물:



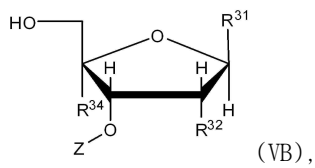
[0061] 또는 그의 염, 및 염기와 반응시켜서, 화학식 (V-C1) 또는 (V-C2)의 화합물을 형성하는 단계; 상기 식에서 R^{31} , R^{32} , R^{34} , R^{35} , q , X , 및 Z 는 하기에 정의된다.

[0062] 본 개시의 한 측면은 화학식 (V-C1) 또는 (V-C2)의 올리고뉴클레오티드 단편, 또는 그의 염의 제조 방법에 관한 것으로서,

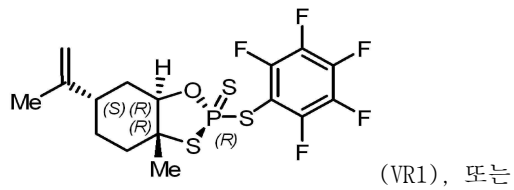


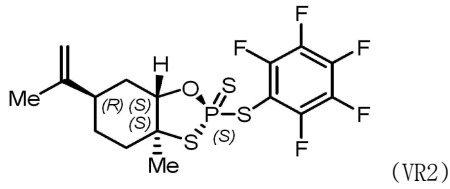
[0065] 상기 방법은 하기의 단계들을 포함한다:

[0066] 1) 화학식 (VB)의 화합물,



[0068] 또는 그의 염을, 화학식 (VR1) 또는 (VR2)의 시약과 반응시켜서,

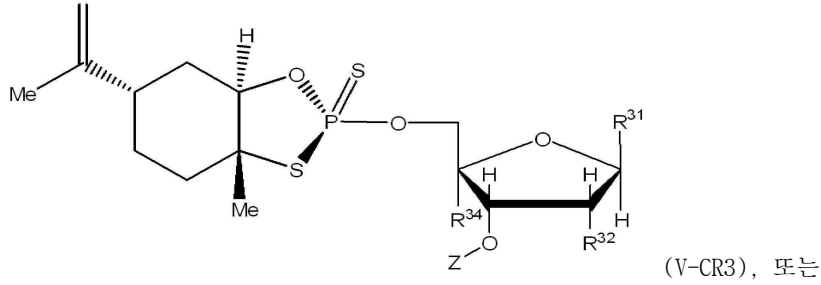




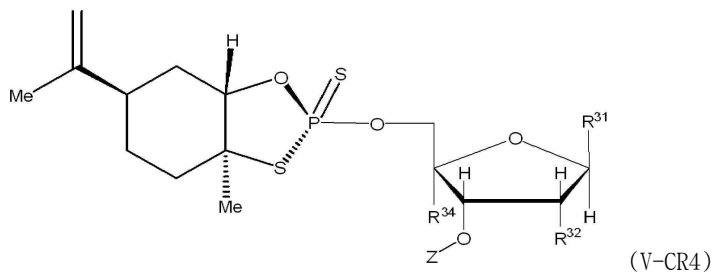
[0070]

[0071]

화학식 (V-CR3) 또는 (V-CR4)의 화합물을 형성하거나,



[0072]



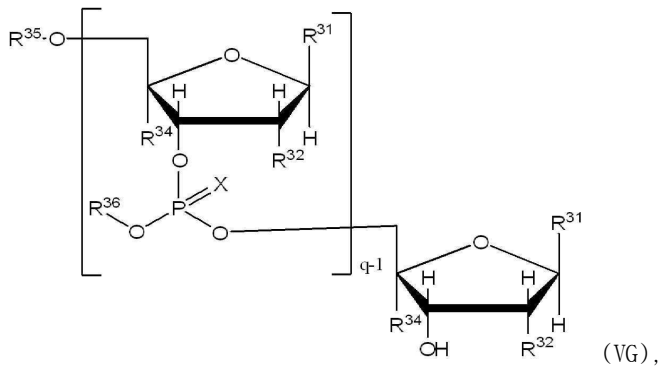
[0073]

[0074]

또는 그의 염을 형성하는 단계;

[0075]

2) 화학식 (V-CR3) 또는 (V-CR4)의 화합물, 또는 그의 염을, 화학식 (VG)의 화합물:



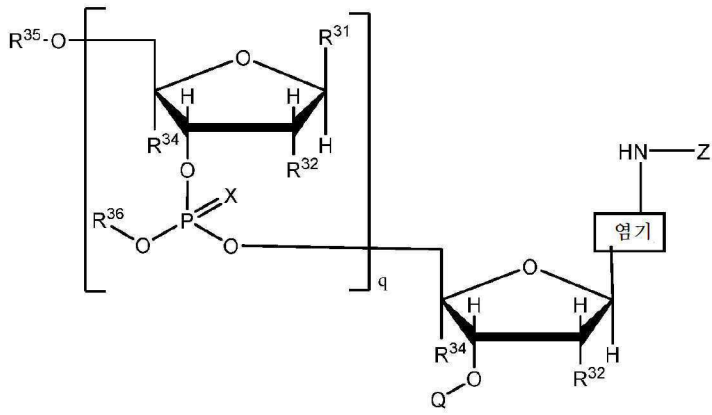
[0076]

[0077]

또는 그의 염, 및 염기와 반응시켜서, 화학식 (V-C1) 또는 (V-C2)의 화합물을 형성하는 단계, 상기 식에서 R^{31} , R^{32} , R^{34} , R^{35} , R^{36} , q , X , 및 Z 는 하기에 정의된다.

[0078]

본 개시의 한 측면은 화학식 (VBZ)의 올리고뉴클레오타이드 단편, 또는 그의 염의 제조 방법에 관한 것으로서,

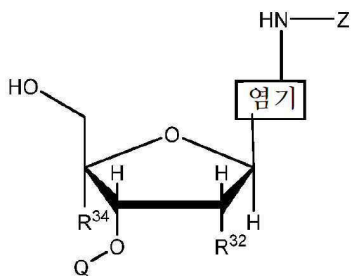


(VBZ),

[0079]

[0080] 상기 방법은 하기의 단계들을 포함한다:

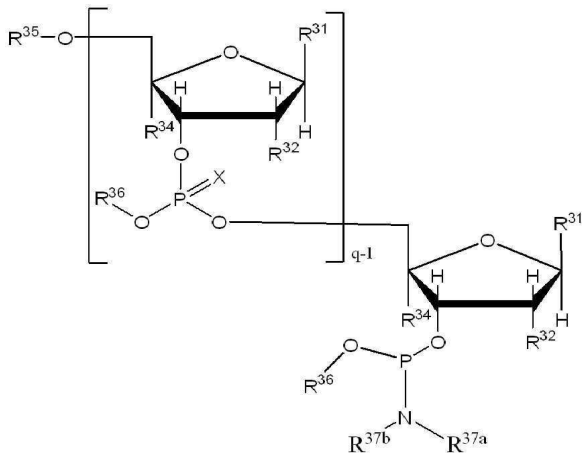
[0081] 1) 화학식 (VBZ-1)의 화합물,



(VBZ-1),

[0082]

[0083] 또는 그의 염을, 화학식 (VBZ-2)의 화합물:

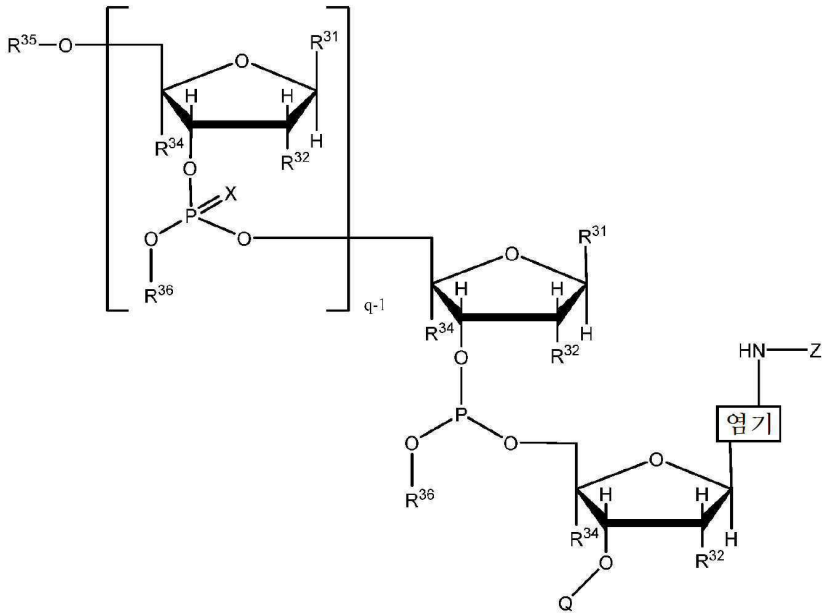


(VBZ-2),

[0084]

[0085] 또는 그의 염과 반응시켜서, 화학식 (VBZ-3)의 화합물을 형성하거나,

[0085]



[0086]

단계;

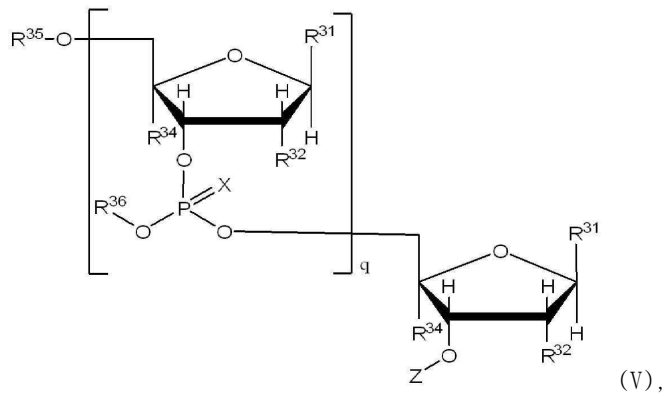
(VBZ-3), 또는 그의 염을 형성하는

[0087]

3) 화학식 (VBZ-3)의 화합물, 또는 그의 염, 황화제 또는 산화제로 황화 또는 산화시켜 화학식 (VBZ)의 화합물, 또는 그의 염을 형성하는 단계; 상기 식에서 R^{31} , R^{32} , R^{34} , R^{35} , R^{36} , q , X , 및 Z 는 하기에 정의된다.

[0088]

본 개시의 한 측면은 화학식 (V)의 올리고뉴클레오티드 단편, 또는 그의 염의 제조 방법에 관한 것으로서,

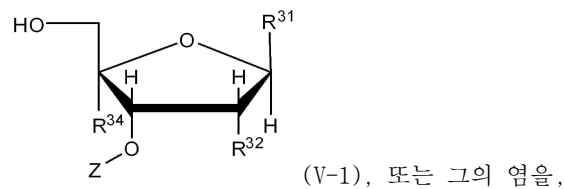


[0089]

상기 방법은 하기의 단계들을 포함한다:

[0091]

a) 화학식 (V-1)의 뉴클레오티드:

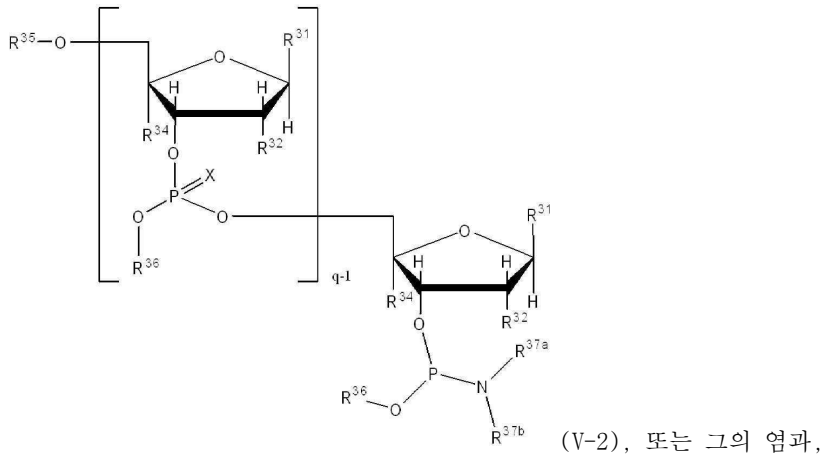


[0092]

(V-1), 또는 그의 염을,

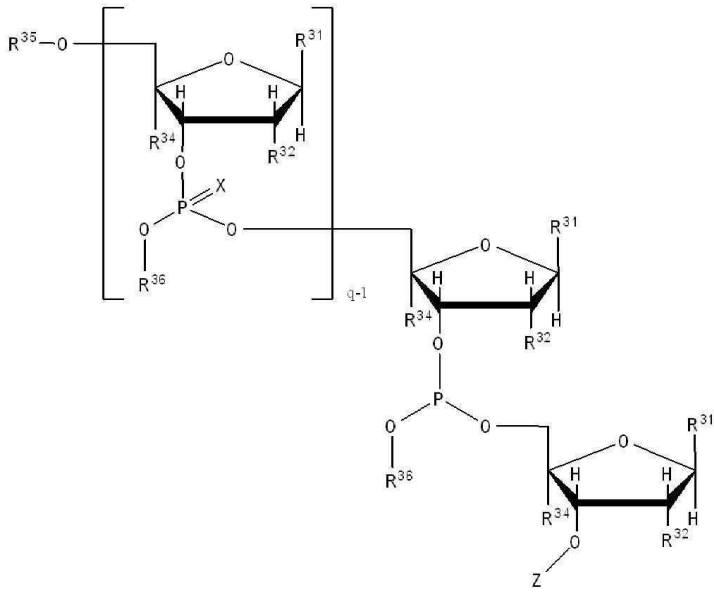
[0093]

화학식 (V-2)의 올리고뉴클레오티드 단편:



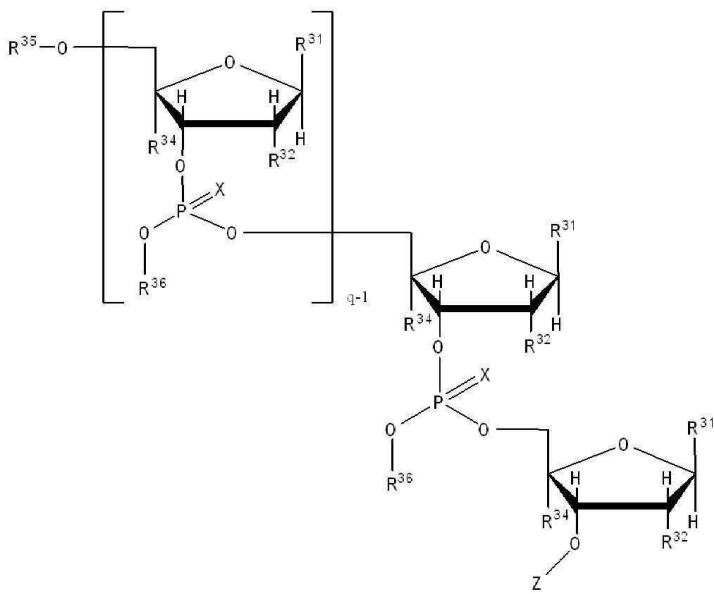
[0094] 용액 중에서 커플링시켜 화학식 (V-3)의 올리고뉴클레오타이드 단편,

[0095] 용액 중에서 커플링시켜 화학식 (V-3)의 올리고뉴클레오타이드 단편,



[0096] 화학식 (V-3) 또는 그의 염을 형성하는 단계; 및

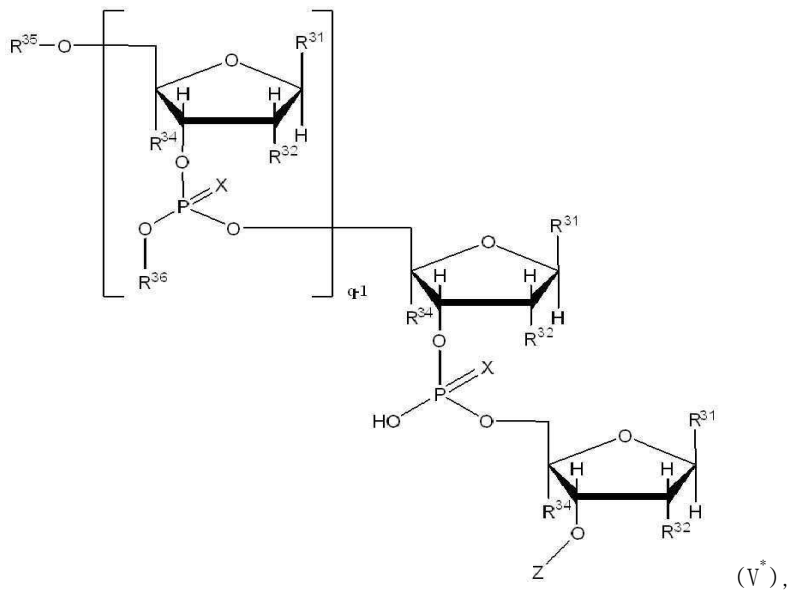
[0097] b) 화학식 (V-3)의 올리고뉴클레오타이드, 또는 그의 염을, 황화 또는 산화시켜, 화학식 (V)의 올리고뉴클레오타이드:



[0098] 화학식 (V) 또는 그의 염을 형성하는 단계;

[0099] 상기 식에서 R^{31} , R^{32} , R^{34} , R^{35} , R^{36} , R^{37a} , R^{37b} , q , X , 및 Z 는 하기에 정의된다.

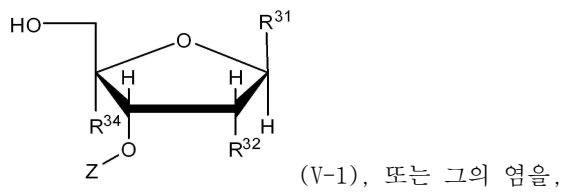
[0100] 본 개시의 한 측면은 화학식 (V*)의 올리고뉴클레오타이드 단편, 또는 그의 염의 제조 방법에 관한 것으로서,



[0101]

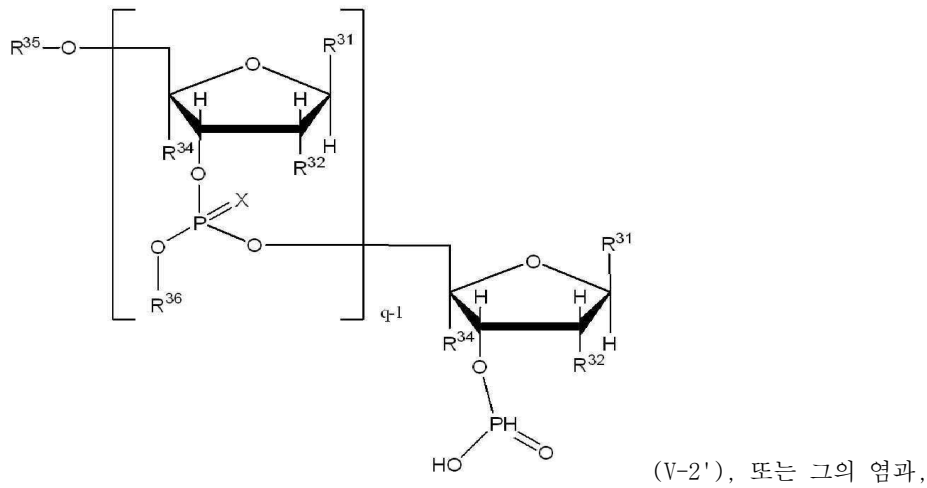
[0102] 상기 방법은 하기의 단계들을 포함한다:

[0103] a) 화학식 (V-1)의 뉴클레오타이드:



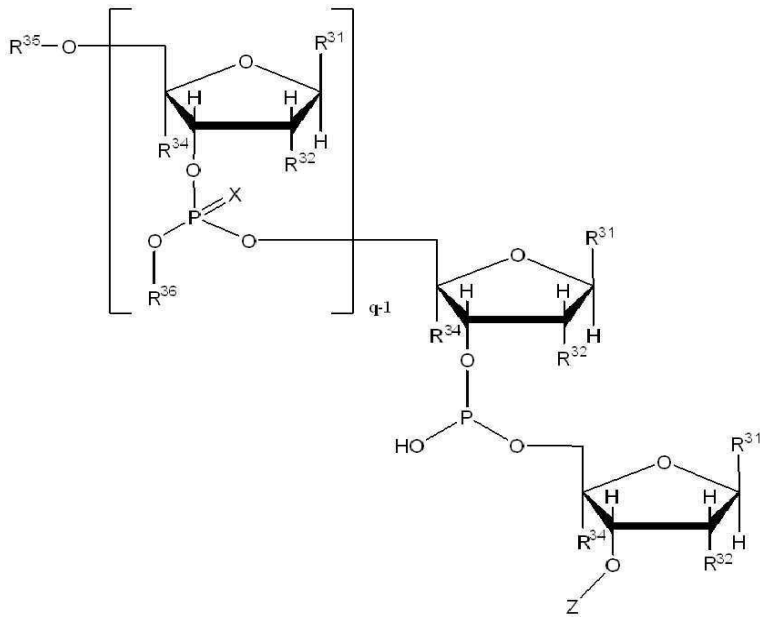
[0104]

[0105] 화학식 (V-2')의 올리고뉴클레오타이드 단편:



[0106]

[0107] 용액 중에서 커플링시켜 화학식 (V-3')의 올리고뉴클레오타이드 단편을 형성하거나,



(V-3') 또는 그의 염을 형성하는 단계; 및

[0108]

[0109]

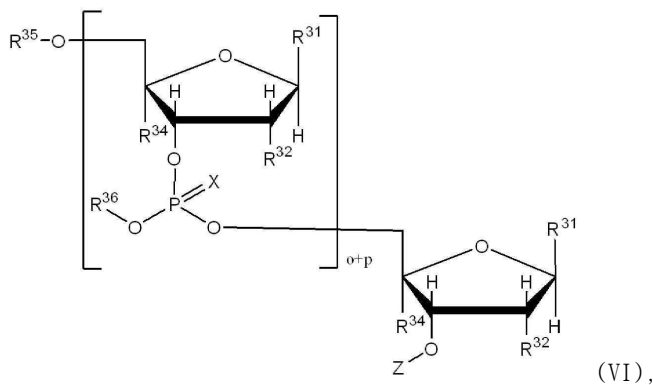
b) 화학식 (V-3')의 올리고뉴클레오티드, 또는 그의 염을 황화 또는 산화시켜, 화학식 (V*)의 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염을 형성하는 단계;

[0110]

상기 식에서 R^{31} , R^{32} , R^{34} , R^{35} , R^{36} , q , X , 및 Z 는 하기에 정의된다.

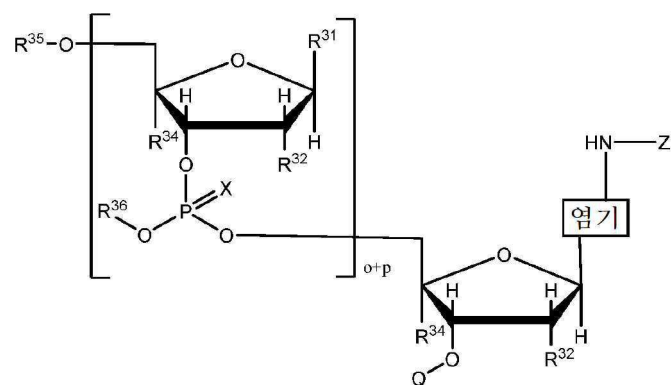
[0111]

본 개시의 한 측면은 화학식 (VI) 또는 (VI-1)의 표적 올리고뉴클레오티드, 또는 그의 염의 제조 방법에 관한 것으로서,



(VI),

[0112]



(VI-1),

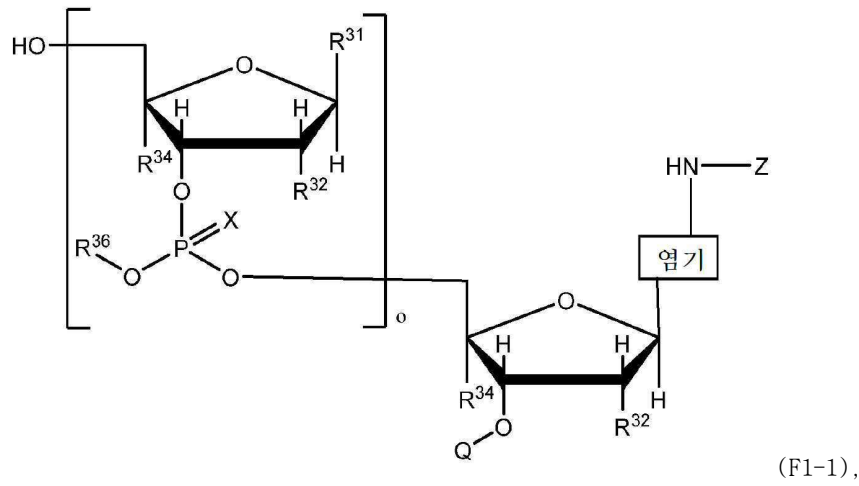
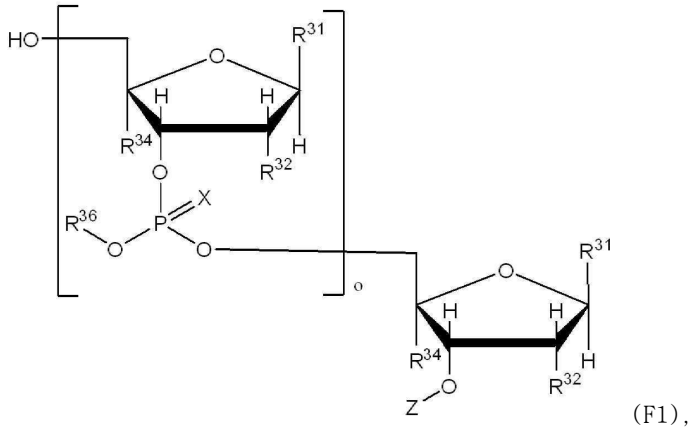
[0113]

[0114]

상기 방법은 하기의 단계들을 포함한다:

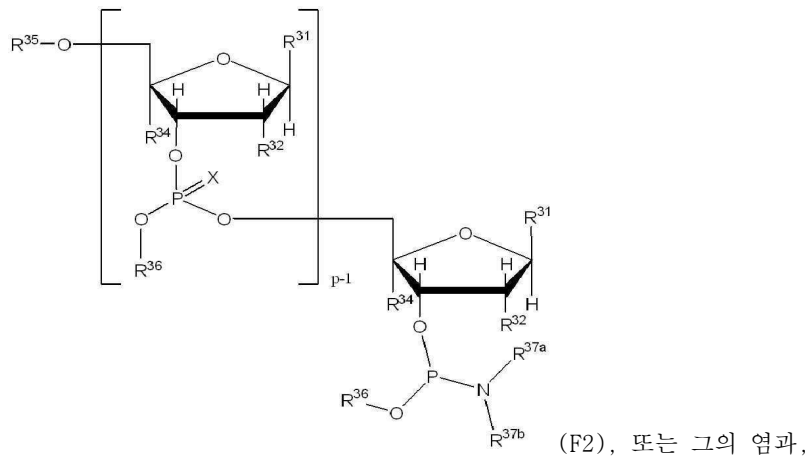
[0115]

a) 화학식 (F1) 또는 (F1-1)의 올리고뉴클레오티드 단편:

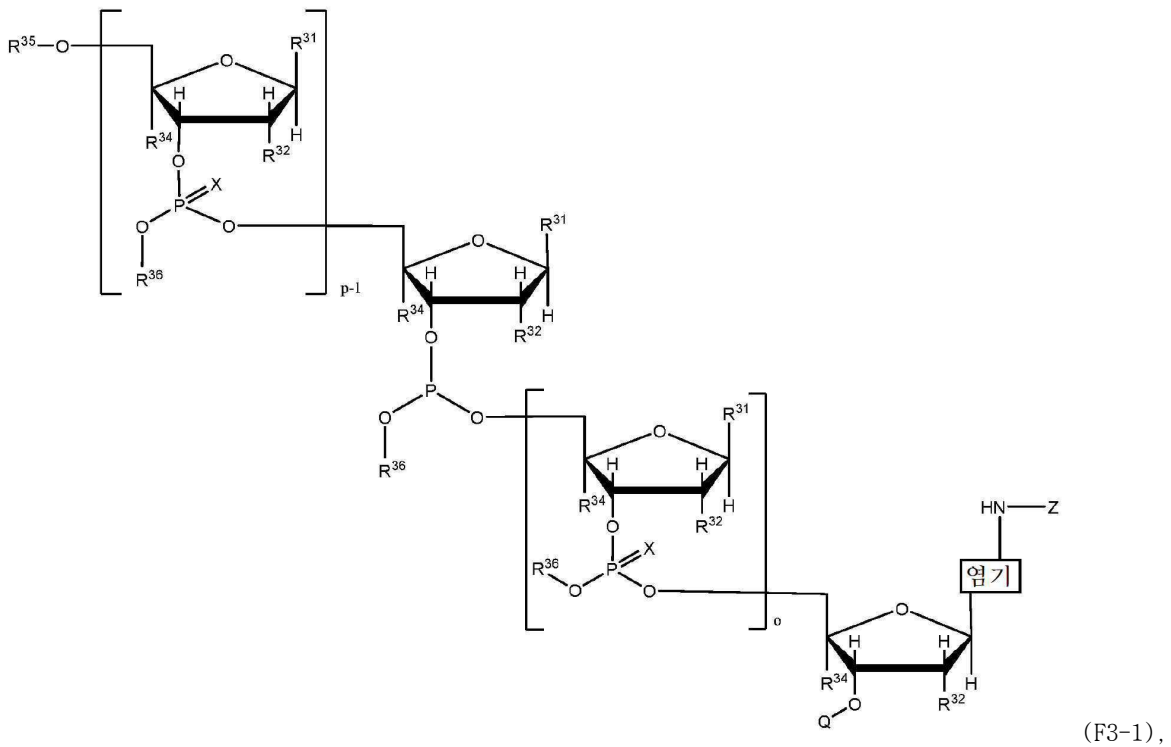
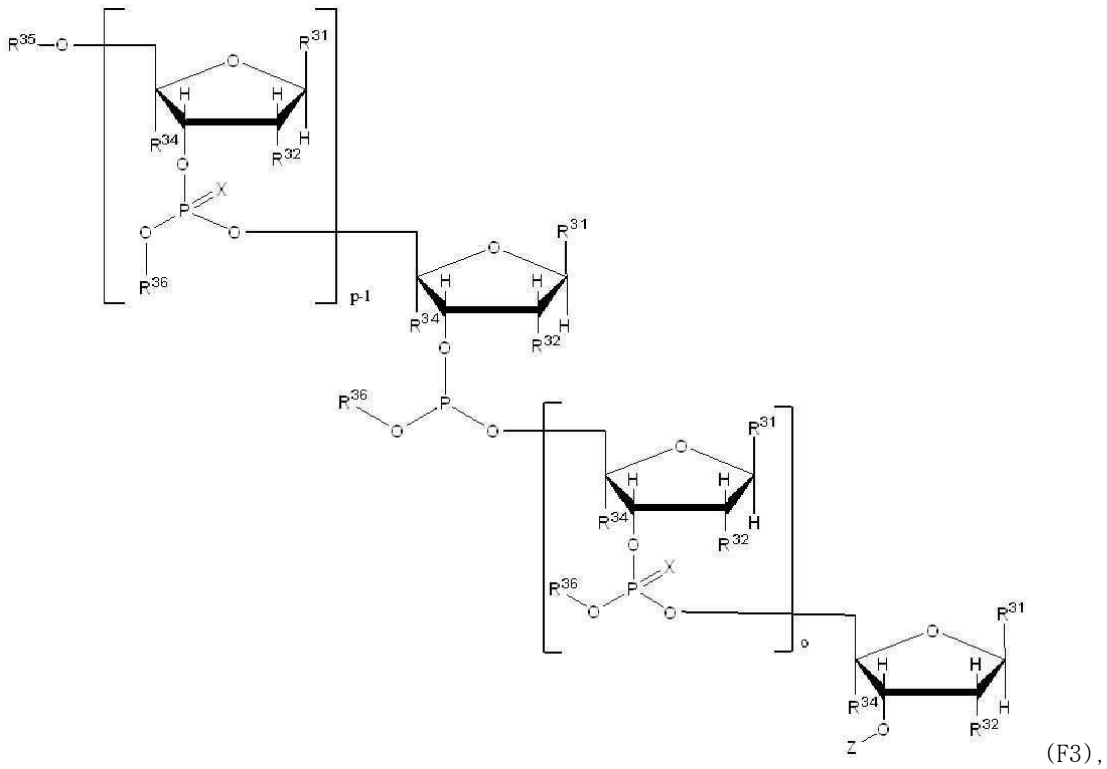


또는 그의 염을,

화학식 (F2)의 올리고뉴클레오티드 단편:



용액 중에서 커플링시켜 화학식 (F3) 또는 (F3-1)의 올리고뉴클레오티드 단편을 형성하거나,



[0122]

[0123]

[0124]

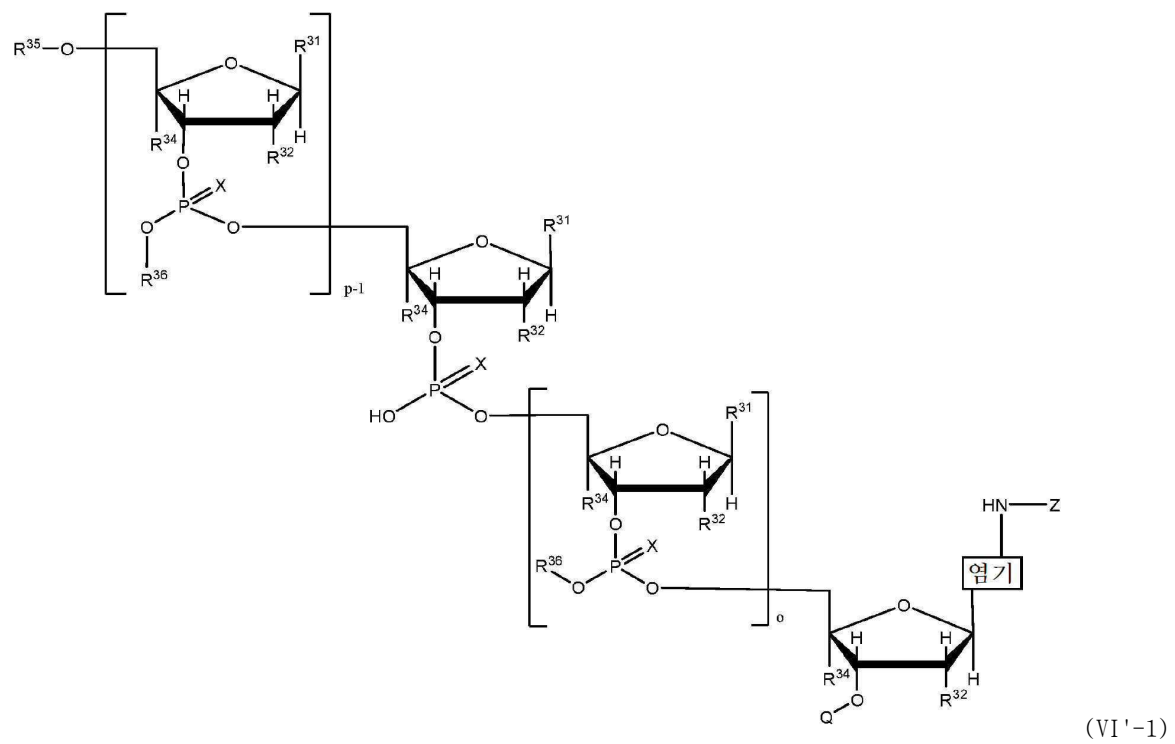
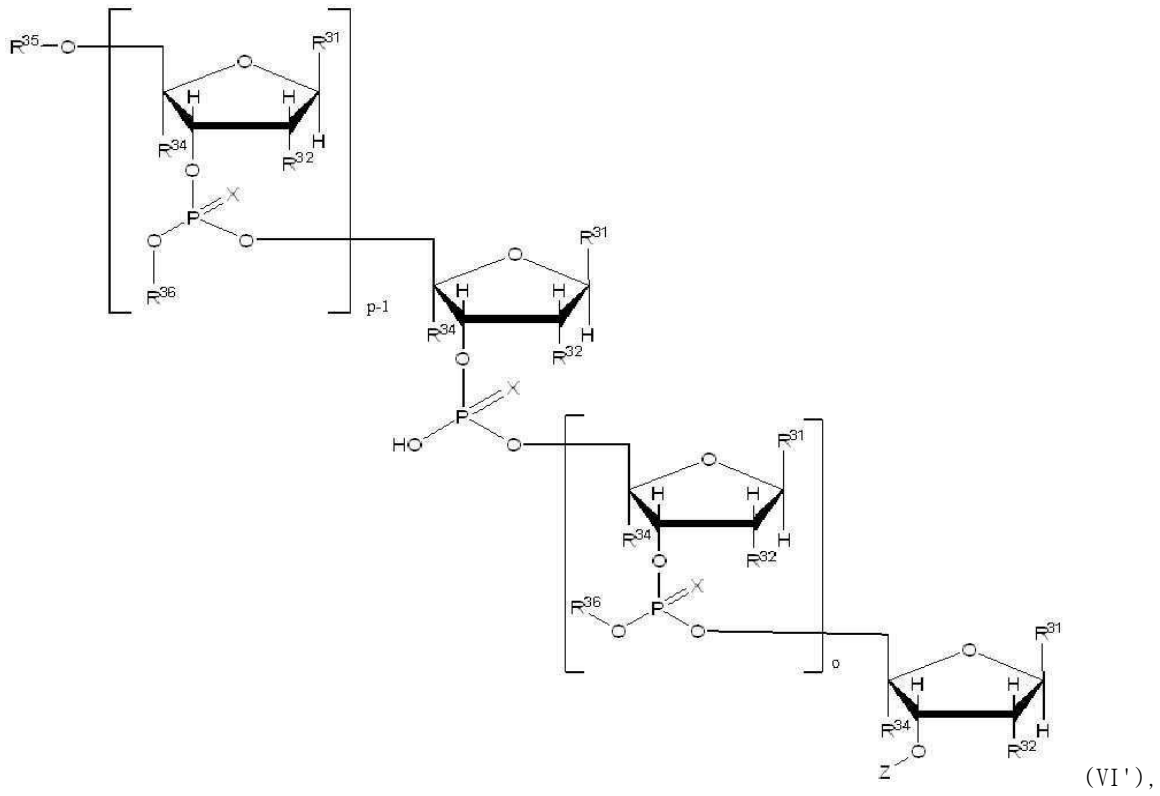
[0125]

또는 그의 염을 형성하는 단계; 및

b) 화학식 (F3) 또는 (F3-1)의 올리고뉴클레오타이드 단편, 또는 그의 염을 황화 또는 산화시켜, 화학식 (VI) 또는 (VI-1)의 올리고뉴클레오타이드 또는 그의 염을 형성하는 단계; 상기 식에서 R^{31} , R^{32} , R^{34} , R^{35} , R^{36} , R^{37a} , R^{37b} , o, p, Q, X, 염기 및 Z는 하기에 정의된다.

[0126]

본 개시의 한 측면은 화학식 (VI') 또는 (VI'-1)의 표적 올리고뉴클레오타이드, 또는 그의 염의 제조 방법으로서,



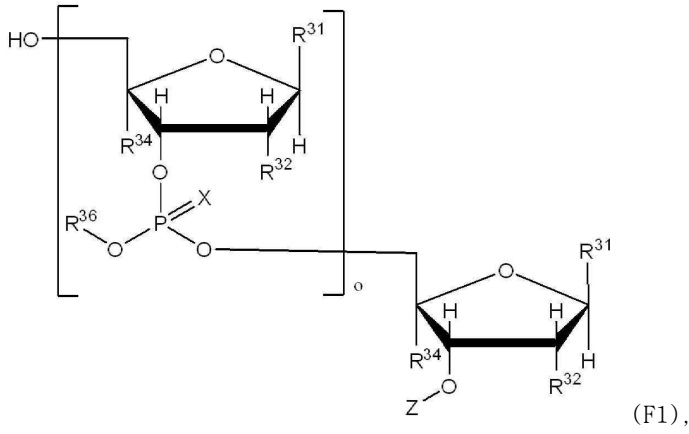
[0128]

[0129]

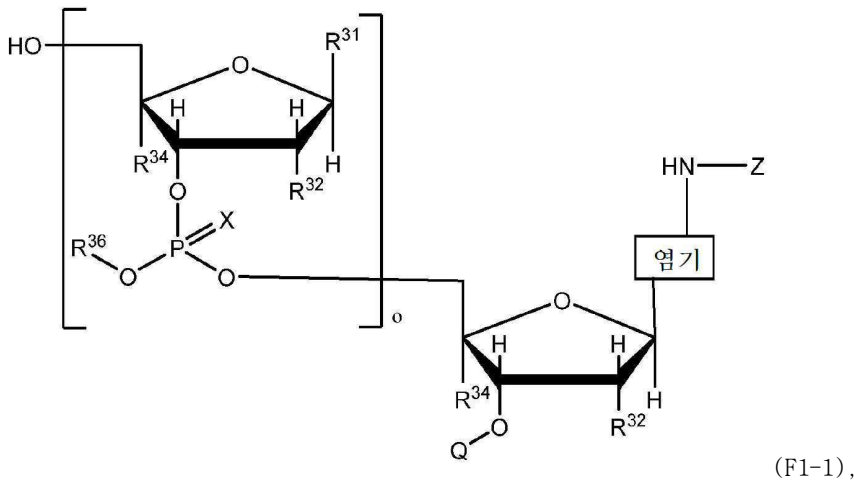
상기 방법은 하기의 단계들을 포함한다:

[0130]

a) 화학식 (F1) 또는 (F1-1)의 올리고뉴클레오타이드 단편:

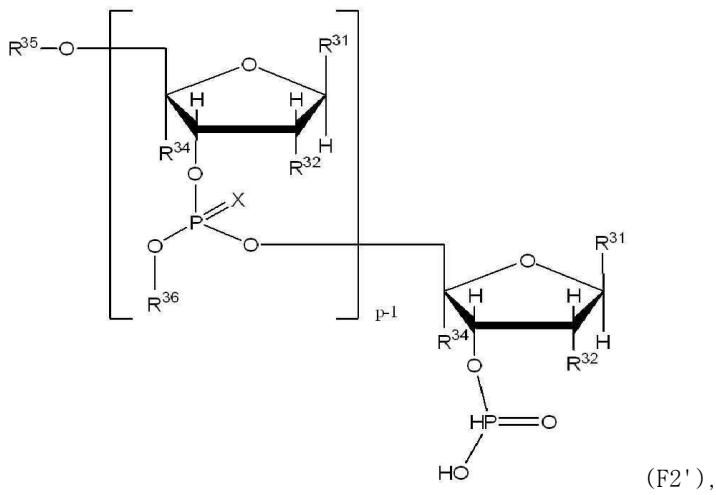


[0131]



[0132]

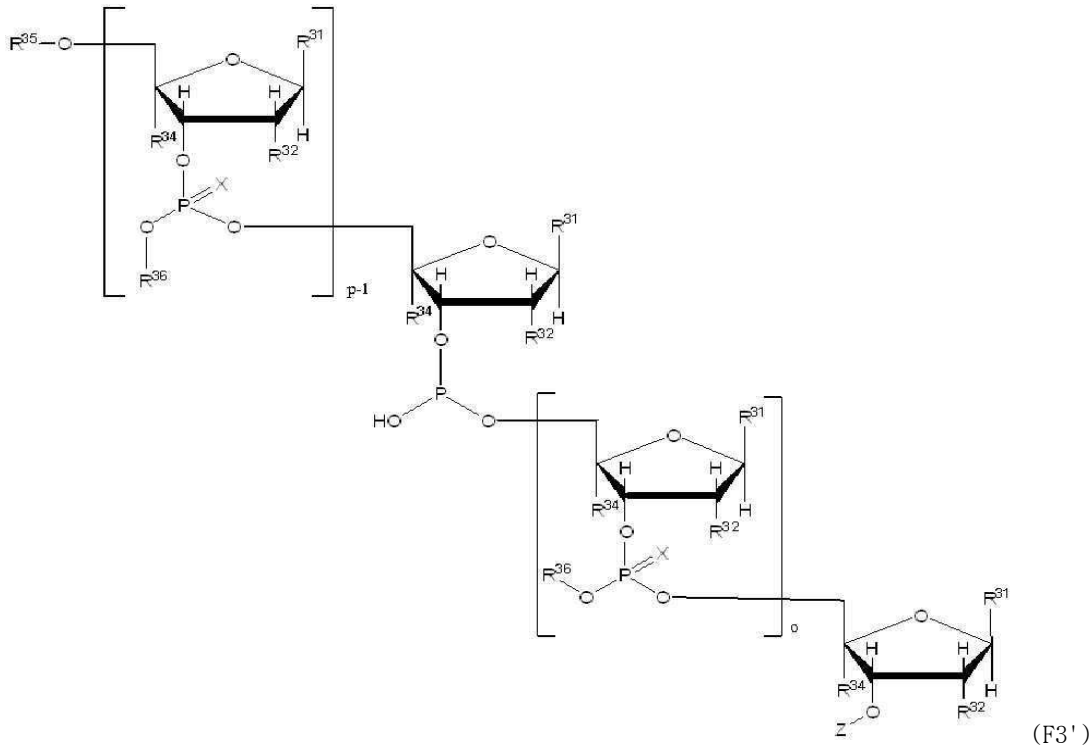
[0133] 또는 그의 염을, 화학식 (F2')의 올리고뉴클레오타이드 단편:



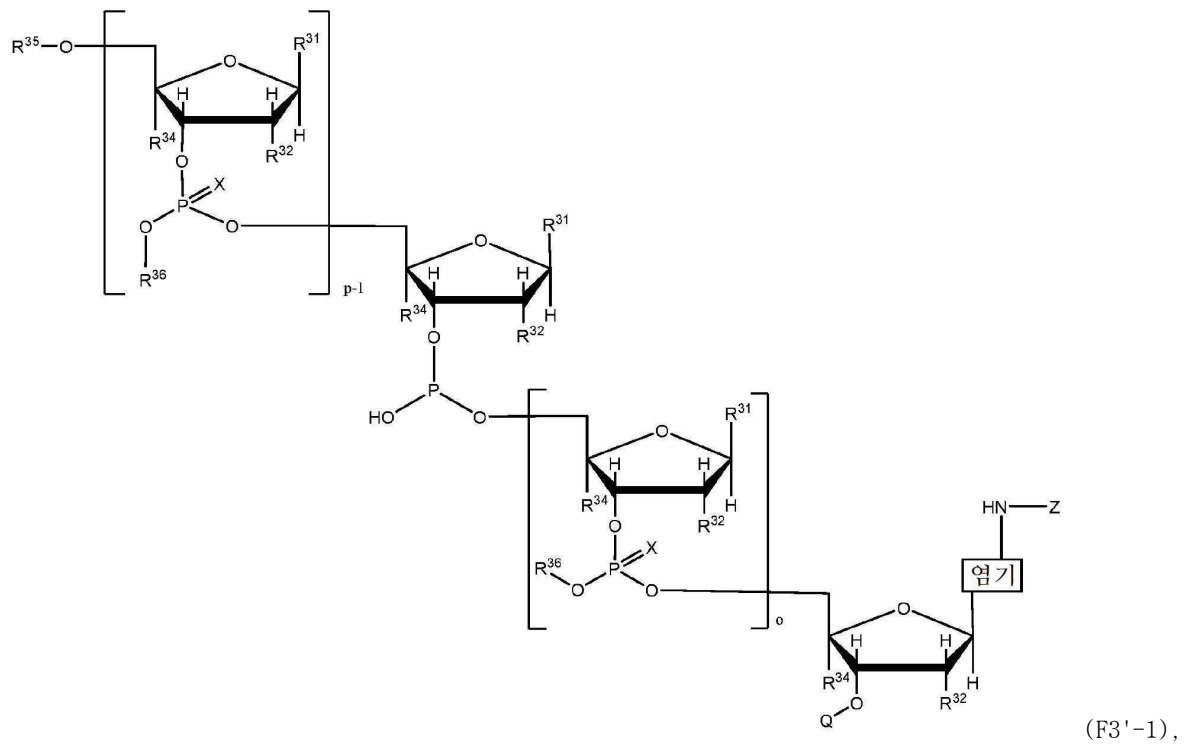
[0134]

[0135] 또는 그의 염과, 용액 중에서 커플링시켜 화학식 (F3') 또는 (F3'-1)의 올리고뉴클레오타이드 단편을 형성하거나,

[0135]



[0136]



[0137]

[0138] 또는 그의 염을 형성하는 단계; 및

[0139] b) 화학식 (F3') 또는 (F3'-1)의 올리고뉴클레오타이드 단편, 또는 그의 염을 황화 또는 산화시켜, 화학식 (VI') 또는 (VI'-1)의 올리고뉴클레오타이드 또는 그의 염을 형성하는 단계,

[0140] 상기 식에서: R^{31} , R^{32} , R^{34} , R^{35} , R^{36} , R^{37a} , R^{37b} , o , p , Q , X , 염기 및 Z 는 하기에 정의된다.

도면의 간단한 설명

[0141] 도 1은 올리고뉴클레오타이드 I을 제조하기 위한 역합성 도식을 나타낸 것이다.

- 도 2는 올리고뉴클레오타이드 단편 A를 제조하기 위한 합성 도식을 나타낸 것이다.
- 도 3은 시약 M19로부터 올리고뉴클레오타이드 단편 B를 제조하기 위한 합성 도식을 나타낸 것이다.
- 도 4는 올리고뉴클레오타이드 단편 C를 제조하기 위한 합성 도식을 나타낸 것이다.
- 도 5는 올리고뉴클레오타이드 단편 D를 제조하기 위한 합성 도식을 나타낸 것이다.
- 도 6은 올리고뉴클레오타이드 단편 E를 제조하기 위한 합성 도식을 나타낸 것이다.
- 도 7은 올리고뉴클레오타이드 단편 F를 제조하기 위한 합성 도식을 나타낸 것이다.
- 도 8은 올리고뉴클레오타이드 단편 J를 제조하기 위한 합성 도식을 나타낸 것이다.
- 도 9는 올리고뉴클레오타이드 단편 K를 제조하기 위한 합성 도식을 나타낸 것이다.
- 도 10은 올리고뉴클레오타이드 단편 O를 제조하기 위한 합성 도식을 나타낸 것이다.
- 도 11은 시약 M40으로부터 올리고뉴클레오타이드 단편 B를 제조하기 위한 합성 도식을 나타낸 것이다.
- 도 12는 P=0 결합의 제조를 위한 원 포트 절차의 반응 생성물 및 부산물을 나타낸 것이다.
- 도 13은 올리고뉴클레오타이드 I을 대규모로 제조하기 위한 합성 도식을 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0142] 올리고뉴클레오타이드를, 특히 대규모로 제조하는 것을 용이하게 하기 위한 시약을 설명한다. 본 개시의 시약에 기초한 합성 공정들은 올리고뉴클레오타이드 단편들의 어셈블리로부터의 크로마토그래피 정제를 필요로 하지 않으면서 고순도로 보호된 표적 올리고뉴클레오타이드를 대규모로 생성한다. 또한, 보호된 표적 올리고뉴클레오타이드는 본 개시의 조건에 근거하여 선택적으로 용이하게 탈보호될 수 있다. 탈보호 및 표준 다운스트림 정제 후, 치료 용도에 적합한 고순도 ASO 올리고뉴클레오타이드가 얻어진다. 따라서, 본 개시의 신규 시약 및 합성 방법은 올리고뉴클레오타이드의 전통적인 제법에 비해 큰 장점을 제공한다.
- [0143] 정의
- [0144] 용어 "핵염기"는 뉴클레오시드의 헤테로사이클릭 염기 부분을 의미한다. 핵염기는 자연적으로 발생하거나 변형될 수 있다. 특정 구현예에서, 핵염기는 또 다른 핵산의 핵염기에 수소 결합할 수 있는 임의의 원자 또는 원자단을 함유할 수 있다. 특히, 핵염기는 헤테로사이클릭 염기, 전형적으로 퓨린 및 피리미딘이다. "변형되지 않은" 또는 "천연" 핵염기, 예를 들어 퓨린 핵염기 아데닌(A) 및 구아닌(G), 및 피리미딘 핵염기 티민(T), 시토신(C) 및 우라실(U) 외에도, 당염자에게 공지된 많은 변형된 핵염기 또는 핵염기 모방체가 본 명세서에 기재된 방법에 의해 합성되는 화합물에 포함될 수 있다. 특정 구현예에서, 변형된 핵염기는, 예를 들어 7-데아자 퓨린, 5-메틸 시토신 또는 G-클램프와 같은, 모 핵염기와 구조가 상당히 유사한 핵염기이다. 특정 구현예에서, 핵염기 모방체는, 예를 들어 트리아이클릭 페녹사진 핵염기 모방체와 같은, 보다 복잡한 구조를 포함한다. 상기 언급된 변형된 핵염기의 제조 방법은 당업자에게 잘 알려져 있다.
- [0145] 용어 "뉴클레오시드"는 2'-말단에서 변형될 수 있는, 헤테로사이클릭 염기 모이어티 및 당 모이어티를 함유하는 화합물을 의미한다.
- [0146] 용어 "뉴클레오타이드"는 포스페이트 또는 티오포스페이트 또는 디티오포스페이트 연결기를 함유하는 뉴클레오시드를 의미한다.
- [0147] 용어 "올리고뉴클레오타이드"는 복수의 연결된 뉴클레오시드를 함유하는 화합물을 지칭한다. 특정 구현예에서, 복수의 뉴클레오시드 중 하나 이상이 변형된다. 특정 구현예에서, 올리고뉴클레오타이드는 하나 이상의 리보뉴클레오시드(RNA) 및/또는 데옥시리보뉴클레오시드(DNA)를 함유한다.
- [0148] 본 명세서에서 사용되는 "표적 올리고뉴클레오타이드"는 본 개시의 시약 및 방법에 근거하여 제조될 수 있는 올리고뉴클레오타이드 생성물을 지칭한다. 특정 구현예에서, 표적 올리고뉴클레오타이드는 적어도 10 또는 적어도 15개의 뉴클레오타이드를 함유한다. 특정 구현예에서, 표적 올리고뉴클레오타이드는 10 내지 500개, 15 내지 500개, 15 내지 200개, 15 내지 100개, 15 내지 50개, 15 내지 40개, 15 내지 30개 또는 16 내지 30개의 뉴클레오타이드를 갖는다.
- [0149] 본 명세서에서 사용되는 "올리고뉴클레오타이드 단편"은 표적 올리고뉴클레오타이드를 만들기 위해 조립되는 짧은

올리고뉴클레오티드를 지칭한다. 특정 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 단편은 3 내지 10개, 3 내지 8개, 3 내지 6개 또는 4 내지 6개의 뉴클레오티드를 갖는다. 특정 구현예에서, 올리고뉴클레오티드 단편은 4개 또는 5개의 뉴클레오티드를 갖는다.

[0150] 본 명세서에서 사용되는 용어 "알킬"은 완전히 포화된 분지형 또는 비분지형 탄화수소 모이어티를 지칭한다. 일부 구현예에서, 알킬은 1 내지 30개의 탄소 원자, 1 내지 20개의 탄소 원자, 1 내지 16개의 탄소 원자, 1 내지 10개의 탄소 원자, 1 내지 6개의 탄소 원자, 또는 1 내지 4개의 탄소 원자를 함유한다. 일부 구현예에서, 알킬은 6 내지 20개의 탄소 원자를 함유한다. 알킬의 대표적인 예에는 메틸, 에틸, n-프로필, 이소-프로필, n-부틸, sec-부틸, 이소-부틸, tert-부틸, n-펜틸, 이소펜틸, 네오펀틸, n-헥실, 3-메틸헥실, 2,2-디메틸펜틸, 2,3-디메틸펜틸, n-헵틸, n-옥틸, n-노닐, 또는 n-데실이 포함되지만, 이에 제한되지 않는다.

[0151] 본 명세서에서 사용되는 "카르보사이클릴"은 모두 탄소인 4- 내지 12-고리 원을 갖는 포화 또는 불포화 모노사이클릭, 비사이클릭 또는 트리사이클릭 (예컨대, 융합된, 가교된, 또는 스피로 고리계) 고리계를 지칭한다. 용어 "카르보사이클릴"은 사이클로알킬기, 사이클로알케닐기 및 방향족기(즉, 아릴)를 포함한다. "사이클로알킬"은 3 내지 7개의 탄소 원자의 완전히 포화된 모노사이클릭 탄화수소기를 지칭하고, 이에에는 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클펜틸, 사이클로헥실 및 사이클로헵틸이 포함되며; "사이클로알케닐"은 3 내지 7개의 탄소 원자의 불포화 비방향족 모노사이클릭 탄화수소기를 지칭하고, 이에에는 사이클펜테네일(cyclopentenyl), 사이클로헥세닐 및 사이클로헵테닐이 포함된다.

[0152] 용어 "아릴"은 고리 부분에 6 내지 14개의 탄소 원자를 갖는 모노사이클릭, 비사이클릭 또는 트리사이클릭 방향족 탄화수소기를 지칭한다. 일 구현예에서, 용어 아릴은 6 내지 10개의 탄소 원자를 갖는 모노사이클릭 및 비사이클릭 방향족 탄화수소기를 지칭한다. 아릴기의 대표적인 예에는 페닐, 나프틸, 플루오레닐, 및 안트라세닐이 포함된다.

[0153] 용어 "아릴"은 또한 적어도 하나의 고리가 방향족이고 1 또는 2개의 비방향족 탄화수소 고리(들)에 융합된 비사이클릭 또는 트리사이클릭기를 지칭한다. 비제한적 예에는 테트라하이드로나프탈렌, 디하이드로나프탈레닐 및 인다닐이 포함된다.

[0154] 본 명세서에서 사용되는 용어 "가교된 고리계"는 고리의 2개의 인접하지 않은 원자들이 C, N, O, 또는 S로부터 선택된 하나 이상(바람직하게는 1 내지 3개)의 원자에 의해 연결(가교)된 카르보사이클릴 또는 헤테로사이클릴 고리를 갖는 고리계이다. 가교된 고리계는 6 내지 7개의 고리 원을 가질 수 있다.

[0155] 본 명세서에서 사용되는 용어 "스피로 고리계"는 각각 독립적으로 카르보사이클릴 또는 헤테로사이클릴로부터 선택되는 2개의 고리를 갖는 고리계로서, 상기 2개의 고리 구조가 하나의 고리 원자를 공통으로 갖는 고리계이다. 스피로 고리계는 5 내지 7개의 고리 원을 갖는다.

[0156] 본 명세서에서 사용되는 "헤테로사이클릴"은 3- 내지 7-고리 원, 또는 3- 내지 6-고리 원 또는 5- 내지 7-고리 원을 갖고, 그 중 적어도 하나는 헤테로 원자이고, 그 중 최대 4개(예컨대, 1, 2, 3, 또는 4개)는 헤테로 원자일 수 있는 포화 또는 불포화, 모노사이클릭 또는 비사이클릭 (예컨대, 가교된 또는 스피로 고리계) 고리계를 지칭하며, 상기 헤테로 원자는 독립적으로 O, S 및 N으로부터 선택되고, C는 산화될 수 있고(예컨대, C(O)), N은 산화될 수 있거나(예컨대, N(O)) 또는 4차화될 수 있고, S는 설폭사이드 및 설폰으로 선택적으로 산화될 수 있다. 불포화 헤테로사이클릭 고리는 헤테로아릴 고리를 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "헤테로아릴"은 O, S 및 N으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로 원자를 갖는 방향족 5 또는 6원 모노사이클릭 고리계를 지칭하고, 여기서 N은 산화될 수 있거나(예컨대, N(O)) 또는 4차화될 수 있고, S는 설폭사이드 및 설폰으로 선택적으로 산화될 수 있다. 일 구현예에서, 헤테로사이클릴은 3- 내지 7-원 포화 모노사이클릭 또는 3- 내지 6-원 포화 모노사이클릭 또는 5- 내지 7-원 포화 모노사이클릭 고리이다. 일 구현예에서, 헤테로사이클릴은 3- 내지 7-원 모노사이클릭 또는 3- 내지 6-원 모노사이클릭 또는 5- 내지 7-원 모노사이클릭 고리이다. 다른 구현예에서, 헤테로사이클릴은 6- 또는 7-원 비사이클릭 고리이다. 헤테로사이클릴기는 헤테로 원자 또는 탄소 원자에 부착될 수 있다. 헤테로사이클릴의 예는 아지리디닐, 옥시라닐, 티아라닐, 옥사지리디닐, 디옥시라닐, 아제티디닐, 옥세타닐, 티에타닐, 피롤리디닐, 테트라하이드로푸라닐, 티올라닐, 이미다졸리디닐, 피라졸리디닐, 옥사졸리디닐, 이속사졸리디닐, 티아졸리디닐, 이소티아졸리디닐, 디옥솔라닐, 디티올라닐, 옥사티올라닐, 피페리디닐, 테트라하이드로피라닐, 티아닐, 피페라지닐, 모르폴리닐, 티오모르폴리닐, 디옥사닐, 디티아닐, 트리옥사닐, 트리티아닐, 아제파닐, 옥세파닐, 티에파닐, 디하이드로푸라닐, 이미다졸리디닐, 디하이드로피라닐, 및 헤테로아릴 고리, 예컨대, 아지리닐, 옥시레닐, 티이레닐, 디아지리닐, 아제틸, 옥세틸, 티에틸, 피롤릴, 푸라닐, 티오펜(또는 티에닐), 이미다졸릴, 피라졸릴, 옥사졸릴, 이속사졸릴, 티아졸

릴, 이소티아졸릴, 푸라자닐, 옥사디아졸릴, 티아디아졸릴, 디티아졸릴, 트리아졸릴, 테트라졸릴, 피리디닐, 피라닐, 티오피라닐, 피라지닐, 피리미디닐, 피리다지닐, 옥사지닐, 티아지닐, 디옥시닐, 디티이닐, 옥사티아닐, 트리아지닐, 테트라지닐, 아제피닐, 옥세피닐, 티에피닐, 디아제피닐, 및 티아제피닐 등을 포함한다. 비사이클릭 헤테로사이클릭 고리계의 예는 3-아자비사이클로[3.1.0]헥사닐, 3-아자비사이클로[3.1.1]헵타닐, 2-아자스피로[3.3]헵타닐, 2-옥사-6-아자스피로[3.3]헵타닐, 및 5-아자스피로[2.3]헥사닐을 포함한다.

- [0157] "할로겐" 또는 "할로"는 플루오로, 클로로, 브로모 또는 요오도일 수 있다.
- [0158] 본 명세서에서 사용되는 "하이드록실 보호기"는 다른 시약과의 반응으로부터 하이드록실기, -OH를 보호하기에 적합한 기를 지칭한다. 하이드록실 보호기의 예는 문헌[Greene, TW et al., *Protective Groups in Organic Synthesis*, 4th Ed., John Wiley and Sons (2007)]에서 찾을 수 있다.
- [0159] 특정 구현예에서, 하이드록실 보호기는, 예를 들어, 아세틸(Ac); 벤조일(Bz); 벤질(Bn); β-메톡시메틸 에테르(MEM); 메톡시메틸 에테르(MOM); 메톡시트리틸[(4-메톡시페닐)디페닐메틸, MMT]; 4,4'-디메톡시트리틸(DMT); 메톡시에틸(MOE); p-메톡시벤질 에테르(PMB); 메틸티오메틸 에테르; 피발로일(Piv); 테트라하이드로피라닐(THP); 테트라하이드로푸란(THF); 실릴 에테르(트리메틸실릴(TMS), tert-부틸디페닐실릴(TBDPS), tert-부톡시디페닐실릴(TBoDPS), 트리페닐실릴(TPS), tert-부틸디메틸실릴(TBDMS), 트리-이소-프로필실릴옥시메틸(TOM), 및 트리이소프로필실릴(TIPS) 에테르가 포함되지만, 이에 제한되지 않음); 메틸 에테르, 및 에톡시에틸 에테르(EE)로부터 선택될 수 있다.
- [0160] 특정 구현예에서, 하이드록실 보호기는 뉴클레오시드의 3'-하이드록실을 보호한다(3'-하이드록실 보호기로 지칭됨). 특정 구현예에서, 3'-하이드록실 보호기는 실릴 하이드록실 보호기, 예를 들어 트리메틸실릴, 트리에틸실릴, 트리이소프로필실릴, 디메틸이소프로필실릴, 디에틸이소프로필실릴, 디메틸헥실실릴, t-부틸디메틸실릴, t-부틸디페닐실릴, 트리벤질실릴, 트리-p-자일릴실릴, 트리페닐실릴, 디페닐메틸실릴, 디-t-부틸메틸실릴 트리(트리메틸실릴)실릴, t-부틸메톡시페닐실릴, 및 t-부톡시디페닐실릴을 포함한다. 특정 구현예에서, 3'-하이드록실 보호기는 TBDPS이다. 특정 구현예에서, 3'-하이드록실 보호기는 본 명세서에 기재된 것들과 같은, 큰 소수성 보호기(LHPG)이다.
- [0161] 화학명 끝에 추가된 접미사 "일(y1)"은 명명된 모이어티가 한 지점에서 분자에 결합되어 있음을 나타낸다. 화학명 끝에 추가된 접미사 "엔(ene)"은 명명된 모이어티가 두 지점에서 분자에 결합되어 있음을 나타낸다.
- [0162] 특정 구현예에서, 하이드록실 보호기는 뉴클레오시드의 5'-하이드록실을 보호한다(5'-하이드록실 보호기로 지칭됨). 예시적인 5'-하이드록실기는 본 명세서에 기재된 것들(예컨대, 임의의 측면 또는 구현예에 있어서 R³⁵)을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 특정 구현예에서, 5'-하이드록실 보호기는 산-불안정성 4,4'-디메톡시트리틸(또는 비스-(4-메톡시페닐)페닐메틸)(DMT 또는 DMTr) 보호기이다. 특정 구현예에서, 5'-하이드록실 보호기는 본 명세서에 기재된 것들과 같은, 큰 소수성 보호기(LHPG)이다.
- [0163] 본 명세서에서 사용되는 "선택적 석출"은 생성물을 석출시키는 용매에 용액을 첨가함으로써 용액 중에 1종 이상의 불순물을 남기면서 목적인 생성물을 용액 중의 1종 이상의 불순물로부터 분리하는 정제 방법을 지칭한다. 이와는 달리, 조생성물 및 1종 이상의 불순물을 함유하는 용액에 용매를 첨가하여 생성물을 석출시킬 수 있다. 특정 구현예에서, 본 개시의 목적인 화합물 또는 올리고뉴클레오티드는 소수성 기(예컨대, 소수성 3'-하이드록실 보호기 또는 소수성 5'-하이드록실 보호기(예컨대, 본 명세서에 기재된 LHPG기))를 함유하고, 화합물 또는 올리고뉴클레오티드 및 1종 이상의 불순물을 함유하는 용액에 극성 용매(예컨대, CH₃CN)를 첨가하여 목적인 올리고뉴클레오티드를 석출시킨다. 특정 구현예에서, 본 개시의 목적인 화합물 또는 올리고뉴클레오티드는, 공용매 또는 용매 혼합물(예컨대, 헵탄, tert-부틸메틸에테르(TBME 또는 MBTE), 헵탄/MBTE 혼합물(예컨대, 20:1 내지 1:20, 9:1 내지 1:9, 또는 4:1 내지 1:4 범위의 헵탄 대 MBTE의 부피비를 가진 헵탄/MBTE 혼합물, 또는 9:1, 4:1, 2:1, 1:1, 2:5, 1:2, 1:4 또는 1:9의 헵탄 대 MBTE 부피비를 가진 헵탄/MBTE 혼합물)을, 유기 용매(예컨대, 디클로로메탄(DCM) 또는 에틸아세테이트(EtOAc)) 중의 조생성물 및 1종 이상의 불순물을 함유하는 용액에 첨가하여 생성물을 석출시킴으로써 정제될 수 있다. 이와는 달리, 조생성물 및 1종 이상의 불순물을 함유하는 용액을 비극성 또는 덜 극성인 용매 또는 용매 혼합물에 첨가하여 생성물을 석출시킬 수 있다. 적합한 공용매는 생성물의 소수성에 기초하여 결정될 수 있다. 특정 구현예에서, 공용매는 생성물이 용해되는 유기 용매보다 덜 극성이다.
- [0164] 본 명세서에서 사용되는 "추출"은 용액을 1종 이상의 불순물이 불용성인 한편 생성물이 가용성인 용매와 접촉시킴으로써 용액 중의 1종 이상의 불순물로부터 목적인 생성물을 분리하는 정제 방법을 지칭한다. 이와는 달리,

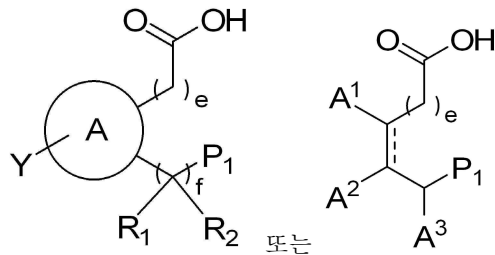
생성물 및 1종 이상의 불순물을 함유하는 용액을, 1종 이상의 불순물이 가용성인 한편 생성물이 불용성인 용매와 접촉시킬 수 있다. 특정 구현예에서, 유기 용매(예컨대, DCM, EtOAc 또는 THF) 또는 유기 용매 혼합물 중의 생성물 및 1종 이상의 불순물을 함유하는 용액(예컨대, 조생성물의 용액 또는 반응 혼합물)을 물 또는 수용액(예컨대, NaHCO₃/H₂O 용액 또는 NaCl/H₂O 용액)과 접촉시켜, 친수성 불순물을 제거할 수 있다.

[0165] 본 명세서에서 사용되는 용어 "염기"는 수용액 중에서 수산화물 이온(OH⁻)을 생성할 수 있는 물질 또는 비결합 전자 쌍을 공여할 수 있는 물질을 지칭한다. 예시적인 염기에는 알칼리 수산화물, 알칼리 토류 수산화물, 알킬아민(예컨대, tert-부틸아민, sec-부틸아민, 트리메틸아민, 트리에틸아민, 디소프로필에틸아민, 2-메틸프로판-2-아민), 8-디아자비사이클로[5.4.0]운데스-7-엔(DBU), 이미다졸, N-메틸이미다졸, 피리딘 및 3-피콜린 포함되지만 이에 제한되지 않는다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "염"은 본 명세서에 기재된 화합물, 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드의 유기 또는 무기 염을 지칭한다. 특정 구현예에서, 염은 그의 약제학적으로 허용 가능한 염이다. "약제학적으로 허용 가능한"이라는 문구는 물질 또는 조성물이 제형을 구성하는 다른 성분들과 화학적으로 및/또는 독성학적으로 상용 가능하여야 하고/하거나, 이에 의해 포유류가 치료되어야 하는 것을 의미한다. 특정 구현예에서, 본 명세서에 기재된 화합물, 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드의 염은 나트륨염, 칼륨염 또는 암모늄염이다. 특정 구현예에서, 염은 나트륨염 또는 암모늄염이다.

[0166] 1. 시약

[0167] 제1 측면에서, 본 개시는 올리고뉴클레오티드의 합성을 용이하게 하기 위한 시약을 제공한다. 일 구현예에서, 본 개시의 시약은 뉴클레오티드/올리고뉴클레오티드 단편의 3'-하이드록실기를 보호하는 보호기로서 역할한다. 다른 구현예에서, 본 개시의 시약에 의해 보호되는 뉴클레오티드, 올리고뉴클레오티드 단편, 또는 표적 올리고뉴클레오티드는 반응 혼합물로부터 선택적으로 석출될 수 있다. 이와 같이, 뉴클레오티드, 올리고뉴클레오티드 단편, 또는 표적 올리고뉴클레오티드는 크로마토그래프 없이 여과에 의해 쉽게 수집된다.

[0168] 제1 측면의 제1 구현예에서, 본 개시는 화학식 I' 또는 B의 화합물 또는 그의 염을 제공한다.



[0169] I' B
 [0170] 상기 식에서:
 [0171] A¹, A² 및 A³ 중 하나는 Y^A이고 나머지는 H이고;
 [0172] ===는 단일 결합 또는 이중 결합이고;

[0173] Y^A는 Y-(CH₂)_{a1}CH₂O(CH₂)_{a2}-이고, 여기서 a1 및 a2는 각각 독립적으로 0 또는 1 내지 10의 정수이고;

[0174] 고리 A는 페닐, 8- 내지 10-원 비사이클릭 아릴, 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5- 내지 6-원 헤테로아릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로 원자를 갖는 7- 내지 10-원 비사이클릭 헤테로아릴이고;

[0175] Y는 H, 할로젠, OR^{1A}, NR^{2A, 3A}, SR^{4A}, CR^{5A, 6A, 7A}, 또는 탄소 원자수 10 이상의 지방족 탄화수소기를 하나 이상 함유하는 소수성 기이고; 여기서 R^{1A}, R^{2A}, R^{3A}, R^{4A}, R^{5A}, R^{6A}, 및 R^{7A}는 각각 독립적으로 C₁₋₆알킬, C₁₋₆알케닐, C₁₋₆알킬닐, 페닐, OR^{8A}, -OC(O)R^{8A}, -C(O)OR^{8A}, NR^{8A, 9A}, -NR^{8A}COR^{9A}, -CONR^{8A, 9A}, 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 카르보사이클릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 2개의 헤테로 원자를 갖는 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 헤테로사이클릴이고; 여기서 R^{8A} 및 R^{9A}는 각 경우에 독

립적으로 H 또는 C₁₋₆알킬이고;

[0177] P₁은 NO₂ 또는 실릴 하이드록실 보호기이고;

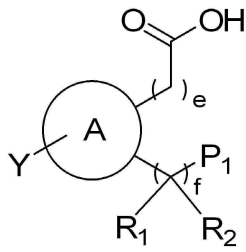
[0178] R₁ 및 R₂는 독립적으로 H, C₁₋₆알킬, 또는 페닐이고; 여기서 C₁₋₆알킬 및 페닐은 1 내지 3개의 R₃로 선택적으로 치환되고;

[0179] R₃은 C₁₋₃₀알콕시이고;

[0180] e는 0 내지 6의 정수이고;

[0181] f는 0 내지 6의 정수이다.

[0182] 제1 측면의 제2 구현예에서, 본 개시는 화학식 I'의 화합물 또는 그의 염을 제공한다.



[0183]

[0184] I'

[0185] 상기 식에서:

[0186] 고리 A는 페닐, 8- 내지 10-원 비사이클릭 아릴, 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5- 내지 6-원 헤테로아릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 선택된 1 내지 4개의 헤테로 원자를 갖는 7- 내지 10-원 비사이클릭 헤테로아릴이고;

[0187] Y는 H, 할로젠, OR^{1A}, NR^{2A, 3A}, SR^{4A}, CR^{5A, 6A, 7A}, 또는 탄소 원자수 10 이상의 지방족 탄화수소기를 하나 이상 함유하는 소수성 기이고; 여기서 R^{1A}, R^{2A}, R^{3A}, R^{4A}, R^{5A}, R^{6A}, 및 R^{7A}는 독립적으로 C₁₋₆알킬, C₁₋₆알케닐, C₁₋₆알키닐, 페닐, OR^{8A}, -OC(O)R^{8A}, -C(O)OR^{8A}, NR^{8A}R^{9A}, -NR^{8A}COR^{9A}, -CONR^{8A, 9A}, 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 카르보사이클릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 선택된 1 내지 2개의 헤테로 원자를 갖는 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 헤테로사이클릴이고; 여기서 R^{8A} 및 R^{9A}는 각 경우에 독립적으로 H 또는 C₁₋₆알킬이고;

[0188] P₁은 NO₂ 또는 실릴 하이드록실 보호기이고;

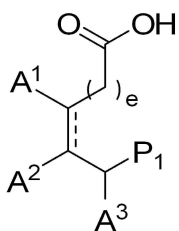
[0189] R₁ 및 R₂는 독립적으로 H, C₁₋₆알킬, 또는 페닐이고; 여기서 C₁₋₆알킬 및 페닐은 1 내지 3개의 R₃로 선택적으로 치환되고;

[0190] R₃은 C₁₋₃₀알콕시이고;

[0191] e는 0 내지 6의 정수이고;

[0192] f는 0 내지 6의 정수이다.

[0193] 제3 구현예에서, 본 개시는 화학식 B의 화합물:



[0194]

[0195]

B

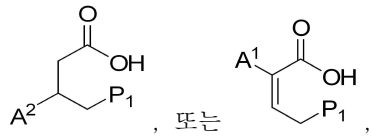
[0196]

또는 그의 염을 제공한다. 화학식 B의 나머지 변수들은 제1 구현예에 기재되어 있다.

[0197]

제4 구현예에서, 본 개시는 화학식 B-1 또는 B-2의 화합물:

[0198]



[0199]

B-1 B-2

[0200]

또는 그의 염을 제공한다. 화학식 B의 나머지 변수들은 제3 구현예에 기재되어 있다.

[0201]

제5 구현예에서, 본 개시는 Y가 탄소 원자수 10 이상의 지방족 탄화수소기를 하나 이상 함유하는 소수성 기인, 화학식 I' 또는 B의 화합물 또는 그의 염을 제공한다. 화학식 I' 또는 B의 나머지 변수들은 제1, 제2, 제3 또는 제4 구현예에 기재되어 있다.

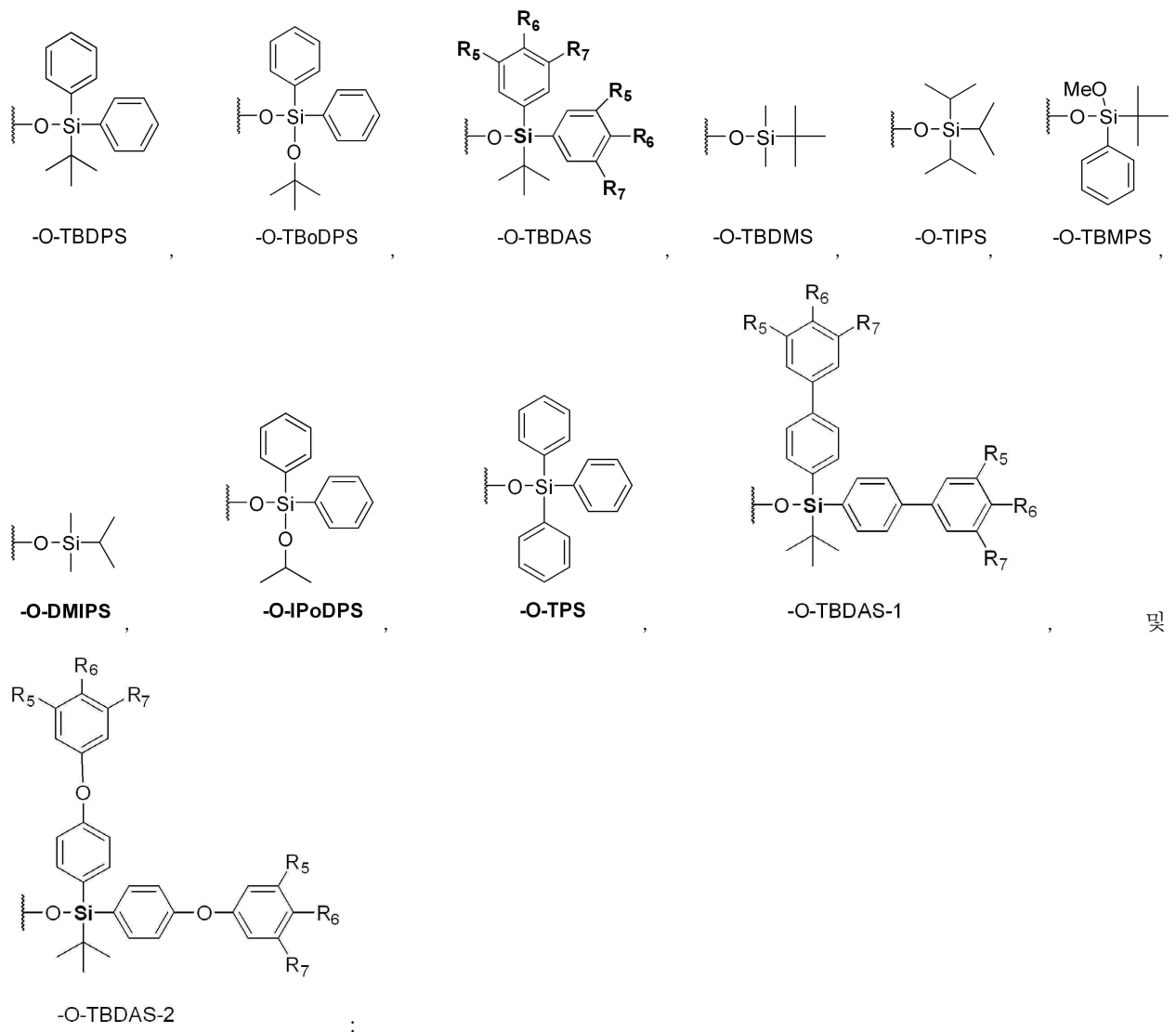
[0202]


제6 구현예에서, 본 개시는 고리 A가 페닐 또는 나프탈레닐인, 화학식 I'의 화합물 또는 그의 염을 제공한다. 화학식 I'의 나머지 변수들은 제2 및/또는 제5 구현예에 기재되어 있다.

[0203]

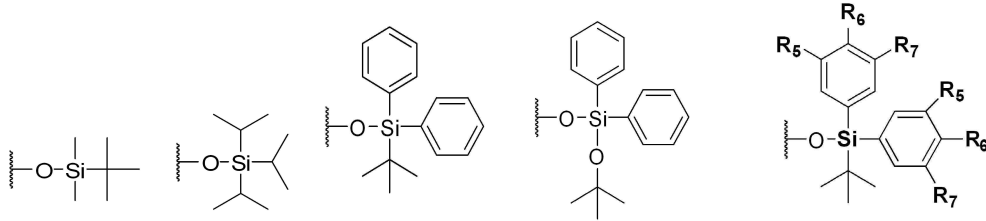
제7 구현예에서, 본 개시는 P1이 하기로부터 선택된 실릴 하이드록실 보호기인, 화학식 I' 또는 B의 화합물 또는 그의 염을 제공한다.

[0204]



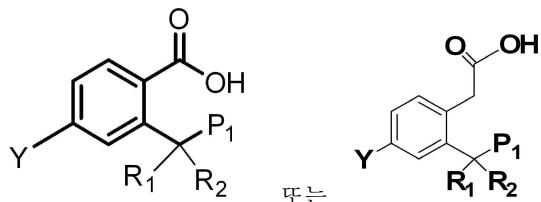
[0205] 상기 식에서  는 P₁의 부착 지점을 나타내고; R₅, R₆ 및 R₇은 각각 독립적으로 H, C₁₋₃₀알킬, 또는 C₁₋₃₀알콕시이다. 화학식 I' 또는 B의 나머지 변수들은 제1 내지 제6 구현예 중 어느 하나에 기재되어 있다.

[0206] 제8 구현예에서, 본 개시는 P₁이 -O-TBDMS, -O-TIPS, -O-TBDPS, -O-TBoDPS, 및 -O-TBDAS로 구성된 군으로부터 선택되는, 화학식 I' 또는 B의 화합물 또는 그의 염을 제공한다.



[0207] -O-TBDMS, -O-TIPS, -O-TBDPS, -O-TBoDPS, 및 -O-TBDAS, 화학식 I'의 나머지 변수들은 제1 내지 제7 구현예 중 어느 하나에 기재되어 있다.

[0208] 제9 구현예에서, 본 개시는 화학식 I 또는 Ia의 화합물:

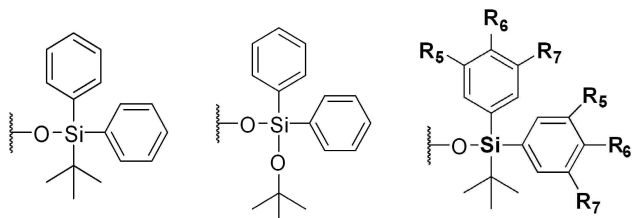


[0209] , 또는

[0210] I Ia

[0211] 또는 그의 염을 제공한다.

[0212] 상기 식에서 P₁은 -O-TBDPS, -O-TBoDPS, 및 -O-TBDAS로 구성된 군으로부터 선택된다:



[0213] -O-TBDPS, -O-TBoDPS, -O-TBDAS, 화학식 I 또는 Ia의 나머지 변수들은 제1, 제2, 및/또는 제5 내지 제8 구현예에 기재되어 있다.

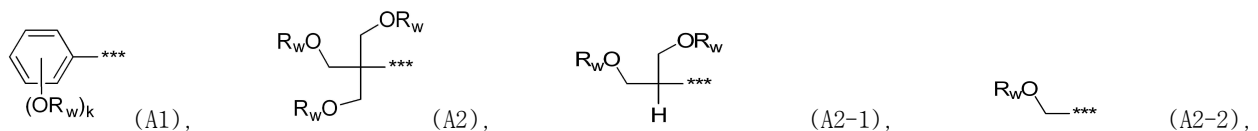
[0214] 제10 구현예에서, 본 개시는 Y가 화학식 A로 표시되는, 화학식 I', B, 또는 화학식 I의 화합물 또는 그의 염을 제공한다.

[0215] W—V—U—* (A)

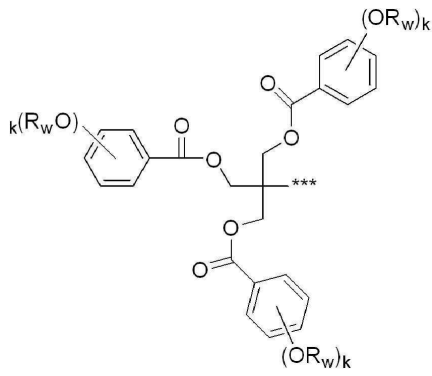
[0216] 상기 식에서:

[0217] —* 는 Y에 대한 부착 지점을 나타내고;

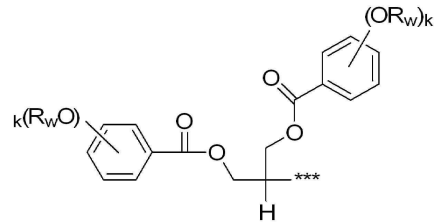
[0218] W는 화학식 A1, A2, A2-1, A2-2, A3, A3-1, 또는 A3-2로 표시되고:



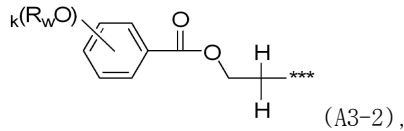
[0219] (A1), (A2), (A2-1), (A2-2),



(A3),



(A3-1), 또는



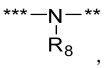
(A3-2),

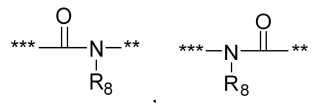
[0220] 상기 식에서

[0221] —*** 는 W와 V가 연결되는 지점을 나타내고;

[0222] R_w은 각각 독립적으로 10개 이상의 탄소 원자를 갖는 지방족 탄화수소기이고;

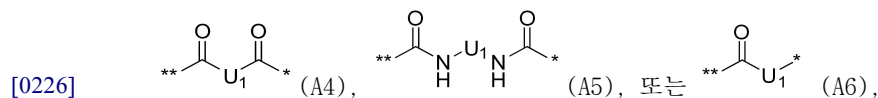
[0223] k는 1 내지 5의 정수이고;

[0224] V는 결합, 산소, C₁₋₂₀알킬렌, C₁₋₆알킬닐렌, -C(=O)-, ***-C(=O)-O-**, ***-O-C(=O)-**, ,



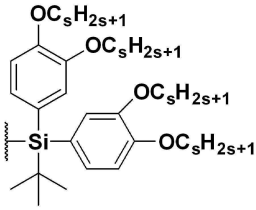
, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖고, 1 내지 3개의 R₈로 선택적으로 치환된, 5 내지 7원 헤테로아릴이고; 여기서 —**는 V와 U가 연결되는 지점을 나타내고; R₈은 H 또는 C₁₋₃₀알킬이고;

[0225] U는 결합, 산소, C₁₋₂₀알킬렌, 카르보닐, ***-O-C(=O)-**, 산소, 질소, 및 황으로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5 내지 7원 헤테로사이클릴; 산소, 질소, 및 황으로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖고, 1 내지 3개의 R₈로 선택적으로 치환된, 5 내지 7원 헤테로아릴; 또는 화학식 A4, A5, 또는 A6으로 표시되는 기이고:



[0227] 상기 식에서 U₁은 C₁₋₆알킬렌, C₁₋₆알킬렌옥시, 산소, 질소, 및 황으로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5 내지 7원 헤테로사이클릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5 내지 7원 헤테로아릴이다. 화학식 I, Ia, B, 또는 화학식 I'의 나머지 변수들은 제1 내지 제9 구현예 중 어느 하나에 기재되어 있다.

[0228] 제11 구현예에서, 본 개시는 TBDAS기가 하기의 기인, 화학식 I', B 또는 화학식 I의 화합물 또는 그의 염을 제공한다.



[0229]

[0230]

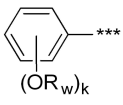
[0231]

[0232]

상기 식에서 s는 1 내지 30의 정수이다. 화학식 I, Ia, B, 또는 화학식 I'의 나머지 변수들은 제7 내지 제10 구현예 중 어느 하나에 기재되어 있다.

제12 구현예에서, 본 개시는 P₁이 -O-TBDPS인, 화학식 I', B 또는 화학식 I 또는 Ia의 화합물 또는 그의 염을 제공한다. 화학식 I, Ia 또는 화학식 I' 또는 B의 나머지 변수들은 제1 내지 제11 구현예 중 어느 하나에 기재되어 있다.

제13 구현예에서, 본 개시는 W가 화학식 A1로 표시되는, 화학식 I, Ia, B, 또는 I'의 화합물 또는 그의 염을 제공한다.



[0233]

[0234]

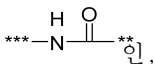
[0235]

상기 식에서 R_w는 C_nH_{2n+1}이고; n은 1 내지 30의 정수이다. 화학식 I, B, 또는 I'의 나머지 변수들은 제10 구현예에 기재되어 있다.

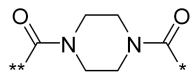
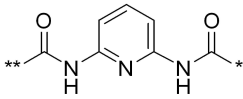
제14 구현예에서, 본 개시는 R_w가 C₁₂H₂₅, C₁₈H₃₇, C₂₀H₄₁, C₂₂H₄₅, C₂₄H₄₉, C₂₆H₅₃, 및 C₂₈H₅₇로 구성된 군으로부터 선택되는, 화학식 I, Ia, B, 또는 I'의 화합물 또는 그의 염을 제공한다. 화학식 I, Ia B, 또는 I'의 나머지 변수들은 제10 내지 제13 구현예 중 어느 하나에 기재되어 있다.

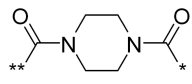
[0236]

[0237]

제15 구현예에서, 본 개시는 V가 결합, CH₂, CH₂CH₂, C(=O), ***-C(=O)-O-**, 또는 인, 화학식 I, Ia, B, 또는 I'의 화합물 또는 그의 염을 제공한다. 화학식 I, Ia, B, 또는 I'의 나머지 변수들은 제10 내지 제14 구현예 중 어느 하나에 기재되어 있다.

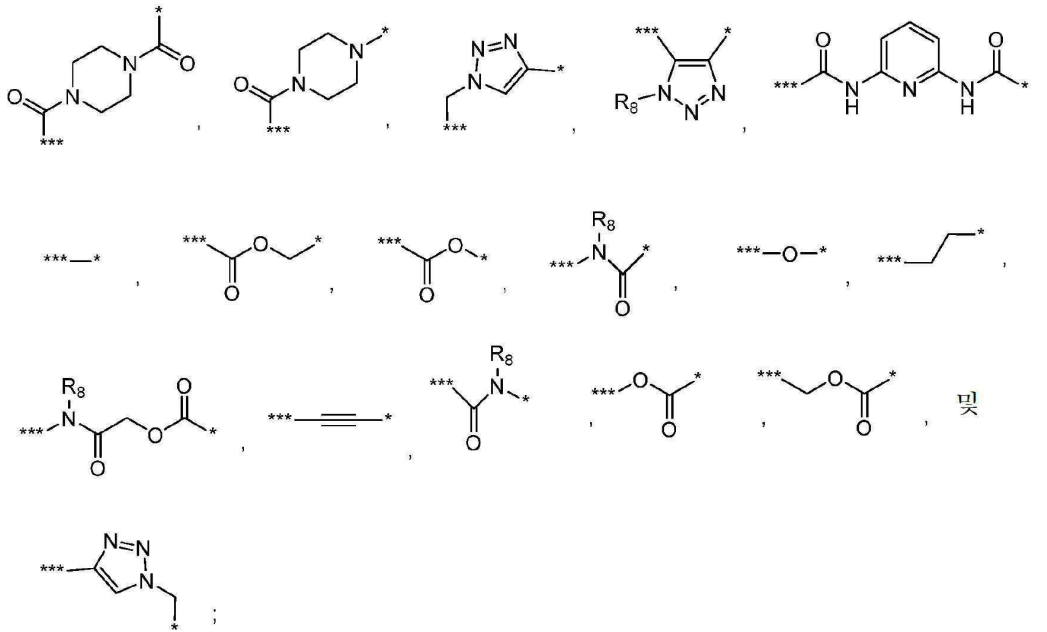
제16 구현예에서, 본 개시는 U가 결합, CH₂, CH₂CH₂, 카르보닐, 트리아졸릴렌, 피페라지닐렌,



, 또는 인, 화학식 I, Ia, B, 또는 I'의 화합물 또는 그의 염을 제공한다. 화학식 I, Ia, B, 또는 I'의 나머지 변수들은 제10 내지 제15 구현예 중 어느 하나에 기재되어 있다.

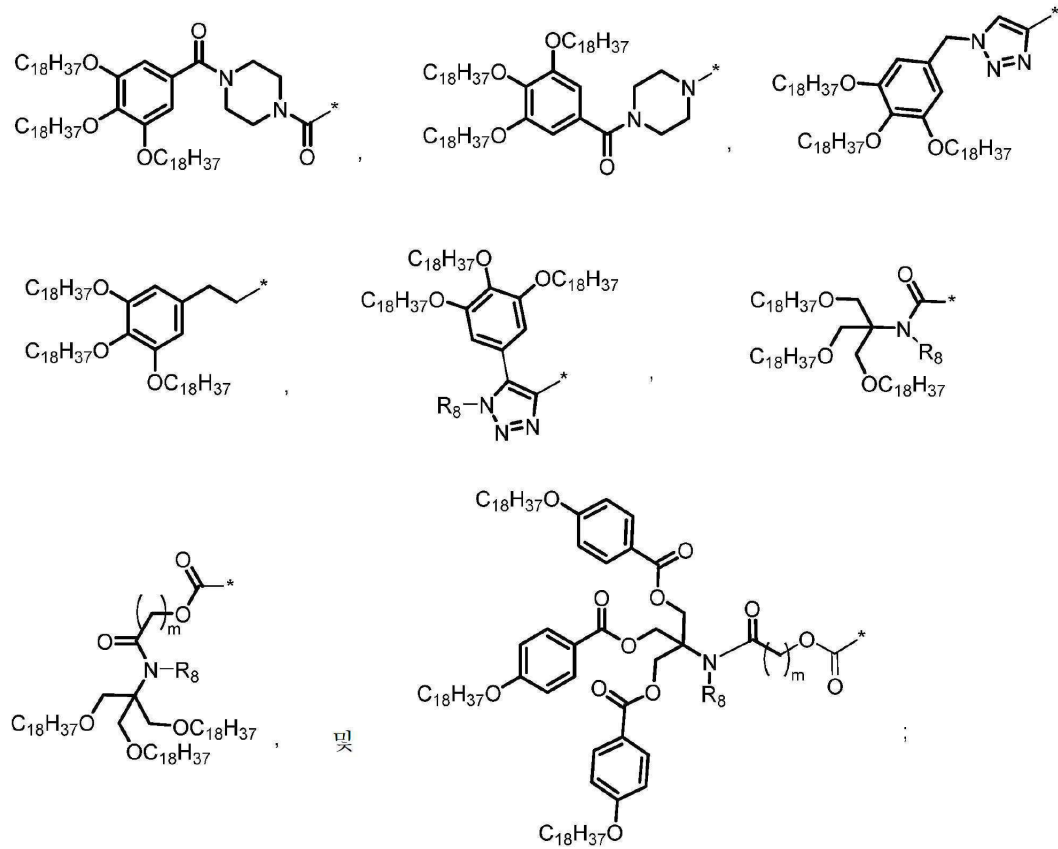
[0238]

제17 구현예에서, 본 개시는 U-V가 하기로 구성된 군으로부터 선택되는, 화학식 I, Ia, B, 또는 I'의 화합물 또는 그의 염을 제공한다.



[0240] 상기 식에서 R_8 은 H 또는 C_{1-6} 알킬이다. 화학식 I, B, 또는 I'의 나머지 변수들은 제10 내지 제16 구현에 중 어느 하나에 기재되어 있다.

[0241] 제18 구현에 있어서, 본 개시는 Y가 하기로 구성된 군으로부터 선택되는, 화학식 I 또는 Ia 또는 화학식 I' 또는 B의 화합물 또는 그의 염을 제공한다.



[0243] 상기 식에서

[0244] R_8 은 H 또는 C_{1-6} 알킬이고;

[0245] m은 1 내지 5의 정수이다. 화학식 I', B, 또는 화학식 I 또는 Ia의 나머지 변수들은 제1 내지 제12 구현에 중

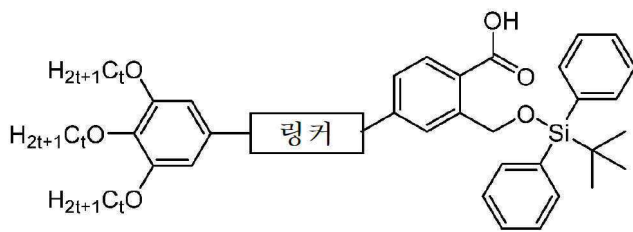
어느 하나에 기재되어 있다.

[0246] 제19 구현예에서, 본 개시는 R_1 및 R_2 가 독립적으로 H 또는 CH_3 인, 화학식 I 또는 Ia 또는 화학식 I'의 화합물 또는 그의 염을 제공한다. 화학식 I 또는 Ia 또는 화학식 I'의 나머지 변수들은 제1, 제2, 및/또는 제5 내지 제18 구현예에 기재되어 있다. 특정 구현예에서, R_1 및 R_2 는 둘 다 H이다. 다른 특정 구현예에서, R_1 및 R_2 는 둘 다 CH_3 이다.

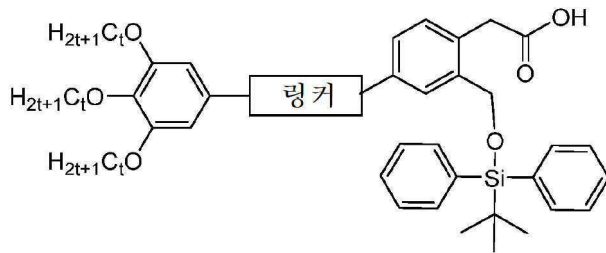
[0247] 제20 구현예에서, 본 개시는 e가 0, 1, 또는 2이고; f가 0, 1, 또는 2인, 화학식 I' 또는 화학식 B의 화합물 또는 그의 염을 제공한다. 화학식 I'의 나머지 변수들은 제1, 제2, 제3, 및/또는 제5 내지 제19 구현예에 기재되어 있다.

[0248] 제21 구현예에서, 본 개시는 R_8 이 H 또는 C_{1-4} 알킬인, 화학식 I, Ia, I', 또는 B의 화합물 또는 그의 염을 제공한다. 화학식 I, Ia, I', 또는 B의 나머지 변수들은 제10 내지 제20 구현예 중 어느 하나에 기재되어 있다.

[0249] 제22 구현예에서, 본 개시는 하기 화학식 II 또는 IIa의 화합물:



(II), 또는

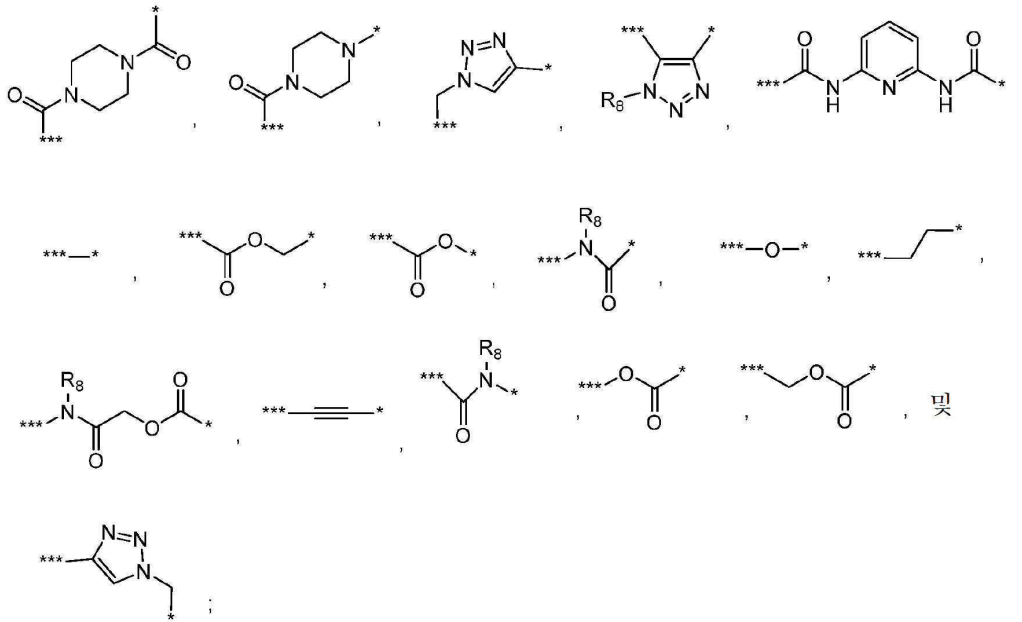


(IIa),

[0251] 또는 그의 염을 제공한다. 상기 식에서:

[0252] t는 10 내지 30의 정수이고;

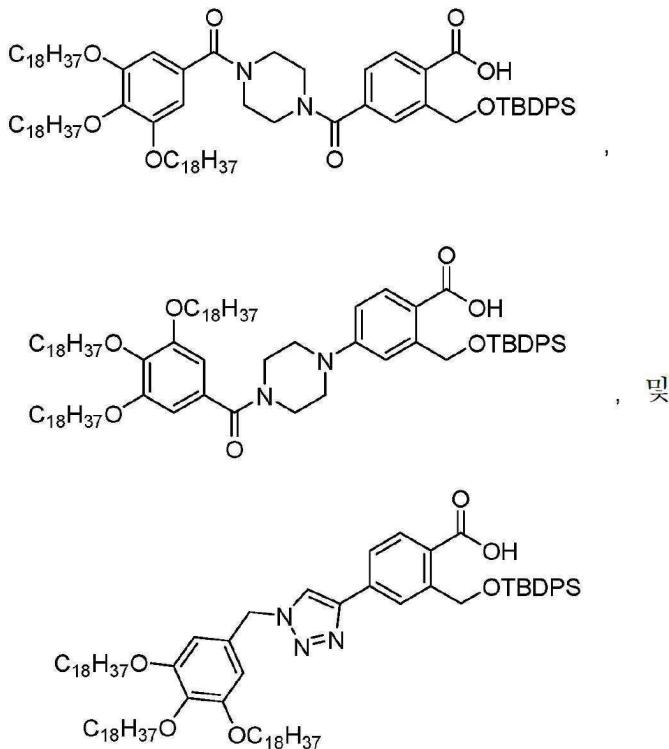
[0254] 링커 는 하기로 구성된 군으로부터 선택되고;



[0255]

[0256] 상기 식에서 R₈은 H 또는 C₁₋₆알킬이다.

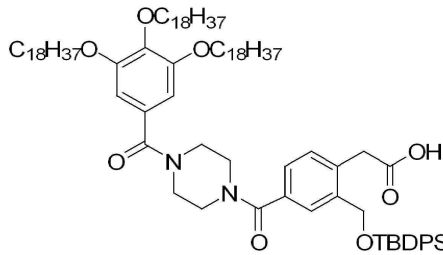
[0257] 제23 구현예에서, 본 개시는 화학식 II의 화합물 또는 그의 염으로서, 하기로 구성된 군으로부터 선택된 화합물:



[0258]

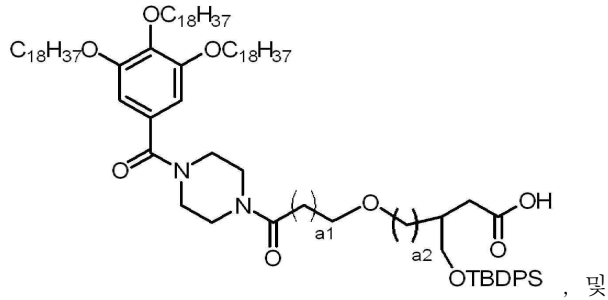
[0259] 또는 그의 염을 제공한다.

[0260] 제24 구현예에서, 본 개시는 하기 화합물:

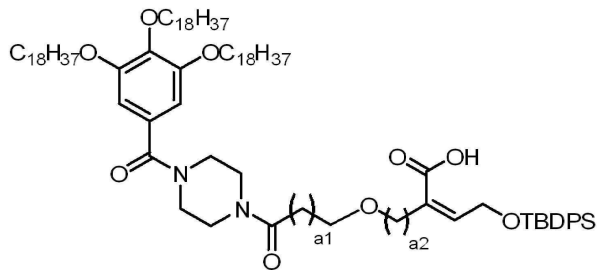


[0261] OTBDPS, 또는 그의 염을 제공한다.

[0262] 제25 구현예에서, 본 개시는 하기 화학식 중 하나로부터 선택된 화합물:



[0263] OTBDPS, 및



[0264]

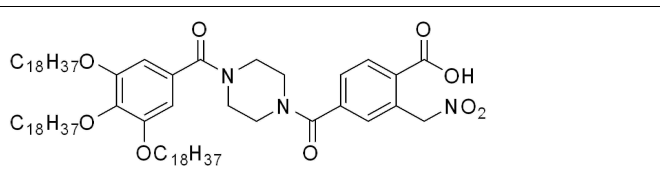
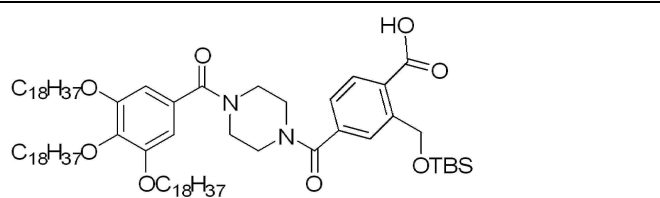
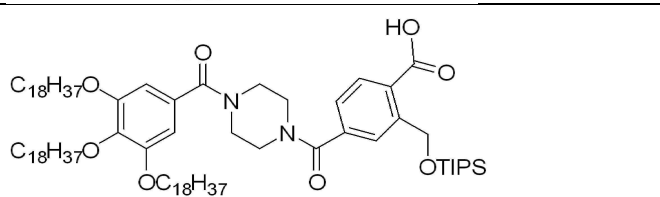
[0265] 또는 그의 염을 제공한다. 상기 식의 나머지 변수들은 제1 구현예에 기재되어 있다. 일부 구현예에서, a1 및 a2는 각각 1 내지 6, 1 내지 5, 또는 1 내지 4의 정수이다.

[0266] 제26 구현예에서, 본 개시는 표 1에 도시되고 예시에서 제조된 화합물, 그의 중성 형태 및 그의 염을 제공한다.

표 1

[0267]

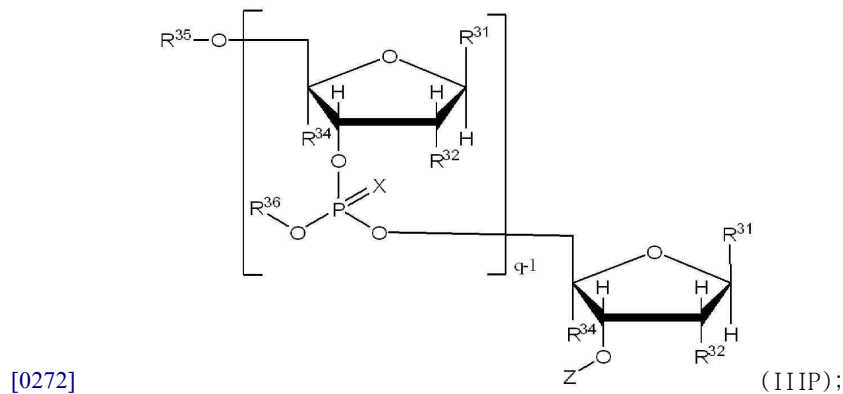
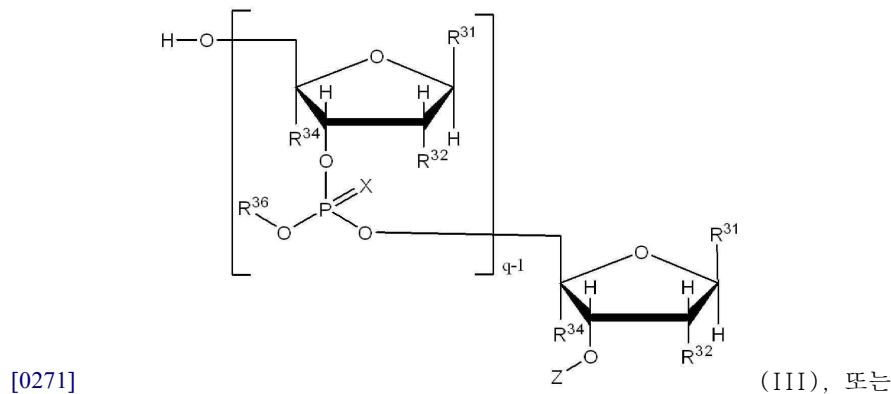
Id	구조	화학명
M19		2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)-4-(4-(3,4,5-트리스(옥타데실옥시)벤조일)피페라진-1-카르보닐)벤조산
M22		2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)-4-(1-(3,4,5-트리스(옥타데실옥시)벤질)-1H-1,2,3-트리아졸-4-일)벤조산
M36		2-(((tert-부틸디페닐실릴)옥시)메틸)-4-(4-(3,4,5-트리스(옥타데실옥시)벤조일)피페라진-1-일)벤조산

M40		2-(니트로메틸)-4-(4-(3,4,5-트리스(옥타데실옥시)벤조일)피페라진-1-카르보닐)벤조산
M50		2-(((tert-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)-4-(4-(3,4,5-트리스(옥타데실옥시)벤조일)피페라진-1-카르보닐)벤조산
M60		2-(((트리스이소프로필실릴)옥시)메틸)-4-(4-(3,4,5-트리스(옥타데실옥시)벤조일)피페라진-1-카르보닐)벤조산

[0268] 2. 3'-보호된 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드

[0269] 제2 측면에서, 본 개시는 본 명세서에 기재된 3'-하이드록실 보호기에 의해 보호된 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드를 기술한다. 일 구현예에서, 3'-하이드록실 보호기는 상술한 시약으로부터 유도된다. 다른 구현예에서, 보호된 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드는 선택적 석출에 의해 분리된다. 다른 구현예에서, 보호된 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드는 디클로로메탄과 같은 비극성 유기 용매에 용해되지만 아세토니트릴과 같은 극성 유기 용매에서 석출된다.

[0270] 제27 구현예에서, 본 개시는 화학식 III 또는 IIIP로 표시되는 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드:



[0273] 또는 그의 염을 제공한다.

[0274] 상기 식에서

[0275] R³¹은 각 경우에 독립적으로 핵염기이고, 핵염기의 NH₂는 존재하는 경우 아민 보호기에 의해 선택적으로 보호되

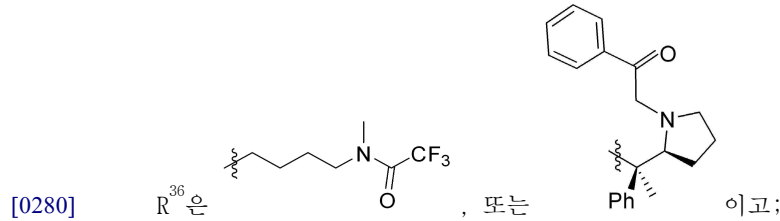
고;

[0276] R³²는 각 경우에 독립적으로 H, 할로, OH, 및 C₁₋₆알콕시로 선택적으로 치환된 C₁₋₆알콕시로 구성된 군으로부터 선택되고; 여기서 OH기는 하이드록실 보호기에 의해 선택적으로 보호되고;

[0277] R³⁴는 각 경우에 독립적으로 H이거나 또는 R³²의 알콕시기와 고리를 형성하고;

[0278] R³⁵는 하이드록실 보호기이고;

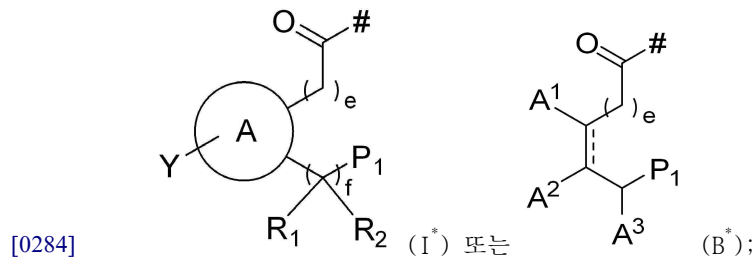
[0279] R³⁶은 각 경우에 독립적으로 H, C₁₋₆알킬기, C₂₋₆알케닐기, 페닐 또는 벤질기이며, 이들은 각각 -CN, -NO₂ 또는 할로젠으로 선택적으로 치환되거나; 또는



[0281] q는 1 내지 20의 정수이고;

[0282] X는 각 경우에 독립적으로 0 또는 S이고;

[0283] Z는 화학식 I* 또는 B*로 표시되는 기이고;



[0285] 상기 식에서

[0286] —#는 Z에 대한 부착 지점을 나타내고;

[0287] A¹, A² 및 A³ 중 하나는 Y^A이고 나머지는 H이고;

[0288] ===는 단일 결합 또는 이중 결합이고;

[0289] Y^A는 Y-(CH₂)_{a1}CH₂O(CH₂)_{a2}-이고, 여기서 a1 및 a2는 각각 독립적으로 0 또는 1 내지 10의 정수이고;

[0290] 고리 A는 페닐, 8- 내지 10-원 비사이클릭 아릴, 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5- 내지 6-원 헤테로아릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로 원자를 갖는 7- 내지 10-원 비사이클릭 헤테로아릴이고;

[0291] Y는 H, 할로젠, OR^{1A}, NR^{2A, 3A}, SR^{4A}, CR^{5A, 6A, 7A}, 또는 탄소 원자수 10 이상의 지방족 탄화수소기를 하나 이상 함유하는 소수성 기이고; 여기서 R^{1A}, R^{2A}, R^{3A}, R^{4A}, R^{5A}, R^{6A}, 및 R^{7A}는 각각 독립적으로 C₁₋₆알킬, C₁₋₆알케닐, C₁₋₆알키닐, 페닐, OR^{8A}, -OC(O)R^{8A}, -C(O)OR^{8A}, NR^{8A, 9A}, -NR^{8A}COR^{9A}, -CONR^{8A, 9A}, 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 카르보사이클릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 2개의 헤테로 원자를 갖는 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 헤테로사이클릴이고; 여기서 R^{8A} 및 R^{9A}는 각 경우에 독립적으로 H 또는 C₁₋₆알킬이고;

[0292] P₁은 NO₂ 또는 실릴 하이드록실 보호기이고;

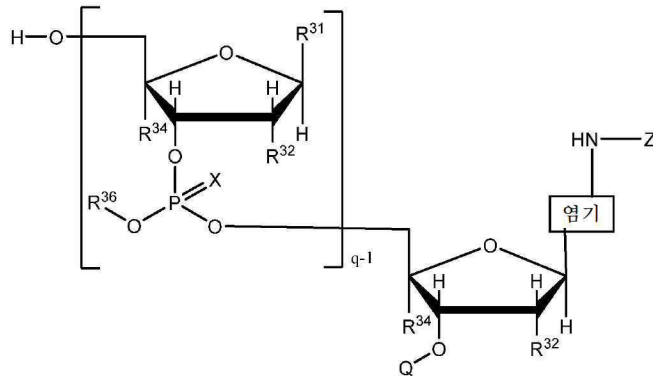
[0293] R₁ 및 R₂는 독립적으로 H, C₁₋₆알킬, 또는 페닐이고; 여기서 C₁₋₆알킬 및 페닐은 1 내지 3개의 R₃로 선택적으로 치환되고;

[0294] R₃은 C₁₋₃₀알콕시이고;

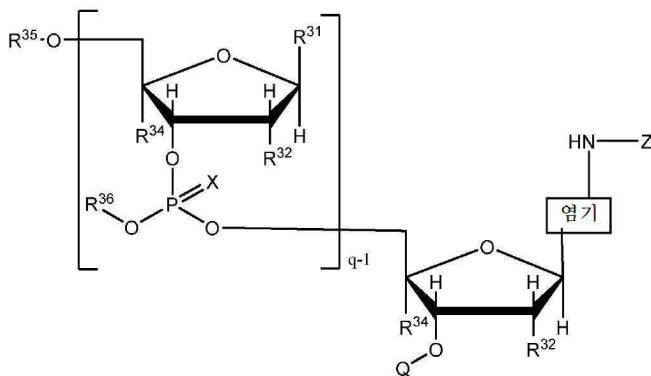
[0295] e는 0 내지 6의 정수이고;

[0296] f는 0 내지 6의 정수이다.

[0297] 제28 구현예에서, 본 개시는 화학식 III' 또는 IIIP'로 표시되는 뉴클레오타이드 또는 올리고뉴클레오타이드,



[0298] (III'), 또는



[0299] (IIIP');

[0300] 또는 그의 염을 제공하며, 상기 식에서:

[0301] Q는 하이드록실 보호기이고;

[0302] 염기는 Z에 의해 변형된 NH₂기를 함유하는 핵염기이고;

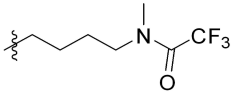
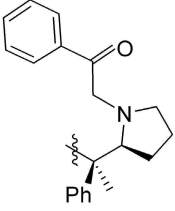
[0303] R³¹은 각 경우에 독립적으로 핵염기이고, 핵염기의 NH₂는 존재하는 경우 아민 보호기에 의해 선택적으로 보호되고;

[0304] R³²는 각 경우에 독립적으로 H, 할로, OH, 및 C₁₋₆알콕시로 선택적으로 치환된 C₁₋₆알콕시로 구성된 군으로부터 선택되고; 여기서 OH기는 하이드록실 보호기에 의해 선택적으로 보호되고;

[0305] R³⁴는 각 경우에 독립적으로 H이거나 또는 R³²의 알콕시기와 고리를 형성하고;

[0306] R³⁵는 하이드록실 보호기이고;

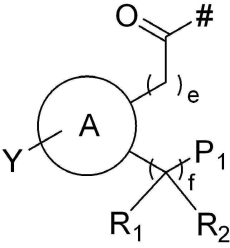
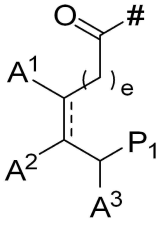
[0307] R³⁶은 각 경우에 독립적으로 H, C₁₋₆알킬기, C₂₋₆알케닐기, 페닐 또는 벤질기이며, 이들은 각각 -CN, -NO₂ 또는 할로젠으로 선택적으로 치환되거나; 또는

[0308] R³⁶은 , 또는  이고;

[0309] q는 1 내지 20의 정수이고;

[0310] X는 각 경우에 독립적으로 O 또는 S이고;

[0311] Z는 화학식 I* 또는 B*로 표시되는 기이고;

[0312]  (I*) 또는  (B*);

[0313] 상기 식에서

[0314] —#는 Z에 대한 부착 지점을 나타내고;

[0315] A¹, A² 및 A³ 중 하나는 Y^A이고 나머지는 H이고;

[0316] ==는 단일 결합 또는 이중 결합이고;

[0317] Y^A는 Y-(CH₂)_{a1}CH₂O(CH₂)_{a2}-이고, 여기서 a1 및 a2는 각각 독립적으로 0 또는 1 내지 10의 정수이고;

[0318] 고리 A는 페닐, 8- 내지 10-원 비사이클릭 아릴, 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5- 내지 6-원 헤테로아릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로 원자를 갖는 7- 내지 10-원 비사이클릭 헤테로아릴이고;

[0319] Y는 H, 할로젠, OR^{1A}, NR^{2A}R^{3A}, SR^{4A}, CR^{5A}R^{6A}R^{7A}, 또는 탄소 원자수 10 이상의 지방족 탄화수소기를 하나 이상 함유하는 소수성 기이고; 여기서 R^{1A}, R^{2A}, R^{3A}, R^{4A}, R^{5A}, R^{6A}, 및 R^{7A}는 각각 독립적으로 C₁₋₆알킬, C₁₋₆알케닐, C₁₋₆알키닐, 페닐, OR^{8A}, -OC(O)R^{8A}, -C(O)OR^{8A}, NR^{8A}R^{9A}, -NR^{8A}COR^{9A}, -CONR^{8A}R^{9A}, 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 카르보사이클릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 2개의 헤테로 원자를 갖는 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 헤테로사이클릴이고; 여기서 R^{8A} 및 R^{9A}는 각 경우에 독립적으로 H 또는 C₁₋₆알킬이고;

[0320] P₁은 NO₂ 또는 실릴 하이드록실 보호기이고;

[0321] R₁ 및 R₂는 독립적으로 H, C₁₋₆알킬, 또는 페닐이고; 여기서 C₁₋₆알킬 및 페닐은 1 내지 3개의 R₃로 선택적으로 치환되고;

[0322] R₃은 C₁₋₃₀알콕시이고;

[0323] e는 0 내지 6의 정수이고;

[0324] f는 0 내지 6의 정수이다.

[0325] 특정 구현예에서, R³²의 하이드록실 보호기는 실릴 보호기이다. 특정 구현예에서, 실릴 보호기는 트리메틸실릴, 트리에틸실릴, 트리이소프로필실릴, 디메틸이소프로필실릴, 디에틸이소프로필실릴, 디메틸헥실실릴, t-부틸디메

틸실릴, t-부틸디페닐실릴, 트리벤질실릴, 트리-p-자일릴실릴, 트리페닐실릴, 디페닐메틸실릴, 디-t-부틸메틸실릴 트리(트리메틸실릴)실릴, t-부틸메톡시페닐실릴, 및 t-부톡시디페닐실릴로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0326] 제29 구현예에서, 본 개시는 Z가 화학식 I*로 표시되는 기인, 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'로 표시되는 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드, 또는 그의 염을 제공한다.

[0327]  (I*).

[0328] 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'의 나머지 변수들은 제27 및/또는 제28 구현예에 기재되어 있다.

[0329] 제30 구현예에서, 본 개시는 Z가 화학식 B*로 표시되는 기인, 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'로 표시되는 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염을 제공한다.

[0330]  (B*).

[0331] 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'의 나머지 변수들은 제27 및/또는 제28 구현예에 기재되어 있다.

[0332] 제31 구현예에서, 본 개시는 Z가 화학식 B-1* 또는 B-2*로 표시되는 기인, 화학식 III, III', IIP, 또는 III P'로 표시되는 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염을 제공한다.

[0333] , 또는

[0334] B-1* B-2*

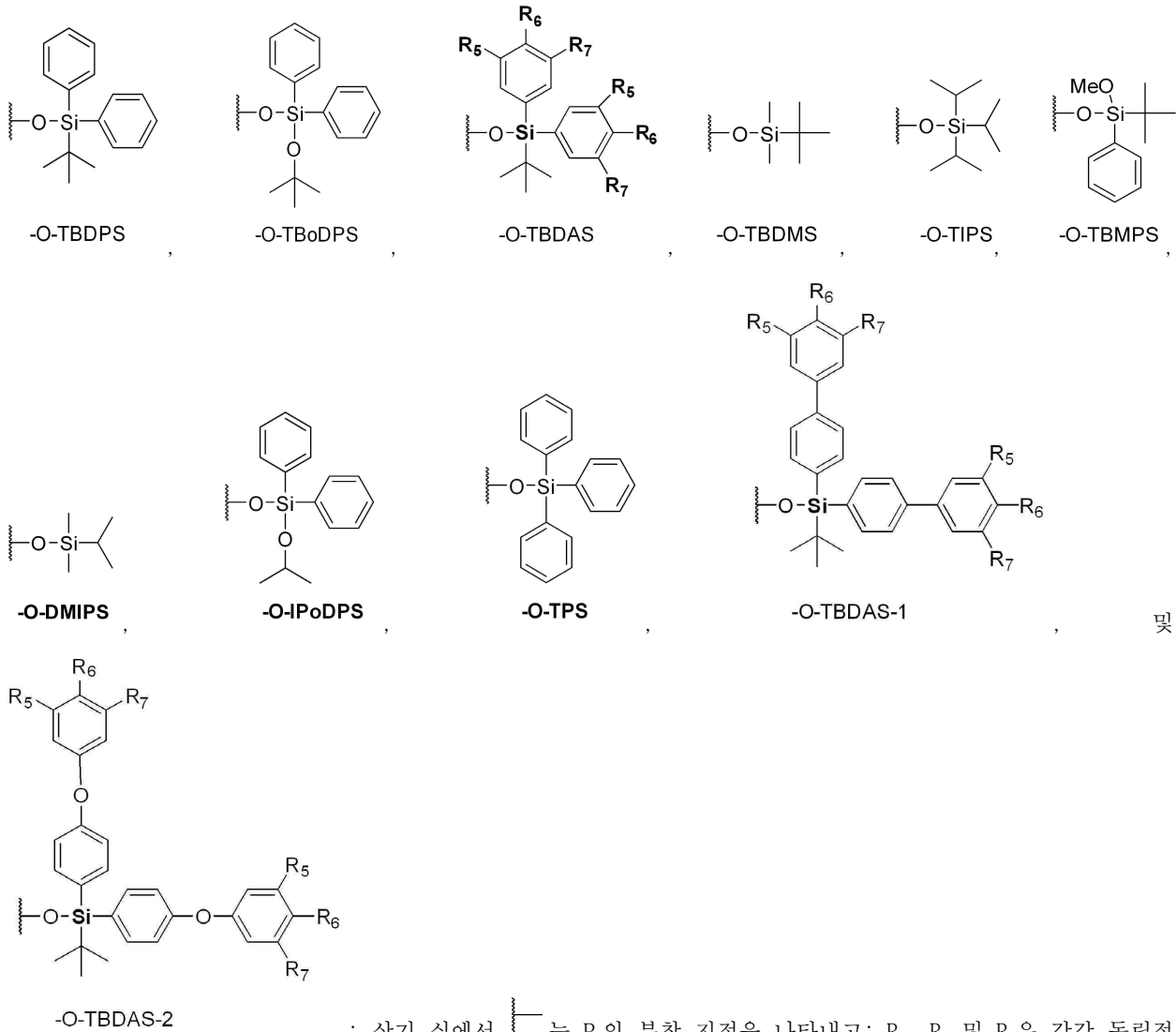
[0335] 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'의 나머지 변수들은 제27 및/또는 제28 구현예에 기재되어 있다.

[0336] 제32 구현예에서, 본 개시는 Y가 탄소 원자수 10 이상의 지방족 탄화수소기를 하나 이상 함유하는 소수성 기인, 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'로 표시되는 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염을 제공한다. 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'의 나머지 변수들은 제27 및/또는 제28 구현예에 기재되어 있다.

[0337] 제33 구현예에서, 본 개시는 고리 A가 페닐 또는 나프탈레닐인, 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'로 표시되는 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염을 제공한다. 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'의 나머지 변수들은 제27, 제28, 및/또는 제32 구현예에 기재되어 있다.

[0338] 제34 구현예에서, 본 개시는 P1이 하기로부터 선택된 실릴 하이드록실 보호기인, 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'로 표시되는 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염을 제공한다.

[0339]

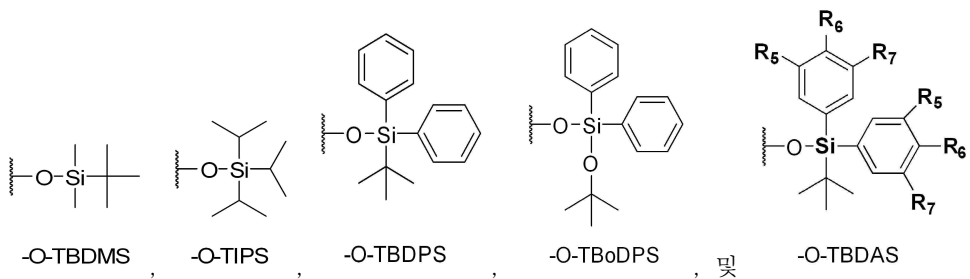


상기 식에서 --- 는 P₁의 부착 지점을 나타내고; R₅, R₆ 및 R₇은 각각 독립적으로 H, C₁₋₃₀알킬 또는 C₁₋₃₀알콕시이다. 화학식 III, III', IIIP, 또는 IIIP'의 나머지 변수들은 제27 내지 제33 구현예 중 어느 하나에 기재되어 있다.

[0340]

제35 구현예에서, 본 개시는 P₁이 -O-TBDMS, -O-TIPS, -O-TBDPS, -O-TBoDPS, 및 -O-TBDAS로 구성된 군으로부터 선택되는, 화학식 III, III', IIIP, 또는 IIIP'로 표시되는 뉴클레오타이드 또는 올리고뉴클레오타이드 또는 그의 염을 제공한다.

[0341]

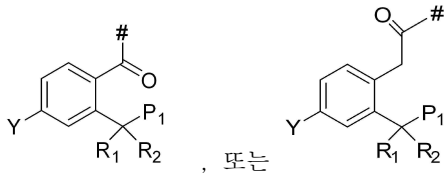


[0342]

화학식 III, III', IIIP, 또는 IIIP'의 나머지 변수들은 제27 내지 제34 구현예 중 어느 하나에 기재되어 있다.

[0343]

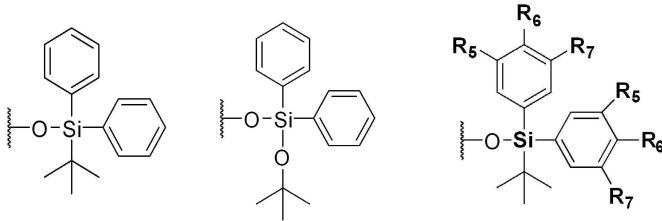
제36 구현예에서, 본 개시는 Z가 화학식 I^{**} 또는 Ia^{**}로 표시되는 기 또는 그의 염인, 화학식 III, III', IIIP, 또는 IIIP'로 표시되는 뉴클레오타이드 또는 올리고뉴클레오타이드 또는 그의 염을 제공한다.



[0344]

[0345] I^{**} Ia^{**}

[0346] 상기 식에서 P1은 -O-TBDPS, -O-TBoDPS, 및 -O-TBDAS로 구성된 군으로부터 선택된다.



[0347] -O-TBDPS, -O-TBoDPS, 및 -O-TBDAS. 화학식 III, III', IIIP, 또는 IIIP'의 나머지 변수들은 제27 내지 제35 구현예 중 어느 하나에 기재되어 있다.

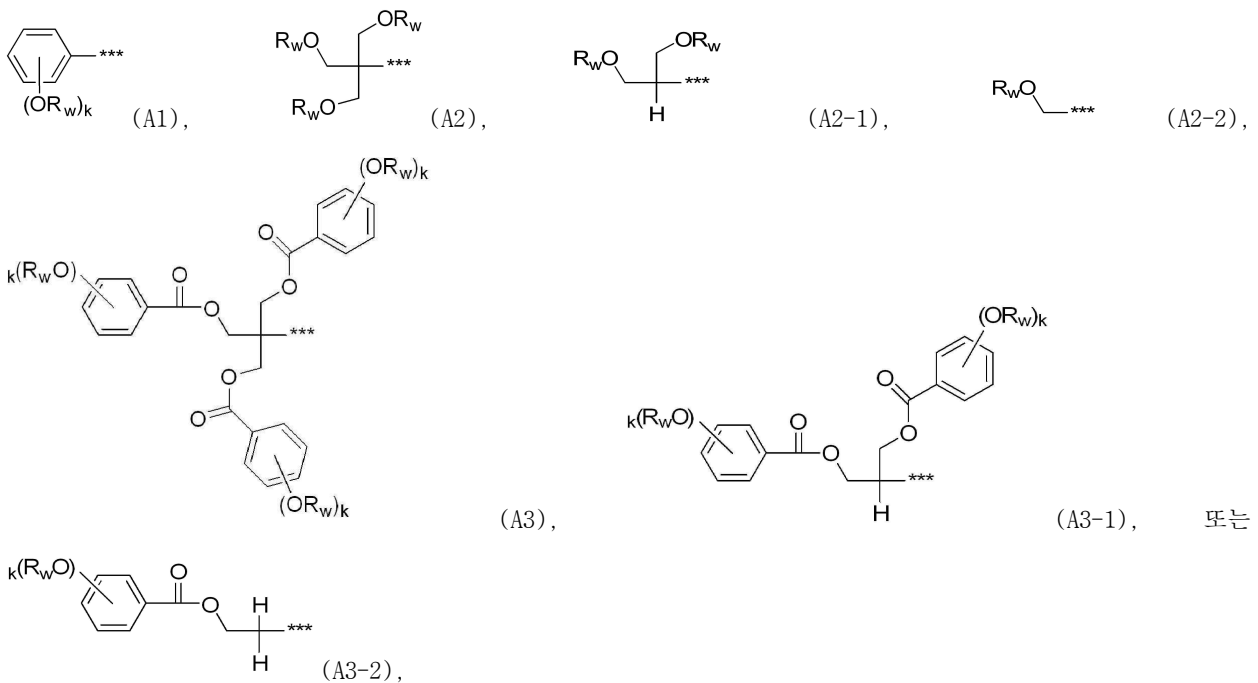
[0348] 제37 구현예에서, 본 개시는 Y가 화학식 A로 표시되는, 화학식 III, III', IIIP, 또는 IIIP'로 표시되는 뉴클레오타이드 또는 올리고뉴클레오타이드 또는 그의 염을 제공한다.

[0349] W—V—U—* (A)

[0350] 상기 식에서:

[0351] —* 는 Y에 대한 부착 지점을 나타내고;

[0352] W는 화학식 A1, A2, A2-1, A2-2, A3, A3-1, 또는 A3-2로 표시되고:



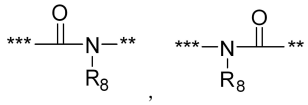
[0354] 상기 식에서

[0355] —*** 는 W와 V가 연결되는 지점을 나타내고;

[0356] R_w은 각각 독립적으로 10개 이상의 탄소 원자를 갖는 지방족 탄화수소기이고;

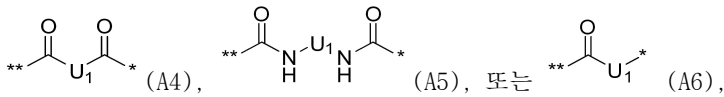
[0357] k는 1 내지 5의 정수이고;

[0358] V는 결합, 산소, C₁₋₂₀알킬렌, C₁₋₆알킬닐렌, -C(=O)-, $***-C(=O)-O-**, \quad ***-O-C(=O)-**, \quad \begin{matrix} ***-N-** \\ | \\ R_8 \end{matrix}$,



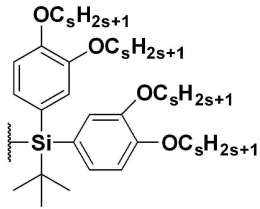
, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖고, 1 내지 3개의 R₈로 선택적으로 치환된, 5 내지 7원 헤테로아릴이고; 여기서 $***$ 는 V와 U가 연결되는 지점을 나타내고; R₈은 H 또는 C₁₋₃₀알킬이고;

[0359] U는 결합, 산소, C₁₋₂₀알킬렌, 카르보닐, $***-O-C(=O)-**, \quad \text{산소, 질소, 및 황으로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5 내지 7원 헤테로사이클릴; 산소, 질소, 및 황으로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖고, 1 내지 3개의 R}_8\text{로 선택적으로 치환된, 5 내지 7원 헤테로아릴; 또는 화학식 A4, A5, 또는 A6으로 표시되는 기이고:}$



[0361] 상기 식에서 U₁은 C₁₋₆알킬렌, C₁₋₆알킬렌옥시, 산소, 질소, 및 황으로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5 내지 7원 헤테로사이클릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5 내지 7원 헤테로아릴이다. 화학식 III, III', IIIP, 또는 IIIP'의 나머지 변수들은 제27 내지 제36 구현에 중 어느 하나에 기재되어 있다.

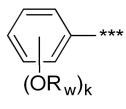
[0362] 제38 구현예에서, 본 개시는 TBDAS기가 하기의 기인, 화학식 III, III', IIIP, 또는 IIIP'로 표시되는 뉴클레오타이드 또는 올리고뉴클레오타이드 또는 그의 염을 제공한다.



[0363] 상기 식에서 s는 1 내지 30의 정수이다. 화학식 III, III', IIIP, 또는 IIIP'의 나머지 변수들은 제34 내지 제37 구현예 중 어느 하나에 기재되어 있다.

[0365] 제39 구현예에서, 본 개시는 P₁이 TBDPS인, 화학식 III, III', IIIP, 또는 IIIP'로 표시되는 뉴클레오타이드 또는 올리고뉴클레오타이드 또는 그의 염을 제공한다. 화학식 III, III', IIIP, 또는 IIIP'의 나머지 변수들은 제27 내지 제37 구현예 중 어느 하나에 기재되어 있다.

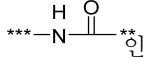
[0366] 제40 구현예에서, 본 개시는 W가 화학식 A1으로 표시되는, 화학식 III, III', IIIP, 또는 IIIP'로 표시되는 뉴클레오타이드 또는 올리고뉴클레오타이드 또는 그의 염을 제공한다.



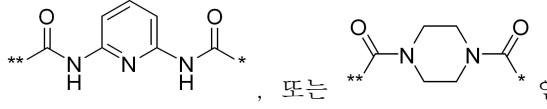
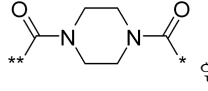
[0367] 상기 식에서 R_w는 C_nH_{2n+1}이고; n은 1 내지 30의 정수이다. 화학식 III, III', IIIP, 또는 IIIP'의 나머지 변수들은 제37 구현예에 기재되어 있다.

[0369] 제41 구현예에서, 본 개시는 R_w가 C₁₂H₂₅, C₁₈H₃₇, C₂₀H₄₁, C₂₂H₄₅, C₂₄H₄₉, C₂₆H₅₃, 및 C₂₈H₅₇로 구성된 군으로부터 선택되는, 화학식 III, III', IIIP, 또는 IIIP'로 표시되는 뉴클레오타이드 또는 올리고뉴클레오타이드 또는 그의 염을 제공한다. 화학식 III, III', IIIP, 또는 IIIP'의 나머지 변수들은 제37 및/또는 제40 구현예에 기재되어

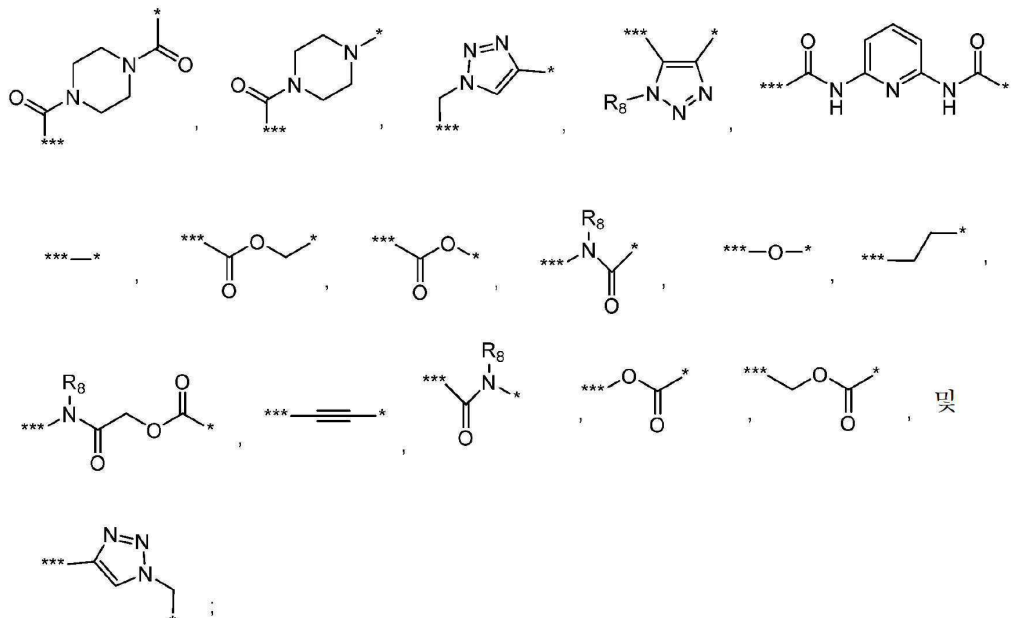
있다.

[0370] 제42 구현예에서, 본 개시는 V가 결합, CH₂, CH₂CH₂, C(=O)-, ***-C(=O)-O-**, 또는 인, 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'로 표시되는 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염을 제공한다. 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'의 나머지 변수들은 제37 내지 제41 구현예 중 어느 하나에 기재되어 있다.

[0371] 제43 구현예에서, 본 개시는 U가 결합, CH₂, CH₂CH₂, 카르보닐, 트리아졸릴렌, 피페라지닐렌,

, 또는 인, 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'로 표시되는 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염을 제공한다. 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'의 나머지 변수들은 제37 내지 제42 구현예 중 어느 하나에 기재되어 있다.

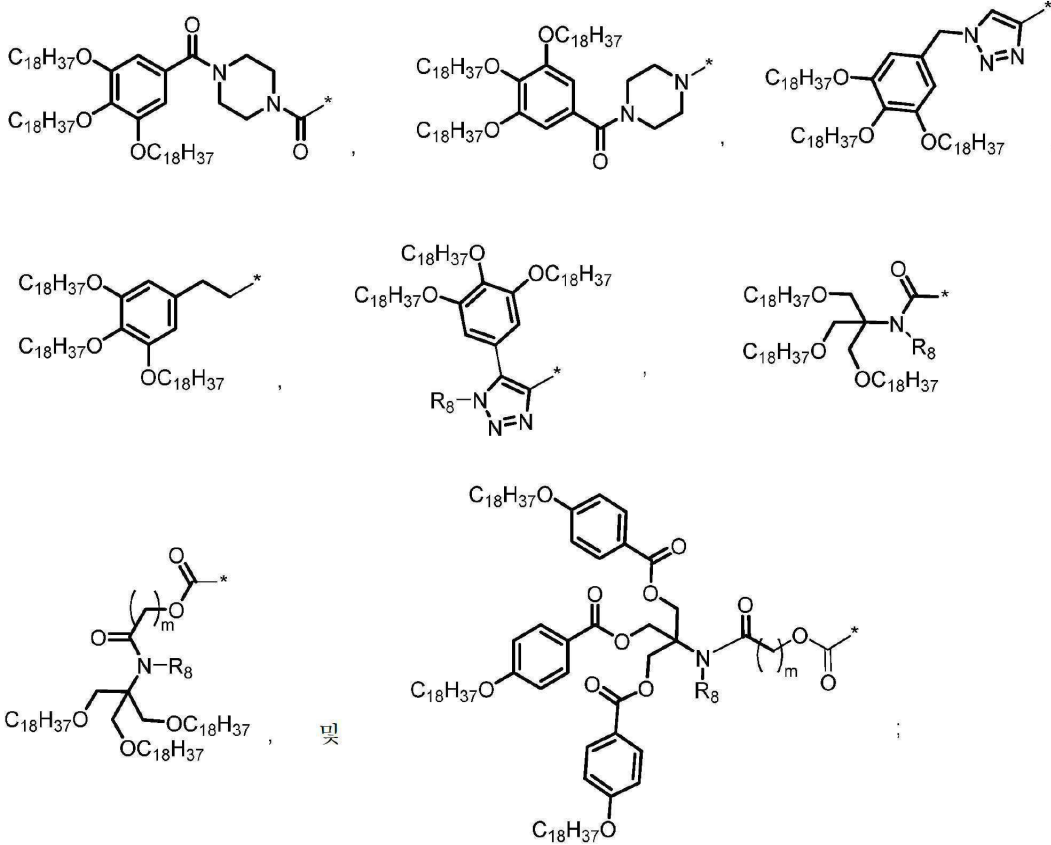
[0372] 제44 구현예에서, 본 개시는 U-V가 하기로 구성된 군으로부터 선택되는, 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'로 표시되는 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염을 제공한다.



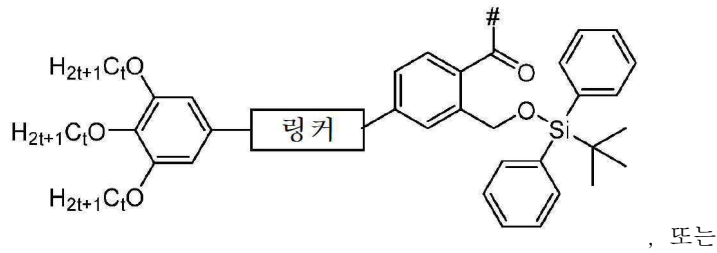
[0373]

[0374] 상기 식에서 R₈은 H 또는 C₁₋₆알킬이다. 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'의 나머지 변수들은 제37 내지 제41 구현예 중 어느 하나에 기재되어 있다.

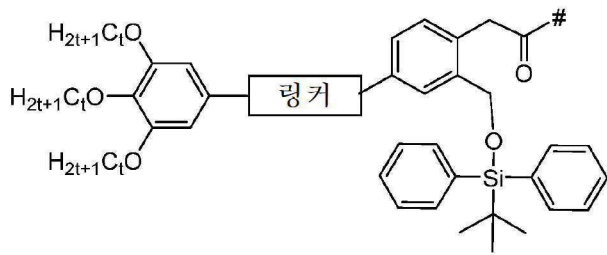
[0375] 제45 구현예에서, 본 개시는 Y가 하기로 구성된 군으로부터 선택되는, 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'로 표시되는 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염을 제공한다.



- [0376]
- [0377] 상기 식에서
- [0378] R₈은 H 또는 C₁₋₆알킬이고;
- [0379] m은 1 내지 5의 정수이다.
- [0380] 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'의 나머지 변수들은 제27 내지 제39 구현예 중 어느 하나에 기재되어 있다.
- [0381] 제46 구현예에서, 본 개시는 R₁ 및 R₂가 독립적으로 H 또는 CH₃인, 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'로 표시되는 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염을 제공한다. 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'의 나머지 변수들은 제27 내지 제45 구현예 중 어느 하나에 기재되어 있다. 특정 구현예에서, R₁ 및 R₂는 둘 다 H이다. 다른 특정 구현예에서, R₁ 및 R₂는 둘 다 CH₃이다.
- [0382] 제47 구현예에서, 본 개시는 e가 0, 1, 또는 2이고; f가 0, 1, 또는 2인, 화학식 III, III', IIP, 또는 III P'로 표시되는 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염을 제공한다. 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'의 나머지 변수들은 제27 내지 제46 구현예 중 어느 하나에 기재되어 있다.
- [0383] 제48 구현예에서, 본 개시는 R₈이 H 또는 C₁₋₄알킬인, 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'로 표시되는 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염을 제공한다. 화학식 III 또는 IIP의 나머지 변수들은 제37 구현예에 기재되어 있다. 일 구현예에서, R₈은 H 또는 메틸이다.
- [0384] 제49 구현예에서, 본 개시는 Z가 화학식 II* 또는 IIa*로 표시되는, 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'로 표시되는 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염을 제공한다,



[0386] II*

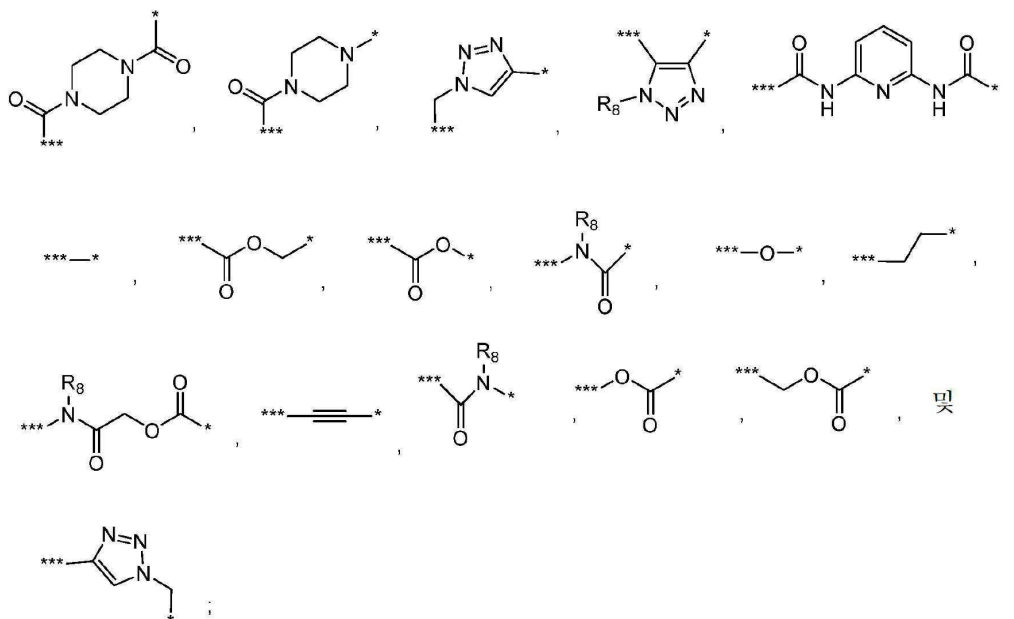


[0387] IIa*

[0388] 상기 식에서:

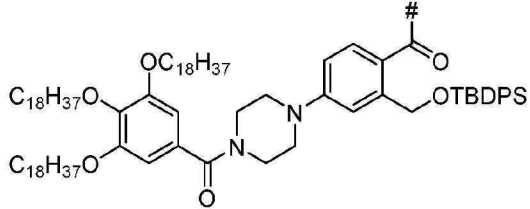
[0389] t는 10 내지 30의 정수이고;

[0390] 링커는 하기로 구성된 군으로부터 선택되고;

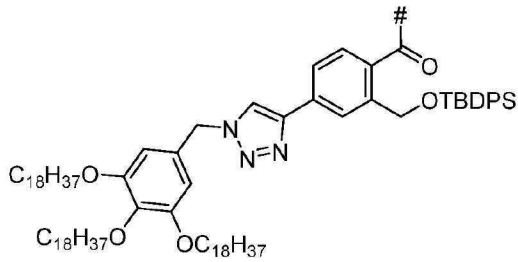


[0392] 상기 식에서 R₈은 H 또는 C₁₋₆알킬이다. 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'의 나머지 변수들은 제27 및/또는 제28 구현예에 기재되어 있다.

[0393] 제50 구현예에서, 본 개시는 Z가 하기인, 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'로 표시되는 뉴클레오타이드 또는 올리고뉴클레오타이드 또는 그의 염을 제공한다.



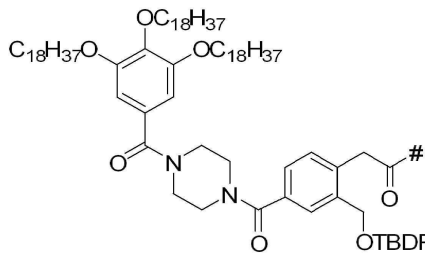
, 또는



[0395]

[0396] 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'의 나머지 변수들은 제49 구현예에 기재되어 있다.

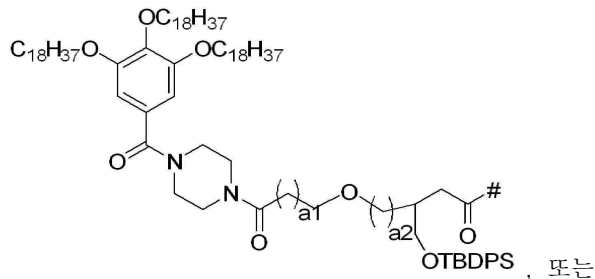
[0397] 제51 구현예에서, 본 개시는 Z가 하기인, 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'로 표시되는 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염을 제공한다.



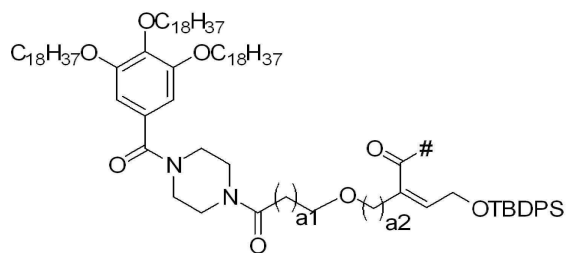
[0398]

[0399] 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'의 나머지 변수들은 제27 및/또는 제28 구현예에 기재되어 있다.

[0400] 제52 구현예에서, 본 개시는 Z가 하기인, 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'로 표시되는 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염을 제공한다.



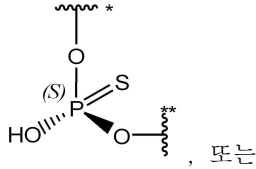
[0401]



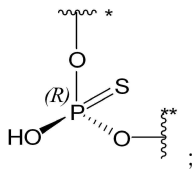
[0402]

[0403] 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'의 나머지 변수들은 제27 및/또는 제28 구현예에 기재되어 있다. 일부 구현예에서, a1 및 a2는 각각 1 내지 6, 1 내지 5, 또는 1 내지 4의 정수이다.

[0404] 제53 구현예에서, 본 개시는 X가 S일 때, 포스포로티올레이트기가 하기에 나타낸 바와 같은 S-배열 또는 R-배열을 갖는, 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'로 표시되는 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염을 제공하며, 여기서 S-배열은 이하와 같고:



[0406] R-배열은 이하와 같고;



[0408] 상기 식에서 ~~~* 는 3'-OH기에 대한 연결 지점을 나타내고 ~~~** 는 5'-OH기에 대한 연결 지점을 나타낸다. 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'의 나머지 변수들은 제27 내지 제52 구현예 중 어느 하나에 기재되어 있다.

[0409] 특정 구현예에서, 본 개시는 R³¹이 각 경우에 아데닌(A), 구아닌(G), 티민(T), 시토신(C), 또는 우라실(U)인, 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'로 표시되는 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염을 제공한다. 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'의 나머지 변수들은 제27 내지 제53 구현예 중 어느 하나에 기재되어 있다.

[0410] 특정 구현예에서, 본 개시는 R³²가 각 경우에 독립적으로 H, F, Cl, Br, I, 또는 -OCH₂CH₂OMe인 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'로 표시되는 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염을 제공한다. 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'의 나머지 변수들은 제27 내지 제53 구현예 중 어느 하나에 기재되어 있다. 특정 구현예에서, R³²는 각 경우에 독립적으로 H 또는 -OCH₂CH₂OMe이다.

[0411] 특정 구현예에서, 본 개시는 R³⁴가 H인, 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'로 표시되는 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염을 제공한다. 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'의 나머지 변수들은 제27 내지 제53 구현예 중 어느 하나에 기재되어 있다.

[0412] 특정 구현예에서, 본 개시는 R³⁵가 4,4'-디메톡시트리틸인, 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'로 표시되는 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염을 제공한다. 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'의 나머지 변수들은 제27 내지 제53 구현예 중 어느 하나에 기재되어 있다.

[0413] 특정 구현예에서, 본 개시는 R³⁶이 -CH₂CH₂CN인, 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'로 표시되는 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염을 제공한다. 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'의 나머지 변수들은 제27 내지 제53 구현예 중 어느 하나에 기재되어 있다.

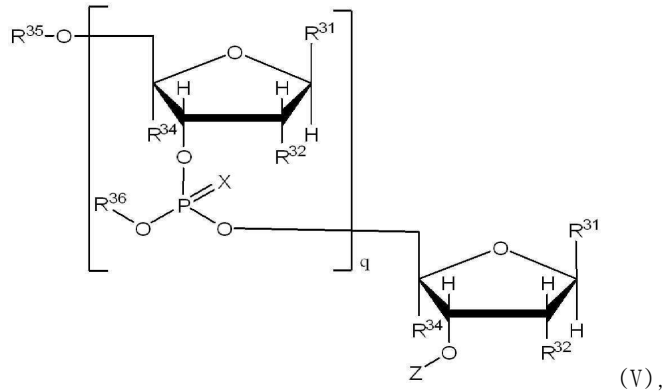
[0414] 특정 구현예에서, 본 개시는 R³²가 -OCH₂CH₂OMe인, 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'로 표시되는 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 그의 염을 제공한다. 화학식 III, III', IIP, 또는 IIP'의 나머지 변수들은 제27 내지 제53 구현예 중 어느 하나에 기재되어 있다.

[0415] 3. 올리고뉴클레오티드 단편의 제조 방법

[0416] 제3 측면에서, 본 개시는 3'-말단에 하이드록실 보호기(예컨대, 소수성 하이드록실 보호기)를 갖는 올리고뉴클레오티드 단편(단편이 소수성 하이드록실 보호기를 갖는 경우, 이는 본 명세서에서 "3'-단편"으로 언급될 수 있

음) 또는 핵염기에 아미노 보호기를 갖는 올리고뉴클레오타이드 단편(핵염기가 NH₂기를 함유하는 경우, 이것은 본 명세서에서 "핵염기 SiLHPG 단편"으로 언급될 수 있음)을 제조하는 방법을 기술한다. 놀랍게도, 3'-단편 또는 핵염기 SiLHPG 단편을 합성하기 위한 본 개시의 방법이 3 내지 20(예컨대, 3 내지 10, 3 내지 8, 3 내지 5 또는 4 내지 5)의 뉴클레오타이드를 갖는 올리고뉴클레오타이드 단편을 크로마토그래피 정제 없이 고순도로 제조하는 데 이용될 수 있음을 밝혀냈다. 일부 구현예에서, 선택적 석출에 의한 올리고뉴클레오타이드 단편 생성물의 분리를 용이하게 하는 소수성 3'-하이드록실 보호기가 사용된다. 일부 구현예에서, 선택적 석출에 의한 올리고뉴클레오타이드 단편 생성물의 분리를 용이하게 하는 소수성 아미노 보호기가 사용된다. 일부 구현예에서, 액상 공정은 (1) 5'-OH 탈보호 단계, (2) 커플링 단계, 및 (3) 산화 또는 황화 단계를 포함하며, 상기 단계 (1), (2) 및 (3)은 목적인 수의 뉴클레오타이드가 함께 연결되어 3'-올리고뉴클레오타이드 단편을 형성할 때까지 반복된다.

[0417] 제54 구현예에서, 본 개시는 화학식 (V)의 올리고뉴클레오타이드 단편, 또는 그의 염의 제조 방법을 제공하며,



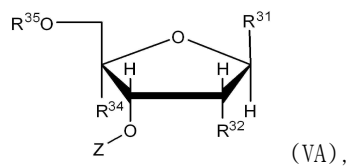
[0418]

상기 방법은 하기의 단계들을 포함한다:

[0419]

1) 화학식 (VA)의 화합물, 또는 그의 염을 탈보호하여,

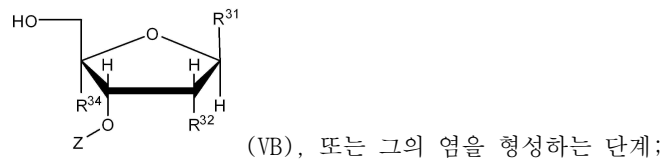
[0420]



[0421]

화학식 (VB)의 화합물을 형성하거나,

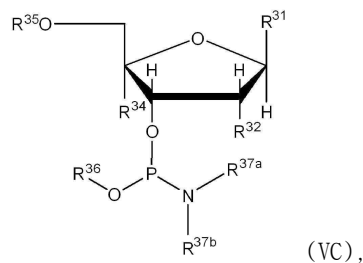
[0422]



[0423]

2) 화학식 (VB)의 화합물, 또는 그의 염을, 화학식 (VC)의 화합물, 또는 그의 염과 반응시켜서,

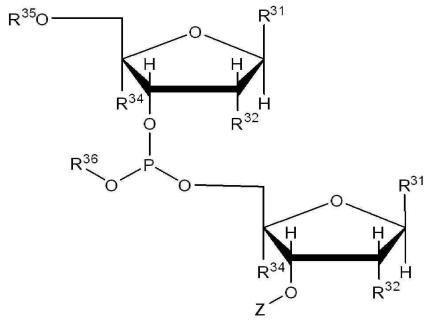
[0424]



[0425]

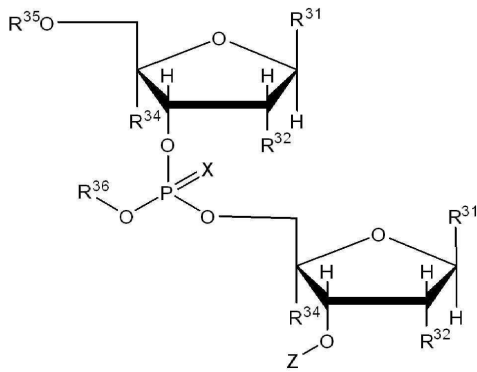
화학식 (VD)의 화합물을 형성하거나,

[0426]



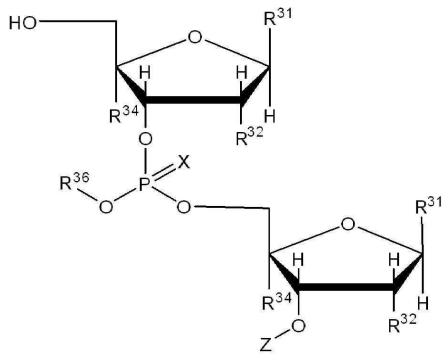
[0427] (VD), 또는 그의 염을 형성하는 단계;

[0428] 3) 화학식 (VD)의 화합물, 또는 그의 염을, 황화제 또는 산화제로 황화 또는 산화시켜 화학식 (VE)의 화합물을 형성하거나,



[0429] (VE), 또는 그의 염을 형성하는 단계;

[0430] 4) 화학식 (VE)의 화합물, 또는 그의 염을 탈보호하여 화학식 (VF)의 화합물을 형성하거나,



[0431] (VF), 또는 그의 염을 형성하는 단계;

[0432] 5) q가 2 이상인 경우, 화학식 (VF)의 화합물로 출발하여, 단계 2), 3) 및 4)를 q-2회 반복한 다음, 단계 2) 및 3)을 거쳐 화학식 (V), 또는 그의 염을 얻는 단계, 상기 식에서:

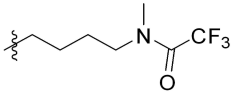
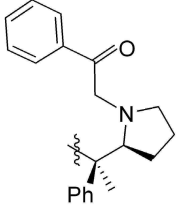
[0433] R^{31} 은 각 경우에 독립적으로 핵염기이고, 핵염기의 NH_2 는 존재하는 경우 아민 보호기에 의해 보호되고;

[0434] R^{32} 는 각 경우에 독립적으로 H, 할로, OH, 및 C_{1-6} 알콕시로 선택적으로 치환된 C_{1-6} 알콕시로 구성된 군으로부터 선택되고; 여기서 OH기는 하이드록실 보호기에 의해 선택적으로 보호되고;

[0435] R^{34} 는 각 경우에 독립적으로 H이거나 또는 R^{32} 의 알콕시기와 고리를 형성하고;

[0436] R^{35} 는 하이드록실 보호기이고;

[0437] R^{36} 은 각 경우에 독립적으로 C_{1-6} 알킬기, C_{2-6} 알케닐기, 페닐 또는 벤질기이며, 이들은 각각 -CN, $-NO_2$ 또는 할로겐으로 선택적으로 치환되거나; 또는

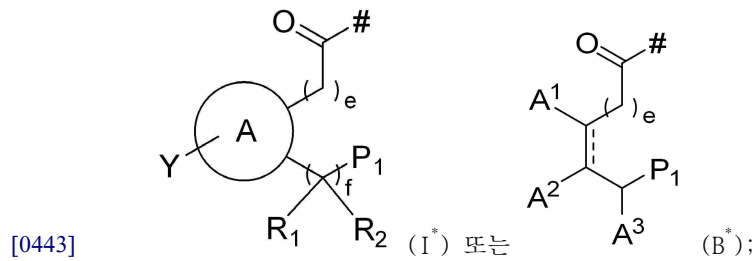
[0438] R³⁶은 , 또는  이고;

[0439] R^{37a} 및 R^{37b}는 독립적으로 C₁₋₆알킬이고;

[0440] q는 1 내지 20의 정수이고;

[0441] X는 각 경우에 독립적으로 0 또는 S이고;

[0442] Z는 화학식 I* 또는 B*로 표시되는 기이고;



[0444] 상기 식에서

[0445] —#는 Z에 대한 부착 지점을 나타내고;

[0446] A¹, A² 및 A³ 중 하나는 Y^A이고 나머지는 H이고;

[0447] ===는 단일 결합 또는 이중 결합이고;

[0448] Y^A는 Y-(CH₂)_{a1}CH₂O(CH₂)_{a2}-이고, 여기서 a1 및 a2는 각각 독립적으로 0 또는 1 내지 10의 정수이고;

[0449] 고리 A는 페닐, 8- 내지 10-원 비사이클릭 아릴, 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5- 내지 6-원 헤테로아릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로 원자를 갖는 7- 내지 10-원 비사이클릭 헤테로아릴이고;

[0450] Y는 H, 할로젠, OR^{1A}, NR^{2A, 3A}, SR^{4A}, CR^{5A, 6A, 7A}, 또는 탄소 원자수 10 이상의 지방족 탄화수소기를 하나 이상 함유하는 소수성 기이고; 여기서 R^{1A}, R^{2A}, R^{3A}, R^{4A}, R^{5A}, R^{6A}, 및 R^{7A}는 각각 독립적으로 C₁₋₆알킬, C₁₋₆알케닐, C₁₋₆알키닐, 페닐, OR^{8A}, -OC(O)R^{8A}, -C(O)OR^{8A}, NR^{8A, 9A}, -NR^{8A}COR^{9A}, -CONR^{8A, 9A}, 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 카르보사이클릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 2개의 헤테로 원자를 갖는 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 헤테로사이클릴이고; 여기서 R^{8A} 및 R^{9A}는 각 경우에 독립적으로 H 또는 C₁₋₆알킬이고;

[0451] P₁은 NO₂ 또는 실릴 하이드록실 보호기이고;

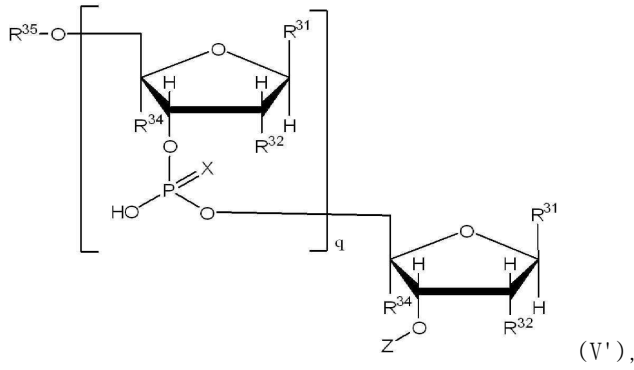
[0452] R₁ 및 R₂는 독립적으로 H, C₁₋₆알킬, 또는 페닐이고; 여기서 C₁₋₆알킬 및 페닐은 1 내지 3개의 R₃로 선택적으로 치환되고;

[0453] R₃은 C₁₋₃₀알콕시이고;

[0454] e는 0 내지 6의 정수이고;

[0455] f는 0 내지 6의 정수이다.

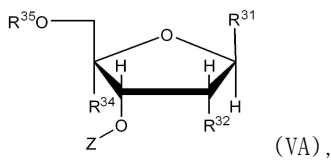
[0456] 제55 구현예에서, 본 개시는 화학식 (V')의 올리고뉴클레오티드 단편, 또는 그의 염의 제조 방법을 제공하며,



[0457]

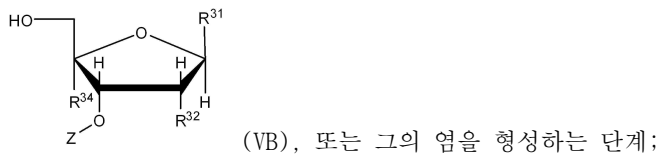
[0458] 상기 방법은 하기의 단계들을 포함한다:

[0459] 1) 화학식 (VA)의 화합물, 또는 그의 염을 탈보호하여,



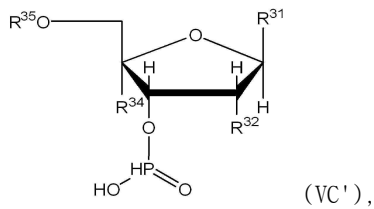
[0460]

[0461] 화학식 (VB)의 화합물을 형성하거나,



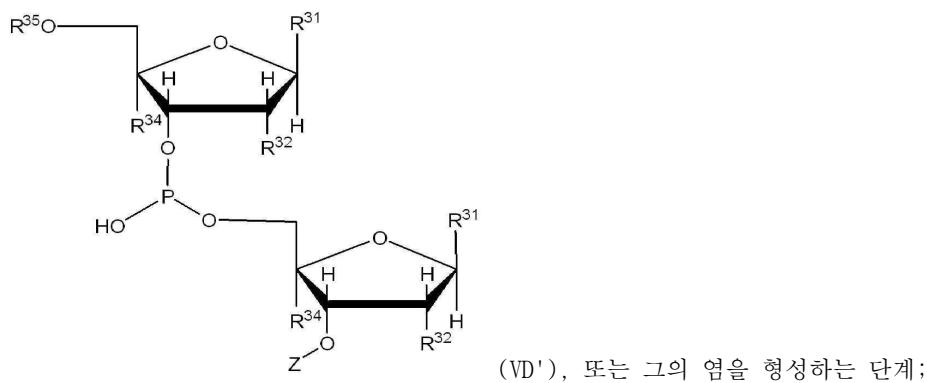
[0462]

[0463] 2) 화학식 (VB)의 화합물, 또는 그의 염을, 화학식 (VC')의 화합물, 또는 그의 염과 반응시켜서,



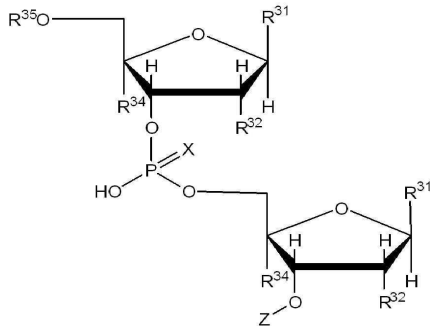
[0464]

[0465] 화학식 (VD')의 화합물을 형성하거나,



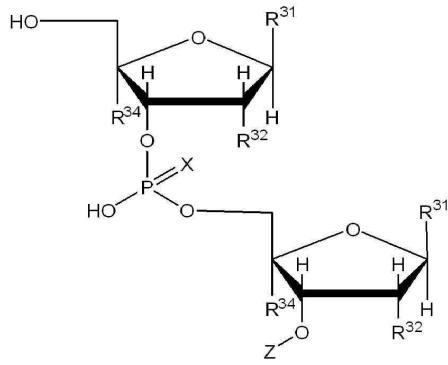
[0466]

[0467] 3) 화학식 (VD')의 화합물, 또는 그의 염을, 황화제 또는 산화제로 황화 또는 산화시켜 화학식 (VE')의 화합물을 형성하거나,



[0468] (VE'), 또는 그의 염을 형성하는 단계;

[0469] 4) 화학식 (VE')의 화합물, 또는 그의 염을 탈보호하여 화학식 (VF')의 화합물을 형성하거나,

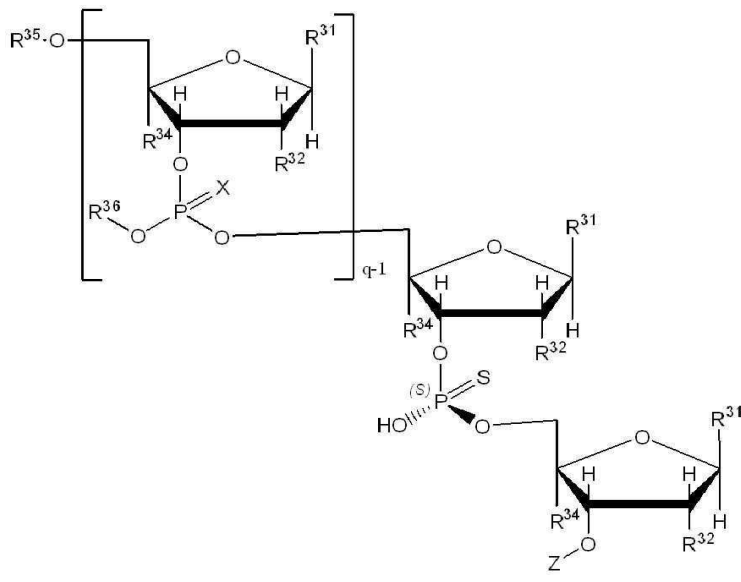


[0470] (VF'), 또는 그의 염을 형성하는 단계;

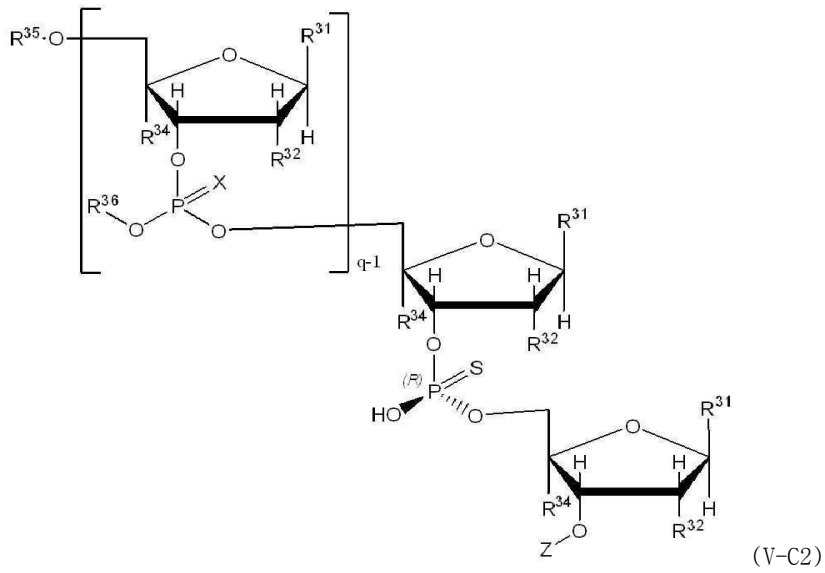
[0471] 5) q가 2 이상인 경우, 화학식 (VF')의 화합물로 출발하여, 단계 2), 3) 및 4)를 q-2회 반복한 다음, 단계 2) 및 3)을 거쳐 화학식 (V')의 단편, 또는 그의 염을 얻는 단계, 상기 식에서:

[0472] R^{31} , R^{32} , R^{34} , R^{35} , q, X, 및 Z는 제54 구현예에서 화학식 (V)에 대해 상기 기재된 바와 같다.

[0473] 제56 구현예에서, 본 개시는 화학식 (V-C1) 또는 (V-C2)의 올리고뉴클레오티드 단편, 또는 그의 염의 제조 방법을 제공하며,



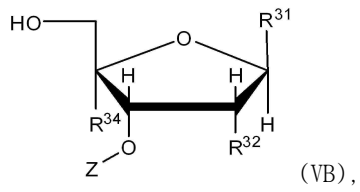
[0474] (V-C1), 또는



[0475] (V-C2)

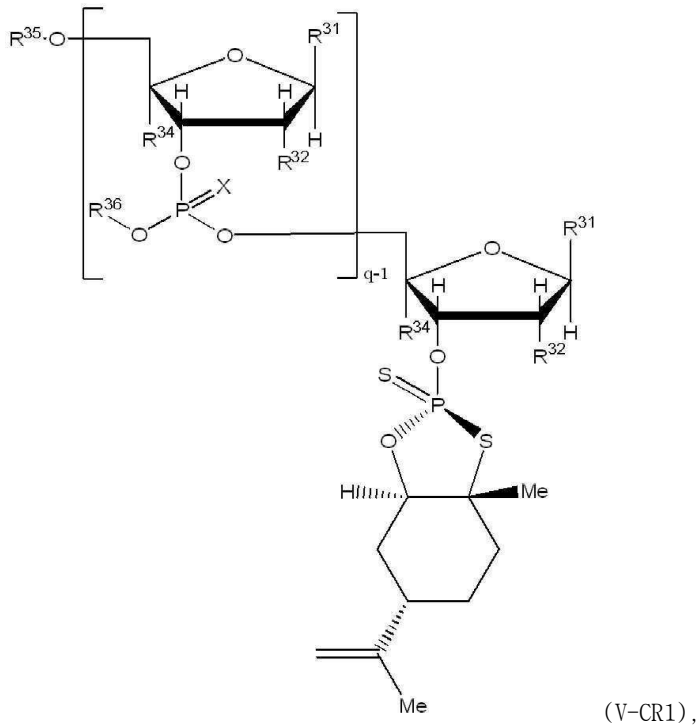
[0476] 상기 방법은 하기의 단계들을 포함한다:

[0477] 1) 화학식 (VB)의 화합물:

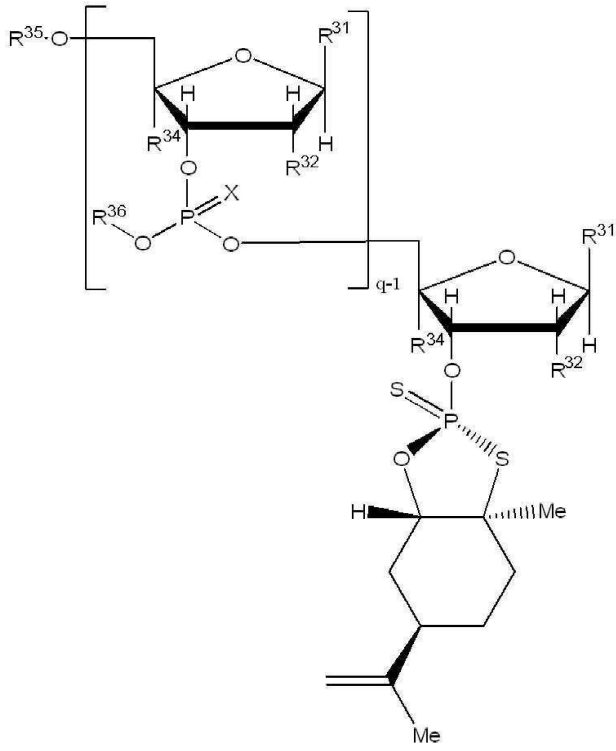


[0478] (VB),

[0479] 또는 그의 염을, 화학식 (V-CR1) 또는 (V-CR2)의 화합물:



[0480] (V-CR1),



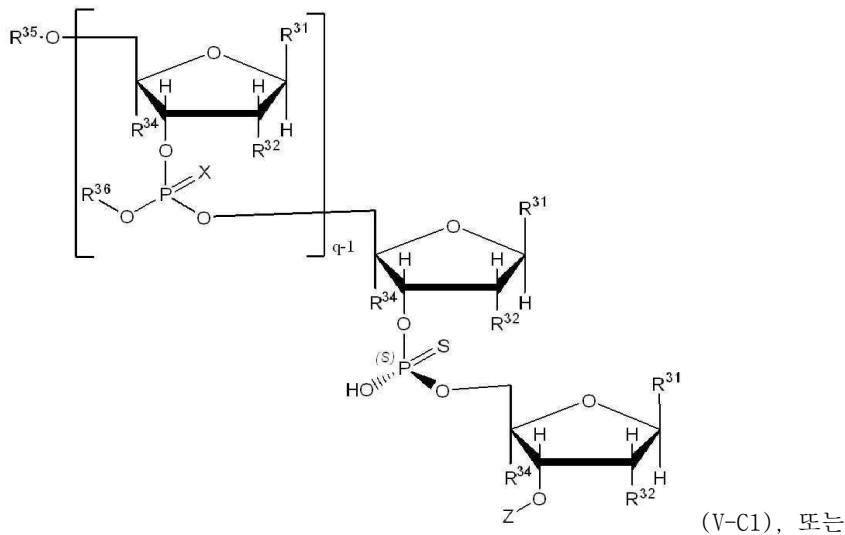
[0481]

[0482]

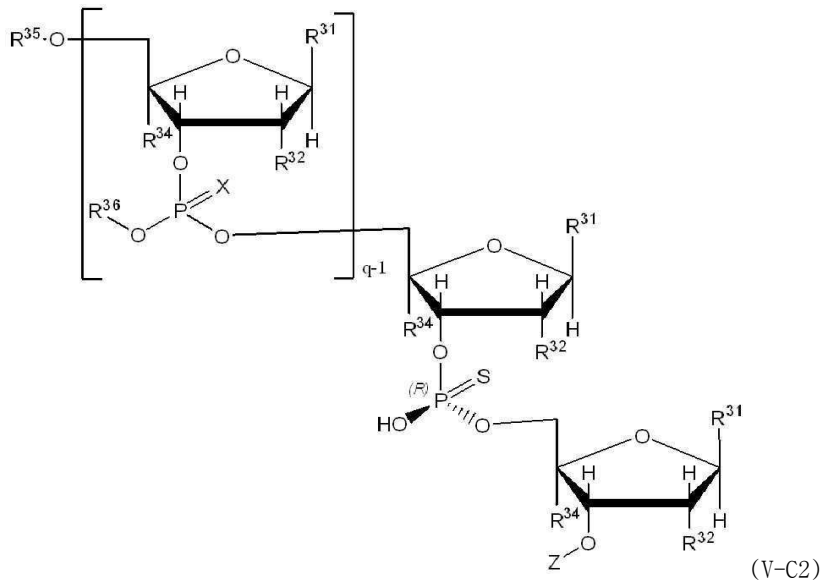
또는 그의 염, 및 염기와 반응시켜서, 화학식 (V-C1) 또는 (V-C2)의 화합물을 형성하는 단계, 상기 식에서 R^{31} , R^{32} , R^{34} , R^{35} , R^{36} , q , X 및 Z 는 제54 구현예에서 화학식 (V)에 대해 상기 기재된 바와 같다. 화학식 (VB)와 (V-CR1)의 반응은 화학식 (V-C1)의 화합물을 형성하고, 화학식 (VB)와 (V-CR2)의 반응은 화학식 (V-C2)의 화합물을 형성한다.

[0483]

제57 구현예에서, 본 개시는 화학식 (V-C1) 또는 (V-C2)의 올리고뉴클레오티드 단편, 또는 그의 염의 제조 방법을 제공하며,



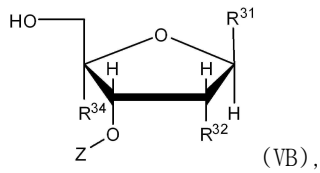
[0484]



[0485]

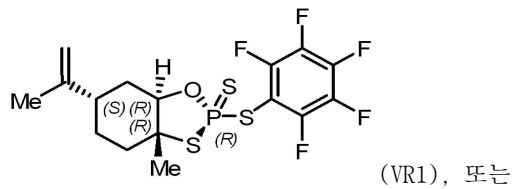
[0486] 상기 방법은 하기의 단계들을 포함한다:

[0487] 1) 화학식 (VB)의 화합물:

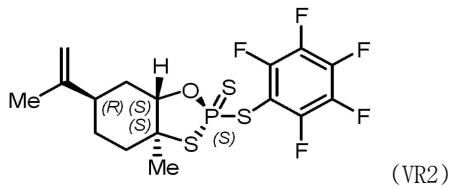


[0488]

[0489] 또는 그의 염을, 화학식 (VR1) 또는 (VR2)의 시약과 반응시켜서,

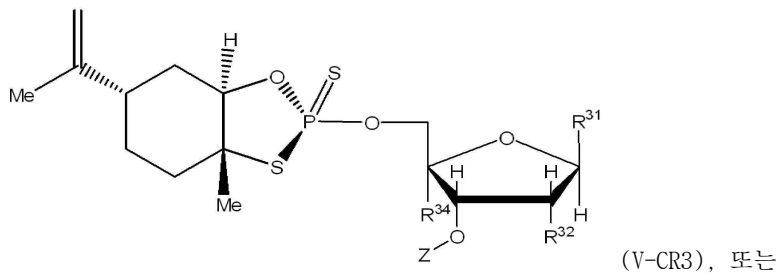


[0490]

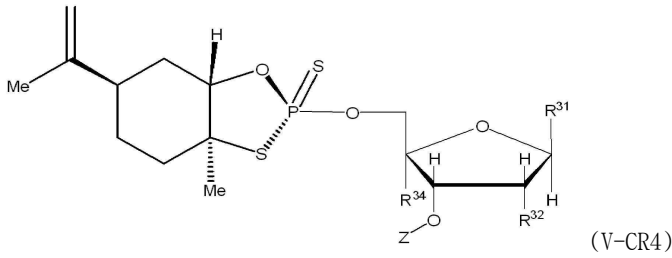


[0491]

[0492] 화학식 (V-CR3) 또는 (V-CR4)의 화합물을 형성하거나,



[0493]



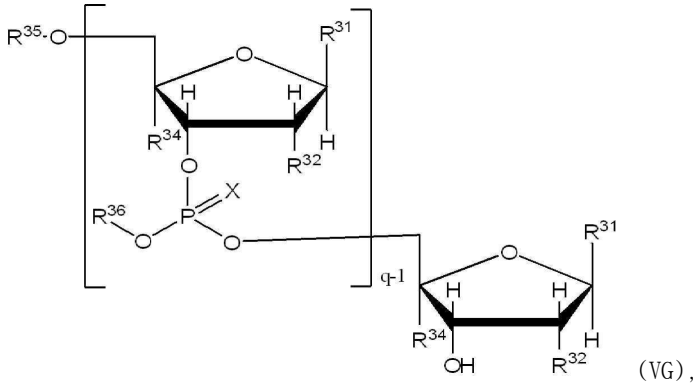
[0494]

[0495]

또는 그의 염을 형성하는 단계;

[0496]

2) 화학식 (V-CR3) 또는 (V-CR4)의 화합물, 또는 그의 염을, 화학식 (VG)의 화합물:



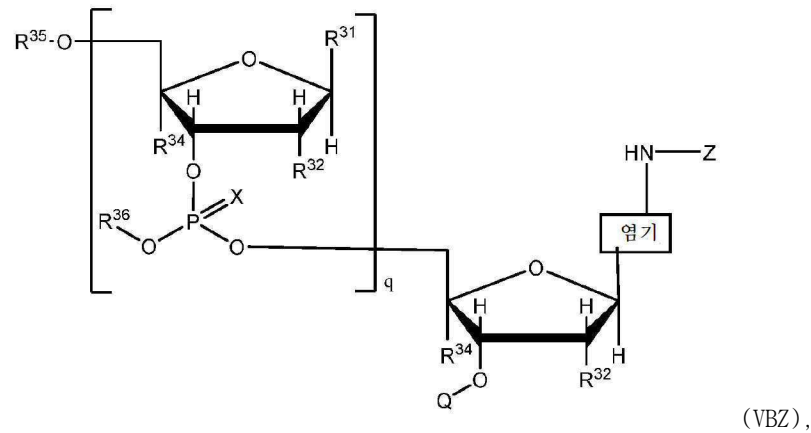
[0497]

[0498]

또는 그의 염, 및 염기와 반응시켜서, 화학식 (V-C1) 또는 (V-C2)의 화합물을 형성하는 단계, 상기 식에서 R^{31} , R^{32} , R^{34} , R^{35} , R^{36} , q , X 및 Z 는 제54 구현예에서 화학식 (V)에 대해 상기 기재된 바와 같다. 시약 (VR1)과 화학식 (VB)의 화합물의 반응은 화학식 (V-CR3)의 화합물을 형성하고, 이는 화학식 (VG)의 화합물과 반응하여 화학식 (V-C1)의 화합물을 형성한다. 시약 (VR2)과 화학식 (VB)의 화합물의 반응은 화학식 (V-CR4)의 화합물을 형성하고, 이는 화학식 (VG)의 화합물과 반응하여 화학식 (V-C2)의 화합물을 형성한다.

[0499]

제58 구현예에서, 본 개시는 화학식 (VBZ)의 올리고뉴클레오타이드 단편, 또는 그의 염의 제조 방법을 제공하며,



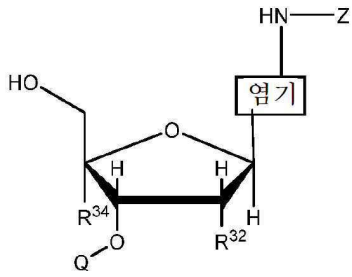
[0500]

[0501]

상기 방법은 하기의 단계들을 포함한다:

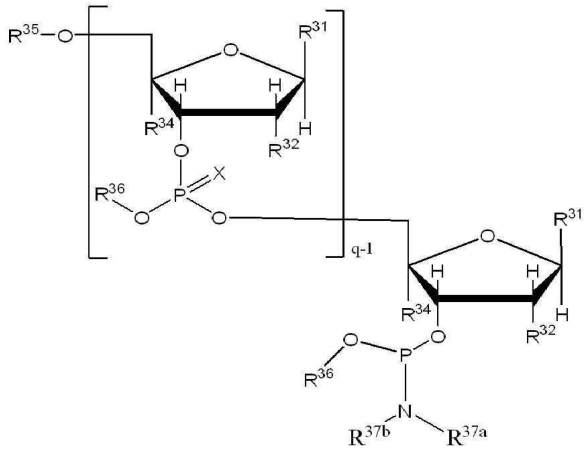
[0502]

1) 화학식 (VBZ-1)의 화합물:



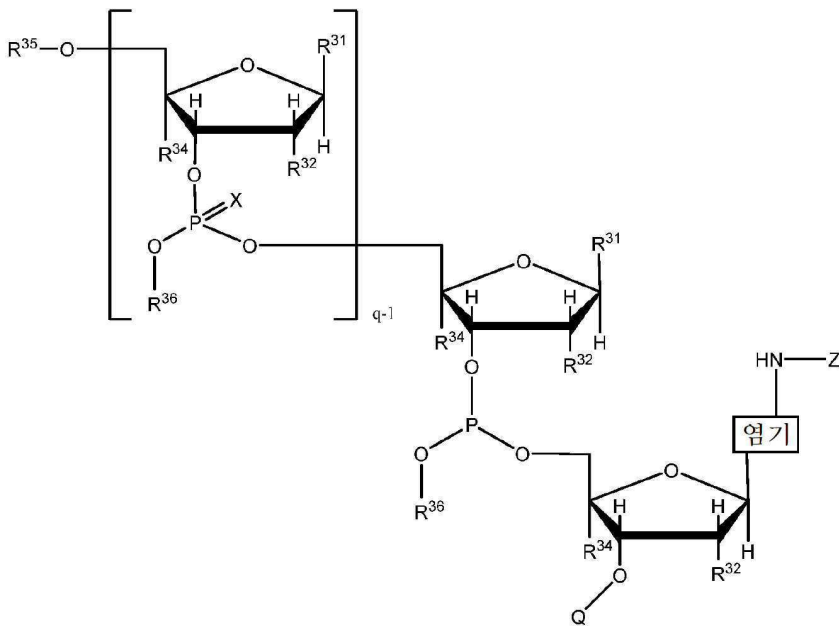
[0503] (VBZ-1),

[0504] 또는 그의 염을, 화학식 (VBZ-2)의 화합물:



[0505] (VBZ-2),

[0506] 또는 그의 염과 반응시켜서, 화학식 (VBZ-3)의 화합물을 형성하거나,



[0507] (VBZ-3), 또는 그의 염을 형성하는 단계;

[0508] 2) 화학식 (VBZ-3)의 화합물, 또는 그의 염을, 황화제 또는 산화제로 황화 또는 산화시켜 화학식 (VBZ)의 화합물, 또는 그의 염을 형성하는 단계;

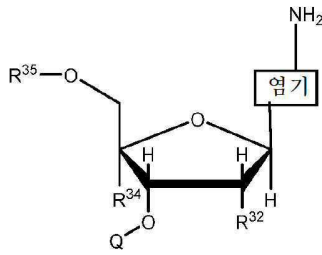
[0509] 상기 식에서:

[0510] Q는 하이드록실 보호기이고;

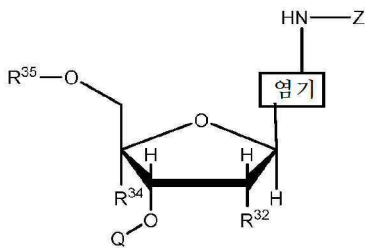
[0511] '염기'는 Z에 의해 변형된 NH₂기를 함유하는 핵염기이고; R³¹, R³², R³⁴, R³⁵, R³⁶, R^{37a}, R^{37b}, q, X 및 Z는 제54 구현예에서 화학식 (V)에 대해 상기 기재된 바와 같다.

[0512] 제59 구현예에서, 본 개시는 화학식 VBZ-1의 화합물이 하기 단계들에 의해 제조되는, 제58 구현예에 기재된 화학식 (VBZ)의 올리고뉴클레오티드 단편 또는 그의 염의 제조 방법을 제공한다.

[0513] 1) 화학식 (VBZ-4)의 화합물,



[0514] 또는 그의 염을, Z-OH와 반응시켜서 화학식 VBZ-5의 화합물을 형성하거나,



[0516] 또는 그의 염을 형성하는 단계;

[0517] 또는 그의 염을 형성하는 단계;

[0518] 2) 화학식 (VBZ-5)의 화합물을 탈보호하여 화학식 (VBZ-1)의 화합물을 형성하는 단계.

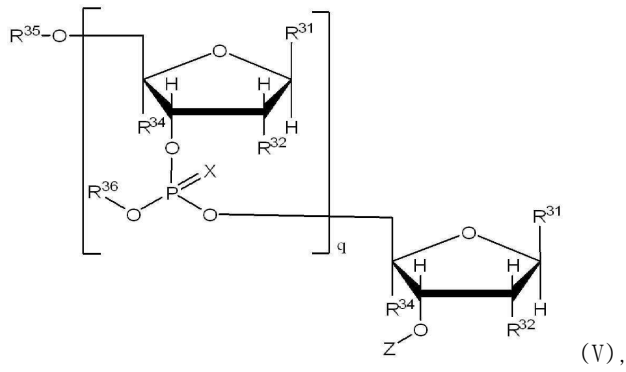
[0519] 제60 구현예에서, 본 개시는 Y가 탄소 원자수 10 이상의 지방족 탄화수소기를 하나 이상 함유하는 소수성 기인, 제54 내지 제59 구현예에 기재된 화학식 (V), (V'), (V-C1), (V-C2), 또는 (VBZ)의 올리고뉴클레오티드 단편 또는 그의 염의 제조 방법을 제공한다. 화학식 (V), (V'), (V-C1), (V-C2), 또는 (VBZ)의 나머지 변수들은 제 54 내지 제59 구현예 중 어느 하나에 기재되어 있다.

[0520] 제61 구현예에서, 본 개시는 단계 1), 2), 3) 및 4) 중 어느 하나의 반응 생성물을 정제하기 위해 크로마토그래피를 사용하지 않는, 제54 내지 제59 구현예에 기재된 화학식 (V), (V'), (V-C1), (V-C2), 또는 (VBZ)의 올리고뉴클레오티드 단편 또는 그의 염의 제조 방법을 제공한다.

[0521] 제62 구현예에서, 본 개시는 단계 1), 2), 3) 및 4) 중 어느 하나의 반응 생성물을 선택적 석출에 의해 정제하는, 제54 내지 제59 구현예에 기재된 화학식 (V), (V'), (V-C1), (V-C2), 또는 (VBZ)의 올리고뉴클레오티드 단편 또는 그의 염의 제조 방법을 제공한다. 특정 구현예에서, 단계 1), 2), 3) 및 4) 중 어느 하나의 반응 생성물 또는 그의 염의 선택적 석출은 아세토니트릴을 DCM 중의 조생성물의 용액에 첨가함으로써 달성될 수 있다. 이와는 달리, 조생성물의 용액을 아세토니트릴에 첨가하여 목적인 생성물을 석출시킬 수 있다.

[0522] 특정 구현예에서, 단계 1), 2), 3) 및 4) 중 어느 하나의 반응 생성물 또는 그의 염은, 선택적 석출에 더하여, 유기 용매(MBTE, EtOAc, 헵탄/MBTE 혼합물, DCM 등) 중의 단계 1), 2), 3) 및 4) 중 어느 하나의 반응 생성물 또는 그의 염을 함유하는 용액을 수용액(예컨대, NaHCO₃/H₂O 또는 NaCl/H₂O)으로 추출함으로써 정제된다. 특정 구현예에서, 추출은 선택적 석출 전에 수행된다. 이와는 달리, 추출은 선택적 석출 후에 수행된다. 특정 구현예에서, 단계 1), 2), 3) 및 4) 중 어느 하나의 반응 생성물 또는 그의 염의 선택적 석출은 DCM 또는 EtOAc 중의 조생성물의 용액에 헵탄 또는 헵탄/MBTE 혼합물을 첨가함으로써 달성될 수 있다. 이와는 달리, 조생성물의 용액을 헵탄 또는 헵탄/MBTE 혼합물에 첨가하여 목적인 생성물을 석출시킬 수 있다. 적합한 부피비(예컨대, 본 명세서에 기재된 부피비)를 갖는 헵탄/MBTE 혼합물이 사용될 수 있다.

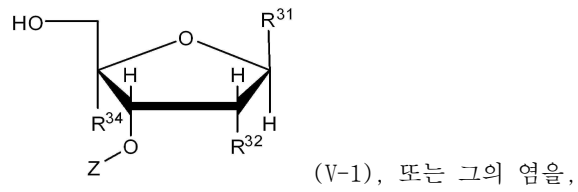
[0523] 제63 구현예에서, 본 개시는 화학식 (V)의 올리고뉴클레오티드 단편, 또는 그의 염의 제조 방법을 제공하며,



[0524]

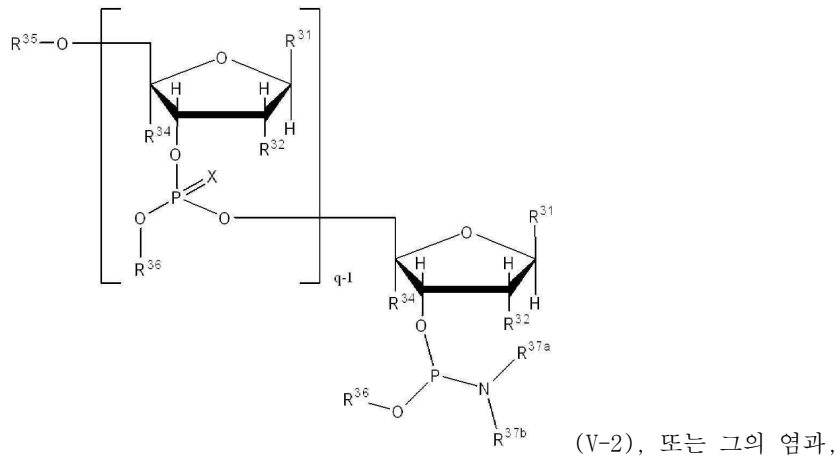
[0525] 상기 방법은 하기의 단계들을 포함한다:

[0526] a) 화학식 (V-1)의 뉴클레오티드:



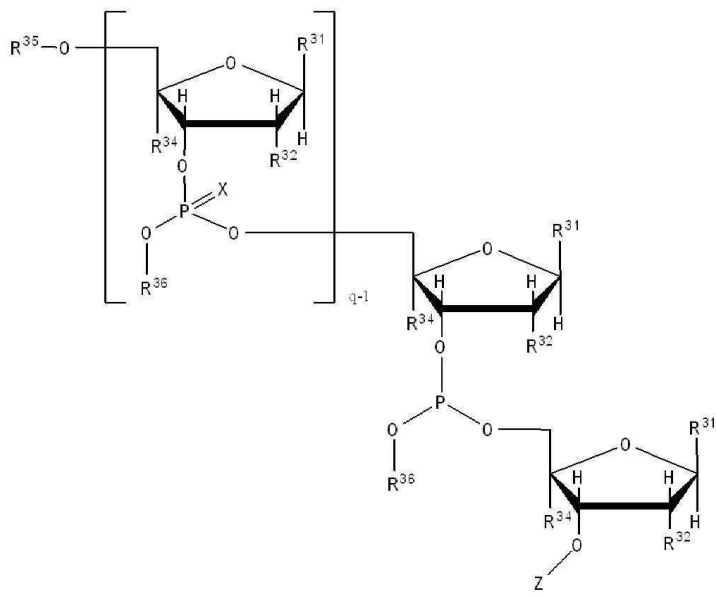
[0527]

[0528] 화학식 (V-2)의 올리고뉴클레오티드 단편:



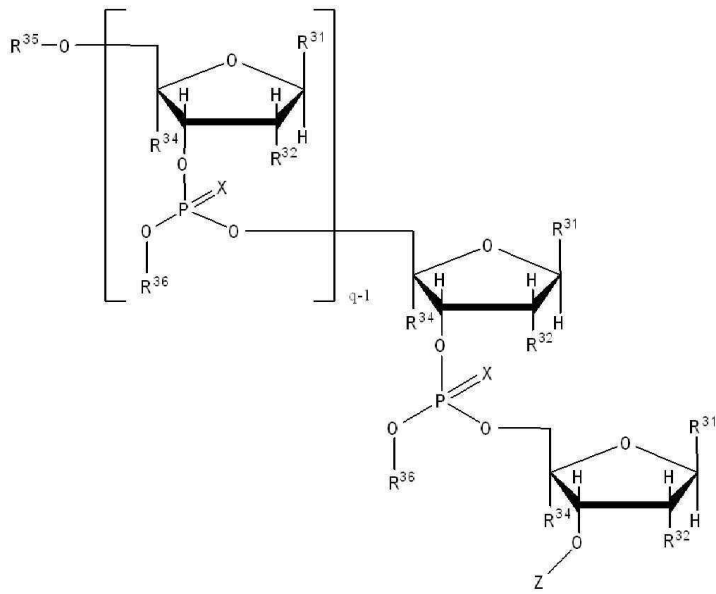
[0529]

[0530] 용액 중에서 커플링시켜 화학식 (V-3)의 올리고뉴클레오티드 단편:



[0531]

[0532] b) 화학식 (V-3)의 올리고뉴클레오티드, 또는 그의 염을, 황화 또는 산화시켜, 화학식 (V)의 올리고뉴클레오티드:



(V) 또는 그의 염을 형성하는 단계;

[0533]

상기 식에서:

[0534]

[0535] R^{31} 은 각 경우에 독립적으로 핵염기이고, 핵염기의 NH_2 는 존재하는 경우 아민 보호기에 의해 보호되고;

[0536]

[0537] R^{32} 는 각 경우에 독립적으로 H, 할로, OH, 및 C_{1-6} 알콕시로 선택적으로 치환된 C_{1-6} 알콕시로 구성된 군으로부터 선택되고; 여기서 OH기는 하이드록실 보호기에 의해 선택적으로 보호되고;

[0538]

[0539] R^{34} 는 각 경우에 독립적으로 H이거나 또는 R^{32} 의 알콕시기와 고리를 형성하고;

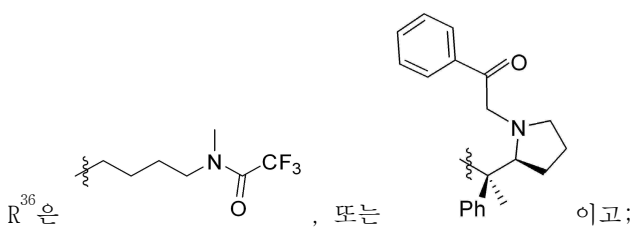
[0540]

[0541] R^{35} 는 하이드록실 보호기이고;

[0542]

[0543] R^{36} 은 각 경우에 독립적으로 C_{1-6} 알킬기, C_{2-6} 알케닐기, 페닐 또는 벤질기이며, 이들은 각각 -CN, -NO₂ 또는 할로젠으로 선택적으로 치환되거나; 또는

[0544]



[0545]

[0546] R^{37a} 및 R^{37b} 는 독립적으로 C_{1-6} 알킬이고;

[0547]

[0548] q는 1 내지 20의 정수이고;

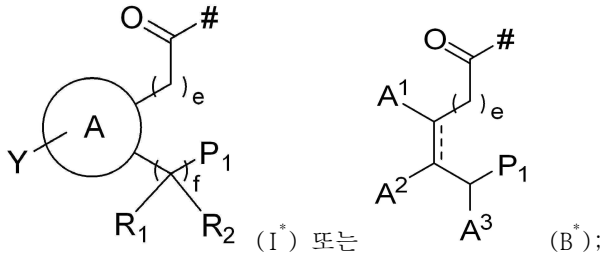
[0549]

[0550] X는 각 경우에 독립적으로 O 또는 S이고;

[0551]

[0552] Z는 화학식 I* 또는 B*로 표시되는 기이고;

[0553]



[0545]

[0546]

[0547]

[0548]

[0549]

[0550]

[0551]

[0552]

[0553]

[0554]

[0555]

[0556]

[0557]

[0558]

상기 식에서

—# 는 Z에 대한 부착 지점을 나타내고;

A¹, A² 및 A³ 중 하나는 Y^A이고 나머지는 H이고;

=== 는 단일 결합 또는 이중 결합이고;

Y^A는 Y-(CH₂)_{a1}CH₂O(CH₂)_{a2}-이고, 여기서 a1 및 a2는 각각 독립적으로 0 또는 1 내지 10의 정수이고;

고리 A는 페닐, 8- 내지 10-원 비사이클릭 아릴, 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5- 내지 6-원 헤테로아릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 선택된 1 내지 4개의 헤테로 원자를 갖는 7- 내지 10-원 비사이클릭 헤테로아릴이고;

Y는 H, 할로젠, OR^{1A}, NR^{2A}R^{3A}, SR^{4A}, CR^{5A}R^{6A}R^{7A}, 또는 탄소 원자수 10 이상의 지방족 탄화수소기를 하나 이상 함유하는 소수성 기이고; 여기서 R^{1A}, R^{2A}, R^{3A}, R^{4A}, R^{5A}, R^{6A}, 및 R^{7A}는 독립적으로 C₁₋₆알킬, C₁₋₆알케닐, C₁₋₆알키닐, 페닐, OR^{8A}, -OC(O)R^{8A}, -C(O)OR^{8A}, NR^{8A}R^{9A}, -NR^{8A}COR^{9A}, -CONR^{8A}R^{9A}, 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 카르보사이클릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 선택된 1 내지 2개의 헤테로 원자를 갖는 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 헤테로사이클릴이고; 여기서 R^{8A} 및 R^{9A}는 각 경우에 독립적으로 H 또는 C₁₋₆알킬이고;

P₁은 NO₂ 또는 실릴 하이드록실 보호기이고;

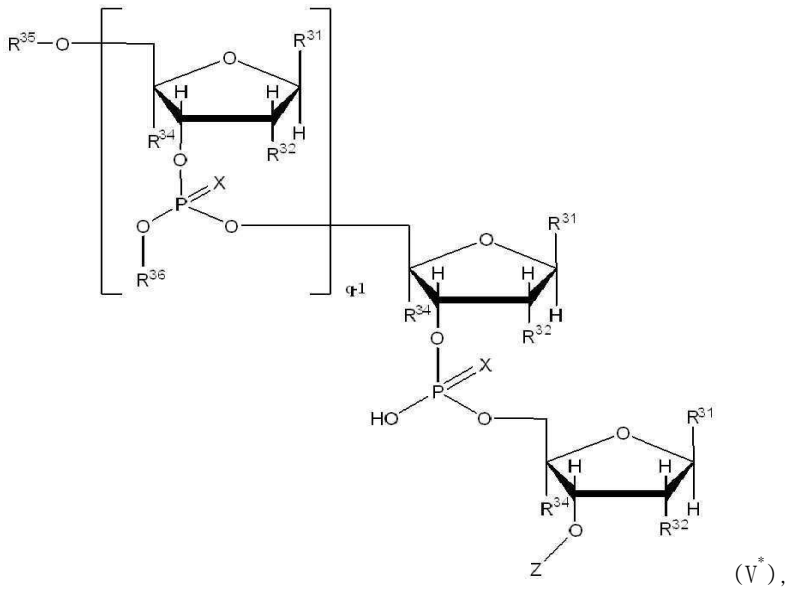
R₁ 및 R₂는 독립적으로 H, C₁₋₆알킬, 또는 페닐이고; 여기서 C₁₋₆알킬 및 페닐은 1 내지 3개의 R₃로 선택적으로 치환되고;

R₃은 C₁₋₃₀알콕시이고;

e는 0 내지 6의 정수이고;

f는 0 내지 6의 정수이다.

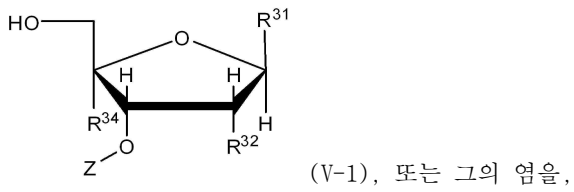
제64 구현예에서, 본 개시는 화학식 (V*)의 올리고뉴클레오티드 단편 또는 그의 염의 제조 방법을 제공하며,



[0559]

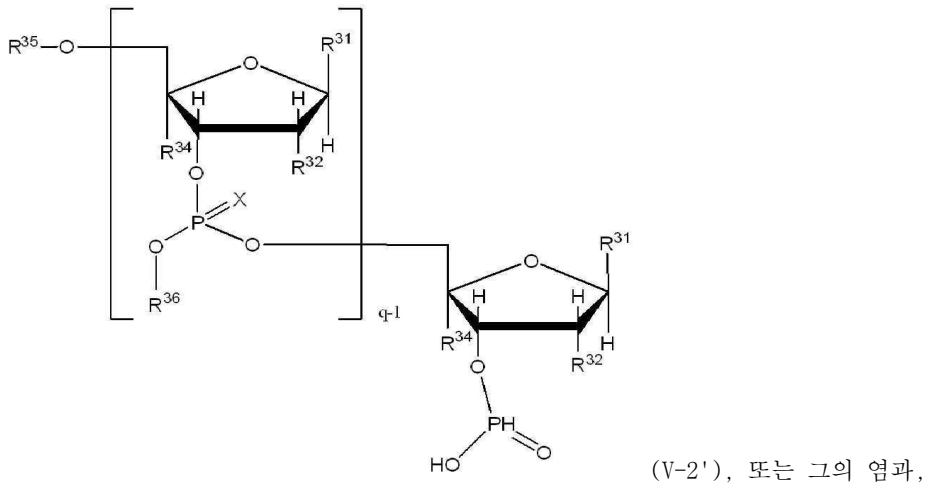
[0560] 상기 방법은 하기의 단계들을 포함한다:

[0561] a) 화학식 (V-1)의 뉴클레오티드:



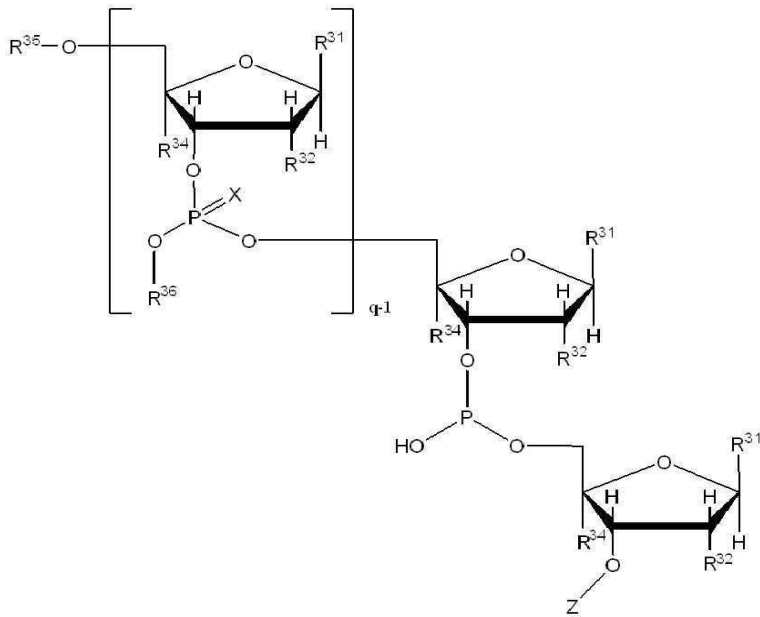
[0562]

[0563] 화학식 (V-2')의 올리고뉴클레오티드 단편:



[0564]

[0565] 용액 중에서 커플링시켜 화학식 (V-3')의 올리고뉴클레오티드 단편을 형성하거나,



(V-3') 또는 그의 염을 형성하는 단계; 및

[0566]

[0567]

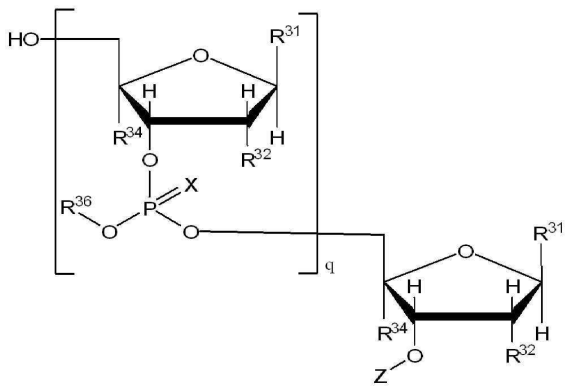
b) 화학식 (V-3')의 올리고뉴클레오타이드, 또는 그의 염을 황화 또는 산화시켜, 화학식 (V*)의 올리고뉴클레오타이드 또는 그의 염을 형성하는 단계; 상기 식에서 R³¹, R³², R³⁴, R³⁵, R³⁶, R^{37a}, R^{37b}, q, X 및 Z는 제63 구현예에서 화학식 (V)에 대해 상기 기재된 바와 같다.

[0568]

제65 구현예에서, 본 개시는 Y가 탄소 원자수 10 이상의 지방족 탄화수소기를 하나 이상 함유하는 소수성 기인, 제63 또는 제64 구현예에 기재된 화학식 (V) 또는 (V*)의 올리고뉴클레오타이드 단편 또는 그의 염의 제조 방법을 제공한다.

[0569]

제66 구현예에서, 본 개시는 다음의 단계를 추가로 포함하는, 제54 또는 제63 구현예에 기재된 화학식 (V)의 올리고뉴클레오타이드 단편 또는 그의 염의 제조 방법을 제공하며, 상기 단계는 화학식 (V)의 단편을 탈보호하여 화학식 (VH)의 탈보호된 단편:

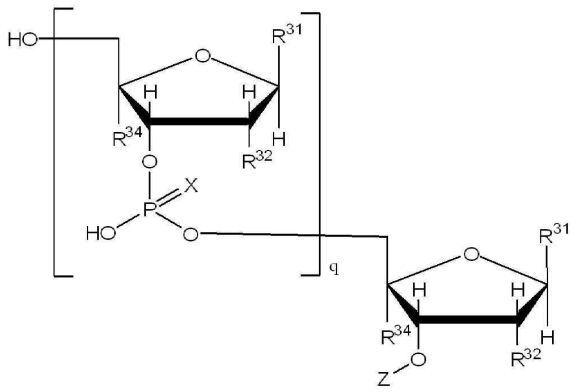


(VH), 또는 그의 염을 형성하는 것이다.

[0570]

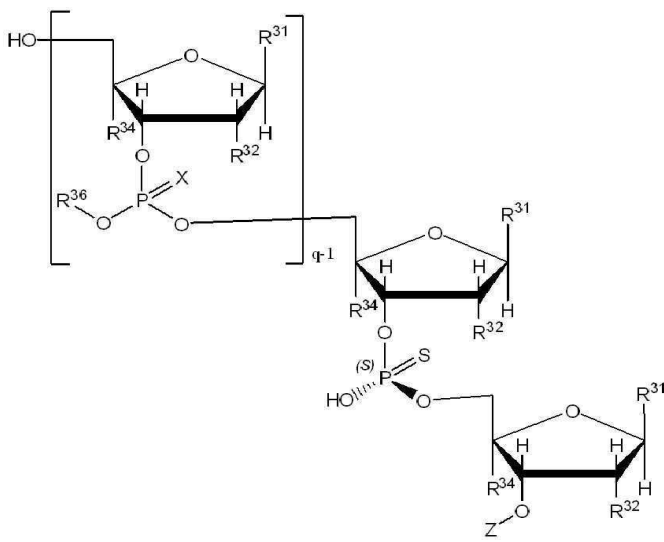
[0571]

제67 구현예에서, 본 개시는 다음의 단계를 추가로 포함하는, 제55 구현예에 기재된 화학식 (V')의 올리고뉴클레오타이드 단편 또는 그의 염의 제조 방법을 제공하며, 상기 단계는 화학식 (V')의 단편을 탈보호하여 화학식 (VH')의 탈보호된 단편:

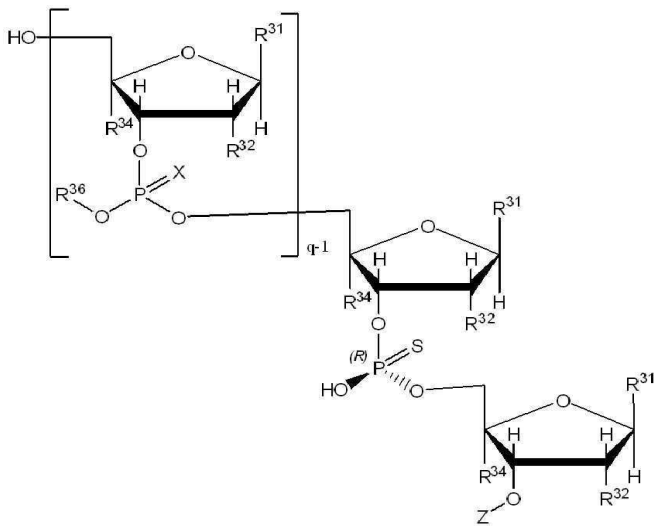


[0572] (VH'), 또는 그의 염을 형성하는 것이다.

[0573] 제68 구현예에서, 본 개시는 다음의 단계를 추가로 포함하는, 제56 또는 제57 구현예에 기재된 화학식 (V-C1) 또는 (V-C2)의 올리고뉴클레오티드 단편, 또는 그의 염의 제조 방법을 제공하며, 상기 단계는 화학식 (V-C1) 또는 (V-C2)의 단편을 탈보호하여 화학식 (V-C3) 또는 (V-C4)의 탈보호된 단편:

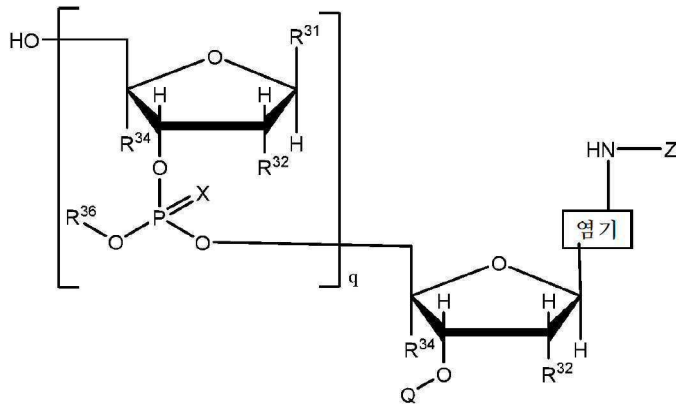


[0574] (V-C3), 또는 그의 염, 또는



[0575] (V-C4), 또는 그의 염을 형성하는 것이다.

[0576] 제69 구현예에서, 본 개시는 다음의 단계를 추가로 포함하는, 제58 구현예에 기재된 화학식 (VBZ)의 올리고뉴클레오티드 단편, 또는 그의 염의 제조 방법을 제공하며, 상기 단계는 화학식 (VBZ)의 단편을 탈보호하여 화학식 (VBZ-6)의 탈보호된 단편:

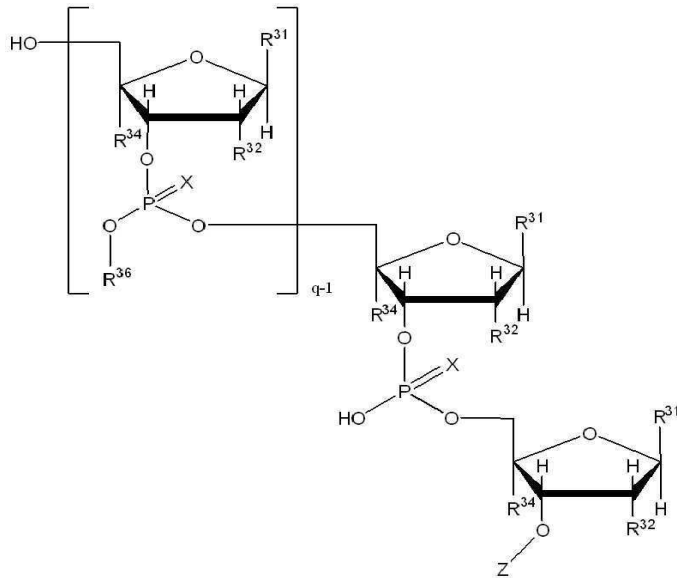


(VBZ-6), 또는 그의 염을 형성하는 것이다.

[0577]

[0578]

제70 구현예에서, 본 개시는 다음의 단계를 추가로 포함하는, 제64 구현예에 기재된 화학식 (V*)의 올리고뉴클레오타이드 단편, 또는 그의 염의 제조 방법을 제공하며, 상기 단계는 화학식 (V*)의 단편을 탈보호하여 화학식 (V*-1)의 탈보호된 단편:

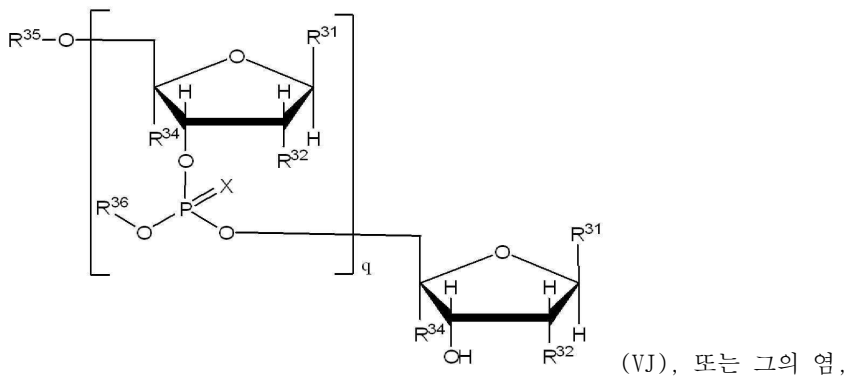


(V*-1), 또는 그의 염을 형성하는 것이다.

[0579]

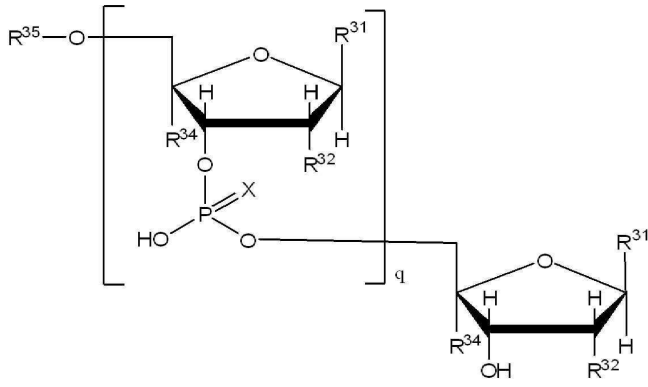
[0580]

제71 구현예에서, 본 개시는 다음의 단계를 추가로 포함하는, 제54 내지 제64 구현예에 기재된 화학식 (V), (V'), (V-C1), (V-C2), (VBZ), 또는 (V*)의 올리고뉴클레오타이드 단편, 또는 그의 염의 제조 방법을 제공하며, 상기 단계는 화학식 (V), (V'), (V-C1), (V-C2), (VBZ), 또는 (V*)의 단편을 탈실릴화하여, 각각 화학식 (VJ), (VJ'), (V-C5), (V-C6), (VBZ-7), 또는 (V*-2)의 단편:

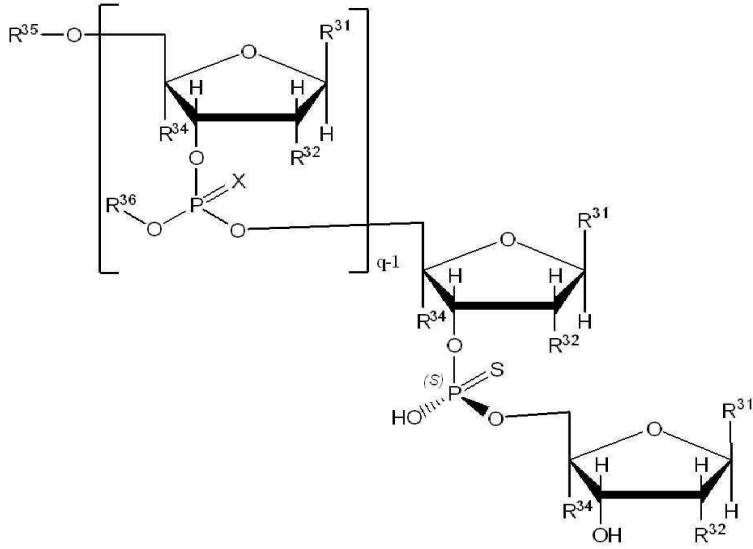


(VJ), 또는 그의 염,

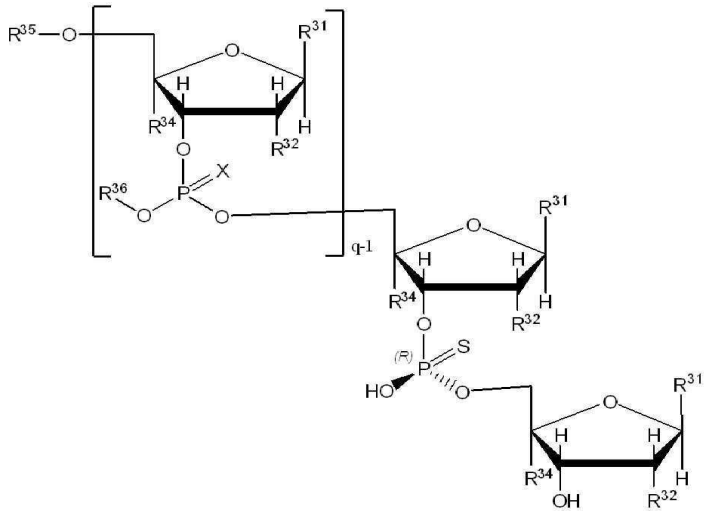
[0581]



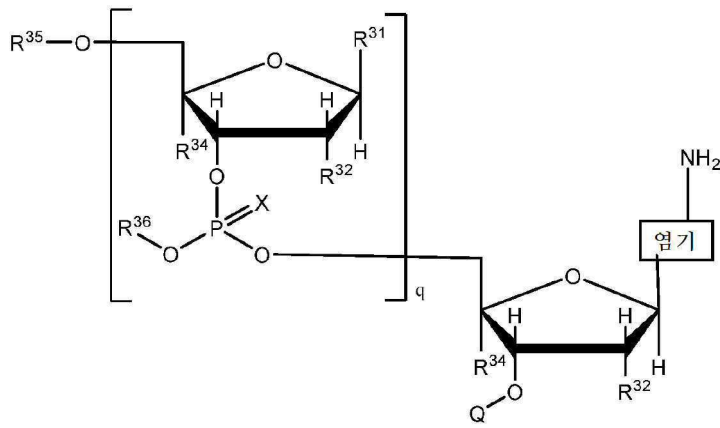
[0582] (VJ'), 또는 그의 염,



[0583] (V-C5), 또는 그의 염,

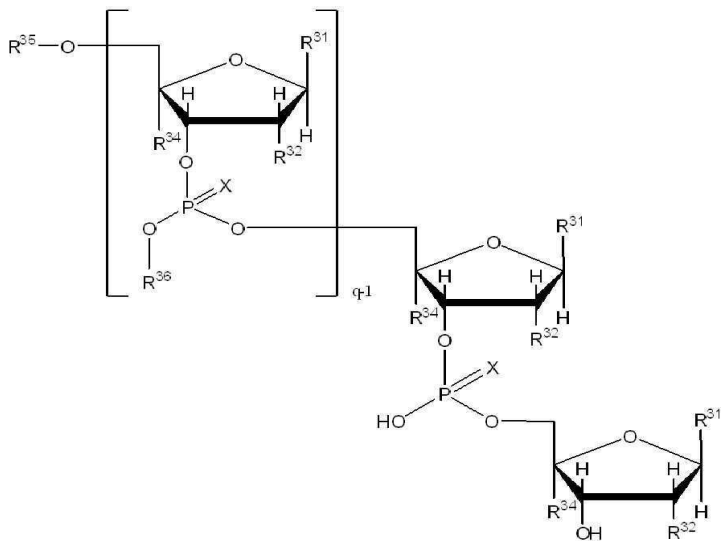


[0584] (V-C6), 또는 그의 염,



[0585]

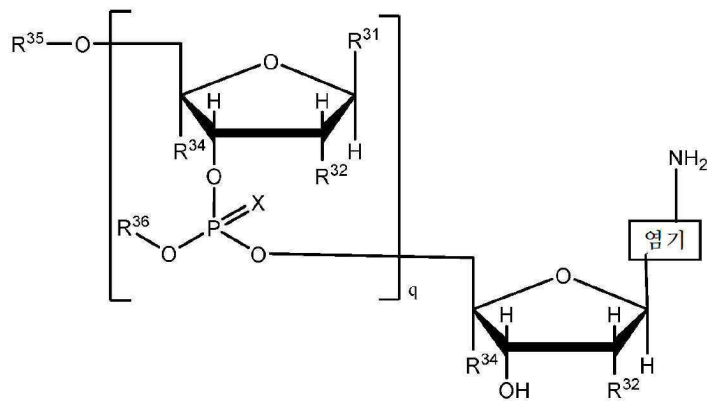
(VBZ-7), 또는 그의 염, 또는



[0586]

(V^{*}-2), 또는 그의 염을 형성하는 것이다.

일 구현예에서, 화학식 (VBZ)에서 Q 및 P₁이 동일한 경우, 탈실릴화 반응은 화학식 (VBZ-7')의 화합물을 형성한다.



[0587]

(VBZ-7').

[0588]

제72 구현예에서, 본 개시는 탈실릴화 반응이 화학식 (V), (V'), (V-C1), (V-C2), (VBZ), 또는 (V^{*})의 화합물을 염기의 존재 하에 HF와 반응시킴으로써 수행되는, 제71 구현예 중 어느 하나에 기재된 화학식 (VJ), (VJ'), (V-C5), (V-C6), (VBZ-7), 또는 (V^{*}-2)의 단편의 제조 방법을 제공한다.

[0589]

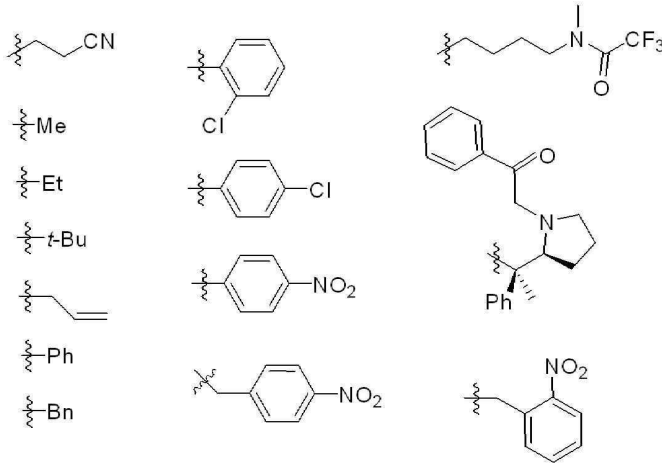
제73 구현예에서, 본 개시는 염기가 이미다졸 또는 피리딘이고, 이미다졸 또는 피리딘이 선택적으로 치환되는, 제72 구현예에 기재된 방법을 제공한다. 특정 구현예에서, 피리딘 및/또는 이미다졸은 각각 독립적으로 할로젠, C₁₋₆알킬, C₁₋₆알콕시, -OH, 및 C₁₋₆할로알킬로부터 선택된 1 내지 3개의 치환체로 치환된다.

[0590]

제74 구현예에서, 본 개시는 탈실릴화 반응이 화학식 (V), (V'), (V-C1), (V-C2), (VBZ), 또는 (V^{*})의 화합물을

피리딘 및 이미다졸의 존재 하에 HF와 반응시킴으로써 수행되는, 제73 구현예에 기재된 방법을 제공한다.

- [0591] 제75 구현예에서, 본 개시는 이미다졸 대 HF의 몰비가 0.5:1 내지 10:1의 범위인, 제74 구현예에 기재된 방법을 제공한다.
- [0592] 제76 구현예에서, 본 개시는 이미다졸 대 HF의 몰비가 1.1:1 내지 5:1의 범위인, 제75 구현예에 기재된 방법을 제공한다.
- [0593] 제77 구현예에서, 본 개시는 이미다졸 대 HF의 몰비가 2:1의 범위인, 제76 구현예에 기재된 방법을 제공한다.
- [0594] 제78 구현예에서, 본 개시는 피리딘 대 HF의 몰비가 100:1 내지 1:1의 범위인, 제74 내지 제77 구현예에 기재된 방법을 제공한다.
- [0595] 제79 구현예에서, 본 개시는 피리딘 대 HF의 몰비가 1:1의 범위인, 제74 내지 제77 구현예에 기재된 방법을 제공한다.
- [0596] 제80 구현예에서, 본 개시는 화학식 (V), (V'), (V-C1), (V-C2), (VBZ), (V^{*}), (VH), (VH'), (V-C3), (V-C4), (VBZ-6), (V^{*}-1), (VJ), (VJ'), (V-C5), (V-C6), (VBZ-7), (VBZ-7') 또는 (V^{*}-2)의 단편이 크로마토그래피로 정제되지 않는, 제54 내지 제71 구현예 중 어느 하나에 기재된 방법을 제공한다.
- [0597] 제81 구현예에서, 본 개시는 화학식 (V), (V'), (V-C1), (V-C2), (VBZ), (V^{*}), (VH), (VH'), (V-C3), (V-C4), (VBZ-6), (V^{*}-1), (VJ), (VJ'), (V-C5), (V-C6), (VBZ-7), (VBZ-7') 또는 (V^{*}-2)의 단편이 선택적 석출 및/또는 추출에 의해 정제되는, 제80 구현예에 기재된 방법을 제공한다.
- [0598] 제82 구현예에서, 본 개시는 q가 2 내지 5인, 제54 내지 제81 구현예 중 어느 하나에 기재된 방법을 제공한다.
- [0599] 제83 구현예에서, 본 개시는 q가 4인, 제82 구현예 중 어느 하나에 기재된 방법을 제공한다.
- [0600] 특정 구현예에서, 제3 측면 또는 그에 기술된 임의의 구현예(예컨대, 제65 내지 제75 구현예)에 기재된 방법에 대해, 변수 R³¹, R³², R³⁴, R³⁵, R³⁶, q, 및/또는 Z는 제2 측면 또는 그에 기술된 구현예(예컨대, 제27 내지 제33 구현예) 중 어느 하나에 기재되어 있다.
- [0601] 특정 구현예에서, 제3 측면 또는 그에 기술된 구현예(예컨대, 제54 내지 제83 구현예) 중 어느 하나에 기재된 방법에 대해, 5'-OH 탈보호 단계는 5'-트리틸기를 제거하기 위한 탈트리틸화 방법이다. 탈트리틸화 반응이 무수 또는 실질적으로 무수 조건 하에서 수행되는 경우, 부반응(예컨대, 올리고뉴클레오타이드 합성에 일반적으로 사용되는 핵염기 시토신 또는 5-메틸시토신 또는 이들의 유도체의 탈아미노화)의 상당한 감소가 달성될 수 있음을 밝혀냈다. 본 탈트리틸화 방법은 또한 반응 완료를 촉진하기 위해 양이온 스캐빈저의 첨가를 수반한다. 그 결과, 크로마토그래피(예컨대, 컬럼 크로마토그래피)가 필요 없이, 고순도의 생성물을 얻을 수 있다. 탈트리틸화 반응의 물 수준은 건조제(예컨대, 분자체), 공비 증류 또는 당업계에 알려진 다른 적합한 방법을 사용하여 제어할 수 있다. 이와는 달리, 탈트리틸화 반응에 사용되는 용매, 산 및 기타 시약, 탈트리틸화 반응에 적용되는 기질, 및 반응 용기는 탈트리틸화 반응에 사용하기 전에 잔류 물 수준을 충족시키기 위해 건조될 수 있다.
- [0602] 특정 구현예에서, 제3 측면 또는 그에 기술된 구현예(예컨대, 제54 내지 제83 구현예) 중 어느 하나에 기재된 방법에 대해, R³⁶은 다음 중 하나이다.



[0603]

[0604] 문헌 *Nat Biotechnol.* 2017 Sep;35(9):845-851; *J. Org. Chem.* 1999, 64, 7515-7522; *Biopolymers (Peptide Science)*, 2001, 60, 3, 참조, 이들 각각은 본 명세서에서 참조로 포함된다.

[0605] 특정 구현예에서, 제3 측면 또는 그에 기술된 구현예(예컨대, 제54 내지 제83 구현예) 중 어느 하나에 기재된 방법에 대해, 5'-OH 탈보호(또는 탈트리틸화) 반응은 건조제의 존재 하에 수행된다. 임의의 적합한 건조제가 탈보호 반응에 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 건조제는 염화칼슘, 염화칼륨, 황산나트륨, 황산칼슘, 황산 마그네슘 및 분자체로부터 선택된다.

[0606] 특정 구현예에서, 제3 측면 또는 그에 기술된 구현예(예컨대, 제54 내지 제83 구현예) 중 어느 하나에 기재된 방법에 대해, 건조제는 분자체이다.

[0607] 특정 구현예에서, 제3 측면 또는 그에 기술된 구현예(예컨대, 제54 내지 제83 구현예) 중 어느 하나에 기재된 방법에 대해, 분자체의 크기는 3Å 또는 4Å이다. 일 구현예에서, 분자체의 크기는 3Å이다.

[0608] 특정 구현예에서, 제3 측면 또는 그에 기술된 구현예(예컨대, 제54 내지 제83 구현예) 중 어느 하나에 기재된 방법에 대해, 탈보호 반응을 위한 무수 또는 실질적으로 무수인 용액은 탈보호 반응 전에 공비 증류를 사용하여 물을 제거함으로써 얻어진다.

[0609] 이와는 달리, 용매, 산 또는 산 용액, 및 탈트리틸화 반응에 사용되는 시약을 함유하는 기타 시약 또는 용액, 탈트리틸화 반응에 적용되는 기질 또는 기질 용액, 및 반응 용기는 탈트리틸화 전에 개별적으로 또는 합쳐져서 건조될 수 있다.

[0610] 특정 구현예에서, 제3 측면 또는 그에 기술된 구현예(예컨대, 제54 내지 제83 구현예) 중 어느 하나에 기재된 방법에 대해, 탈보호 반응은 -SH기를 함유하는 양이온 스캐빈저, 실란 스캐빈저(scanveger)(예컨대, HSiPh₃, HSiBu₃, 트리아이소프로필실란 등), 실록산, 폴리스티렌, 푸란, 피롤 및 인돌로부터 선택된 스캐빈저의 존재 하에 수행된다.

[0611] 특정 구현예에서, 탈보호 반응은 1-도데칸티올, 사이클로헥산티올, 1-옥탄티올, 트리아이소프로필실란, 인돌, 2,3-디메틸푸란, 디페닐실란, 2-메르캅토이미다졸, 디페닐메틸실란, 페닐실란, 5-메톡시인돌, 메틸페닐실란, 클로로디메틸실란, 1,1,3,3-테트라메틸디실록산, 1-티오글리세롤, 트리페닐실란, *tert*-부틸디메틸실란, 부틸실란, 메틸디에톡시실란, 1,1,3,3,5,5-헥사메틸트리실록산, 헥실실란, (메르캅토메틸)폴리스티렌, 또는 디메틸페닐실란으로부터 선택된 스캐빈저의 존재 하에 수행된다.

[0612] 특정 구현예에서, 양이온 스캐빈저는 화학식 RSH의 화합물이고, 여기서 R은 알킬, 사이클로알킬, 헤테로사이클로알킬, 아릴 또는 헤테로아릴기이고, 이들은 각각 선택적으로 치환된다.

[0613] 특정 구현예에서, 양이온 스캐빈저는 CH₃(CH₂)₅SH, CH₃(CH₂)₁₁SH, 사이클로헥산티올(CySH), 또는 CH₃CH₂OC(=O)CH₂CH₂SH이다.

[0614] 특정 구현예에서, 제3 측면 또는 그에 기술된 구현예(예컨대, 제54 내지 제83 구현예) 중 어느 하나에 기재된 방법에 대해, R³⁵는 4,4'-디메톡시트리틸(DMT)기이다.

[0615] 특정 구현예에서, 제3 측면 또는 그에 기술된 구현예(예컨대, 제54 내지 제83 구현예) 중 어느 하나에 기재된 방법에 대해, 탈보호 반응은 화학식 (VA)의 화합물을 탈트리틸화 시약과 반응시킴으로써 수행된다. 임의의 적합한 탈트리틸화 시약이 사용될 수 있다.

[0616] 특정 구현예에서, 탈트리틸화 시약은 강 유기산이다.

[0617] 특정 구현예에서, 탈트리틸화 시약은 CF_3COOH , CCl_3COOH , $CHCl_2COOH$, $CH_2ClCOOH$, H_3PO_4 , 메탄설폰산(MSA), 벤젠설폰산(BSA), $CClF_2COOH$, CHF_2COOH , $PhSO_3H$ (페닐설폰산) 등으로부터 선택된다. 바람직한 구현예에서, 탈트리틸화 시약은 $CH_2ClCOOH$ 이다. 다른 특정 구현예에서, 탈트리틸화 시약은 CF_3COOH 이다. 또 다른 특정 구현예에서, 탈트리틸화 시약은 $CHCl_2COOH$ 이다.

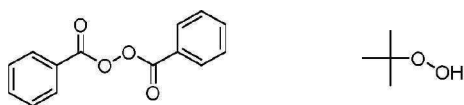
[0618] 특정 구현예에서, 탈트리틸화 시약은 시트르산이다. 특정 구현예에서, 탈트리틸화 시약은 포화 시트르산 용액이다.

[0619] 특정 구현예에서, 제3 측면 또는 그에 기술된 구현예(예컨대, 제54 내지 제83 구현예) 중 어느 하나에 기재된 방법에 대해, 단계 2)의 커플링 반응은 본 명세서에 기재된 활성화제(예컨대, 제39 구현예에 기재된 활성화제)의 존재 하에 수행될 수 있다. 특정 구현예에서, 활성화제는 4,5-디시아노이미다졸(DCI) 또는 5-에틸티오-1H-테트라졸(ETT)이다.

[0620] 특정 구현예에서, 제3 측면 또는 그에 기술된 구현예(예컨대, 제54 내지 제83 구현예) 중 어느 하나에 기재된 방법에 대해, 단계 3)의 황화 반응은 황화제, 예를 들어 3-아미노-1,2,4-디티아졸-5-티온(크산탄 하이드라이드 또는 ADTT), 3-(N,N-디메틸아미노-메틸리덴)아미노-3H-1,2,4-디티아졸(DDTT), 페닐아세틸 디설파이드(PADS), 3H-1,2-벤조디티올-3-온 1,1-디옥사이드(보케이시 시약), 또는 페닐-3H-1,2,4-디티아졸-3-온(POS)을 사용하여 수행된다. 특정 구현예에서, 황화제는 DDTT이다. 특정 구현예에서, 황화제는 크산탄 하이드라이드이다. 특정 구현예에서, 황화 반응은 본 명세서에 기재된 염기의 존재하에 수행된다. 특정 구현예에서, 염기는 피리딘 또는 이미다졸이다. 특정 구현예에서, 단계 3)의 황화 반응은 DDTT 및 4,5-디시아노이미다졸(DCI)의 존재 하에 수행된다.

[0621] 특정 구현예에서, 제3 측면 또는 그에 기술된 구현예(예컨대, 제54 내지 제83 구현예) 중 어느 하나에 기재된 방법에 대해, 3)의 산화 반응은 문헌에 공지된 표준 산화제를 사용하여 수행된다. 예시적인 산화제에는 tert-부틸하이드로퍼옥사이드(t-BuOOH), (1S)-(+)-(10-캄포르실포닐)옥사지리딘(CSO), (1R)-(-)-(10-캄포르실포닐)옥사지리딘(CSO의 거울상 이성질체), I_2 , 및 요오드-피리딘-물 산화제 용액이 포함되지만, 이에 제한되지 않는다. 특정 구현예에서, 산화제는 t-BuOOH이다.

[0622] 특정 구현예에서, 제3 측면 또는 그에 기술된 구현예(예컨대, 제54 내지 제83 구현예) 중 어느 하나에 기재된 방법에 대해, 커플링/산화/탈트리틸화 단계는 원 포트 반응으로 수행된다. 특정 구현예에서, 원 포트 반응의 산화 시약은 BPO 또는 tBuOOH이다.



[0623] 벤조일 퍼옥사이드 (BPO) 또는 tBuOOH

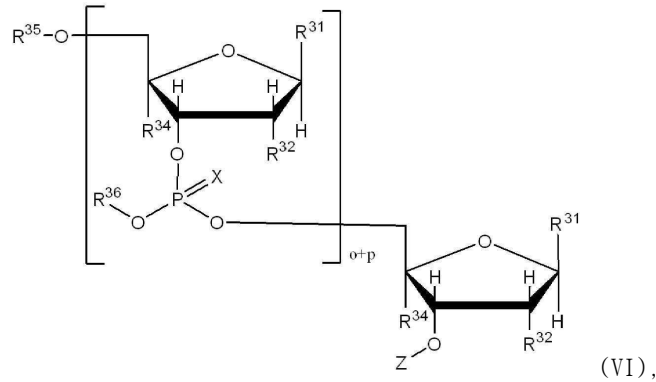
[0624] 4. 표적 올리고뉴클레오티드의 제조 방법

[0625] 제4 측면에서, 본 개시는 표적 올리고뉴클레오티드를 3'-말단에서 5'-말단의 방향(3'-5' 방향)으로 조립하는 표적 올리고뉴클레오티드의 제조 방법을 기술한다. 본 개시의 방법은 표적 올리고뉴클레오티드를 대량으로 합성하는데 성공적으로 사용된다는 것이 입증되었다. 또한, 크로마토그래피 정제 없이 본 개시의 방법에 의해 고순도의 보호된 표적 올리고뉴클레오티드를 얻을 수 있다.

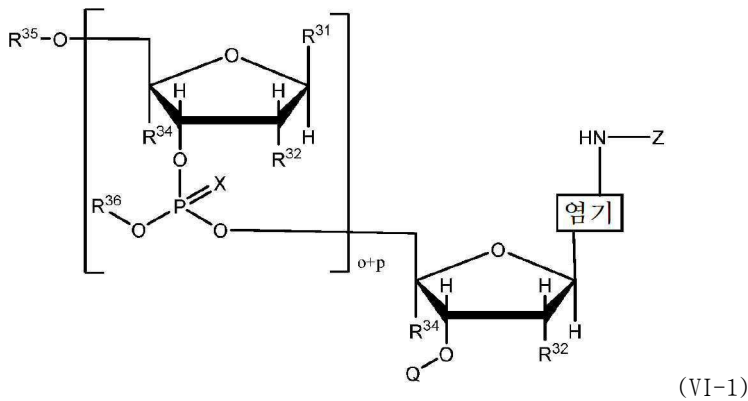
[0626] 특정 구현예에서, 본 명세서에 기술된 방법은 표적 올리고뉴클레오티드를 합성하기 위해 액(용액)상 중에 올리고뉴클레오티드 단편을 단계적으로 첨가하는 것을 수반한다. 예를 들면, 5-머 및 4-머 단편을 먼저 커플링시켜 9-머 단편을 합성하고, 이를 다른 5-머 단편과 더 반응시켜 14-머 올리고뉴클레오티드를 합성한다. 14-머 올리고뉴클레오티드는 목적한 길이의 표적 올리고뉴클레오티드가 얻어질 때까지 다른 단편과 추가로 커플링시킬 수 있다. 특정 구현예에서, 3'-소수성 하이드록실 보호기(3'-LHPG)를 갖는 5-머 단편(3'-말단 단편) 또는 핵염기

에 아미노 보호기를 갖는 5-머 단편(핵염기가 NH₂기를 함유하는 경우, 본 명세서에서 "핵염기 LHPG 단편"으로 지칭될 수 있음)을 먼저 5-머 단편과 커플링시켜 3'-LHPG기 또는 핵염기 LHPG기를 갖는 10-머 단편을 형성한 다음, 추가로 4-머 단편과 반응시켜 14-머 단편을 형성하고, 이는 다시 다른 4-머 단편과 커플링시켜 표적 18-머 올리고뉴클레오티드를 형성한다. 특정 구현예에서, n개의 뉴클레오티드를 갖는 3'-말단 단편(예컨대, 5-머 단편)은 3'-LHPG기를 갖는 단일 뉴클레오티드를 n-1개의 뉴클레오티드를 갖는 단편(예컨대, 4-머 단편)과 커플링 시킴으로써 합성된다. 특정 구현예에서, n개의 뉴클레오티드를 갖는 핵염기 LHPG 단편(예컨대, 5-머 단편)은 핵염기에 LHPG기를 갖는 단일 뉴클레오티드를 n-1개의 뉴클레오티드를 갖는 단편(예컨대, 4-머 단편)과 커플링 시킴으로써 합성된다.

[0627] 제84 구현예에서, 본 개시는 화학식 (VI) 또는 (VI-1)의 올리고뉴클레오티드, 또는 그의 염의 제조 방법을 제공하며,



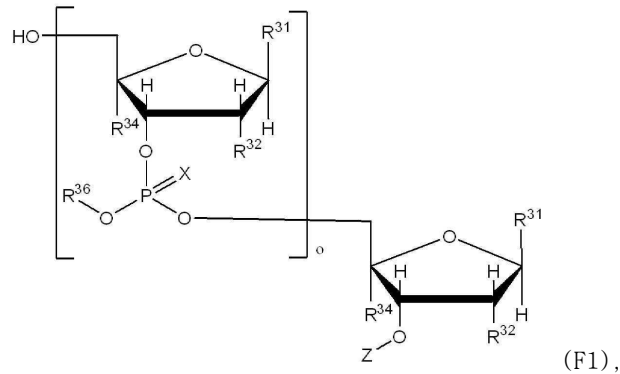
[0628]



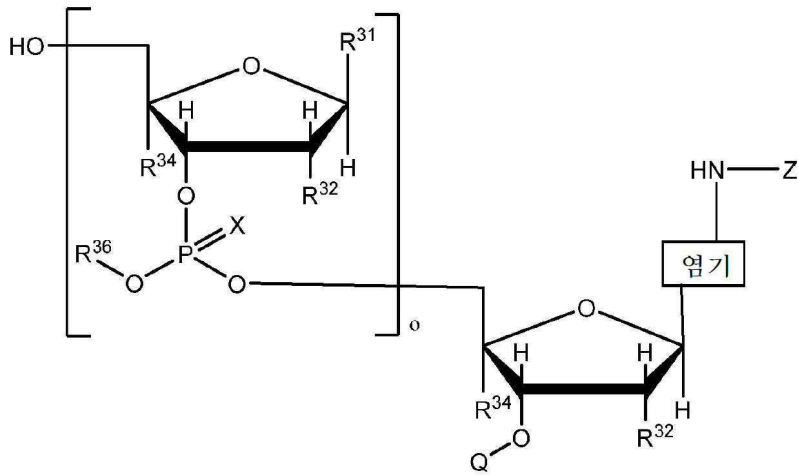
[0629]

[0630] 상기 방법은 하기의 단계들을 포함한다:

[0631] a) 화학식 (F1) 또는 (F1-1)의 올리고뉴클레오티드 단편:



[0632]



(F1-1),

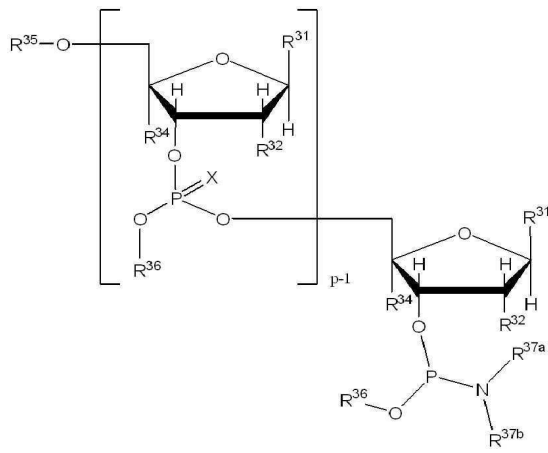
[0633]

또는 그의 염을,

[0634]

화학식 (F2)의 올리고뉴클레오타이드 단편:

[0635]

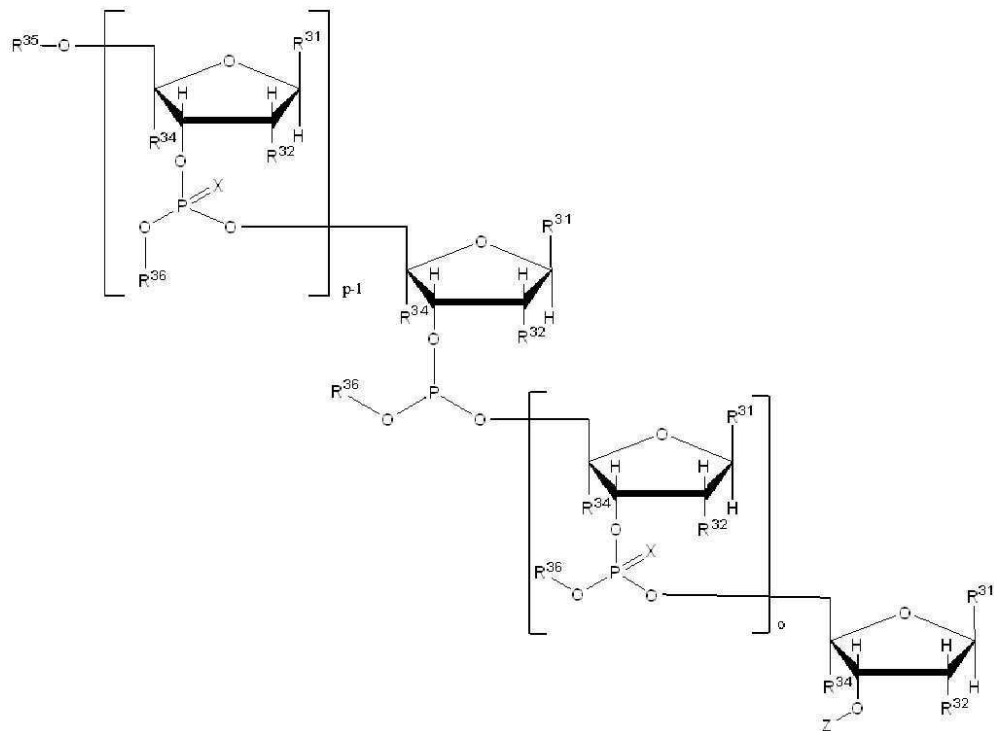


(F2), 또는 그의 염과,

[0636]

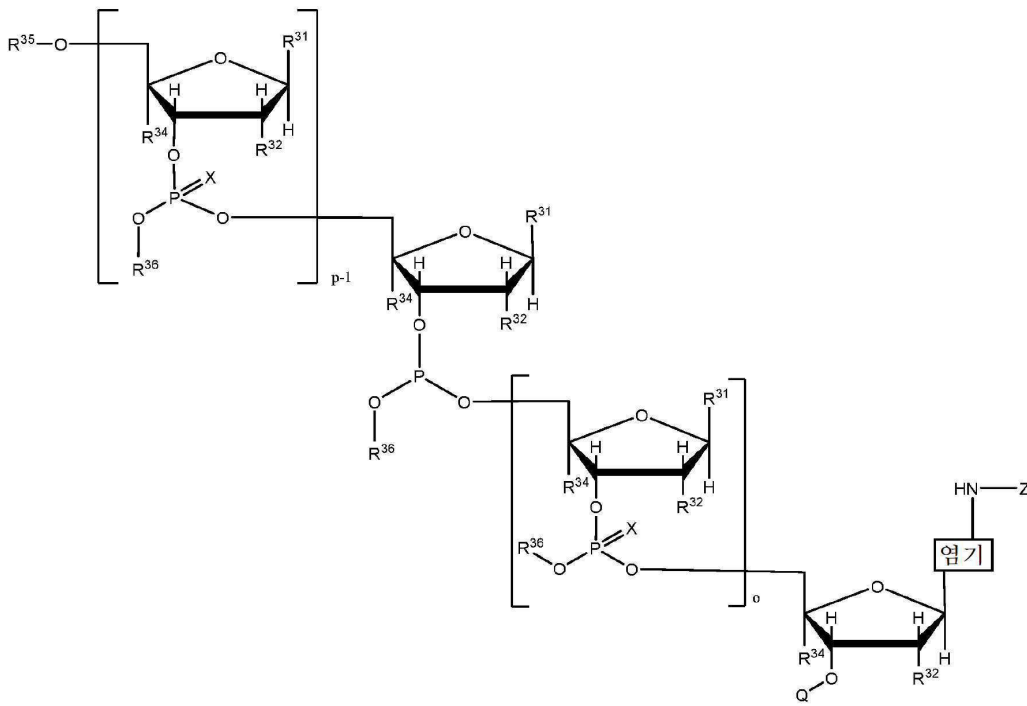
용액 중에서 커플링시켜 화학식 (F3) 또는 (F3-1)의 올리고뉴클레오타이드 단편을 형성하거나,

[0637]



(F3),

[0638]



(F3-1),

[0639]

[0640] 또는 그의 염을 형성하는 단계; 및

[0641] b) 화학식 (F3) 또는 (F3-1)의 올리고뉴클레오타이드 단편, 또는 그의 염을 황화 또는 산화시켜, 화학식 (VI) 또는 (VI-1)의 올리고뉴클레오타이드 또는 그의 염을 형성하는 단계,

[0642] 상기 식에서:

[0643] Q는 하이드록실 보호기이고;

[0644] 염기 는 Z에 의해 변형된 NH₂기를 함유하는 핵염기이고;

[0645] R³¹은 각 경우에 독립적으로 핵염기이고, 핵염기의 NH₂는 존재하는 경우 아민 보호기에 의해 보호되고;

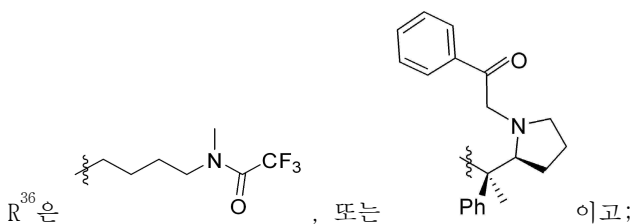
[0646] R³²은 각 경우에 독립적으로 H, 할로, OH, 및 C₁₋₆알콕시로 선택적으로 치환된 C₁₋₆알콕시로 구성된 군으로부터 선택되고; 여기서 OH기는 하이드록실 보호기에 의해 선택적으로 보호되고;

[0647] R³⁴은 각 경우에 독립적으로 H이거나 또는 R³²의 알콕시기와 고리를 형성하고;

[0648] R³⁵는 하이드록실 보호기이고;

[0649] R³⁶은 각 경우에 독립적으로 C₁₋₆알킬기, C₂₋₆알케닐기, 페닐 또는 벤질기이며, 이들은 각각 -CN, -NO₂ 또는 할로겐으로 선택적으로 치환되거나; 또는

[0650]



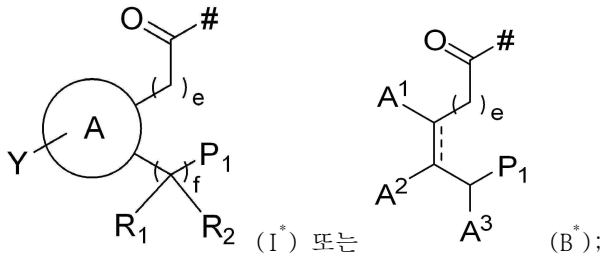
[0651]

R^{37a} 및 R^{37b}는 독립적으로 C₁₋₆알킬기이고;

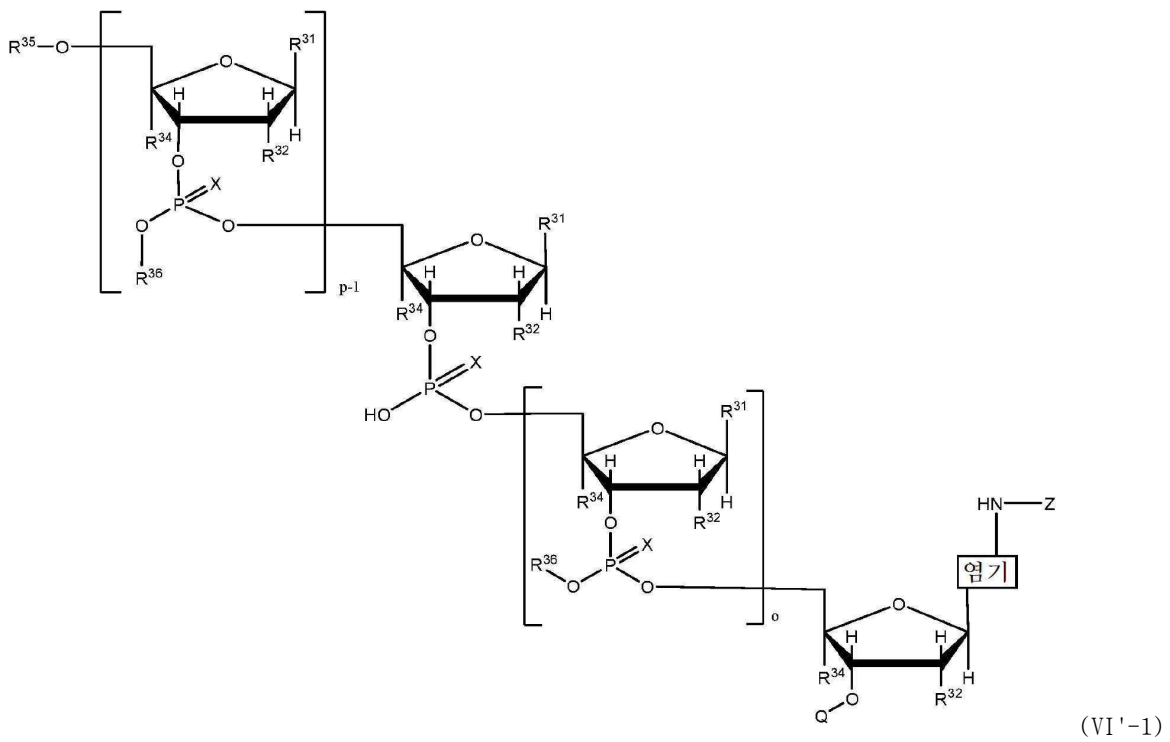
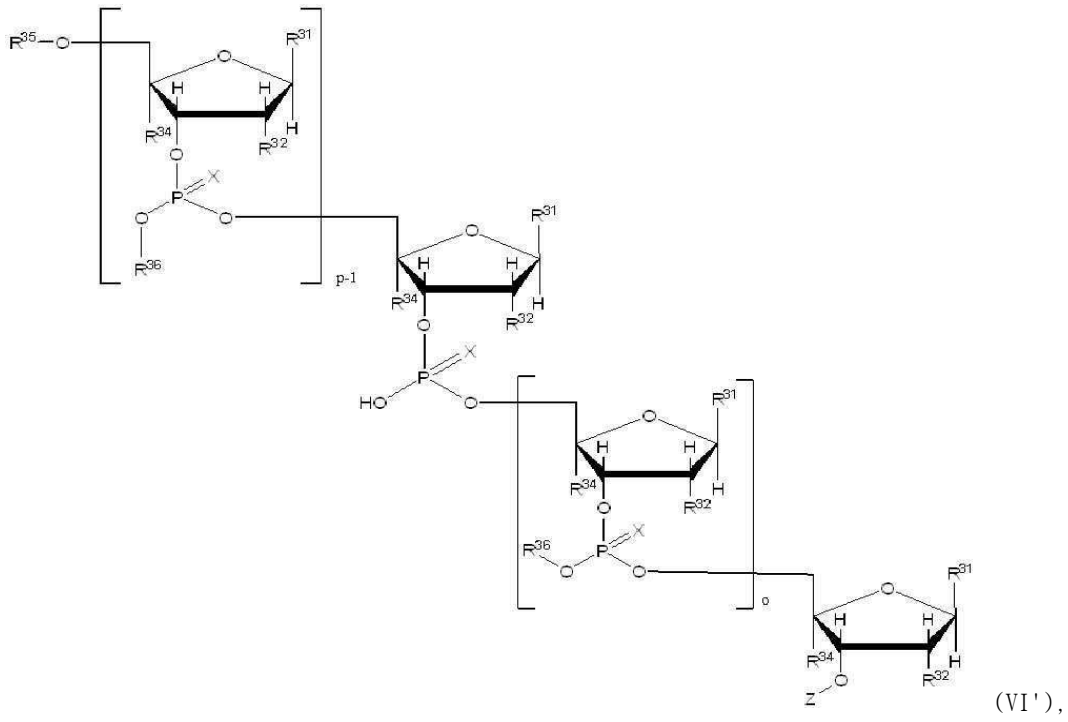
[0652]

p는 2 내지 20의 정수이고;

- [0653] o는 1 내지 200의 정수이고;
- [0654] X는 각 경우에 독립적으로 O 또는 S이고;
- [0655] Z는 화학식 I* 또는 B*로 표시되는 기이고;



- [0656] 상기 식에서
- [0657] —#는 Z에 대한 부착 지점을 나타내고;
- [0658] A¹, A² 및 A³ 중 하나는 Y^A이고 나머지는 H이고;
- [0659] —=는 단일 결합 또는 이중 결합이고;
- [0660] Y^A는 Y-(CH₂)_{a1}CH₂O(CH₂)_{a2}-이고, 여기서 a1 및 a2는 각각 독립적으로 0 또는 1 내지 10의 정수이고;
- [0661] 고리 A는 페닐, 8- 내지 10-원 비사이클릭 아릴, 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5- 내지 6-원 헤테로아릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로 원자를 갖는 7- 내지 10-원 비사이클릭 헤테로아릴이고;
- [0662] Y는 H, 할로젠, OR^{1A}, NR^{2A}R^{3A}, SR^{4A}, CR^{5A}R^{6A}R^{7A}, 또는 탄소 원자수 10 이상의 지방족 탄화수소기를 하나 이상 함유하는 소수성 기이고; 여기서 R^{1A}, R^{2A}, R^{3A}, R^{4A}, R^{5A}, R^{6A}, 및 R^{7A}는 각각 독립적으로 C₁₋₆알킬, C₁₋₆알케닐, C₁₋₆알키닐, 페닐, OR^{8A}, -OC(O)R^{8A}, -C(O)OR^{8A}, NR^{8A}R^{9A}, -NR^{8A}COR^{9A}, -CONR^{8A}R^{9A}, 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 카르보사이클릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 2개의 헤테로 원자를 갖는 3- 내지 7-원 포화 또는 부분 불포화 모노사이클릭 헤테로사이클릴이고; 여기서 R^{8A} 및 R^{9A}는 각 경우에 독립적으로 H 또는 C₁₋₆알킬이고;
- [0663] P₁은 NO₂ 또는 실릴 하이드록실 보호기이고;
- [0664] R₁ 및 R₂는 독립적으로 H, C₁₋₆알킬, 또는 페닐이고; 여기서 C₁₋₆알킬 및 페닐은 1 내지 3개의 R₃로 선택적으로 치환되고;
- [0665] R₃은 C₁₋₃₀알콕시이고;
- [0666] e는 0 내지 6의 정수이고;
- [0667] f는 0 내지 6의 정수이다.
- [0668] 제85 구현예에서, 본 개시는 화학식 (VI') 또는 (VI'-1)의 올리고뉴클레오티드, 또는 그의 염의 제조 방법을 제공하며,



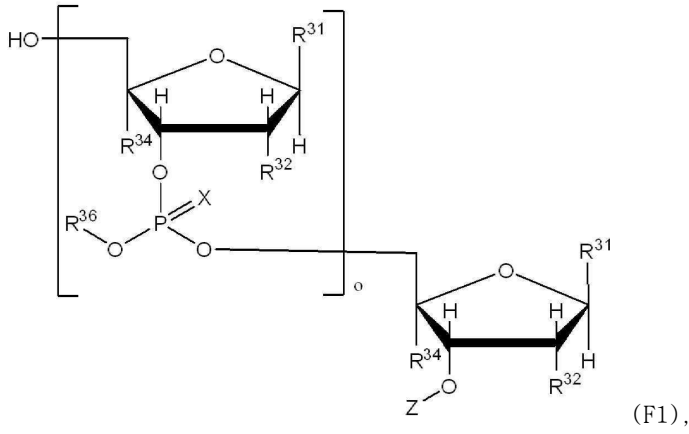
[0671]

[0672]

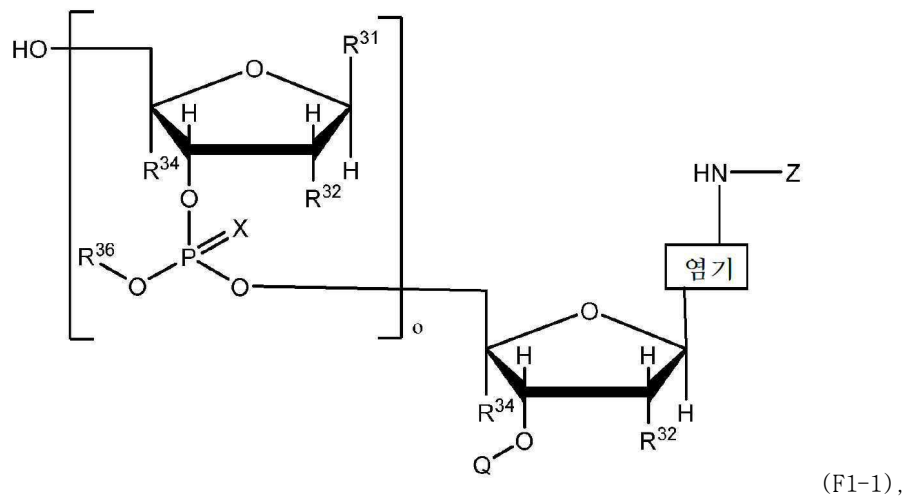
상기 방법은 하기의 단계들을 포함한다:

[0673]

a) 화학식 (F1) 또는 (F1-1)의 올리고뉴클레오티드 단편:

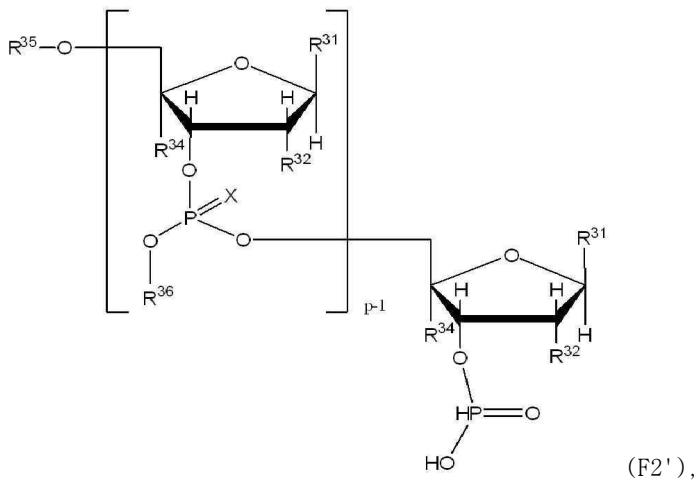


[0674]



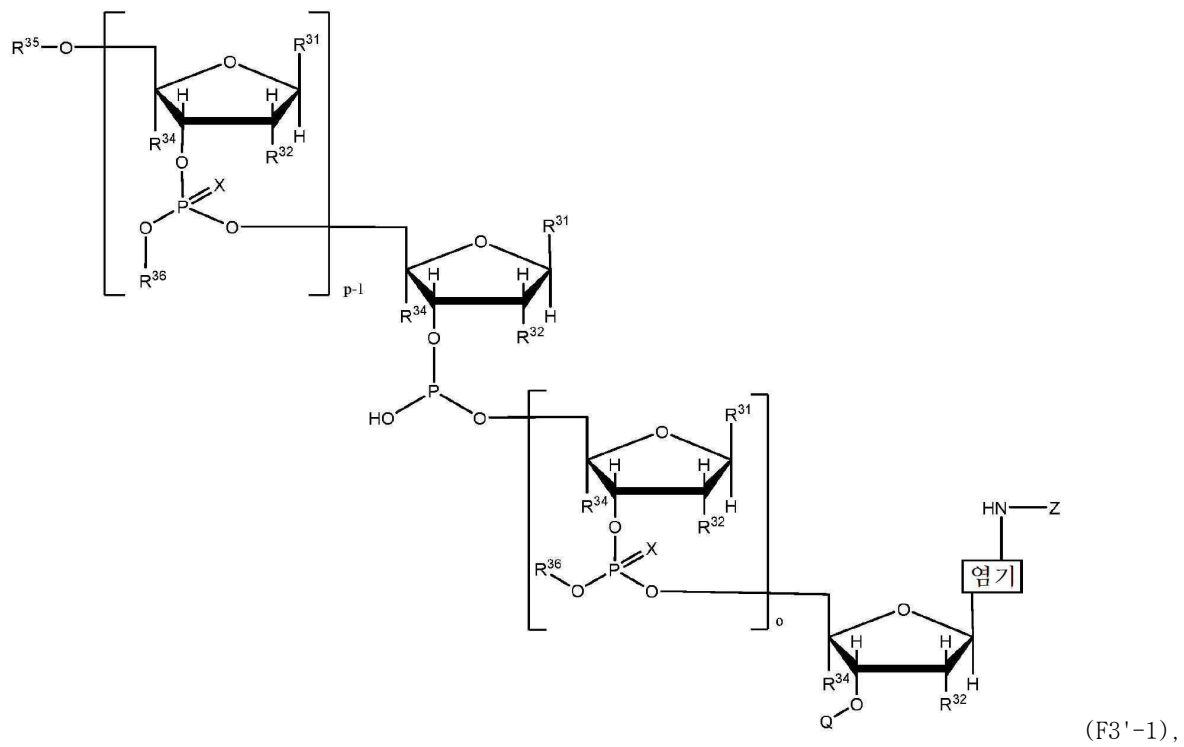
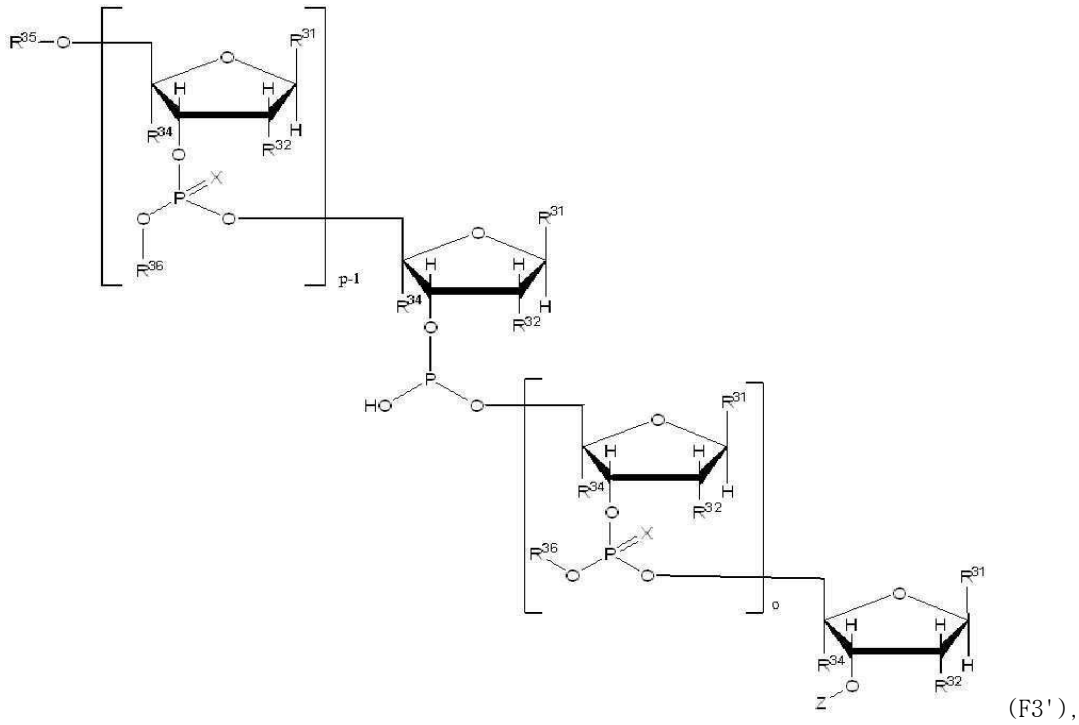
[0675]

[0676] 또는 그의 염을, 화학식 (F2')의 올리고뉴클레오타이드 단편:



[0677]

[0678] 또는 그의 염과, 용액 중에서 커플링시켜 화학식 (F3') 또는 (F3'-1)의 올리고뉴클레오타이드 단편을 형성하거나,



[0679]

[0680]

[0681]

[0682]

[0683]

[0684]

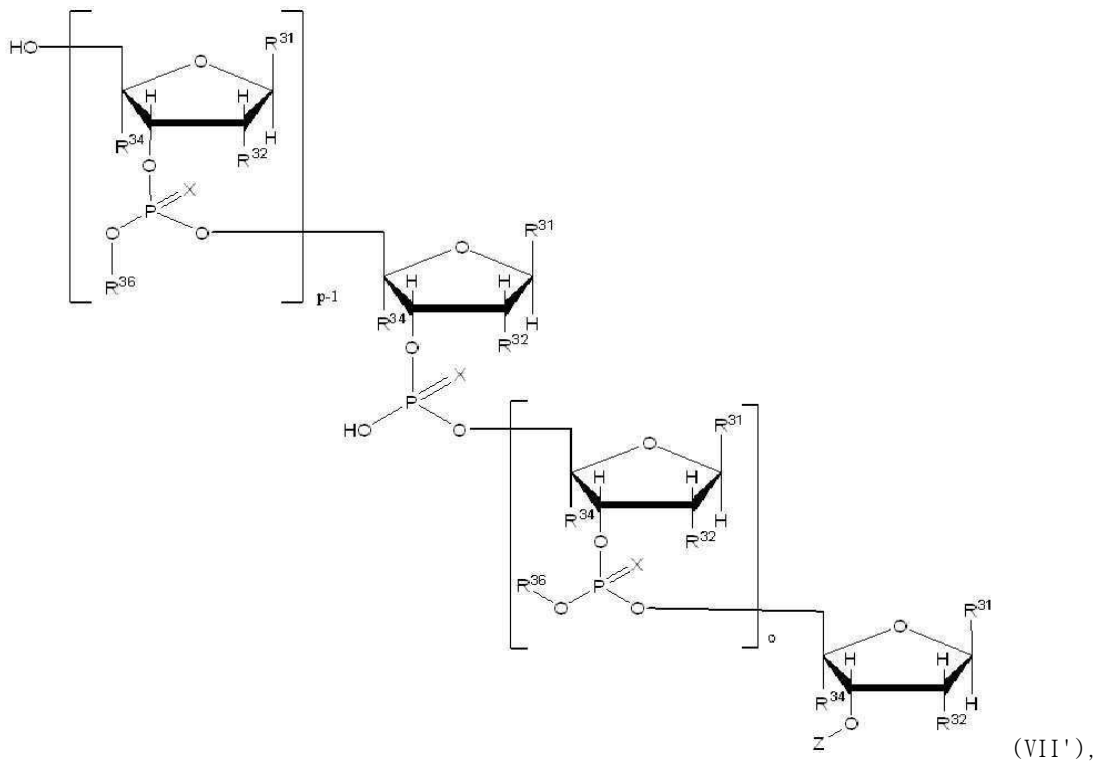
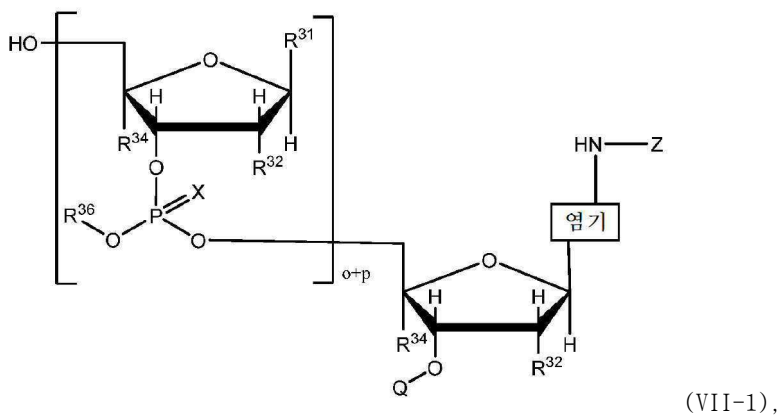
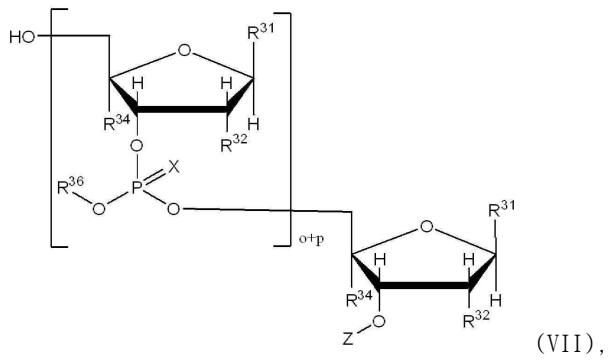
또는 그의 염을 형성하는 단계; 및

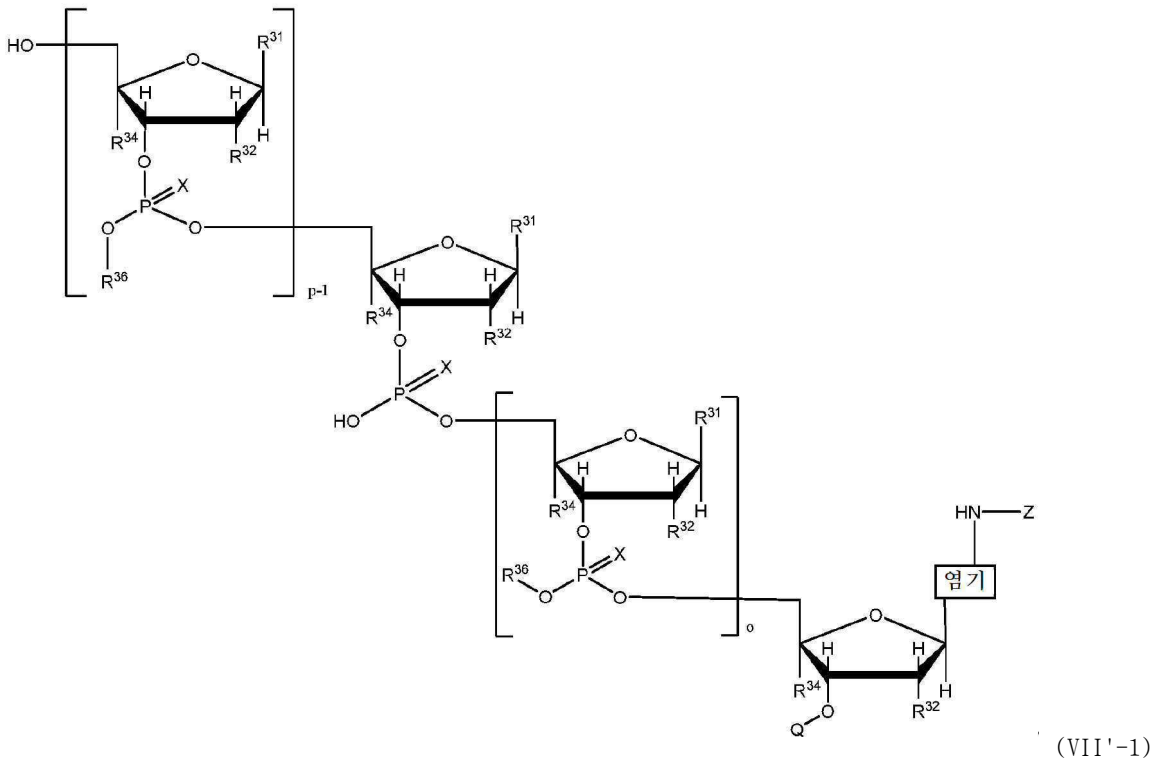
b) 화학식 (F3') 또는 (F3'-1)의 올리고뉴클레오타이드 단편, 또는 그의 염을 황화 또는 산화시켜, 화학식 (VI') 또는 (VI'-1)의 올리고뉴클레오타이드 또는 그의 염을 형성하는 단계,

상기 식에서 Q, 염기, ³¹R, ³²R, ³⁴R, ³⁵R, ³⁶R, ^{37a}R 및 ^{37b}R, p, o, X 및 Z는 제84 구현예에서 화학식 (VI) 또는 (VI-1)에 대해 상기 기재된 바와 같다.

제86 구현예에서, 본 개시는 Y가 탄소 원자수 10 이상의 지방족 탄화수소기를 하나 이상 함유하는 소수성 기인, 제84 또는 제85 구현예에 기재된 화학식 (VI), (VI'), (VI-1), 또는 (VI'-1)의 올리고뉴클레오타이드의 제조 방법을 제공한다.

[0685] 제87 구현예에서, 본 개시는 c) 화학식 (VI), (VI'), (VI-1), 또는 (VI'-1)의 올리고뉴클레오타이드를 탈보호하여 화학식 (VII), (VII-1), (VII'), 또는 (VII'-1)의 올리고뉴클레오타이드, 또는 그의 염을 형성하는 단계를 추가로 포함하는, 제84 또는 제85 구현예에 기재된 화학식 (VI), (VI'), (VI-1), 또는 (VI'-1)의 올리고뉴클레오타이드의 제조 방법을 제공한다.





[0689]

[0690] 또는 그의 염.

[0691] 제88 구현예에서, 본 개시는 화학식 (VII), (VII-1), (VII'), 또는 (VII'-1)의 올리고뉴클레오티드로부터 출발하여, 단계 a), b) 및 c)를 1 내지 10회 반복한 후, 단계 a) 및 b)를 거쳐 목적한 길이의 표적 올리고뉴클레오티드를 형성하는 것을 추가로 포함하는, 제87 구현예에 기재된 화학식 (VII), (VII-1), (VII'), 또는 (VII'-1)의 올리고뉴클레오티드의 제조 방법을 제공한다.

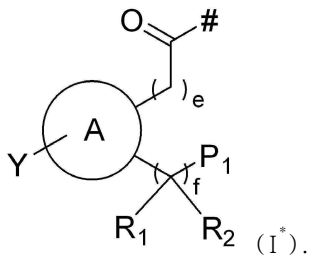
[0692] 제89 구현예에서, 본 개시는 단계 a), b) 및 c)를 1 내지 3회 반복한 후, 단계 a) 및 b)를 거쳐 목적한 길이의 표적 올리고뉴클레오티드를 형성하는 것을 추가로 포함하는, 제88 구현예에 기재된 방법을 제공한다.

[0693] 제90 구현예에서, 본 개시는 o가 2 내지 20의 정수인, 제84 내지 제89 구현예에 기재된 방법을 제공한다.

[0694] 제91 구현예에서, 본 개시는 o가 2 내지 5의 정수인, 제90 구현예에 기재된 방법을 제공한다.

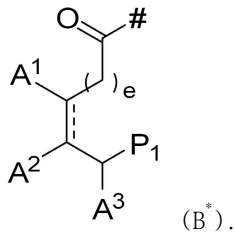
[0695] 제92 구현예에서, 본 개시는 o가 4인, 제91 구현예에 기재된 방법을 제공한다.

[0696] 제93 구현예에서, 본 개시는 Z가 화학식 I*로 표시되는 기인, 제3 또는 제4 측면(예컨대, 제54 내지 제92 구현예 중 어느 하나)에 기재된 방법을 제공한다.



[0697]

[0698] 제94 구현예에서, 본 개시는 Z가 화학식 B*로 표시되는 기인, 제3 또는 제4 측면(예컨대, 제54 내지 제92 구현예 중 어느 하나)에 기재된 방법을 제공한다.

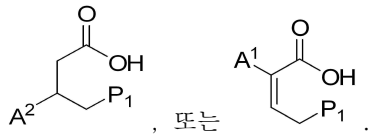


[0699]

[0700]

제95 구현예에서, 본 개시는 Z가 화학식 B-1* 또는 B-2*로 표시되는 기인, 제3 또는 제4 측면(예컨대, 제54 내지 제92 구현예 중 어느 하나)에 기재된 방법을 제공한다.

[0701]



[0702]

B-1* B-2*

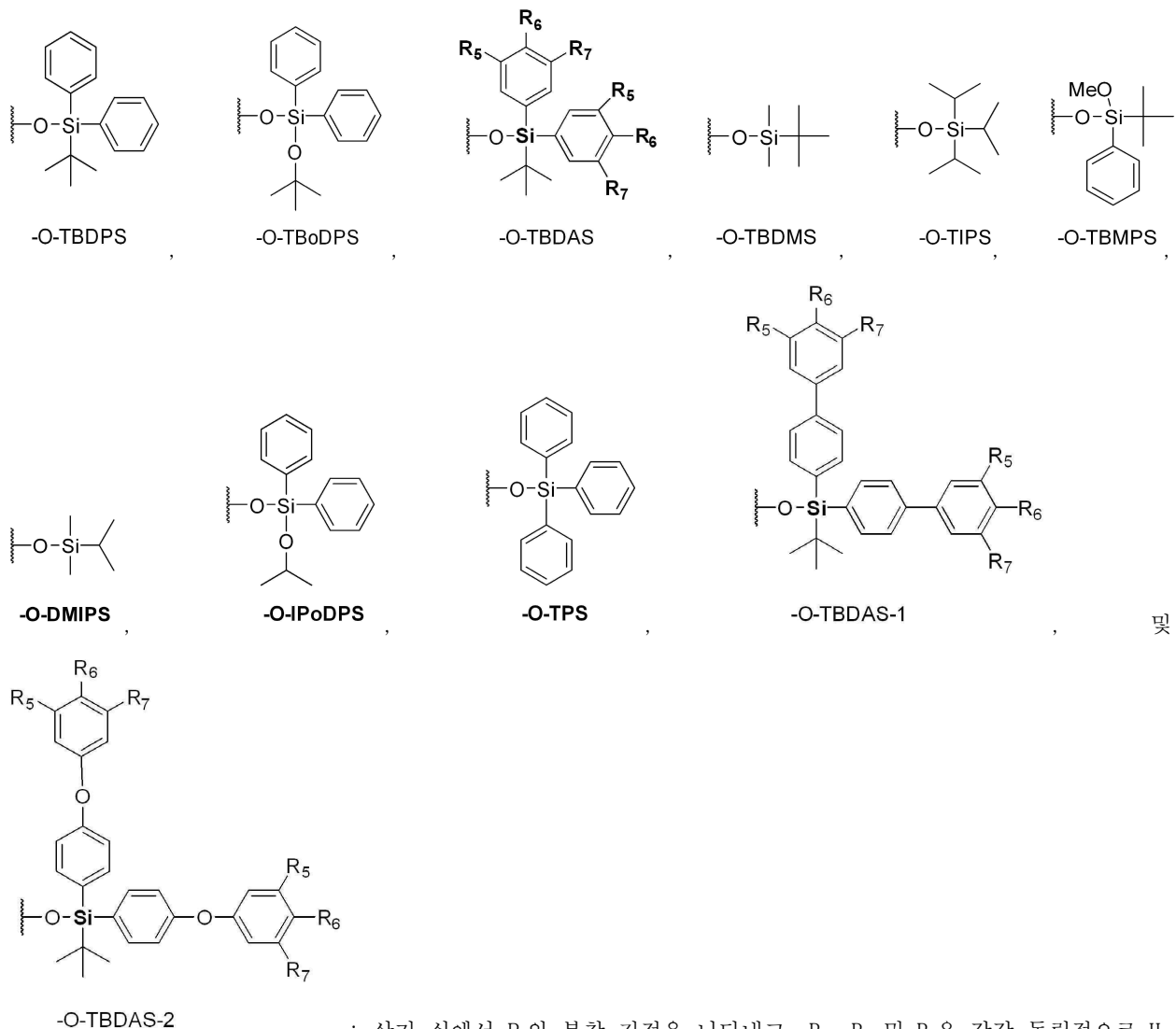
[0703]

제96 구현예에서, 본 개시는 고리 A가 페닐 또는 나프탈레닐인, 제3 또는 제4 측면(예컨대, 제54 내지 제92 구현예 중 어느 하나)에 기재된 방법을 제공한다.

[0704]

제97 구현예에서, 본 개시는 P₁이 하기로부터 선택된 실릴 하이드록실 보호기인, 제3 또는 제4 측면(예컨대, 제54 내지 제96 구현예 중 어느 하나)에 기재된 방법을 제공한다:

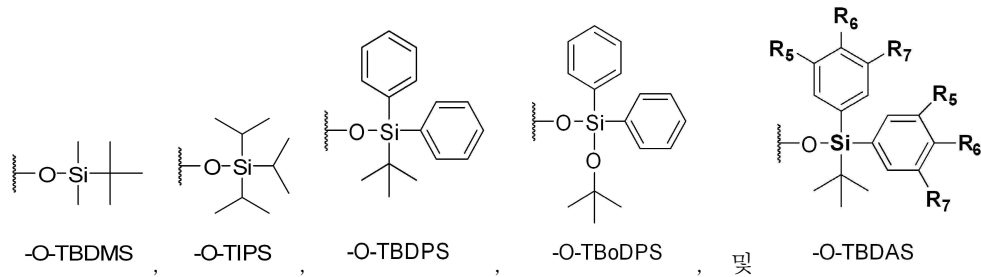
[0705]



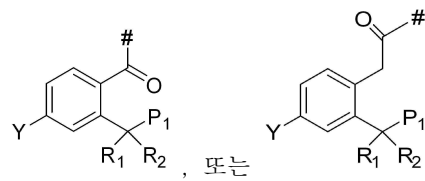
; 상기 식에서 P₁의 부착 지점을 나타내고, R₅, R₆ 및 R₇은 각각 독립적으로 H,

C₁₋₃₀알킬, 또는 C₁₋₃₀알콕시이다.

[0706] 제98 구현예에서, 본 개시는 P₁이 -O-TBDMS, -O-TIPS, -O-TBDPS, -O-TBoDPS, 및 -O-TBDAS로 구성된 군으로부터 선택되는, 제3 또는 제4 측면(예컨대, 제54 내지 제97 구현예 중 어느 하나)에 기재된 방법을 제공한다.



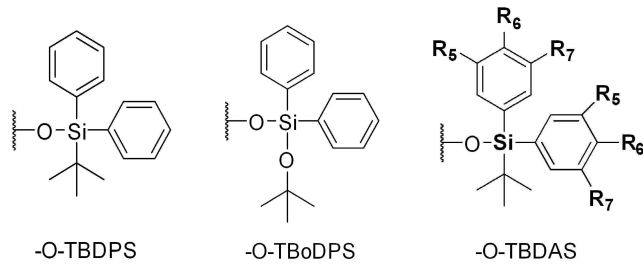
[0708] 제99 구현예에서, 본 개시는 Z가 화학식 I^{**} 또는 Ia^{**}로 표시되는 기 또는 그의 염인, 제3 또는 제4 측면(예컨대, 제54 내지 제93 구현예 중 어느 하나)에 기재된 방법을 제공한다.



[0710] I^{**} Ia^{**}

[0711] 또는 그의 염;

[0712] 상기식에서 P₁은 -O-TBDPS, -O-TBoDPS 및 -O-TBDAS의 군으로부터 선택되고:



C₁₋₃₀알콕시이다.

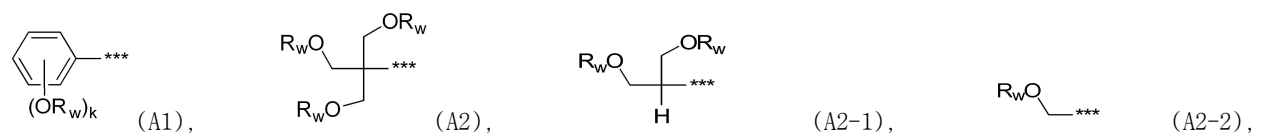
[0714] 제100 구현예에서, 본 개시는 Y가 화학식 A로 표시되는, 제3 또는 제4 측면(예컨대, 제54 내지 제99 구현예 중 어느 하나)에 기재된 방법을 제공한다.

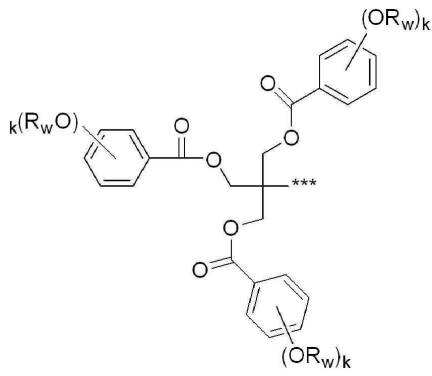
[0715] W—V—U—* (A)

[0716] 상기 식에서:

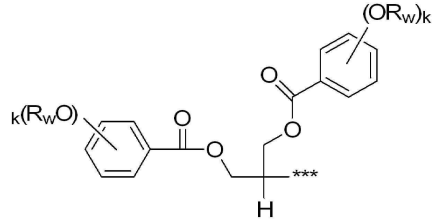
[0717] —* 는 Y에 대한 부착 지점을 나타내고;

[0718] W는 화학식 A1, A2, A2-1, A2-2, A3, A3-1, 또는 A3-2로 표시되고:

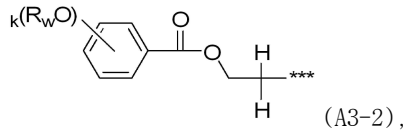




(A3),



(A3-1), 또는



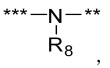
(A3-2),

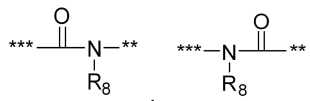
[0720] 상기 식에서

[0721] —*** 는 W와 V가 연결되는 지점을 나타내고;

[0722] R_w은 각각 독립적으로 10개 이상의 탄소 원자를 갖는 지방족 탄화수소기이고;

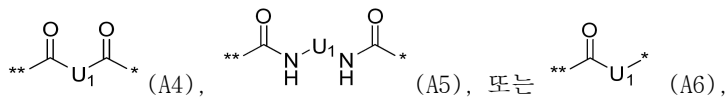
[0723] k는 1 내지 5의 정수이고;

[0724] V는 결합, 산소, C₁₋₂₀알킬렌, C₁₋₆알킬닐렌, -C(=O)-, ***-C(=O)-O-**, ***-O-C(=O)-**, ,



, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖고, 1 내지 3개의 R₈로 선택적으로 치환된, 5 내지 7원 헤테로아릴이고; 여기서 —**는 V와 U가 연결되는 지점을 나타내고; R₈은 H 또는 C₁₋₃₀알킬이고;

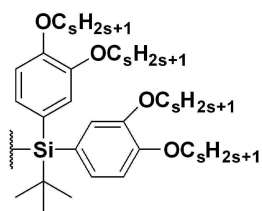
[0725] U는 결합, 산소, C₁₋₂₀알킬렌, 카르보닐, ***-O-C(=O)-**, 산소, 질소, 및 황으로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5 내지 7원 헤테로사이클릴; 산소, 질소, 및 황으로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖고, 1 내지 3개의 R₈로 선택적으로 치환된, 5 내지 7원 헤테로아릴; 또는 화학식 A4, A5, 또는 A6으로 표시되는 기이고:



[0726] (A4), (A5), 또는 (A6),

[0727] 상기 식에서 U₁은 C₁₋₆알킬렌, C₁₋₆알킬렌옥시, 산소, 질소, 및 황으로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5 내지 7원 헤테로사이클릴, 또는 산소, 질소, 및 황으로부터 선택된 1 내지 3개의 헤테로 원자를 갖는 5 내지 7원 헤테로아릴이다.

[0728] 제101 구현예에서, 본 개시는 TBDAS기가 하기의 기인, 제97 내지 제100 구현예 중 어느 하나에 기재된 방법을 제공한다.

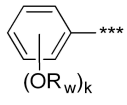


[0729]

[0730] 상기 식에서 s는 1 내지 30의 정수이다.

[0731] 제102 구현예에서, 본 개시는 P₁이 TBDPS인, 제54 내지 제100 구현예에 기재된 방법을 제공한다.

[0732] 제103 구현예에서, 본 개시는 W가 화학식 A1로 표시되는, 제100 내지 제102 구현예에 기재된 방법을 제공한다.

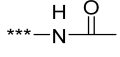


[0733] A1,

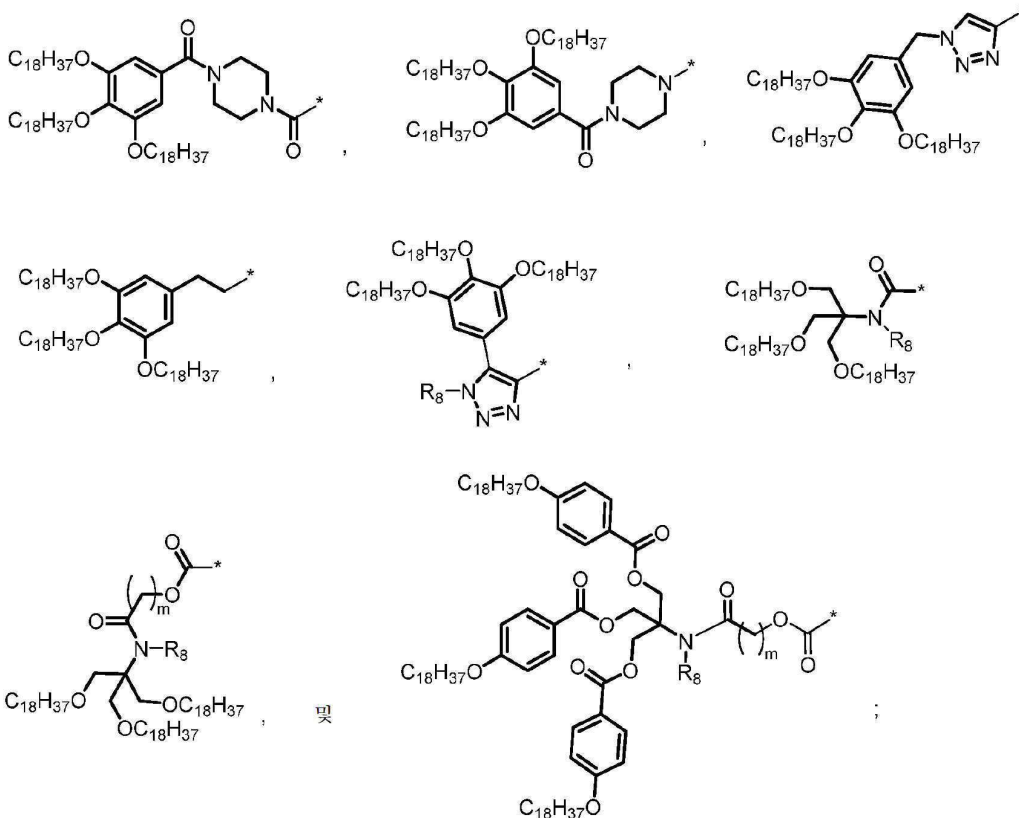
[0734] 상기 식에서 R_w는 C_nH_{2n+1}이고;

[0735] n은 1 내지 30의 정수이다.

[0736] 제104 구현예에서, 본 개시는 R_w가 C₁₂H₂₅, C₁₈H₃₇, C₂₀H₄₁, C₂₂H₄₅, C₂₄H₄₉, C₂₆H₅₃, 및 C₂₈H₅₇로 구성된 군으로부터 선택되는, 제100 내지 제103 구현예에 기재된 방법을 제공한다.

[0737] 제105 구현예에서, 본 개시는 V가 결합, CH₂, CH₂CH₂, C(=O)-, ***-C(=O)-O-**, 또는 인, 제100 내지 제104 구현예에 기재된 방법을 제공한다.

[0738] 제106 구현예에서, 본 개시는 Y가 하기로 구성된 군으로부터 선택되는, 제54 내지 제100 구현예에 기재된 방법을 제공한다.



[0739] 상기 식에서

[0741] R₈은 H 또는 C₁₋₆알킬이고;

[0742] m은 1 내지 5의 정수이다.

[0743] 제107 구현예에서, 본 개시는 R₁ 및 R₂가 독립적으로 H 또는 CH₃인, 제3 또는 제4 측면(예컨대, 제54 내지 제106 구현예)에 기재된 방법을 제공한다. 특정 구현예에서, R₁ 및 R₂는 둘 다 H이다. 다른 특정 구현예에서, R₁ 및

R₂는 둘 다 CH₃이다.

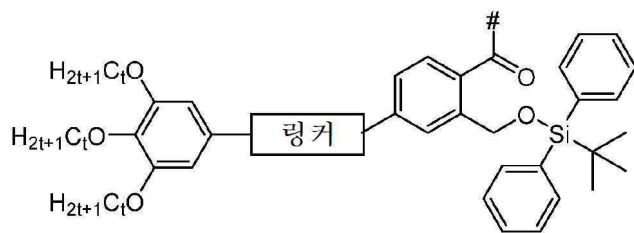
[0744] 제108 구현예에서, 본 개시는 e가 0, 1, 또는 2이고; f가 0, 1, 또는 2인, 제3 또는 제4 측면(예컨대, 제54 내지 제107 구현예)에 기재된 방법을 제공한다.

[0745] 제109 구현예에서, 본 개시는 e가 1이고; f가 1인, 제3 또는 제4 측면(예컨대, 제54 내지 제108 구현예)에 기재된 방법을 제공한다.

[0746] 제110 구현예에서, 본 개시는 e가 0이고; f가 1이거나 또는 e가 1이고; f가 0인, 제3 또는 제4 측면(예컨대, 제54 내지 제108 구현예)에 기재된 방법을 제공한다.

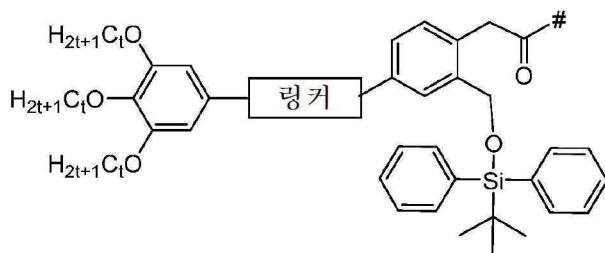
[0747] 제111 구현예에서, 본 개시는 R₈이 H 또는 C₁₋₄알킬인, 제3 또는 제4 측면(예컨대, 제54 내지 제110 구현예)에 기재된 방법을 제공한다.

[0748] 제112 구현예에서, 본 개시는 Z가 화학식 II* 또는 IIa*로 표시되는, 제3 또는 제4 측면(예컨대, 제54 내지 제111 구현예)에 기재된 방법을 제공한다.



[0749] , 또는

[0750] II*



[0751]

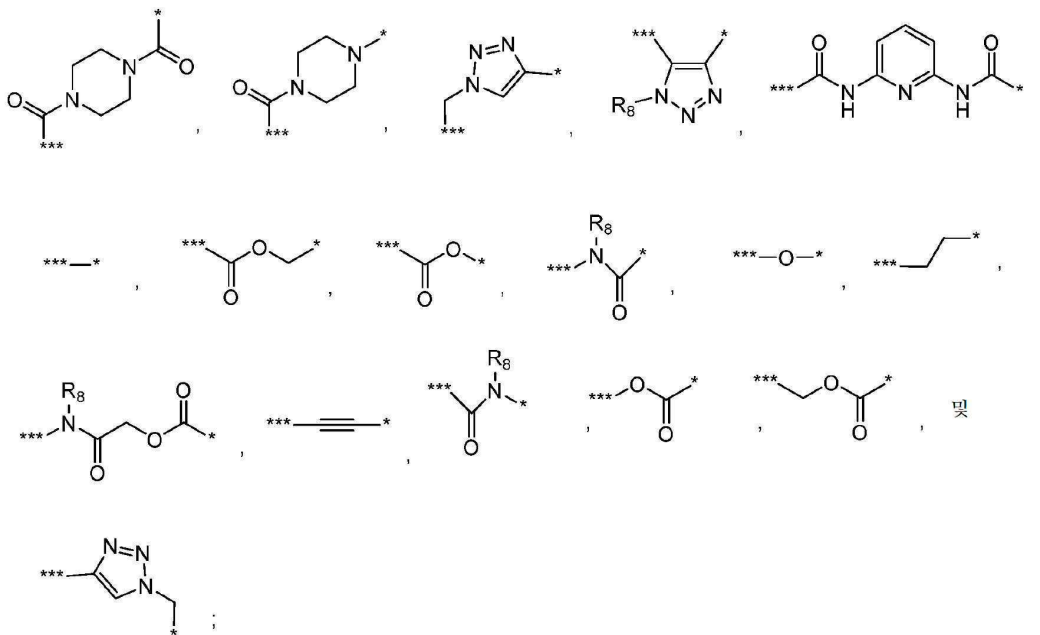
[0752] IIa*

[0753] 상기 식에서

[0754] t는 10 내지 30의 정수이고;

[0755]

링커는 하기로 구성된 군으로부터 선택된다.



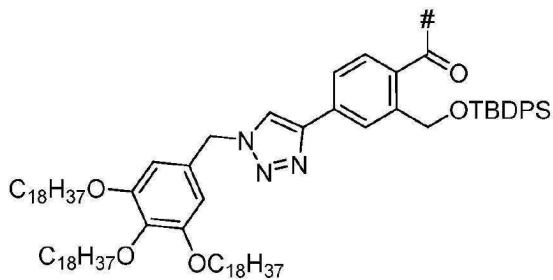
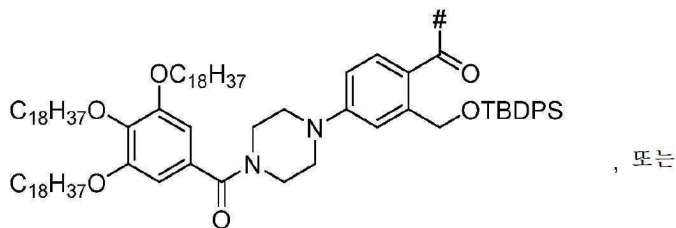
[0756]

[0757]

상기 식에서 R₈은 H 또는 C₁₋₆알킬이다.

[0758]

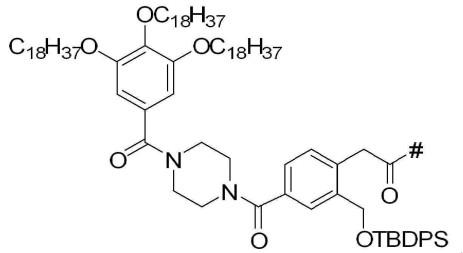
제113 구현예에서, 본 개시는 Z가 하기인, 제3 또는 제4 측면(예컨대, 제54 내지 제112 구현예)에 기재된 방법을 제공한다.



[0759]

[0760]

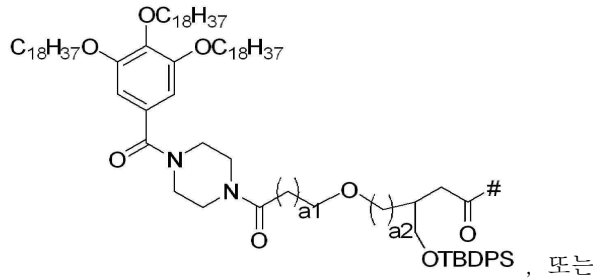
제114 구현예에서, 본 개시는 Z가 하기인, 제3 또는 제4 측면(예컨대, 제54 내지 제93 구현예)에 기재된 방법을 제공한다.



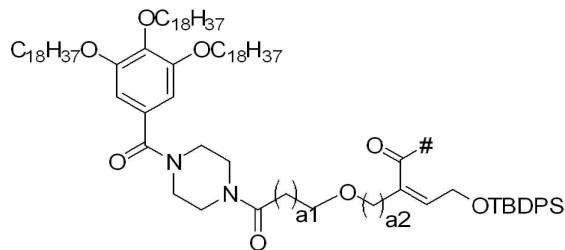
[0761]

[0762]

제115 구현예에서, 본 개시는 Z가 하기인, 제3 또는 제4 측면(예컨대, 제54 내지 제93 구현예)에 기재된 방법을 제공한다.



[0763]



[0764]

[0765]

제116 구현예에서, 본 개시는 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드의 모든 P=X 기가 P=S인, 제27 내지 제53 구현예에 기재된 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 제54 내지 제115 구현예에 기재된 방법을 제공한다.

[0766]

제117 구현예에서, 본 개시는 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드의 모든 P=X 기가 P=O인, 제27 내지 제53 구현예에 기재된 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 제54 내지 제115 구현예에 기재된 방법을 제공한다.

[0767]

제118 구현예에서, 본 개시는 화합물 또는 올리고뉴클레오티드의 P=X 기의 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90% 초과가 P=S인, 제27 내지 제53 구현예에 기재된 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 제54 내지 제115 구현예에 기재된 방법을 제공한다.

[0768]

제119 구현예에서, 본 개시는 화합물 또는 올리고뉴클레오티드의 P=X 기의 10-90%, 20-80%, 30-70% 또는 40-60%가 P=S인, 제27 내지 제53 구현예에 기재된 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 제54 내지 제115 구현예에 기재된 방법을 제공한다.

[0769]

제120 구현예에서, 본 개시는 핵염기가 시토신, 구아닌, 아데닌, 티민, 우라실, 하이포크산틴, 크산틴, 7-메틸구아닌, 5,6-디하이드로우라실, 5-메틸시토신, 및 5-하이드록시메틸시토신으로 구성된 군으로부터 선택되며, 핵염기의 NH₂기가 존재하는 경우, PhCO-, CH₃CO-, *i*PrCO-, Me₂N-CH=, 또는 Me₂N-CMe=에 의해 보호되는, 제27 내지 제53 구현예에 기재된 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 제54 내지 제116 구현예에 기재된 방법을 제공한다.

[0770]

제121 구현예에서, 본 개시는 핵염기가 시토신, 구아닌, 아데닌, 티민, 우라실, 및 5-메틸시토신으로 구성된 군으로부터 선택되며, 핵염기의 NH₂기가 존재하는 경우, PhCO-, CH₃CO-, *i*PrCO-, Me₂N-CH=, 또는 Me₂N-CMe=에 의해 보호되는, 제27 내지 제53 구현예에 기재된 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 제54 내지 제115 구현예에 기재된 방법을 제공한다.

[0771]

제122 구현예에서, 본 개시는 제27 내지 제53 구현예에 기재된 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 제

54 내지 제121 구현예에 기재된 방법을 제공하며, 여기서

[0772] R^{32} 는 각각 독립적으로 H, F, 및 C_{1-4} 알콕시로 선택적으로 치환된 C_{1-4} 알콕시로 구성된 군으로부터 선택되고;

[0773] R^{34} 는 각각 독립적으로 H이거나 또는 R^2 의 알콕시기와 고리를 형성하고; 여기서 고리는 1 내지 3개의 C_{1-4} 알킬기로 선택적으로 치환된 5 또는 6-원 고리이고;

[0774] R^{35} 는 각각 4,4'-디메톡시티르틸기(4,4'-dimethoxytirtyl group)이고;

[0775] R^{36} 은 $-CH_2CH_2CN$ 이고;

[0776] R^{37a} 및 R^{37b} 는 독립적으로 C_{1-4} 알킬이다.

[0777] 제123 구현예에서, 본 개시는 제27 내지 제53 구현예에 기재된 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 제54 내지 제121 구현예에 기재된 방법을 제공하며, 여기서

[0778] R^{32} 는 각각 독립적으로 H, F, $-OCH_3$, $-OCH_2CH_2OCH_3$, 및 $-OTBDMS$ 로 구성된 군으로부터 선택되고;

[0779] R^{34} 는 각각 독립적으로 H이거나 또는 R^{32} 의 알콕시기와 함께 고리를 형성하고, 여기서 고리는 5-원 고리이다.

[0780] 제124 구현예에서, 본 개시는 R^{34} 가 각각 독립적으로 H이거나 또는 R^{32} 의 알콕시기와 함께 $-CH_2-O-$ 를 형성하는, 제27 내지 제53 구현예에 기재된 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 제54 내지 제121 구현예에 기재된 방법을 제공한다.

[0781] 제125 구현예에서, 본 개시는 제27 내지 제53 구현예에 기재된 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 제54 내지 제121 구현예에 기재된 방법을 제공하며, 여기서

[0782] R^{32} 는 각각 독립적으로 H 또는 $-OCH_2CH_2OMe$ 로부터 선택되고;

[0783] R^{34} 는 각각 H이고;

[0784] R^{35} 는 각각 4,4'-디메톡시티르틸기(4,4'-dimethoxytirtyl group)이고;

[0785] R^{36} 은 $-CH_2CH_2CN$ 이고;

[0786] R^{37a} 및 R^{37b} 는 둘 다 $-CH(CH_3)_2$ 이다.

[0787] 제126 구현예에서, 본 개시는 화학식 (VD'), (V-2'), 또는 (F2')의 화합물의 염이 트리메틸 아민염, 트리에틸 아민염, 및 트리오소프로필 아민염으로부터 선택되는, 제55, 제64, 또는 제85 구현예에 기재된 방법을 제공한다.

[0788] 제127 구현예에서, 본 개시는 화학식 (VD'), (V-2'), 또는 (F2')의 화합물의 염이 트리에틸 아민염인, 제126 구현예에 기재된 방법을 제공한다.

[0789] 제128 구현예에서, 본 개시는 염기가 아데닌, 시토신, 또는 구아닌인, 제2 측면(예컨대, 제28 구현예)에 기재된 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 제3 또는 제4 측면(예컨대, 제58, 제59, 제69, 및 제71 내지 제92 구현예 중 어느 하나)에 기재된 방법을 제공한다.

[0790] 제129 구현예에서, 본 개시는 Q가 실릴 보호기인, 제2 측면(예컨대, 제28 구현예)에 기재된 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 제3 또는 제4 측면(예컨대, 제58, 제59, 제69, 및 제71 내지 제92 구현예 중 어느 하나)에 기재된 방법을 제공한다.

[0791] 제130 구현예에서, 본 개시는 Q가 트리메틸실릴, 트리에틸실릴, 트리오소프로필실릴, 디메틸이소프로필실릴, 디에틸이소프로필실릴, 디메틸헥실실릴, t-부틸디메틸실릴, t-부틸디페닐실릴, 트리벤질실릴, 트리-p-자일릴실릴,

트리페닐실릴, 디페닐메틸실릴, 디-t-부틸메틸실릴 트리(트리메틸실릴)실릴, t-부틸메톡시페닐실릴, 및 t-부톡시디페닐실릴으로 구성된 군으로부터 선택되는, 제2 측면(예컨대, 제28 구현예)에 기재된 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 제3 또는 제4 측면(예컨대, 제58, 제59, 제69, 및 제71 내지 제92 구현예 중 어느 하나)에 기재된 방법을 제공한다.

[0792] 제131 구현예에서, 본 개시는 Q가 t-부틸디페닐실릴인, 제2 측면(예컨대, 제28 구현예)에 기재된 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 제3 또는 제4 측면(예컨대, 제58, 제59, 제69, 및 제71 내지 제92 구현예 중 어느 하나)에 기재된 방법을 제공한다.

[0793] 특정 구현예에서, 제4 측면 또는 그에 기술된 임의의 구현예(예컨대, 제84 내지 제115 구현예)에 기재된 방법에 대해, 변수 R^{31} , R^{32} , R^{34} , R^{35} , R^{36} , q, 및/또는 Z는 제2 측면 또는 그에 기술된 구현예(예컨대, 제27 내지 제53 구현예) 중 어느 하나에 기재되어 있다.

[0794] 특정 구현예에서, 제4 측면 또는 그에 기술된 임의의 구현예(예컨대, 제84 내지 제115 구현예)에 기재된 방법에 대해, 5'-OH 탈보호 (또는 탈트리틸화) 단계, 커플링 단계, 및 산화 또는 황화 단계는 제3 측면 또는 그에 기술된 구현예(예컨대, 제54 내지 제83 구현예) 중 어느 하나에 기재된 조건 하에서 수행된다.

[0795] 특정 구현예에서, 제2 측면 또는 그에 기술된 임의의 구현예에 기재된 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 또는 제3 또는 제4 측면 또는 그에 기술된 임의의 구현예에 기재된 방법에 대해, X가 S인 경우, 포스포리티올레이트기는 S-배열, R-배열 또는 이들의 혼합물(예컨대, 라세미 혼합물)을 가질 수 있다.

[0796] **예시**

[0797] **약어**

[0798] ACN = 아세토니트릴

[0799] Calcd = 계산치

[0800] DBU = 8-디아자비사이클로[5.4.0]운스-7-엔

[0801] DCA = CHCl_2COOH 또는 디클로로아세트산

[0802] DCM = 디클로로메탄

[0803] DDTT = 3-(N,N-디메틸아미노-메틸리덴)아미노)-3H-1,2,4-디티아졸

[0804] DCI = 4,5-디시아노이미다졸

[0805] DIEA = N,N-디이소프로필에틸아민

[0806] DMT 또는 DMTr = 4,4'-디메톡시트리틸 또는 비스-(4-메톡시페닐)페닐메틸

[0807] DMSO = 디메틸 설펍사이드

[0808] EtOAc 또는 EA = 에틸 아세테이트

[0809] ETT = 5-에틸티오-1H-테트라졸

[0810] h 또는 hr = 시간

[0811] HBTU = 3-[비스(디메틸아미노)메틸륨일]-3H-벤조트리아졸-1-옥사이드 헥사플루오로포스페이트

[0812] HOBt = 하이드록시벤조트리아졸

[0813] imid = 이미다졸

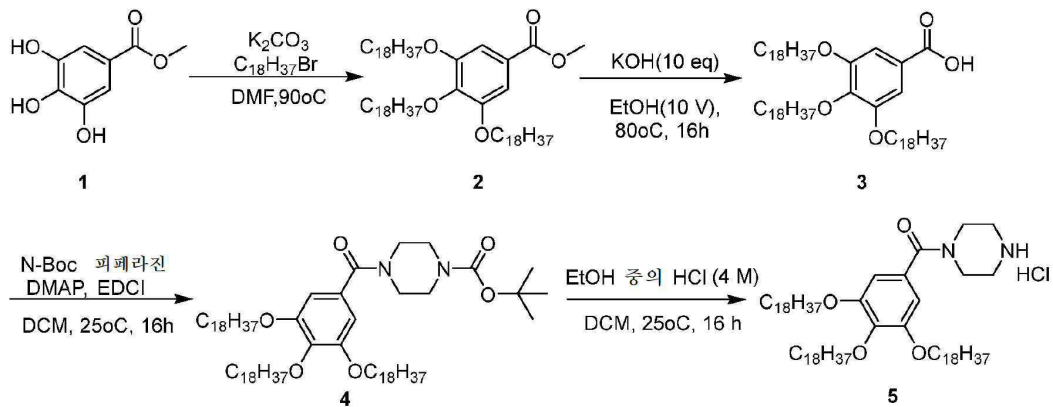
[0814] IPAC = 이소프로필 아세테이트

[0815] iPrOH = 이소프로필 알코올

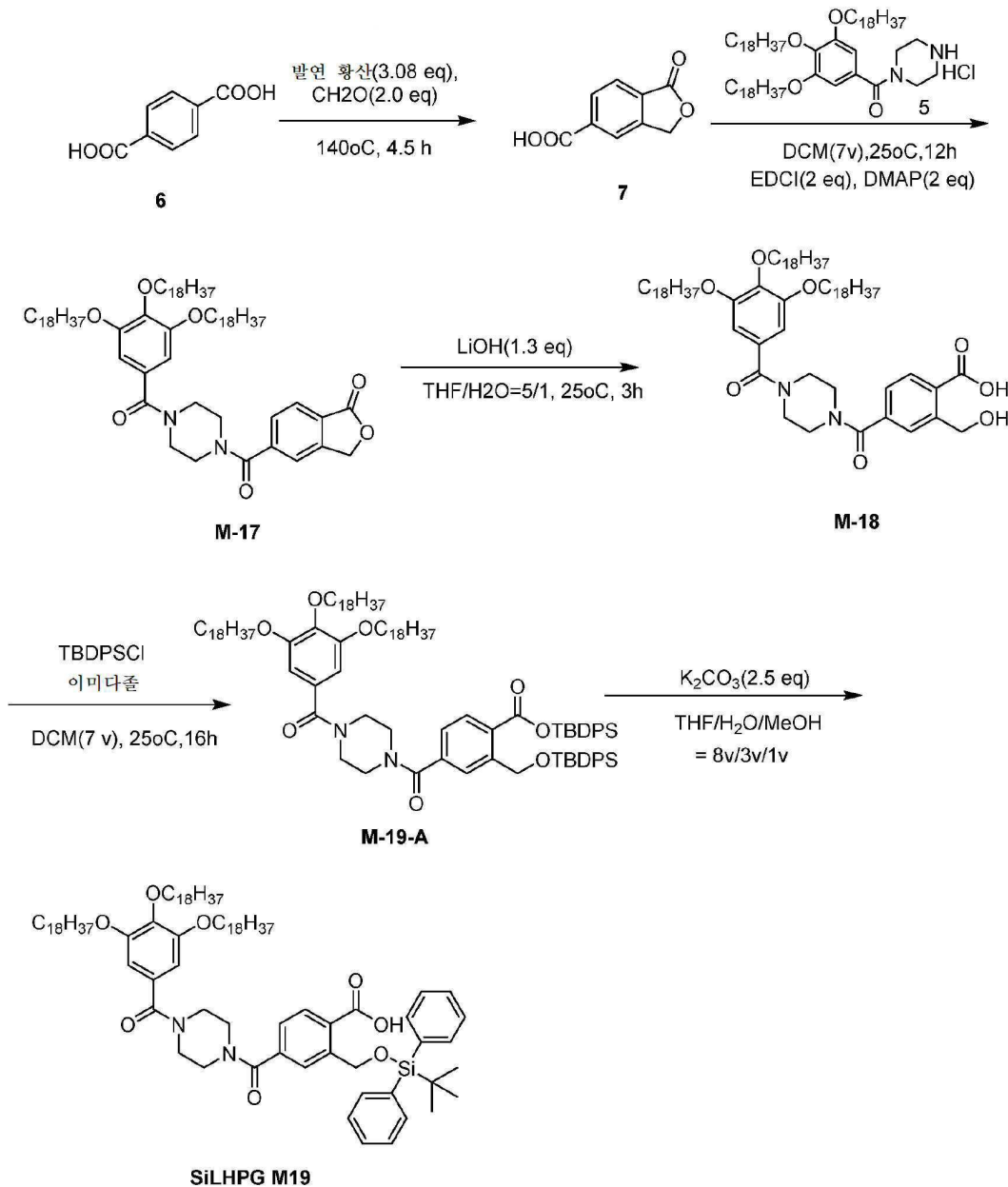
[0816] MOE = 메톡시에틸

[0817] MS = 분자체

- [0818] MTBE 또는 TBME = 메틸 tert-부틸 에테르
- [0819] NMI = N-메틸이미다졸
- [0820] TBS = tert-부틸디메틸실릴
- [0821] Py = 피리딘
- [0822] RBF = 둥근 바닥 플라스크
- [0823] RT = 체류 시간
- [0824] TBAF = 테트라-n-부틸암모늄 플루오라이드
- [0825] TBuAA = 트리부틸아민 아세테이트
- [0826] TBDPSCl = tert-부틸(클로로)디페닐실란
- [0827] TCA = 트리클로로아세트산
- [0828] TEA = 트리에틸아민
- [0829] TEAB = 테트라에틸암모늄 브로마이드
- [0830] TFA = 트리플루오로아세트산
- [0831] THF = 테트라하이드로푸란
- [0832] TLC = 박층 크로마토그래피
- [0833] Tol = 톨루엔
- [0834] **실시예 1. 화합물 M19의 합성**
- [0835] a. 화합물 M19의 합성 도식



[0836]



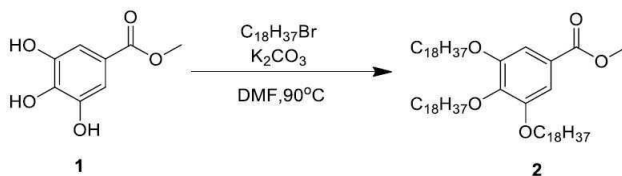
[0837]

[0838]

b. 화합물 M19의 합성 절차

[0839]

화합물 2의 일반 제조 절차

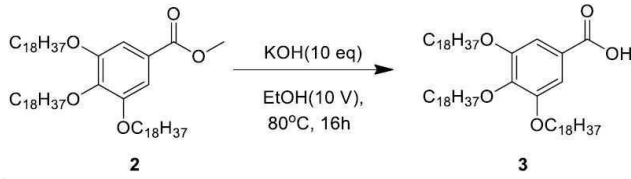


[0840]

[0841]

DMF(12 L) 중의 화합물 1(1.20 kg, 6.52 mol, 1.00 eq) 및 K₂CO₃(5.40 kg, 39.1 mol, 6.00 eq)의 혼합물에 1-브로모옥타데칸(8.69 kg, 26.1 mol, 4.00 eq)을 25°C에서 N₂ 하에 한번에 첨가하였다. 혼합물을 90°C에서 교반하고 16 h 동안 교반하였다. TLC(디클로로메탄/메탄올 = 5/1, 출발 물질, R_f = 0.52, 생성물, R_f = 0.88)는 출발 물질이 검출되지 않은 것으로 나타났다. 18 L H₂O를 첨가하고, 25°C로 냉각시키고, 여과하고 7 L H₂O 및 10 L 아세톤으로 세척하였다. 고체를 55°C에서 1 h 동안 30 L n-헵탄으로 재결정화하였다. 25°C로 냉각시키고, 여과하고 고체를 5 L n-헵탄으로 세척하였다. 화합물 2(8.60 kg, 조생성물)를 백색 고체로 얻었다.

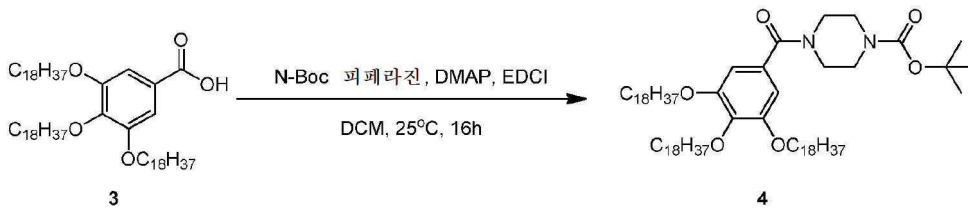
[0842] 화합물 3의 일반 제조 절차



[0843]

[0844] EtOH(15 L) 중의 화합물 2(3.00 kg, 3.19 mol, 1.00 eq)의 혼합물에 H₂O(3 L) 중의 KOH (268 g, 4.78 mol, 1.50 eq)의 용액을 25°C에서 N₂ 하에 한번에 첨가하였다. 혼합물을 80°C에서 교반하고 16 h 동안 교반하였다. TLC(석유 에테르/에틸 아세테이트 = 5/1, 출발 물질 R_f = 0.33, 생성물 R_f = 0.86)는 출발 물질이 검출되지 않은 것으로 나타났다. 2N HCl(6 L)로 pH를 2~3으로 조정하고, 25°C로 냉각시키고, 75 L H₂O에 부었다. 고체를 여과하고 20 L H₂O 및 10 L 아세톤으로 세척하였다. 오븐에서 50°C에서 24 h 동안 건조하였다. 28 L DCM에 용해시키고, 40°C에서 1 h 동안 분쇄하였다. 25°C로 냉각시켰다. 여과하고 40 L MeOH로 세척하였다. 오븐에서 50°C에서 48 h 동안 건조하였다. 화합물 3(4.20 kg, 4.53 mol, 71.1% 수율)을 백색 고체로 얻었다. ¹H NMR: 400 MHz CDCl₃ 7.33 (s, 2H), 4.06-4.01 (m, 6H), 1.84-1.76 (m, 6H), 1.50-1.26 (m, 6H), 1.26 (m, 86H), 0.90-0.87 (t, J = 6.8 Hz, 9H).

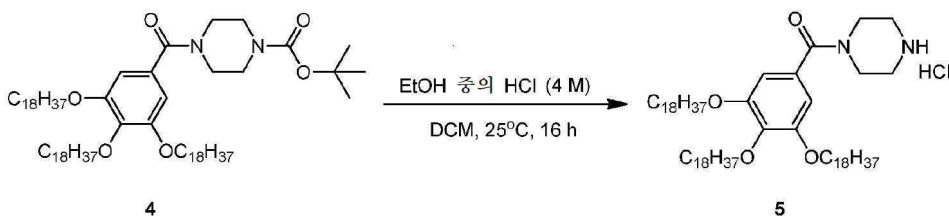
[0845] 화합물 4의 일반 제조 절차



[0846]

[0847] DCM(28 L) 중의 화합물 3(4.00 kg, 4.31 mol, 1.00 eq), EDCI(1.65 kg, 8.62 mol, 2.00 eq) 및 DMAP(105 g, 862 mmol, 0.200 eq)의 혼합물에 tert-부틸 피페라진-1-카르복실레이트(1.04 kg, 5.61 mol, 1.30 eq)를 25°C에서 첨가하였다. 25°C에서 N₂ 하에 16 h 동안 교반하였다. TLC(디클로로메탄/메탄올 = 20/1, 출발 물질 R_f = 0.32, 생성물 R_f = 0.53)는 출발 물질이 검출되지 않은 것으로 나타났다. 50 L MeOH에 붓고, 여과하고 케이크를 30 L MeOH로 세척하였다. 화합물 4(4.62 kg, 4.22 mol, 97.7% 수율)를 백색 고체로 얻었다. ¹H NMR: 400 MHz CDCl₃ 6.57 (s, 2H), 3.97-3.94 (m, 6H), 3.57-3.29 (m, 8H), 1.82-1.71 (m, 6H), 1.47 (m, 16H), 1.25 (m, 16H), 0.89-0.86 (t, J = 6.8 Hz, 9H).

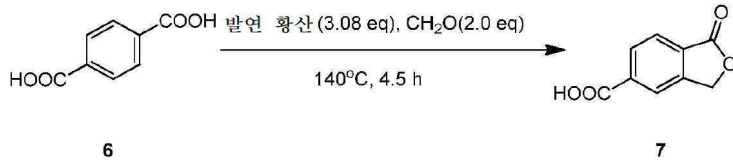
[0848] 화합물 5의 일반 제조 절차



[0849]

[0850] DCM(10 L) 중의 화합물 4(1.50 kg, 1.37 mol, 1.00 eq)의 혼합물에 EtOH 중의 4N HCl(4 M, 3.42 L, 10.0 eq)을 25°C에서 N₂ 하에 한번에 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 16 h 동안 교반하였다. TLC(DCM/MeOH = 20/1, 생성물 R_f = 0.74, 출발 물질 R_f = 0.18)는 화합물 4가 사라진 것으로 나타났다. 여과하고 고체를 5L EtOH로 세척하였다. 화합물 5(3.80 kg, 3.68 mol, 89.6% 수율, HCl 염 형태)를 백색 고체로 얻었다.

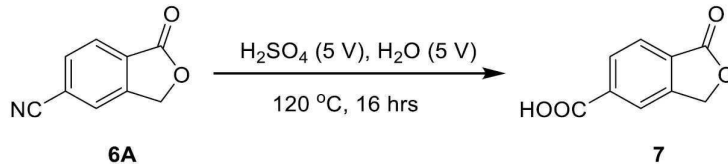
[0851] 화합물 7의 일반 제조 절차



[0852]

[0853] 화합물 6(500 g, 3.01 mol, 1.00 eq) 및 CH₂O(181 g, 6.02 mol, 2.00 eq)의 혼합물에 발연 황산(Oleum)(825 mL)을 25°C에서 N₂ 하에 한번에 첨가하였다. 혼합물을 140°C에서 15 h 동안 교반하였다. 배기 가스 흡수는 10% NaOH 수용액으로 충전하였다. HPLC(출발 물질: RT = 2.73분; 생성물: RT = 2.84분)는 화합물 6이 사라진 것으로 나타났다. 25°C로 냉각시키고, 3300 mL H₂O로 켄칭하였다. 여과하고, pH가 3~4가 될 때까지 H₂O로 세척하였다. 80°C에서 3200 mL DMF로 재결정화시켰다. 여과하고 2 L EtOH로 세척하였다. 진공 하에 건조하였다. 화합물 7(1.60 kg, 조생성물)을 회색 고체로 얻었다. DMF(3200 mL) 중의 화합물 7(1.60 kg, 8.98 mol, 1.00 eq)의 혼합물을 80°C에서 1 h 동안 교반하였다. 16 h의 기간에 걸쳐 서서히 25°C로 냉각시켰다. 여과하고 EtOH 500 mL로 세척하였다. 진공 하에 건조하였다. 화합물 7(620 g, 3.48 mol, 38.7% 수율)을 밝은 오렌지색 고체로 얻었다.

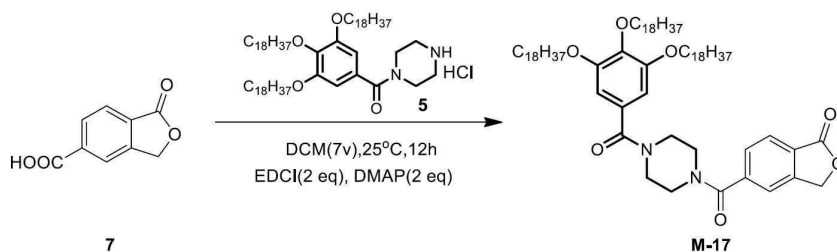
[0854] 별법으로, 화합물 7을 다음 절차에 의해 제조하였다:



[0855]

[0856] 50% H₂SO₄ 수용액(15.0 L)에 화합물 6A(1.50 kg, 9.43 mol, 1.00 eq)를 25°C에서 N₂ 하에 한번에 첨가하였다. 혼합물을 120°C에서 16 hrs 동안 교반하였다. LCMS(ET49477-3-P1A2, 생성물: RT = 0.597분)는 출발 물질이 완전히 소모된 것으로 나타났다. 25°C로 냉각시켰다. H₂O(얼음, 15.0 L)에 붓고, 여과하고 고체를 H₂O(2.00 L x 5)로 세척하였다. 여과 케이크를 진공 오븐(48 hrs 동안 55°C)에서 건조하였다. 화합물 7(2.50 kg, 14.0 mol, 74% 수율, 98.8% 순도)을 백색 고체로 얻었다. ESI⁺: MS: C₉H₆O₄ (M+H)⁺의 계산치 178.0 실측치 178.1. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.19 (s, 1H), 8.09-8.07 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.93-7.91 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 5.45 (s, 2H). ¹³C{¹H} NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 169.9, 166.5, 147.6, 135.7, 129.8, 128.5, 125.1, 124.0, 70.1.

[0857] 화합물 M-17의 일반 제조 절차

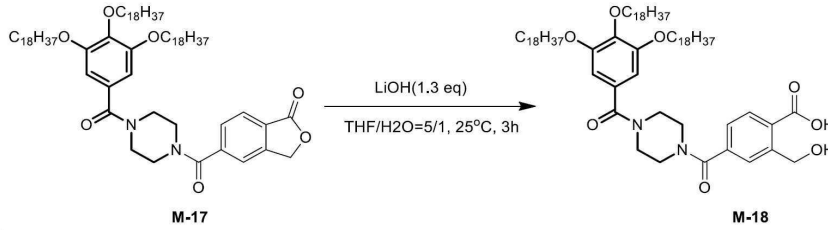


[0858]

[0859] DCM(24 L) 중의 화합물 5(3.60 kg, 3.49 mol, 1.00 eq, HCl) 및 화합물 7(683 g, 3.84 mol, 1.10 eq)의 혼합물에 DMAP(852 g, 6.98 mol, 2.00 eq), EDCI(1.34 kg, 6.98 mol, 2.00 eq)를 25°C에서 N₂ 하에 한번에 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 2 h 동안 교반하였다. TLC(DCM/MeOH = 20/1, 출발 물질 R_f = 0.62, 생성물 R_f = 0)는 출발 물질이 완전히 소모된 것으로 나타났다. EtOH(50 L)에 붓고, 여과하고 EtOH(20 L)로 세척하였다. 화합물 M-17(3.80 kg, 3.29 mol, 94.3% 수율)을 백색 고체로 얻었다. ¹H NMR: 400 MHz CDCl₃ 7.99-7.97 (d, J = 6.8

Hz, 1H), 7.56-7.53 (m, 2H), 6.59 (s, 2H), 5.36 (s, 2H), 3.97-3.94 (t, $J = 6.4$ Hz, 6H), 3.78-3.44 (m, 8H), 1.82-1.71 (m, 7H), 1.46-1.42 (m, 7H), 1.30-1.26 (m, 93H), 0.89-0.86 (t, $J = 6.8$ Hz, 9H)

[0860] 화합물 M-18의 일반 제조 절차



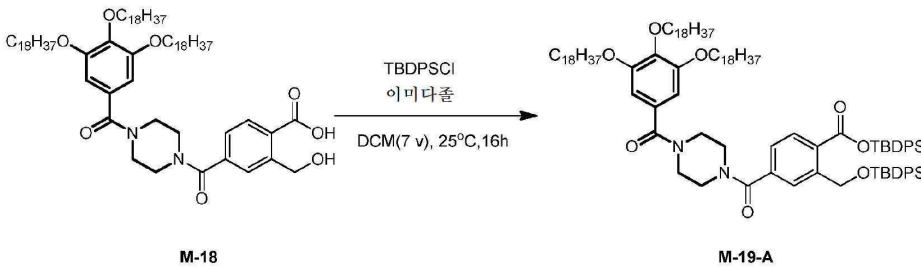
[0861]

[0862]

THF(20 L) 중의 화합물 **M-17**의 혼합물에 H₂O(4000 mL) 중의 LiOH·H₂O(175 g, 4.16 mol, 1.30 eq)의 용액을 25°C에서 N₂ 하에 한번에 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 교반하고 3 h 동안 교반하였다. TLC(DCM/MeOH = 20/1, 출발 물질 R_f = 0.46, 생성물 R_f = 0.05)는 출발 물질이 완전히 소모된 것으로 나타났다. 농축하고 40 L H₂O로 희석하고, 1N HCl(10 L)로 pH를 4~5로 조정하였다. 여과하고 pH가 6~7이 될 때까지 45 L H₂O로 세척하였다. 4L ACN으로 세척하였다. 화합물 **M-18**(3.90 kg, 조생성물)을 백색 고체로 얻었다. ¹H NMR: ET29928-65-P1A1 400 MHz CDCl₃ 8.05-8.00 (m, 1H), 7.57-7.54 (m, 1H), 7.38-7.36 (m, 1H), 6.59 (s, 2H), 6.6 (s, 2H), 4.79 (s, 2H), 3.97-3.94 (m, 8H), 3.81-3.45 (m, 8H), 1.82-1.77 (m, 4H), 1.45 (m, 7H), 1.29-1.25 (m, 90H), 0.89-0.86 (t, $J = 7.2$ Hz, 9H).

[0863]

화합물 M-19-A의 일반 제조 절차



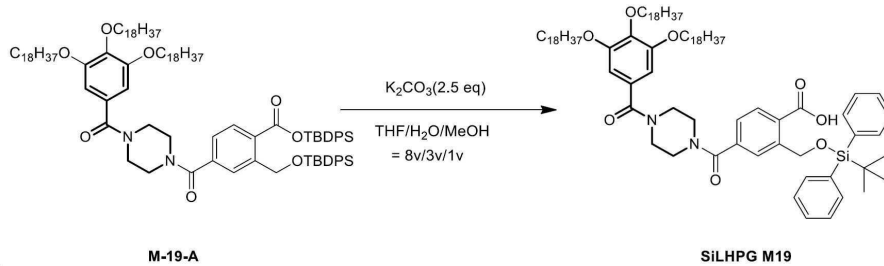
[0864]

[0865]

DCM(20 L) 중의 화합물 **M-18**(1.70 kg, 1.45 mol, 1.00 eq)의 혼합물에 이미다졸(986 g, 14.5 mol, 10.0 eq) 및 TBDPSCI(3.98 kg, 14.5 mol, 3.72 L, 10.0 eq)을 25°C에서 N₂ 하에 한번에 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 교반하고 2 h 동안 교반하였다. TLC(DCM/MeOH = 10/1, 출발 물질 R_f = 0.18, 생성물 R_f = 0.92)는 출발 물질이 완전히 소모된 것으로 나타났다. 반응은 ET29928-70과 함께 진행시켰다. H₂O(15 L x 2)로 세척하고, 유기층을 분리하고, 무수 Na₂SO₄로 건조하고 농축하였다. 화합물 **M-19-A**(5.80 kg, 조생성물)를 백색 고체로 얻었다.

[0866]

화합물 SiLHPG M19의 일반 제조 절차



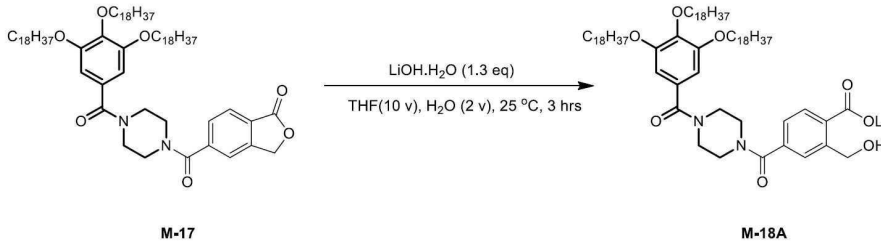
[0867]

[0868]

THF(16 L) 중의 화합물 **M-19-A**(2000 g, 485 mmol, 1.00 eq)의 혼합물에 H₂O(6000 mL) 및 MeOH(2000 mL) 중의 K₂CO₃(87.1 g, 630 mmol, 1.30 eq)의 용액을 25°C에서 N₂ 하에 한번에 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 16 h 동안 교반하였다. TLC(PE/EA = 2/1, 출발 물질 R_f = 0.43, 생성물 R_f = 0)는 출발 물질이 완전히 소모된 것으로

나타났다. 농축하고 10 L H₂O로 희석하고, 1 M KHSO₄로 pH를 5로 조정하고, DCM(10 L x 2)으로 추출하고, 무수 Na₂SO₄로 건조하였다. ~5L로 농축하고, 10 L MeOH에 붓고, 여과하고 MeOH(5 L x 4)로 세척하여 TBDPS 부산물을 제거하였다. DCM(5 L)에 용해시키고 MeCN(10 L)에 적하하고, 여과하고 MeCN(2 L x 4)으로 세척하고, DCM(12 L)에 용해시키고, 실리카 겔 패드를 통해 여과하고, DCM/EtOAc = 1/1(10 L)로 세척하였다. 화합물 **SiLHPG M19**(835 g, 591 mmol, 48.8% 수율)를 백색 고체로 얻었다. ¹H NMR: 400 MHz CDCl₃ δ 8.10-8.08 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.66-7.64 (m, 4H), 7.43-7.32 (m, 7H), 6.59 (s, 2H), 5.21 (s, 2H), 3.99-3.93 (m, 6H), 3.78-3.44 (m, 8H), 1.82-1.75 (m, 6H), 1.47-1.42 (m, 7H), 1.31-1.27 (m, 93H), 1.12 (s, 10H), 0.90-0.87 (t, J = 6.8 Hz, 9H).

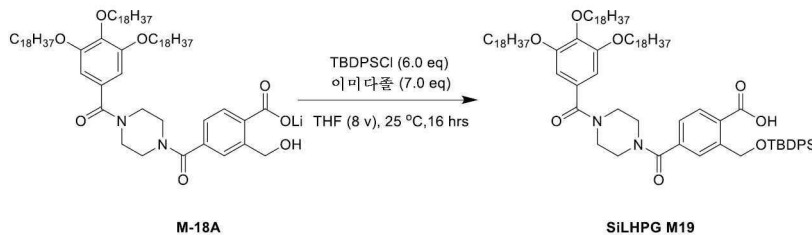
[0869] 화합물 M-18A의 일반 제조 절차



[0870]

[0871] THF(20.0 L) 중의 화합물 M-17(2.00 kg, 1.73 mol, 1.00 eq)의 혼합물에 H₂O(4000 mL) 중의 LiOH.H₂O(94.4 g, 2.25 mol, 1.30 eq)의 용액을 25°C에서 N₂ 하에 한번에 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 교반하고 3 hrs 동안 교반하였다. TLC(디클로로메탄/메탄올 = 20/1, 출발 물질 R_f = 0.5, 생성물 R_f = 0.1)는 출발 물질이 완전히 소모된 것으로 나타났다. ACN(20.0 L)에 붓고 여과하였다. 수집한 고체를 합한 다음 진공 오븐에서 건조하였다(50°C, 10일). 반응은 병렬로 5개의 배치로 수행하였다. 화합물 **M-18A**(10.8 kg, 9.15 mol, 106% 수율, 87.4% 순도)를 백색 고체로 얻었다. HRMS: C₇₄H₁₂₉N₂O₈ (M-Li+2H)⁺의 계산치 1173.9671, 실측치 1173.9755. ¹H NMR: (H-NMR을 위해 Li염을 유리 산으로 중화하였음). 400 MHz, CDCl₃ δ 8.05-8.00 (m, 1H), 7.57-7.54 (m, 1H), 7.38-7.36 (m, 1H), 6.59 (s, 2H), 6.6 (s, 2H), 4.79 (s, 2H), 3.97-3.94 (m, 8H), 3.81-3.45 (m, 8H), 1.82-1.77 (m, 4H), 1.45 (m, 7H), 1.29-1.25 (m, 90H), 0.89-0.86 (t, J = 7.2 Hz, 9H).

[0872] 별법으로, 화합물 **M19**를 다음 절차에 의해 제조하였다:



[0873]

[0874] THF(24.0 L) 중의 화합물 M-18A(3.00 kg, 2.54 mol, 1.00 eq)의 혼합물에 이미다졸(1.21 kg, 17.80 mol, 7.0 eq) 및 TBDPSCI(4.19 kg, 15.3 mol, 3.92 L, 6.0 eq)을 25°C에서 N₂ 하에 5회분으로 나누어 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 교반하고 16 hrs 동안 교반하였다. HPLC(출발 물질 t_R = 5.92분, 생성물 t_R = 9.32분)는 출발 물질이 ~5% 남아 있는 것으로 나타났다. 반응물을 DCM(20.0 L)으로 희석하고 H₂O(20.0 L x 2)로 세척하였다. 그 다음 유기층을 무수 Na₂SO₄로 건조하고, 여과하고 ~7L 농축하고, 15 L MeOH에 붓고, 여과하고 MeOH(5 L x 4)로 세척하여 TBDPS 부산물을 제거하였다. DCM(7 L)에 용해시키고 MeCN(15 L)에 적하하고, 여과하고 MeCN(5 L x 4)으로 세척하고, 여과 케이크를 합하고 오븐에서 건조하였다(50°C, 72 hrs). 화합물 **SiLHPG M19**(13.6 kg, 조성생성물, 89% 순도, 5% M-17, 3% M-18)을 백색 고체로 얻었다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/10에서 4/1)로 정제하였다(10% DCM을 PE 용리액에 첨가하였음). 반응은 병렬로 3개의 배치로 수행하였다. 농축하고 화합물 **SiLHPG M19**(7.20 kg, 5.09 mol, 66.5% 수율, 95.08% 순도)를 백색 고체

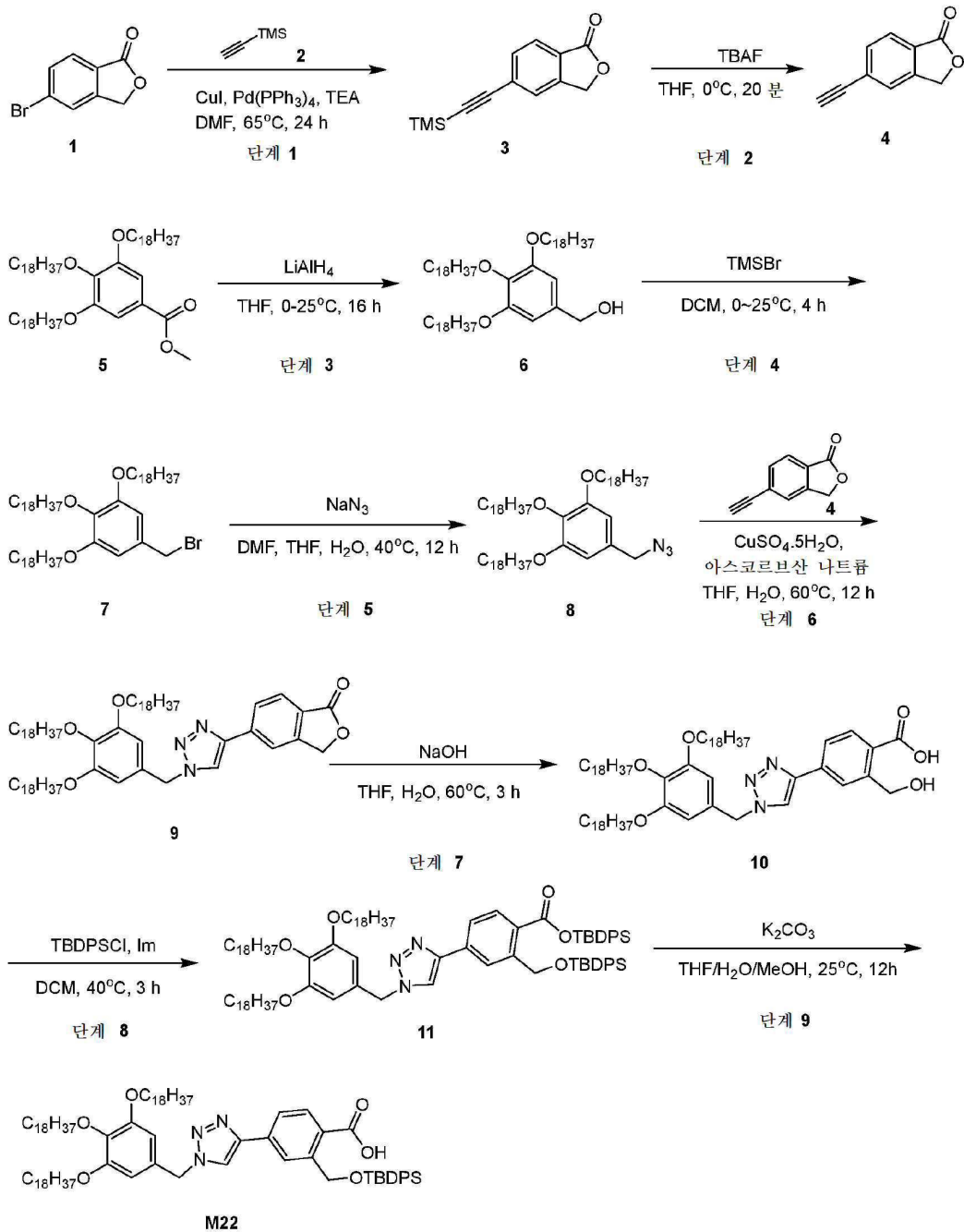
로 얻었다. HRMS: $C_{90}H_{147}N_2O_8Si$ (M+H)⁺에 대한 계산치 1412.0848, 실측치 1412.0908. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.10–8.08 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.66–7.64 (m, 4H), 7.43–7.32 (m, 7H), 6.59 (s, 2H), 5.21 (s, 2H), 3.99–3.93 (m, 6H), 3.78–3.44 (m, 8H), 1.82–1.75 (m, 6H), 1.47–1.42 (m, 7H), 1.31–1.27 (m, 90H), 1.12 (s, 10H), 0.90–0.87 (t, *J* = 6.8 Hz, 9H). ¹³C{¹H} NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 170.8, 169.9, 153.3, 144.7, 139.8, 139.4, 135.4, 134.8, 133.1, 132.1, 129.9, 129.6, 127.9, 127.7, 125.6, 125.1, 105.7, 73.6, 69.3, 64.0, 60.4, 47.5, 42.3, 31.9, 30.3, 29.4–29.7, 26.9, 26.1, 22.7, 14.1.

[0875]

실시예 2. 화합물 M22의 합성

[0876]

a. 화합물 M22의 합성 도식

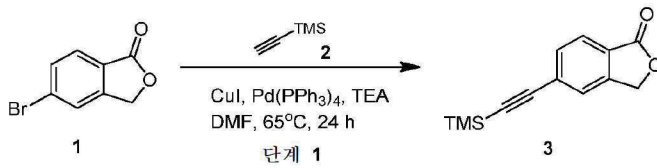


[0877]

[0878]

b. 화합물 M22의 합성 절차

[0879] 화합물 3의 일반 제조 절차



[0880]

[0881] DMF(144 mL) 중의 화합물 1(24.00 g, 113 mmol), 화합물 2(44.2 g, 451 mmol, 62.4 mL), CuI(6.45 g, 33.8mmol), Pd(PPh₃)₄(6.51 g, 5.64 mmol) 및 TEA(5.70 g, 56.3 mmol, 7.83 mL)의 혼합물을 탈기하고 N₂로 3회 퍼징한 다음, 혼합물을 65°C에서 24 h 동안 N₂ 분위기 하에 교반하였다. TLC(석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1, 생성물: RT = 0.43)에서 목적인 생성물이 검출되었다. 여액을 EtOAc(600 mL)로 희석하고 염수(450 mL x 3)로 세척하였다. 유기층을 무수 Na₂SO₄(45.0 g)로 건조하고, 여과하고 감압 하에 농축하여 잔류물을 얻었다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 100/1에서 5/1)로 정제하였다. 화합물 3(15.0 g, 57.8% 수율)을 갈색 고체로 얻었다.

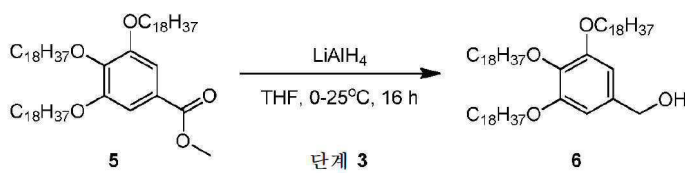
[0882] 화합물 4의 일반 제조 절차



[0883]

[0884] THF(90.0 mL) 중의 화합물 3(15.0 g, 65.1 mmol)의 용액에 TBAF(1.00 M, 65.1 mmol, 65.1 mL)를 첨가하였다. 혼합물을 0°C에서 20분 동안 교반하였다. LCMS(ET25847-215-P1B, RT = 1.446) 및 TLC(석유 에테르/에틸 아세테이트 = 5/1, 생성물: R_f = 0.43)에서 목적인 생성물이 검출되었다. 반응 혼합물을 DCM(300 mL)으로 희석하고 염수(300 mL x 3)로 세척하였다. 합한 유기층을 무수 Na₂SO₄(30.0 g)로 건조하고, 여과하고 감압 하에 농축하여 잔류물을 얻었다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 석유 에테르/에틸 아세테이트 = 30/1에서 5/1)로 정제하였다. 화합물 4(3.20 g, 31.1% 수율)를 황색 고체로 얻었다. ¹H NMR: 400 MHz CDCl₃ 7.84-7.86 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.53-7.63 (m, 2H), 5.29 (s, 2H), 0.28 (s, 9H).

[0885] 화합물 6의 일반 제조 절차



[0886]

[0887] THF(288 mL) 중의 화합물 5(48.0 g, 51.0 mmol)의 용액에 LiAlH₄(3.18 g, 83.6 mmol)를 0°C에서 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 16 h 동안 교반하였다. TLC(DCM/MeOH = 5/1, 생성물: R_f = 0.80)는 화합물 5가 완전히 소모되었고 하나의 새로운 스폿(spot)이 형성된 것으로 나타났다. Na₂SO₄·10H₂O(90.0 g)를 첨가하여 반응 혼합물을 켄칭한 다음 여과하였다. 여액을 농축하였다. 잔류물을 DCM(900 mL)으로 희석하고 물(450 mL x 2), 염수(600 mL)로 세척하고 무수 Na₂SO₄(90.0 g)로 건조하고, 여과하고 감압 하에 농축하여 잔류물을 얻었다. 화합물 6(40.0 g, 조생성물)을 백색 고체로서 얻었다. ¹H NMR: 400 MHz CDCl₃ 6.57 (s, 2H), 4.60-4.61 (d, J = 4.0 Hz, 2H), 3.93-4.00 (m, 6H), 1.71-1.84 (m, 6H), 1.27-1.31 (m, 90H), 0.87-0.91 (t, J = 6.4 Hz, 9H).

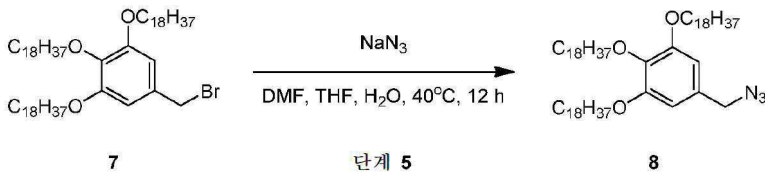
[0888] 화합물 7의 일반 제조 절차



[0889]

[0890] DCM(240 mL) 중의 화합물 6(40.0 g, 43.8 mmol)의 용액에 TMSBr(8.04 g, 52.5 mmol, 6.82 mL)을 0°C에서 첨가하고 1 h 동안 교반하였다. 그 다음 혼합물을 25°C에서 3 h 동안 교반하였다. TLC(DCM/MeOH = 20/1, 생성물: R_f = 0.95)는 화합물 6이 완전히 소모되었고 하나의 새로운 스폿이 형성된 것으로 나타났다. 반응 혼합물을 합하고 감압 하에 농축하여 용매를 제거하였다. 잔류물을 DCM(200 mL)에 용해시키고 ACN(1.00 L)으로 분쇄하였다. 고체를 ACN(200 mL x 3)으로 세척하고 여과하였다. 그 다음 농축하였다. 화합물 7(42.0 g, 98.2% 수율)을 연황색 고체로 얻었다. ¹H NMR: 400 MHz CDCl₃ 6.58 (s, 2H), 4.44 (s, 2H), 3.93-3.99 (m, 6H), 1.72-1.84 (m, 6H), 1.27-1.47 (m, 90H), 0.87-0.91 (t, J = 6.4 Hz, 9H).

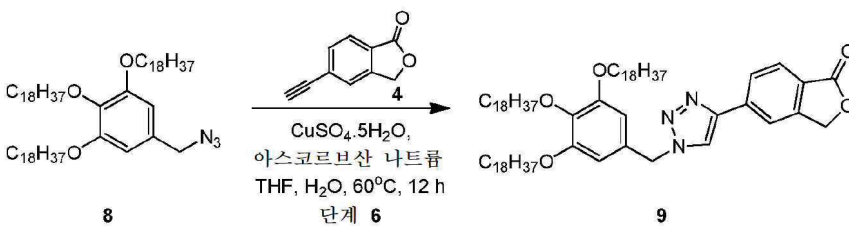
[0891] 화합물 8의 일반 제조 절차



[0892]

[0893] DMF(252 mL) 및 THF(200 mL) 중의 화합물 7(42.0 g, 43.0 mmol)의 용액에 H₂O(36.0 mL) 중의 NaN₃(4.20 g, 64.5 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 40°C에서 12 h 동안 교반하였다. TLC(석유 에테르/에틸 아세테이트 = 10/1, 생성물: RT = 0.66)는 화합물 7이 완전히 소모되었고 하나의 새로운 스폿이 형성된 것으로 나타났다. 반응 혼합물을 DCM(300 mL)으로 희석하고 염수(450 mL x 3)로 세척하였다. 합한 유기 층을 무수 Na₂SO₄(30.0 g)로 건조하고, 여과하고 감압 하에 농축하여 잔류물을 얻었다. 화합물 8(40.0 g, 조생성물)을 백색 고체로 얻었다. ¹H NMR: 400 MHz CDCl₃ 6.49 (s, 2H), 4.25 (s, 2H), 3.94-4.00 (m, 6H), 1.75-1.84 (m, 6H), 1.27-1.49 (m, 90H), 0.87-0.91 (t, J = 6.4 Hz, 9H).

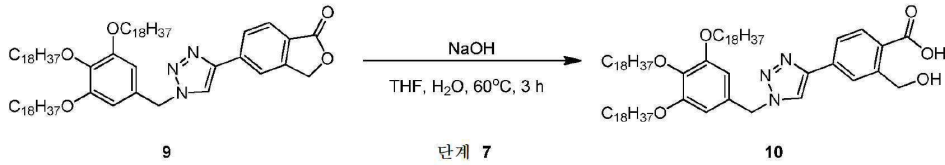
[0894] 화합물 9의 일반 제조 절차



[0895]

[0896] THF(16.2 mL) 및 H₂O(5.40 mL) 중의 화합물 9(2.70 g, 2.88 mmol), 화합물 4(682 mg, 4.32 mmol), 아스코르브산 나트륨(570 mg, 2.88 mmol), CuSO₄·5H₂O (360 mg, 1.44 mmol)의 혼합물을 탈기하고 N₂로 3회 퍼징한 다음, 혼합물을 N₂ 분위기 하에 70°C에서 12 h 동안 교반하였다. TLC(석유 에테르/에틸 아세테이트 = 3/1, R_f = 0.22)에서 목적인 생성물이 검출되었다. 그 다음 여과하고 감압 하에 농축하여 용매를 제거하였다. 잔류물을 DCM(60.0 mL)에 용해시키고 MeOH(600 mL)로 분쇄하였다. 화합물 9(3.00 g, 조생성물)를 황색 고체로 얻었다.

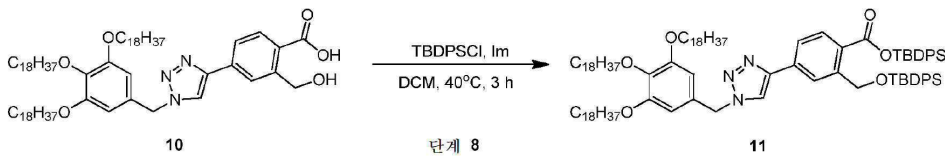
[0897] 화합물 10의 일반 제조 절차



[0898]

[0899] THF(18.0 mL) 중의 화합물 9(3.00 g, 2.74 mmol)의 용액에 H₂O(3.60 mL) 중의 NaOH(438 mg, 11.0 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 60°C에서 3 h 동안 교반하였다. TLC(석유 에테르/에틸 아세테이트 = 2/1, 생성물: R_f = 0.04)는 화합물 9가 완전히 소모되었고 하나의 새로운 스폿이 형성된 것으로 나타났다. 이 반응물은 상기 반응물(ET258474-259)과 합했다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축하여 THF를 제거하였다. 잔류물을 H₂O(300 mL)로 희석하였다. 용액을 HCl(1.00 M)로 pH ~2로 조정하고 H₂O로 pH ~7로 여과하고 감압 하에 농축하여 잔류물을 얻었다. 그 다음 ACN(100 mL)으로 세척하였다. 화합물 10(4.80 g, 조생성물)을 연황색 고체로 얻었다.

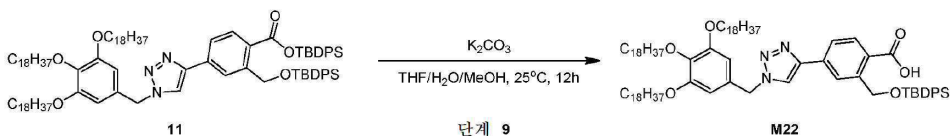
[0900] 화합물 11의 일반 제조 절차



[0901]

[0902] DCM(28.8 mL) 중의 화합물 10(4.80 g, 4.32 mmol)의 용액에 TBDPSCI(2.96 g, 10.8 mmol, 2.77 mL) 및 Im(880 mg, 12.9 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 40°C에서 3 h 동안 교반하였다. TLC(석유 에테르/에틸 아세테이트 = 2/1, 생성물: R_f = 0.94)는 화합물 10이 완전히 소모되었고 하나의 새로운 스폿이 형성된 것으로 나타났다. NaHCO₃(150 mL)를 첨가하여 반응 혼합물을 쉐킷하고, DCM(300 mL)으로 추출하였다. 합한 유기층을 염수(300 mL x 2)로 세척하고, 무수 Na₂SO₄로 건조하고, 여과하고 감압 하에 농축하여 잔류물을 얻었다. 조생성물을 DCM(90.0 mL)에 재용해시키고 격렬하게 교반하면서 MeOH(600 mL)에 적하하였다. 목적인 생성물을 석출시키고, 여과하고 감압 하에 농축하여 잔류물을 얻었다. 그 다음 MeOH(300 mL x 3)로 세척하였다. 화합물 11(6.05 g, 조생성물)을 백색 고체로 얻었다.

[0903] 화합물 M22의 일반 제조 절차



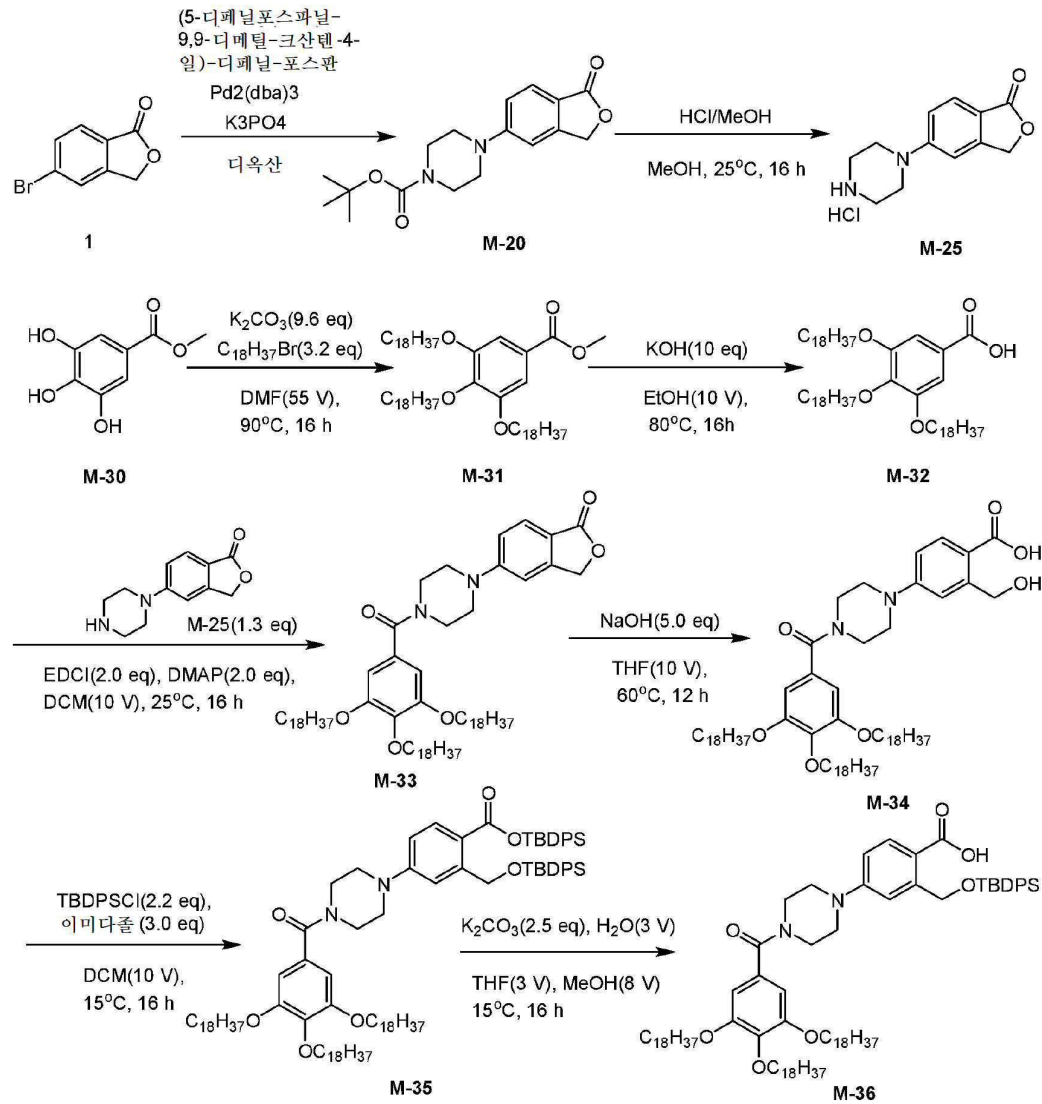
[0904]

[0905] THF(36.0 mL) 및 MeOH(6.00 mL) 중의 화합물 11(6.00 g, 3.76 mmol)의 용액에 H₂O(12 mL) 중의 K₂CO₃(1.30 g, 9.42 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 12 h 동안 교반하였다. TLC(석유 에테르/에틸 아세테이트 = 2/1, 생성물: R_f = 0.43)는 화합물 11이 완전히 소모되었고 하나의 새로운 스폿이 형성된 것으로 나타났다. 반응물을 합하고 감압 하에 농축하였다. 염수(200 mL)를 첨가하여 반응 혼합물을 쉐킷하고, KHSO₄ 수용액(200 mL, 1.00 M)으로 pH ~2로 조정하였다. 그 다음 이를 DCM(300 mL)으로 추출하고 염수(100 mL x 2)로 세척하고, 무수 Na₂SO₄로 건조하고, 여과하고 감압 하에 농축하여 잔류물을 얻었다. 조생성물을 DCM(50.0 mL)에 재용해시키고 격렬하게 교반하면서 MeOH(300 mL)에 적하하였다. 목적인 생성물을 석출시키고 여과하였다. 화합물 SiLHPG M22(4.5 g, 88.2% 수율)를 백색 고체로 얻었다. ¹H NMR: 400 MHz CDCl₃ 8.17 (s, 1H), 8.12-8.10 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.94-7.92 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.72-7.64 (m, 5H), 7.39-7.30 (m, 6H), 6.52 (s, 2H), 5.47 (s, 2H), 5.18 (s, 2H), 3.97-3.92 (m, 6H), 1.82-1.74 (m, 6H), 1.47-1.42 (m, 6H), 1.31-1.26 (m, 84H), 1.11 (s, 9H), 0.90-0.87 (t, J = 6.8 Hz, 9H).

[0906] 실시예 3. 화합물 M36의 합성

[0907]

a. 화합물 M36의 합성 도식



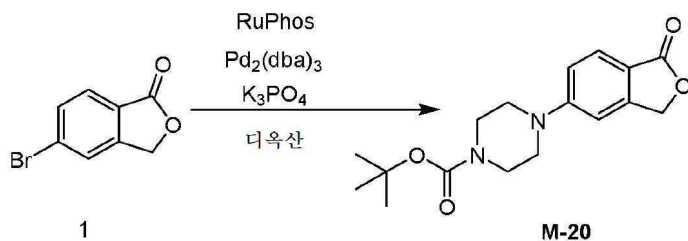
[0908]

[0909]

b. 화합물 M36의 합성 절차

[0910]

화합물 M20의 일반 제조 절차



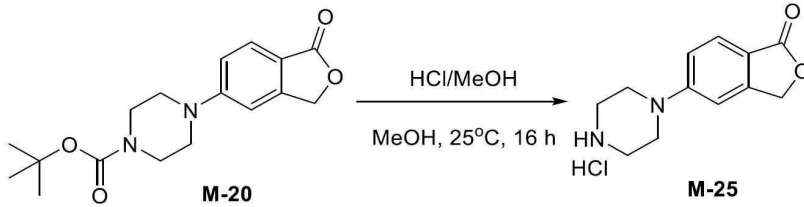
[0911]

[0912]

N_2 로 충전된 3목 둥근 바닥 플라스크에 화합물 1(70 g, 328 mmol, 1.00 eq), tert-부틸 피페라진-1-카르복실레이트(61.2 g, 328. mmol, 1 eq), K_3PO_4 (139 g, 657.19 mmol, 2 eq) 및 Tol.(700ml)을 첨가하였다. 혼합물을 퍼징하고 N_2 로 3회 탈기시켰다. 그 다음 RuPhos(15.3 g, 32.8 mmol, 0.1 eq) 및 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (10.71 g, 16.43 mmol, 0.05 eq)를 용액에 첨가하였다. 반응액을 퍼징하고 N_2 로 3회 탈기하고 100°C 로 데웠다. 100°C 에서 16 h 동안 교반하였다. 반응액이 검게 변하였다. TLC(석유 에테르/에틸 아세테이트= 2/1, 출발 물질 Rf = 0.70, 생성물 Rf = 0.30)는 출발 물질이 소모되었고 새로운 지점(point)이 형성된 것으로 나타났다. 반응물을 20°C 로 냉각시켰다. 그 다음 여과하여 고체를 제거하고 에틸 아세테이트로 두 번(1000 mL 및 500 mL) 세척하였다. 유

기층을 합하고 농축하여 조생성물 고체를 얻었다. 고체를 MTBE:DCM(800 mL, V/V=10/1) 용액과 함께 16 hrs 동안 교반하였다. 그 다음 여과하여 오일 펌프 하에 건조된 고체를 얻었다. M20을 회백색 고체로 얻었다(64 g, 201.03 mmol, 61.18% 수율). ¹H NMR: 400 MHz CDCl₃ 7.76 (d, *J* = 8.8 Hz 1H), 7.01 (dd, *J* = 2.0Hz, *J* = 8.8Hz, 1H), 6.80 (s, 1H), 5.21 (s, 2H), 3.59-3.62(m, 4H), 3.35-3.38 (m, 4H), 1.49 (s, 9H).

[0913] 화합물 M25의 일반 제조 절차



[0914]

[0915] DCM(60 mL) 중의 M-20(30.0 g, 1.0 eq)의 용액에 HCl/MeOH(150 ml, 6.37 eq, 4 M)를 첨가하였다. 혼합물을 25 °C에서 16 hr 동안 교반하였다. TLC(디클로로메탄:메탄올= 20:1, R_f = 0.0)는 반응물 M20이 완전히 소모된 것으로 나타났다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축하여 MeOH 및 DCM을 제거하였다. 조생성물을 DCM(200 ml)으로 세척하였다. 그 다음 이를 여과하고 감압 하에 농축하여 화합물 M-35(27 g, 조생성물)를 백색 고체로 얻었다. ¹H NMR: 400 MHz DMSO-d₆ 9.43 (s, 1H), 7.66 (d, *J* = 8.4Hz 1H), 7.13-7.18 (m, 2H), 5.28(s, 2H), 3.60-3.63(m, 4H), 3.16-3.19 (m, 4H).

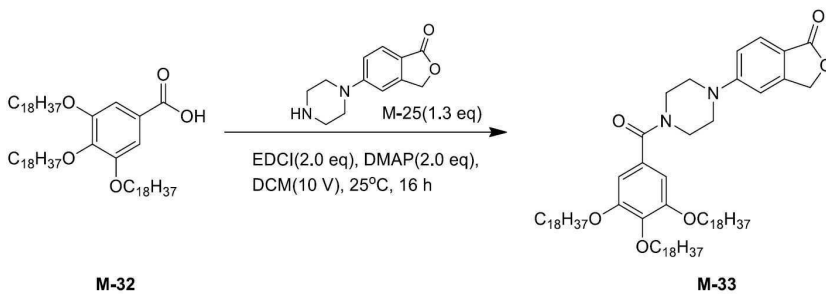
[0916] 화합물 M31의 일반 제조 절차

[0917] 실시예 1의 화합물 2를 제조하는 동일한 절차에 근거하여 화합물 M31을 제조하였다.

[0918] 화합물 M32의 일반 제조 절차

[0919] 실시예 1의 화합물 3을 제조하는 동일한 절차에 근거하여 화합물 M32를 제조하였다.

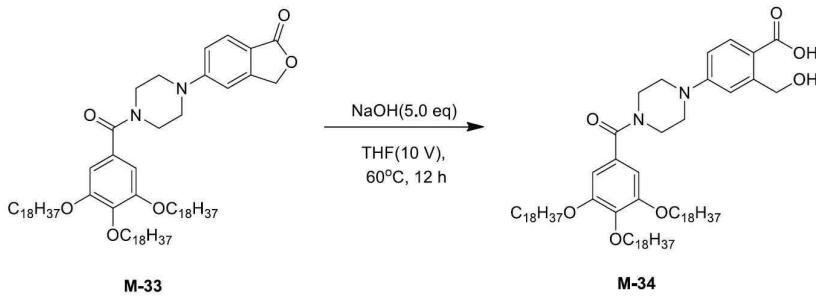
[0920] 화합물 M33의 일반 제조 절차



[0921]

[0922] DCM(50 mL) 중의 화합물 M-32(80.0 g, 1.0 eq)의 용액에 DMAP(21.1 g, 2.0 eq), M-25(28.4 g, 1.3 eq) 및 EDCI(33.1 g, 2.0 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 16 hr 동안 교반하였다. TLC(디클로로메탄:메탄올= 20:1, R_f = 0.60)는 반응물 M-32가 완전히 소모된 것으로 나타났다. NaHCO₃(800 mL)를 첨가하여 반응 혼합물을 퀀칭하고, DCM(800 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기층을 염수(800 mL)로 세척하고, 무수 Na₂SO₄로 건조하고, 여과하고 감압 하에 농축하여 조생성물을 얻었고, 이를 DCM(160 mL)에 재용해시키고 격렬하게 교반하면서 ACN(4800 ml)에 적하하였다. 고체를 여과 수집하고 감압 하에 건조하여 화합물 M-33(96.0 g, 85.1 mmol, 98.69% 수율)을 백색 고체로 얻었다. ¹H NMR: 400 MHz CDCl₃ 7.78 (d, *J* = 8.4Hz 1H), 7.78 (d, *J* = 8.4Hz 1H), 6.82 (s, 1H), 6.63(s, 2H), 5.22(s, 2H), 3.97(t, *J* = 6.4Hz 1H), 3.41-3.98 (m, 8H), 1.75-1.84 (m, 6H), 1.26-1.48 (m, 96H), 0.88(t, *J* = 6.4Hz 9H).

[0923] 화합물 M34의 일반 제조 절차

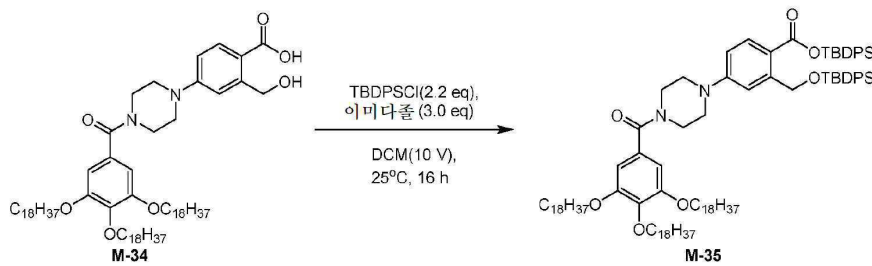


[0924]

[0925] THF(1160 mL) 중의 M-33(116 g, 1.0 eq)의 용액에 NaOH(20.56 g, 5.0 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 60°C에서 12 hr 동안 교반하였다. TLC(디클로로메탄:메탄올= 20:1, Rf = 0.50)는 반응물 1이 완전히 소모된 것으로 나타났다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축하여 THF를 제거하였다. 잔류물을 H₂O 1.5 L로 희석하였다. 용액을 HCl(1M)로 pH=5~6으로 조정하고 여과하고 감압 하에 농축하여 잔류물을 얻었다. 조생성물을 DCM, THF 및 ACN과 함께 6회 공증발시켰다. 화합물 M-34(87 g, 75.93 mmol, 73.82% 수율)를 연황색 고체로 얻었다. ¹H NMR: 400 MHz CDCl₃ 8.01 (d, J = 8.4Hz, 1H), 7.22 (s, 1H), 6.85 (s, 1H), 6.75 (d, J = 8.8Hz, 1H), 6.68(s, 2H), 4.74(s, 2H), 3.97, \ (t, J = 6.4Hz, 6H), 3.41-3.98 (m, 8H), 1.70-1.81 (m, 6H), 1.26-1.48 (m, 96H), 0.83(t, J = 6.4Hz, 9H),

[0926]

화합물 M35의 일반 제조 절차

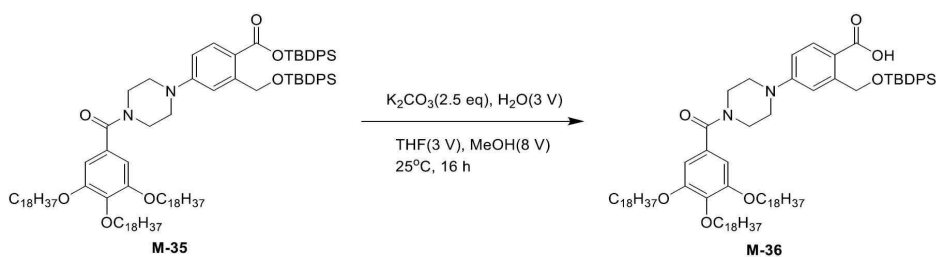


[0927]

[0928] DCM(870 mL) 중의 화합물 M-34(87 g, 1.0 eq)의 용액에 이미다졸(14.96 g, 3.0 eq) 및 TBDPSCI(41.5 mL, 2.2 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 16 hr 동안 교반하였다. TLC(디클로로메탄:메탄올= 20:1, Rf = 0.90)는 반응물 M-34가 완전히 소모된 것으로 나타났다. NaHCO₃ 600 mL를 첨가하여 반응 혼합물을 캔칭하고, DCM(700 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기층을 염수(500 mL x 2)로 세척하고, 무수 Na₂SO₄로 건조하고, 여과하고 감압 하에 농축하여 조생성물을 얻었고, 이를 DCM(800 mL)에 재용해시키고 격렬하게 교반하면서 ACN(2.5 L)에 적하하였다. 고체를 여과하고 감압 하에 농축하여 화합물 M-35(118 g, 조생성물)를 황색 고체로 얻었다. HPLC는 출발 물질이 완전히 소모된 것으로 나타났다.

[0929]

화합물 M36의 일반 제조 절차



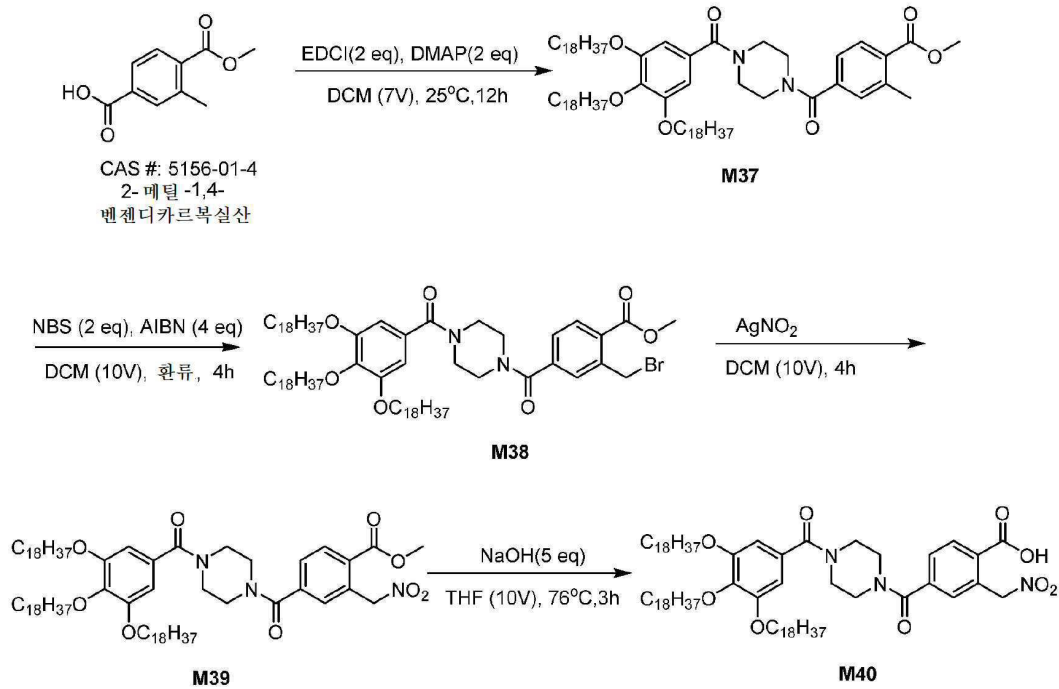
[0930]

[0931] THF(345ml) 및 MeOH(920 mL) 중의 화합물 M-35(115 g, 1.0 eq)의 용액에 H₂O(345 mL) 중의 K₂CO₃(24.72 g, 2.5 eq)의 용액을 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 16 hr 동안 교반하였다. TLC(디클로로메탄:메탄올= 20:1, Rf = 0.43)는 화합물 M-35가 완전히 소모된 것으로 나타났다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축하여 1/4 용매를 제거하였다. 잔류물을 염수 450 mL로 희석하고 DCM(500 mL x 4)으로 추출하였다. 합한 유기층을 염수(500 mL x 3)

로 세척하고, 무수 Na₂SO₄로 건조하고, 여과하고 감압 하에 농축하여 잔류물을 얻었다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, 디클로로메탄/에틸 아세테이트=1/0에서 10/1)로 정제하였다. 화합물 M-36(25 g, 93% 순도)을 백색 고체로 얻었다. ¹H NMR: 400 MHz CDCl₃ 7.99 (d, *J* = 8.4Hz, 1H), 7.67-7.69 (m, 4H), 7.33-7.40 (m, 7H), 6.75 (dd, *J* = 2.0Hz, *J* = 8.8Hz, 1H), 6.63(s, 2H), 5.18(s, 2H), 3.97-4.00(m, 6H), 3.38-3.98 (m, 8H), 1.70-1.81 (m, 6H), 1.26-1.48 (m, 90H), 0.90(s, 9H), 0.83(t, *J* = 6.4Hz, 9H).

[0932] 실시예 4. 화합물 M40의 합성

[0933] a. M40 합성 도식



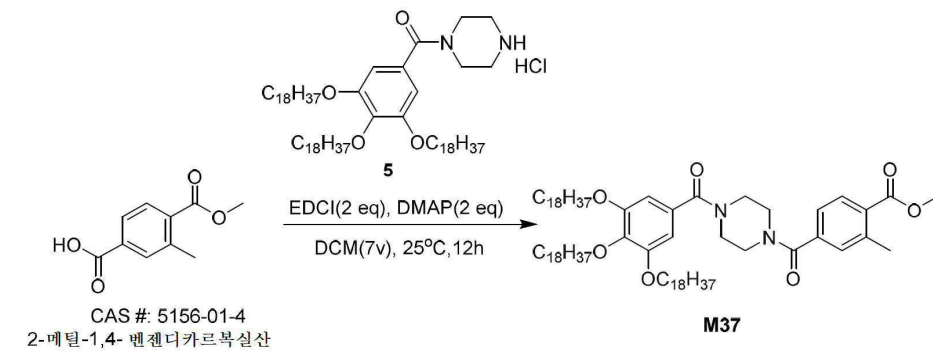
[0934]

[0935] b. 화합물 M40의 합성 절차

[0936] 화합물 M37의 일반 제조 절차

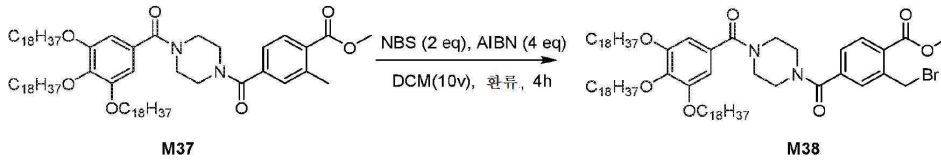
[0937]

[0938]



DCM(7V) 중의 화합물 2-메틸-1,4-벤젠디카르복실산(1.1 eq) 및 화합물 5(1.10 eq)의 혼합물에 DMAP(2.00 eq), EDCI(2.00 eq)를 N₂ 하에 25°C에서 한번에 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 2 h 동안 교반하였다. TLC는 출발 물질이 완전히 소모된 것으로 나타났다. 반응 혼합물을 EtOH(50 V)에 붓고, 여과하고 EtOH(10V)로 세척하였다. 화합물 M37을 백색 고체로 얻었다.

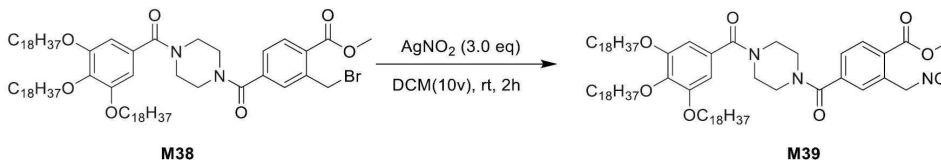
[0939] 화합물 M38의 일반 제조 절차



[0940]

[0941] DCM(10 V) 중의 화합물 M37(1.0 eq) 및 AIBN(4.0 eq)의 혼합물에 N₂ 하에 25°C에서 NBS(2.0 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 4 h 동안 환류시켰다. TLC는 출발 물질이 완전히 소모된 것으로 나타났다. 냉각 후, 혼합물을 포화 수성 NaHCO₃로 세척하였다. 혼합물을 MgSO₄로 건조하고 여액을 농축하고 잔류물을 ACN에 석출시켜 흰색 고체 M38을 얻었다. 문헌 *JOC*, 2008, 73, 9125-9128 참조.

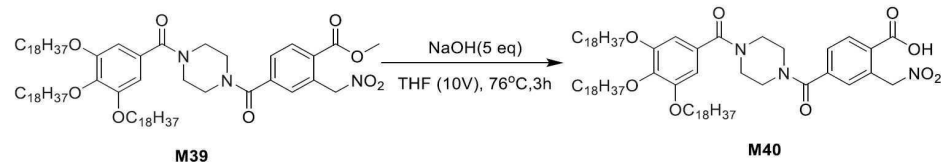
[0942] 화합물 M39의 일반 제조 절차



[0943]

[0944] DCM(10 V) 중의 화합물 M38(1.0 eq)의 용액에 AgNO₂(3.0 eq)를 25°C에서 N₂ 하에 첨가하였다. 혼합물을 2 h 동안 교반하였다. TLC는 출발 물질이 완전히 소모된 것으로 나타났다. 혼합물을 포화 수성 NaHCO₃로 세척하였다. 혼합물을 MgSO₄로 건조하고 여액을 농축하고 잔류물을 ACN에 석출시켜 흰색 고체 M39를 얻었다. 문헌 *Synthesis* 1980, 814-815 참조.

[0945] 화합물 M40의 일반 제조 절차

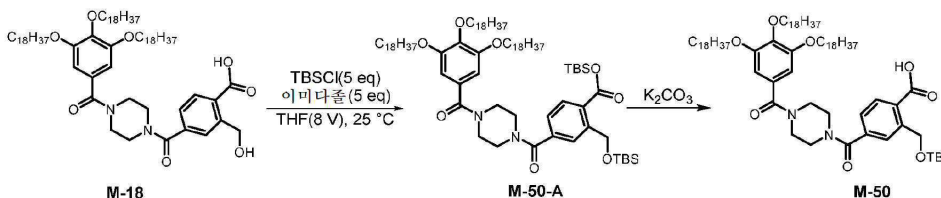


[0946]

[0947] THF(10 V) 중의 화합물 M39(1.0 eq)의 용액에 1.0M NaOH(5.0 eq) 용액을 N₂ 하에 25°C에서 천천히 한번에 첨가 하였다. 혼합물을 25°C에서 교반하고 3 h 동안 교반하였다. TLC는 출발 물질이 완전히 소모된 것으로 나타났다. 농축하고 H₂O(50 V)로 희석하고, 1N HCl로 pH를 4~5로 조정하였다. 여과하고 pH가 6~7이 될 때까지 H₂O로 세척하였다. ACN으로 세척하였다. 화합물 M40을 백색 고체로서 72% 수율 및 90% 순도로 얻었다.

[0948] 실시예 5. 화합물 M50의 합성

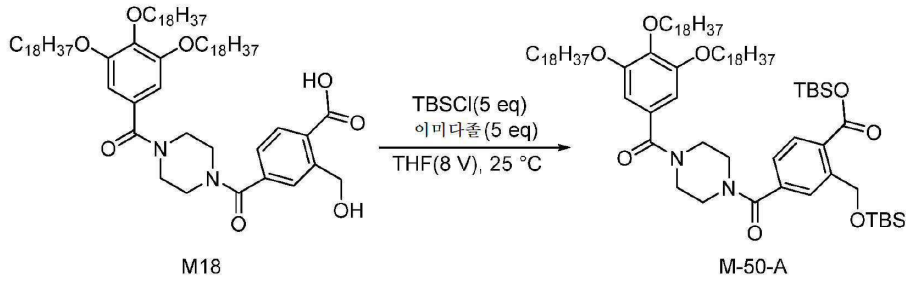
[0949] a. 화합물 M50의 합성 도식



[0950]

[0951] b. 화합물 M50의 합성 절차

[0952] 화합물 M-50-A의 일반 제조 절차

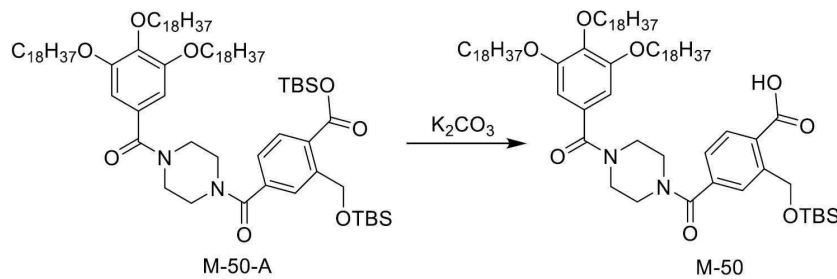


[0953]

[0954] THF(16.0 mL) 중의 화합물 **M-18**(2.0 g, 1.70 mmol, 1.00 eq)의 용액에 이미다졸(579.99 mg, 8.52 mmol, 5.00 eq) 및 TBSCl(1.28 g, 8.52 mmol, 1.04 mL, 5.00 eq)을 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 2 hrs 동안 교반하였다. HPLC는 출발 물질이 완전히 소모된 것으로 나타났다. 잔류물을 H₂O(50 mL)로 희석하고 DCM(2 x 30 mL)으로 추출하였다. 합한 유기층을 무수 Na₂SO₄로 건조하고, 여과하고 감압 하에 농축하여 잔류물을 얻었다. 화합물 **M-50-A**(2.39 g, 조생성물)를 백색 고체로 얻었다.

[0955]

화합물 M-50의 일반 제조 절차



[0956]

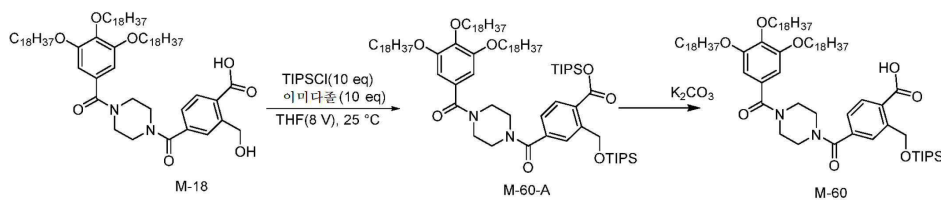
[0957] THF(19.0 mL) 및 MeOH(2.30 mL) 중의 화합물 **M-50-A**(2.39 g, 1.70 mmol, 1.00 eq)의 용액에 H₂O(7.0 mL) 중의 K₂CO₃(305.44 mg, 2.21 mmol, 1.30 eq)의 용액에 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 3 hrs 동안 교반하였다. TLC(DCM/MeOH = 20/1, 출발 물질 R_f = 0.50, 생성물 R_f = 0.30)는 출발 물질이 완전히 소모된 것으로 나타났다. 1 M KHSO₄(5 mL)로 pH를 5로 조정하였다. 잔류물을 H₂O(50 mL)로 희석하고 DCM(2 x 30 mL)으로 추출하였다. 합한 유기층을 무수 Na₂SO₄로 건조하고, 여과하고 감압 하에 농축하여 잔류물을 얻었다. 조생성물을 25°C에서 30분 동안 ACN(30 V, 70.0 mL)으로 분쇄하였다. 여과 및 농축하였다. 화합물 **M-50**(1.00 g, 93.8% 순도, 45.67% 수율)을 백색 고체로 얻었다.

[0958]

실시예 6. 화합물 M60의 합성

[0959]

a. 화합물 M60의 합성 도식

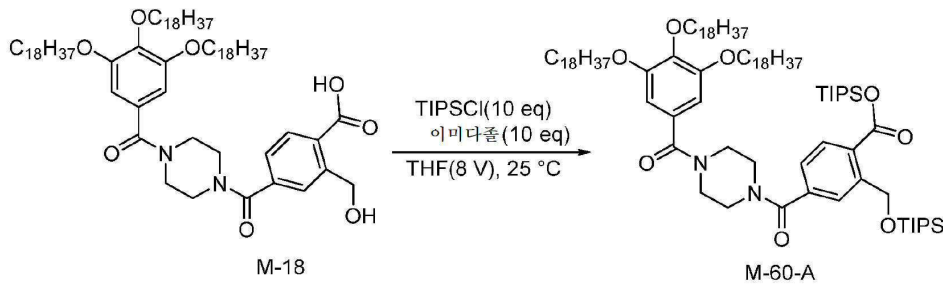


[0960]

[0961]

b. 화합물 M60의 합성 절차

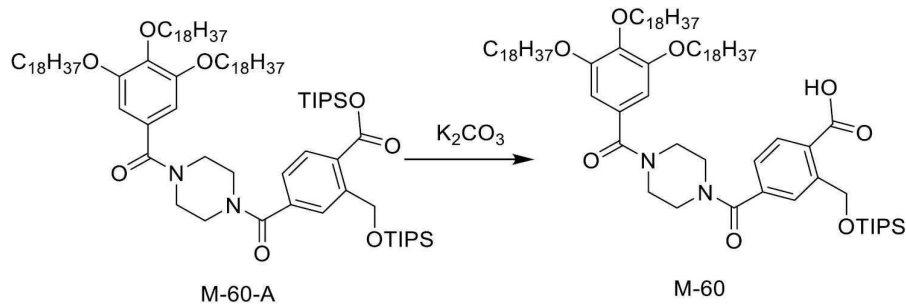
[0962] 화합물 M-60-A의 일반 제조 절차



[0963]

[0964] DCM(8.0 mL) 중의 화합물 M-18(1.0 g, 0.85 mmol, 1.00 eq)의 용액에 이미다졸(579.99 mg, 8.52 mmol, 10.0 eq) 및 TIPSCl(1.64 g, 8.52 mmol, 10.00 eq)을 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 8 hrs 동안 교반하였다. HPLC는 출발 물질이 완전히 소모된 것으로 나타났다. 잔류물을 H₂O(50 mL)로 희석하고 DCM(2 x 30 mL)으로 추출하였다. 합한 유기층을 무수 Na₂SO₄로 건조하고, 여과하고 감압 하에 농축하여 잔류물을 얻었다. 화합물 M-60-A(1.27 g, 조생성물)를 백색 고체로 얻었다.

[0965] 화합물 M-60의 일반 제조 절차



[0966]

[0967] THF(10.4 mL) 및 MeOH(1.30 mL) 중의 화합물 M-60-A(1.27 g, 0.85 mmol, 1.00 eq)의 용액에 H₂O(4.0 mL) 중의 K₂CO₃(153.5 mg, 1.11 mmol, 1.30 eq)의 용액을 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 3 hrs 동안 교반하였다. 1 M KHSO₄(3 mL)로 pH를 5로 조정하였다. 잔류물을 H₂O(50 mL)로 희석하고 DCM(2 x 30 mL)으로 추출하였다. 합한 유기층을 무수 Na₂SO₄로 건조하고, 여과하고 감압 하에 농축하여 잔류물을 얻었다. 조생성물을 25°C에서 30분 동안 ACN(30 V, 70.0 mL)으로 분쇄하였다. 여과 및 농축하여 화합물 M-60(0.90 g, 92% 순도, 72.7% 수율)을 백색 고체로 얻었다. C₈₃H₁₄₉N₂O₈Si⁺ [M⁺H⁺]에 대한 질량 계산치: 1330.1, 실측치 1330.4.

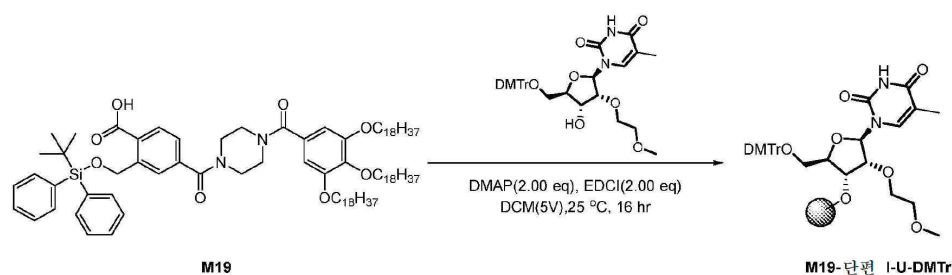
[0968] 실시예 7. 시약 M19로부터 올리고뉴클레오티드 단편 A의 합성

[0969] a. 올리고뉴클레오티드 단편 A의 합성 도식

[0970] 단편 A는 도 2에 도시된 합성 도식에 따라 합성하였다.

[0971] b. M19로부터 올리고뉴클레오티드 단편 A의 합성 절차

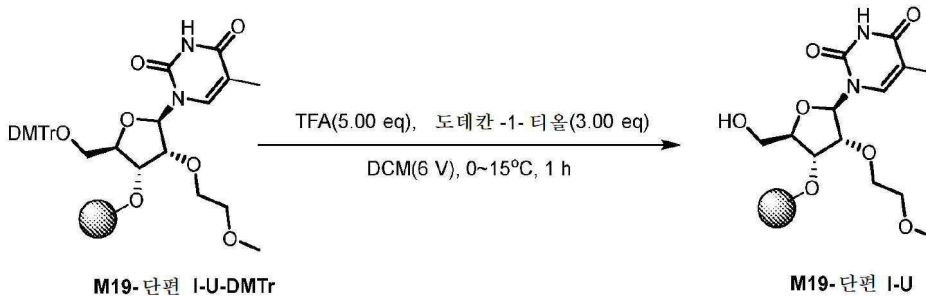
[0972] 화합물 M19-단편 I-U-DMTr의 일반 제조 절차



[0973]

[0974] DCM(200 mL) 중의 M19(20.00 g, 14.16 mmol, 1.00 eq) 및 dU(13.14 g, 21.24 mmol, 1.50 eq)의 용액에 DMAP(3.46 g, 28.32 mmol, 2.00 eq) 및 EDCI(5.43 g, 28.32 mmol, 2.00 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 16 hr 동안 교반하였다. TLC(디클로로메탄:메탄올 = 15:1, 생성물, R_f = 0.70)는 반응이 완료되고 하나의 새로운 스폿이 형성된 것으로 나타났다. TLC에 따르면 반응은 클린(clean)하였다. 반응 혼합물을 NaHCO₃(5% aq, 100 mL)로 세척하고, 무수 Na₂SO₄로 건조하고, 여과하고 감압 하에 농축하여 잔류물을 3 V로 얻었다. 격렬하게 교반하면서 조생성물을 MeOH(600 ml, 30 V)에 적하하였다. 목적한 생성물이 석출되었다. 화합물 M19-단편 I-U-DMTr(27.00 g, 13.31 mmol, 94.54% 수율)을 백색 고체로 얻었다.

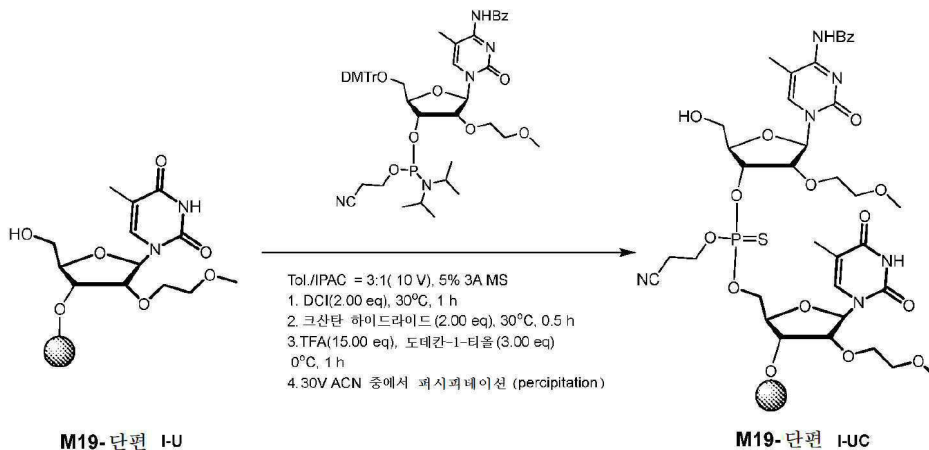
[0975] 화합물 M19-단편 I-U의 일반 제조 절차



[0976]

[0977] DCM(170 mL) 중의 M19-단편 I-U-DMTr(27.0 g, 13.31 mmol, 1.00 eq)의 용액에 도데칸-1-티올(8.15 g, 39.93 mmol, 9.64 mL, 3.00 eq) 및 TFA(7.59 g, 66.55 mmol, 4.92 mL, 5.00 eq)를 0°C에서 첨가하였다. 혼합물을 0°C에서 1 hr 동안 교반하였다. TLC(디클로로메탄:메탄올 = 15:1, 생성물, R_f = 0.54)는 반응물이 완전히 소모되고 하나의 새로운 스폿이 형성된 것으로 나타났다. TLC에 따르면 반응은 클린하였다. NaHCO₃(5% aq, 100 mL)를 첨가하여 반응 혼합물을 케칭한 다음, DCM(100 mL)으로 추출하였다. 합한 유기층을 염수(100 mL x 2)로 세척하고, 무수 Na₂SO₄로 건조하고, 여과하고 감압 하에 농축하여 잔류물을 얻었다. 조생성물을 DCM(30 mL)에 재용해시키고 격렬하게 교반하면서 MeOH/ACN(3:1, 450 ml)에 적하하였다. 목적한 생성물이 석출되어 화합물 M19-단편 I-U(15.00 g, 8.77 mmol, 65.51% 수율, 및 98.5% 순도)를 백색 고체로 얻었다.

[0978] 화합물 M19-단편 I-UC의 일반 제조 절차

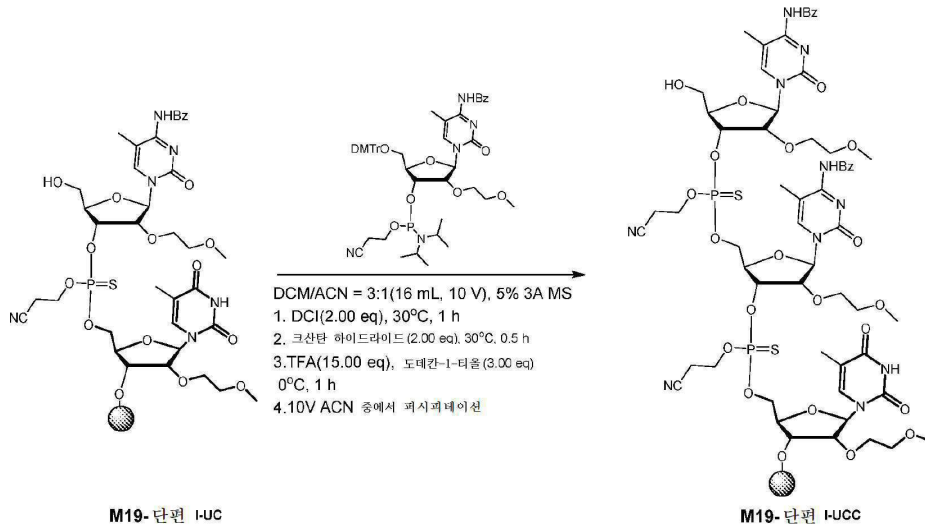


[0979]

[0980] Tol./IPAC = 3:1(120 mL) 중의 M19-단편 I-U(15.00 g, 8.76 mmol, 1.00 eq) 및 dC(12.12 g, 13.14 mmol, 1.50 eq)의 용액에 3A MS(7.50 g)를 첨가하고 1 hr 동안 교반하였다. 그 다음 혼합물에 DCI(2.07 g, 17.55 mmol, 2.00 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 30°C에서 1 hr 동안 교반하였다. TLC(디클로로메탄:메탄올 = 20:1, 생성물: R_f = 0.53)는 반응물 M19-단편 I-U가 완전히 소모되고 하나의 새로운 스폿이 형성된 것으로 나타났다. TLC에 따르면 반응은 클린하였다. 조생성물에 HX(2.64 g, 17.55 mmol, 2.00 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 30°C에서 0.5 hr 동안 교반한 후, 혼합물에 도데칸-1-티올(5.31 g, 26.31 mmol, 6.30 mL, 3.00 eq) 및 TFA(15.00 g, 134.49 mmol, 9.75 mL, 15.00 eq)를 0°C에서 첨가하였다. 혼합물을 0°C에서 1 hr 동안 교반하였다. TLC(디클로로메탄:메탄올 = 20:1, 생성물: R_f = 0.43)는 반응물이 완전히 소모되고 하나의 새로운 스폿이 형성된 것으로 나타났다. TLC에 따르면 반응은 클린하였다. NMI(175.2 mmol, 14 mL, 20.00 eq)로 반응 혼합물을 pH 7로 희

석하고, 여과하고 감압 하에 농축하여 잔류물을 얻었다. 여과액을 ACN(800 ml)에 적하하고, 0.5 h 동안 석출시키고, 9 cm 부호너 깔대기로 3.5 h 동안 여과하여 14.3g(98% 수율, 97.7% 순도)을 백색 고체로 얻었다.

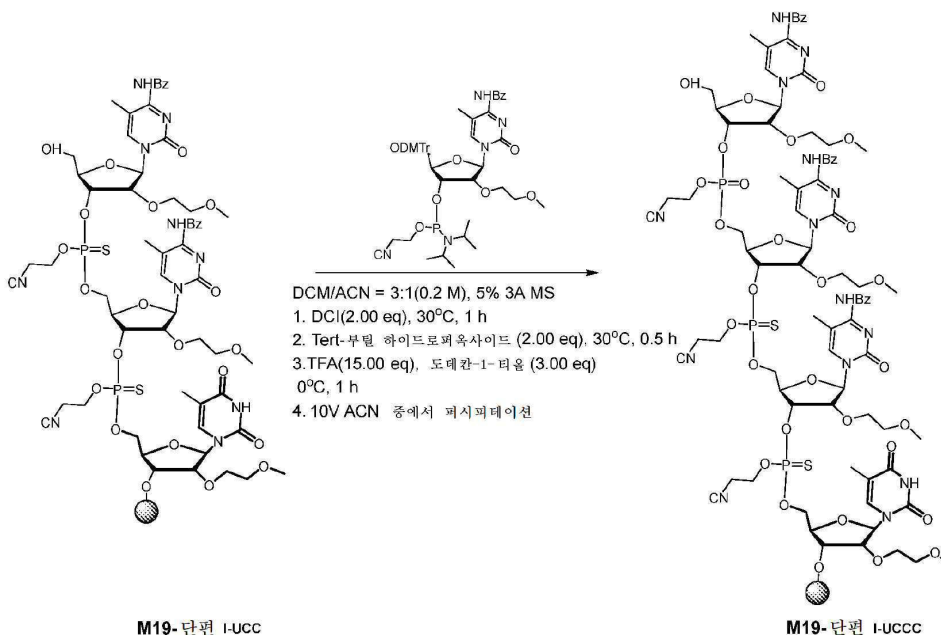
[0981] 화합물 M19-단편 I-UCC의 일반 제조 절차



[0982]

[0983] Tol./IPAC = 3:1(150 mL) 중의 M19-단편 I-UC(19.00 g, 8.40 mmol, 1.00 eq) 및 dC(11.55 g, 12.60 mmol, 1.50 eq)의 용액에 3A 분자체(7.5 g)를 첨가하였다. 혼합물을 1 hr 동안 교반한 다음, DCI(1.97 g, 16.80 mmol, 2.00 eq)를 첨가하였다. 그 다음 30°C에서 1 hr 동안 교반하였다. TLC(디클로로메탄:메탄올 = 20:1, 생성물: Rf = 0.53)는 화합물 M19-단편 I-UC가 완전히 소모되고 하나의 새로운 스폿이 형성된 것으로 나타났다. TLC에 따르면 반응은 클린하였다. 혼합물에 HX(2.51 g, 16.80 mmol, 2.00 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 30°C에서 0.5 hr 동안 교반한 다음, 도데칸-1-티올(5.04 g, 25.20 mmol, 5.94 mL, 3.00 eq) 및 TFA(14.16 g, 126 mmol, 9.21 mL, 15.00 eq)를 0°C에서 첨가하였다. 혼합물을 0°C에서 1 hr 동안 교반하였다. TLC(디클로로메탄:메탄올 = 15:1, 생성물: Rf = 0.43)는 반응이 완료되고 하나의 새로운 스폿이 형성된 것으로 나타났다. TLC에 따르면 반응은 클린하였다. 반응 혼합물에 NMI(168 mmol, 14.5 mL, 20.00 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 ACN(800 mL)에 적하하였다. 고체를 0.5 h 동안 석출시키고 15 cm 부호너 깔때기로 2.0 h 동안 여과하여 15.4 g(94% 수율, 95.0% 순도)을 백색 고체로 얻었다.

[0984] 화합물 M19-단편 I-UCCC의 일반 제조 절차



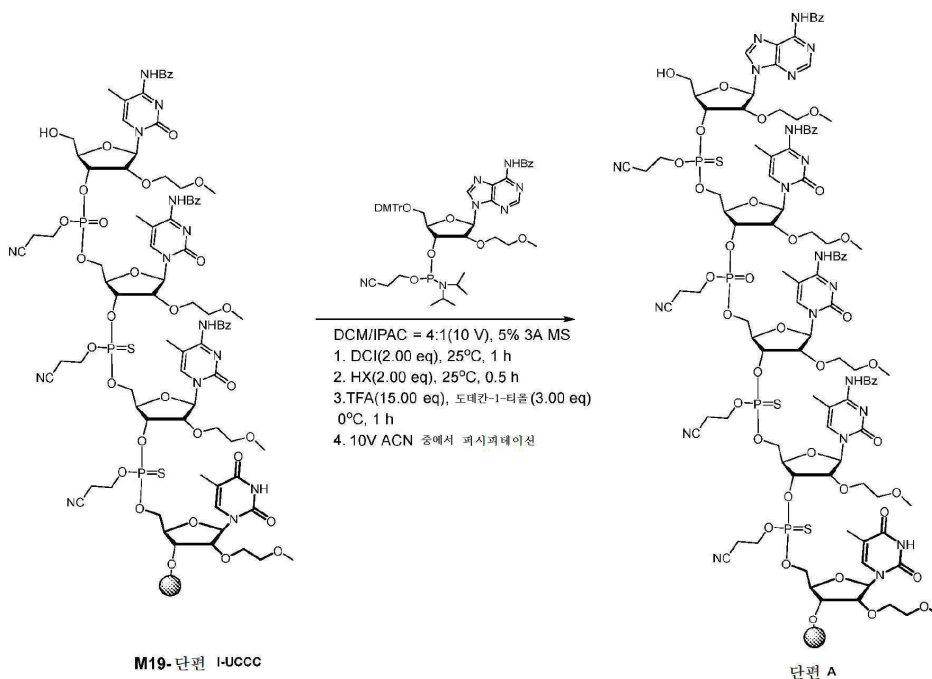
[0985]

[0986] Tol./ACN = 3:1(40 mL) 중의 M19-단편 I-UCC(5.00 g, 1.78 mmol, 1.00 eq) 및 dC(2.46 g, 2.67 mmol, 1.50

eq)의 용액에 3A MS(2.0 g)를 첨가하였다. 혼합물을 30℃에서 1 hr 동안 교반한 다음, DCI(420.05 mg, 3.56 mmol, 2.00 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 30℃에서 1 hr 동안 교반하였다. TLC(디클로로메탄:메탄올 = 15:1, 생성물: $R_f = 0.53$)는 반응이 완료되고 하나의 새로운 스폿이 형성된 것으로 나타났다. TLC에 따르면 반응은 클린하였다. 혼합물에 tert-부틸 하이드رو퍼옥사이드(320.5 mg, 3.56 mmol, 2.00 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 30℃에서 0.5 hr 동안 교반한 다음, 도데칸-1-티올(1.08 g, 5.34 mmol, 1.28 mL, 3.00 eq) 및 TFA(3.04 g, 26.68 mmol, 1.98 mL, 15.00 eq)를 0℃에서 첨가하였다. 혼합물을 0℃에서 1 hr 동안 교반하였다. TLC(디클로로메탄:메탄올 = 20:1, 생성물: $R_f = 0.43$)는 반응이 완료되고 하나의 새로운 스폿이 형성된 것으로 나타났다. NaHCO_3 (2%) 100 mL 및 Na_2SO_3 (2eq)를 0℃에서 첨가하여 반응 혼합물을 켄칭하고, 여과하고 DCM(80 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기층을 염수(100 mL x 2)로 세척하고, 무수 Na_2SO_4 로 건조하고, 여과하고 감압 하에 농축하여 잔류물을 얻고, 격렬하게 교반하면서 ACN(200mL)에 적하하였다. 목적한 생성물이 석출되었다. 케이크를 ACN(30 mL*2)으로 세척하고, 7 cm 부호너 깔때기로 1.5 h 동안 여과하여 5.00 g(84% 수율, 90.9% 순도)을 백색 고체로 얻었다.

[0987]

올리고뉴클레오타이드 단편 A의 일반 제조 절차



[0988]

[0989]

Tol./ACN = 3:1(40 mL) 중의 M19-단편 I-UCCC(4.00 g, 1.20 mmol, 1.00 eq) 및 dA(1.67 g, 1.79 mmol, 1.50 eq)의 용액에 3A MS(2.0 g)를 첨가하였다. 혼합물을 30℃에서 1 hr 동안 교반한 후, DCI(282.36 mg, 2.39 mmol, 2.00 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 30℃에서 1 hr 동안 교반하였다. TLC(디클로로메탄:메탄올 = 20:1, 생성물: $R_f = 0.53$)는 반응이 완료되고 하나의 새로운 스폿이 형성된 것으로 나타났다. TLC에 따르면 반응은 클린하였고, 그 후 글루코스(0.5 eq)를 첨가하였다. 혼합물에 HX(358.99 mg, 2.39 mmol, 2.00 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 30℃에서 0.5 hr 동안 교반한 다음, 도데칸-1-티올(725.66 mg, 3.59 mmol, 0.86 mL, 3.00 eq) 및 TFA(2.04 g, 17.93 mmol, 1.33 mL, 15.00 eq)를 0℃에서 첨가하였다. 혼합물을 0℃에서 1 hr 동안 교반하였다. TLC(디클로로메탄:메탄올 = 15:1, 생성물: $R_f = 0.43$)는 반응이 완료되고 하나의 새로운 스폿이 형성된 것으로 나타났다. 0℃에서 NaHCO_3 (2%) 80 mL를 첨가하여 반응 혼합물을 켄칭하고, 여과하고 DCM(50 mL x 3)으로 추출하였다. 합한 유기층을 염수(80 mL x 2)로 세척하고, 무수 Na_2SO_4 로 건조하고, 여과하고 감압 하에 농축하여 잔류물을 얻고, 격렬하게 교반하면서 ACN(200 mL)에 적하하였다. 목적한 생성물이 석출되었다. 케이크를 ACN(30 mL*2)으로 세척하고, 7 cm 부호너 깔때기로 1.5 h 동안 여과하여, 단편 A 4.20g(85% 수율, 86.4% 순도)을 흰색 고체로 얻었다.

[0990]

실시예 8. 시약 M19로부터 올리고뉴클레오타이드 단편 B의 합성

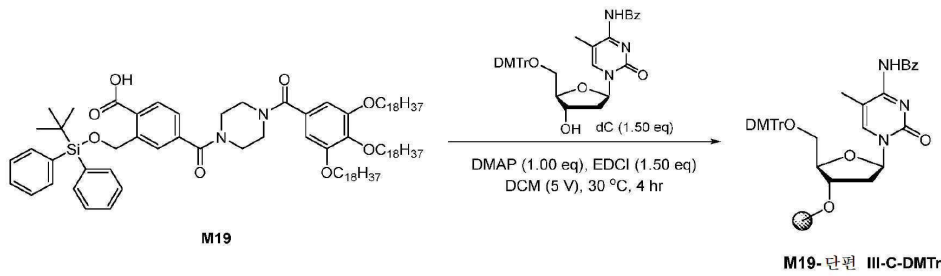
[0991]

a. 올리고뉴클레오타이드 단편 B의 합성 도식

[0992] 도 3에 도시된 합성 도식에 따라 단편 B를 합성하였다.

[0993] b. M19로부터 올리고뉴클레오타이드 단편 B의 합성 절차

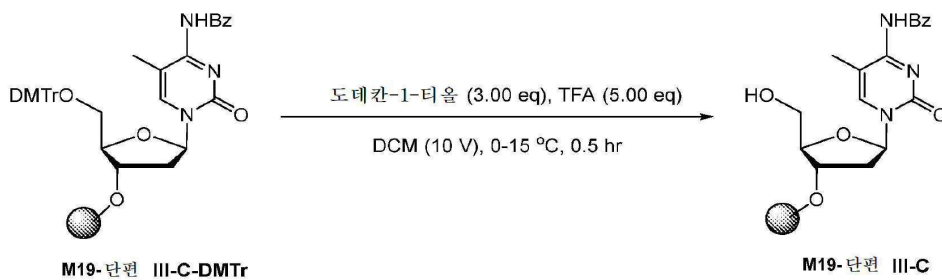
[0994] 화합물 M19-단편 III-C-DMTr의 일반 제조 절차



[0995]

[0996] DCM(200 mL) 중의 M19(20.00 g, 14.16 mmol, 1.00 eq) 및 dC(13.76 g, 21.24 mmol, 1.50 eq)의 용액에 DMAP(1.73 g, 14.16 mmol, 1.00 eq) 및 EDCI(4.08 g, 21.24 mmol, 1.50 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 30°C에서 12 hr 동안 교반하였다. TLC(디클로로메탄:메탄올 = 10:1, 생성물, R_f = 0.70)는 반응이 완료되고 하나의 새로운 스폿이 형성된 것으로 나타났다. TLC에 따르면 반응은 클린하였다. 반응 혼합물을 NaHCO₃(300 mL)로 세척하고, 무수 Na₂SO₄로 건조한 후, 여과하고 감압 하에 농축하여 잔류물을 5 V로 얻고, 격렬하게 교반하면서 ACN/MeOH(3:1, 1000 ml, 50 V)에 적하하였다. 목적한 생성물이 석출되었다. 화합물 M19-단편 III-C-DMTr(28.90 g, 14.15 mmol, 99.94% 수율)을 백색 고체로 얻었다.

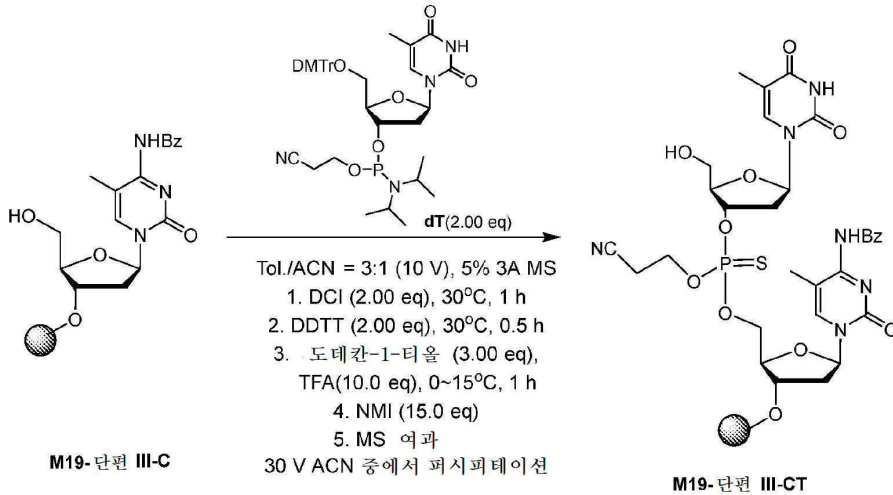
[0997] 화합물 M19-단편 III-C의 일반 제조 절차



[0998]

[0999] DCM(250 mL) 중의 M19-단편 III-C-DMTr(28.0 g, 13.72 mmol, 1.00 eq)의 용액에 도데칸-1-티올(8.32 g, 41.12 mmol, 9.84 mL, 3.00 eq) 및 TFA(7.80 g, 68.56 mmol, 5.08 mL, 5.00 eq)을 첨가하였다. 혼합물을 0°C에서 1 hr 동안 교반하였다. TLC(디클로로메탄:메탄올 = 10:1, 생성물, R_f = 0.54)은 반응이 완료되고 하나의 새로운 스폿이 형성된 것으로 나타났다. TLC에 따르면 반응은 클린하였다. 반응 혼합물을 NMI(9.00 g, 109.72 mmol, 8.76 mL, 8.00 eq)로 희석하였다. 격렬하게 교반하면서 조생성물을 ACN(900 ml, 30V)에 적하하였다. 목적한 생성물이 석출되었다. 화합물 M19-단편 III-C(23.00 g, 13.22 mmol, 96.42% 수율)를 백색 고체로 얻었다.

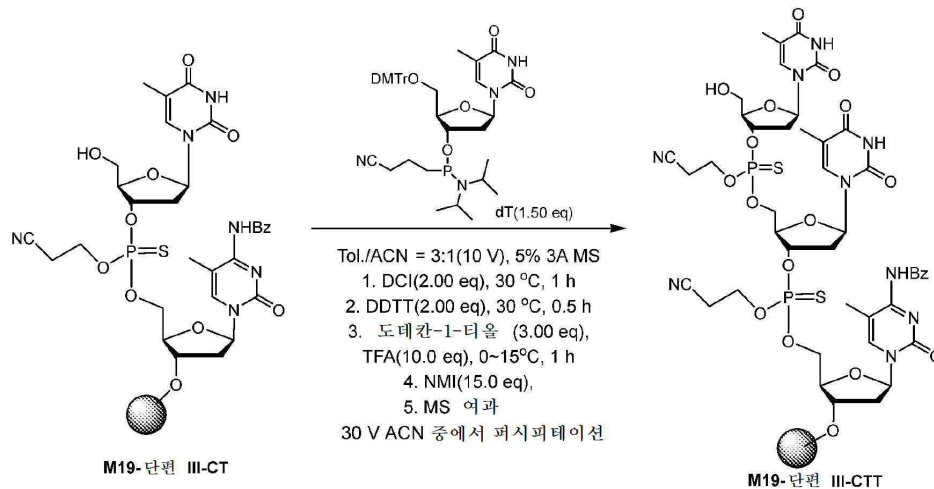
[1000] 화합물 **M19-단편 III-CT**의 일반 제조 절차



[1001]

[1002] Tol./ACN = 3:1(140 mL) 중의 **M19-단편 III-C**(16.00 g, 9.20 mmol, 1.00 eq) 및 **dT**(10.28 g, 13.80 mmol, 1.50 eq)의 용액에 3A MS(7.00 g)를 첨가하고 1 hr 동안 교반하였다. 혼합물에 DCI(2.17 g, 18.40 mmol, 2.00 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 1 hr 동안 교반하였다. TLC(디클로로메탄:메탄올 = 20:1, 생성물: Rf = 0.53)는 반응이 완료되고 하나의 새로운 스폿이 형성된 것으로 나타났다. TLC에 따르면 반응은 클린하였다. 반응 혼합물에 HX(2.77 g, 18.42 mmol, 2.00 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 30°C에서 0.5 hr 동안 교반한 다음, 도데칸-1-티올(5.61 g, 27.70 mmol, 6.63 mL, 3.00 eq) 및 TFA(10.53 g, 92.33 mmol, 6.84 mL, 10.00 eq)를 0°C에서 첨가하였다. 혼합물을 0°C에서 0.5 hr 동안 교반하였다. TLC(디클로로메탄:메탄올 = 20:1, 생성물: Rf = 0.45)는 반응이 완료되고 하나의 새로운 스폿이 형성된 것으로 나타났다. TLC에 따르면 반응은 클린하였다. 반응 혼합물을 NMI(11.37 g, 138.50 mmol, 11.04 mL, 15.00 eq)로 희석하였다. 조생성물을 ACN(500 mL, 30 V)에 적하하고, 0.5 h 동안 석출시키고, 15 cm 부흐너 깔대기로 1.5 h 동안 여과하여 **M19-단편 III-CT** 14.0g(93.30% 수율, 97.28% 순도)을 백색 고체로 얻었다.

[1003] 화합물 **M19-단편 III-CTT**의 일반 제조 절차

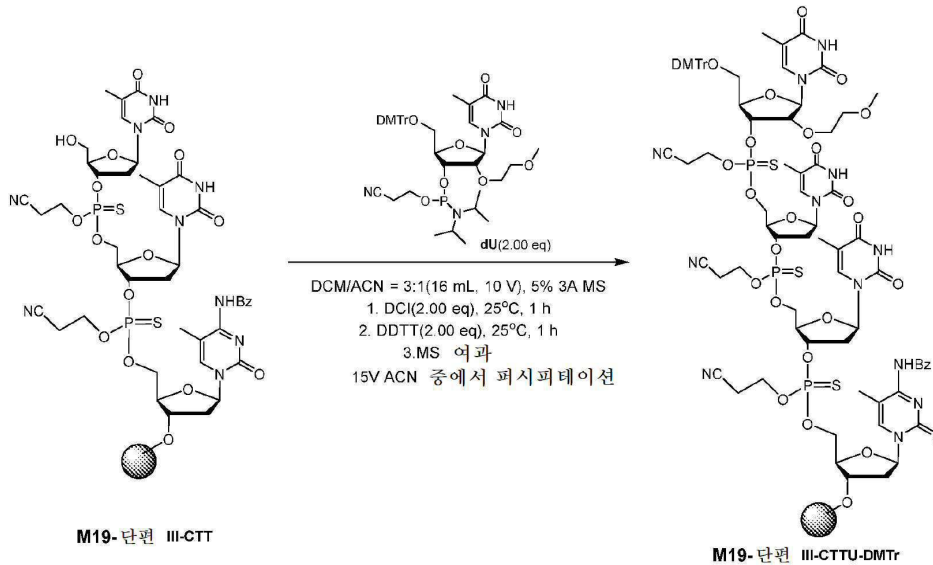


[1004]

[1005] Tol./ACN = 3:1(120 mL) 중의 **M19-단편 III-CT**(15.00 g, 7.10 mmol, 1.00 eq) 및 **dT**(7.93 g, 10.65 mmol, 1.50 eq)의 용액에 3A 분자체(2.00 g)를 첨가하였다. 혼합물을 1 hr 동안 교반한 다음, DCI(1.68 g, 14.20 mmol, 2.00 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 30°C에서 1 hr 동안 교반하였다. TLC(디클로로메탄:메탄올 = 20:1, 생성물: Rf = 0.42)는 반응이 완료되고 하나의 새로운 스폿이 형성된 것으로 나타났다. TLC에 따르면 반응은 클린하였다. 조생성물에 HX(2.16 g, 14.37 mmol, 2.00 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 30°C에서 0.5 hr 동안 교반한 다음, 도데칸-1-티올(4.37 g, 21.57 mmol, 5.17 mL, 3.00 eq) 및 TFA(8.20 g, 71.90 mmol, 5.32 mL, 10.00 eq)를 0°C에서 첨가하였다. 혼합물을 0°C에서 0.5 hr 동안 교반하였다. TLC(디클로로메탄:메탄올 = 10:1, 생성물: Rf = 0.54)는 반응이 완료되고 하나의 새로운 스폿이 형성된 것으로 나타났다. TLC에 따르면 반

응은 클린하였다. 반응 혼합물에 NMI(8.86 g, 107.85 mmol, 8.60 mL, 15.00 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 ACN(200 mL, 30 V)에 적하하고, 0.5 h 동안 석출시킨 다음, 7 cm 부호너 깔대기로 1.0 h 동안 여과하여, M19-단편 III-CTT 5.76g(96.60% 수율, 93.99% 순도)을 백색 고체로 얻었다.

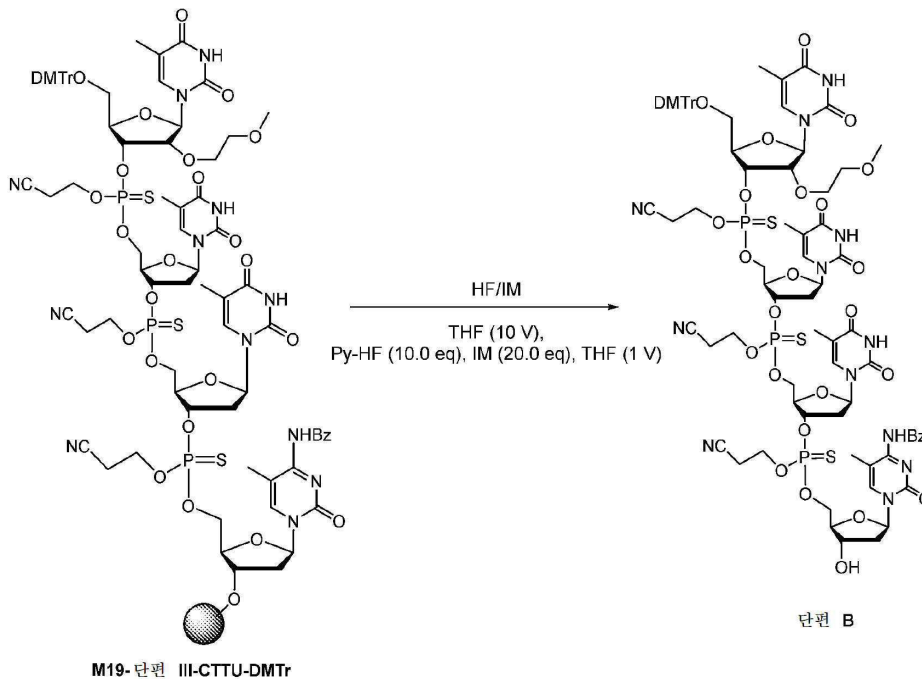
[1006] 화합물 M19-단편 III-CTTU-DMTr의 일반 제조 절차



[1007]

[1008] Tol./ACN = 3:1(80 mL) 중의 M19-단편 III-CTT(10.5 g, 4.22 mmol, 1.00 eq) 및 dU(5.19 g, 6.34 mmol, 1.50 eq)의 용액에 3A MS(0.5 g)를 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 1 hr 동안 교반한 다음, DCI(997.52 mg, 8.45 mmol, 2.00 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 1 hr 동안 교반하였다. TLC(디클로로메탄:메탄올 = 10:1, 생성물: Rf = 0.50)는 반응이 완료되고 하나의 새로운 스폿이 형성된 것으로 나타났다. TLC에 따르면 반응은 클린하였다. 조생성물에 HX(1.74 g, 8.46 mmol, 2.00 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 0.5 hr 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고 감압 하에 농축하여 잔류물을 5V로 수득하고, 이를 ACN(150 mL, 30 V)에 적하하고, 0.5 h 동안 석출시키고, 7 cm 부호너 깔때기로 1.0 h 동안 여과하여, 4.22g의 M19-단편 III-CTTU-DMTr(92.5% 수율, 91.7% 순도)을 백색 고체로 얻었다.

[1009] 올리고뉴클레오타이드 단편 B의 일반 제조 절차



[1010]

[1011] THF(2.00 mL) 중의 이미다졸(631.13 mg, 9.27 mmol, 20.00 eq)의 용액에 피리딘 하이드로플루오라이드(132.51

mg, 4.64 mmol, 120.46 μ L, 70% 순도, 10.00 eq)를 0°C에서 적가하였다. 혼합물을 THF(15.00mL) 중의 **M19-단편 III-CTTU-DMTr**(1.50 g, 463.54 μ mol, 1.00 eq)의 용액에 첨가하였다. 혼합물을 0-20°C에서 1 hr 동안 교반하였다. TLC(디클로로메탄:에틸 아세테이트:메탄올 = 20:10:1, 생성물: R_f = 0.05)는 반응이 완료되고 하나의 새로운 스폿이 형성된 것으로 나타났다. TLC에 따르면 반응은 클린하였다. 반응 혼합물을 NaHCO₃(30 mL)로 세척하고, DI 수로 pH = 7로 만들고, 무수 Na₂SO₄로 건조하고, 여과하고 감압 하에 농축하였다. 조생성물을 DCM(3 mL, 2V)로 용해시키고 격렬하게 교반하면서 TBME(50 mL)에 적하하였다. 목적한 생성물이 석출되었다. 올리고뉴클레오티드 II(800 mg, 434.37 μ mol, 93.71% 수율)를 백색 고체로 얻었다.

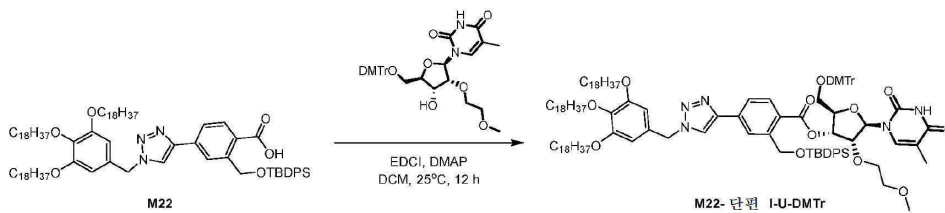
[1012] **실시예 9. 올리고뉴클레오티드 단편 C의 합성**

[1013] a. M22로부터 올리고뉴클레오티드 단편 C의 합성 도식

[1014] 도 4에 도시된 합성 도식에 따라 단편 C를 합성하였다.

[1015] b. M22로부터 올리고뉴클레오티드 단편 C의 합성 절차

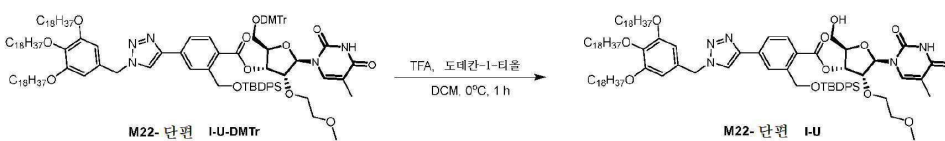
[1016] 화합물 M22-단편 I-U-DMTr의 일반 제조 절차



[1017]

[1018] DCM(18.0 mL) 중의 M22(3.10 g, 2.30 mmol) 및 화합물 U-DMTr(2.84 g, 4.58 mmol)의 용액에 DMAP(560 mg, 4.58 mmol) 및 EDCI(879 mg, 4.58 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 12 h 동안 교반하였다. TLC(석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/1, 생성물: R_f = 0.34)는 M22가 소모되고, 하나의 새로운 주요 스폿이 검출된 것으로 나타났다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축하였다. 잔류물을 DCM(100 mL)으로 희석하고 포화 NaHCO₃ 용액(40.0 mL x 3)으로 세척하였다. 합한 유기층을 염수(100 mL x 3)로 세척하고, 무수 Na₂SO₄로 건조하고, 여과하고 감압 하에 농축하여 잔류물을 얻었다. 조생성물을 DCM(60.0 mL)에 재용해시키고 격렬하게 교반하면서 MeOH/ACN(3/1, 300 mL)에 적하하였다. 목적한 생성물을 석출시키고, 여과하고 감압 하에 농축하여 잔류물을 얻었다. M22-단편 I-U-DMTr(5.20 g, 조생성물)을 백색 고체로 얻었다.

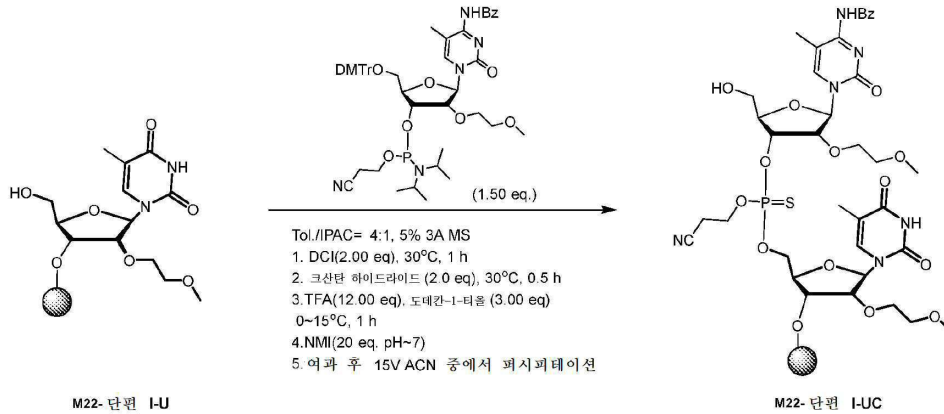
[1019] 화합물 M22-단편 I-U의 일반 제조 절차



[1020]

[1021] DCM(30.0 mL) 중의 M22-단편 I-U-DMTr(5.10 g, 2.61 mmol)의 용액에 도데칸-1-티올(1.58 g, 7.83 mmol, 1.88 mL) 및 TFA(2.38 g, 20.9 mmol, 1.55 mL)를 첨가하였다. 혼합물을 0°C에서 1 h 동안 교반하였다. TLC(석유 에테르/에틸 아세테이트 = 1/1, 생성물: R_f = 0.28)는 M22-단편 I-U-DMTr이 완전히 소모되고 2개의 새로운 스폿이 형성된 것으로 나타났다. 0°C에서 Py(26.0 eq)를 첨가하여 반응 혼합물을 켜친 다음, DCM(150 mL)으로 희석하고 포화 NaHCO₃ 수용액(150 mL x 4)으로 세척하였다. 합한 유기층을 염수(150 mL x 3)로 세척하고, 무수 Na₂SO₄ Na₂SO₄(15.0 g)로 건조하고, 여과하고 감압 하에 농축하여 잔류물을 얻었다. 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO₂, DCM/MeOH = 150/1에서 100/1)로 정제하였다. M22-단편 I-U(2.90 g, 64.6% 수율, 96.0% 순도)를 백색 고체로 얻었다.

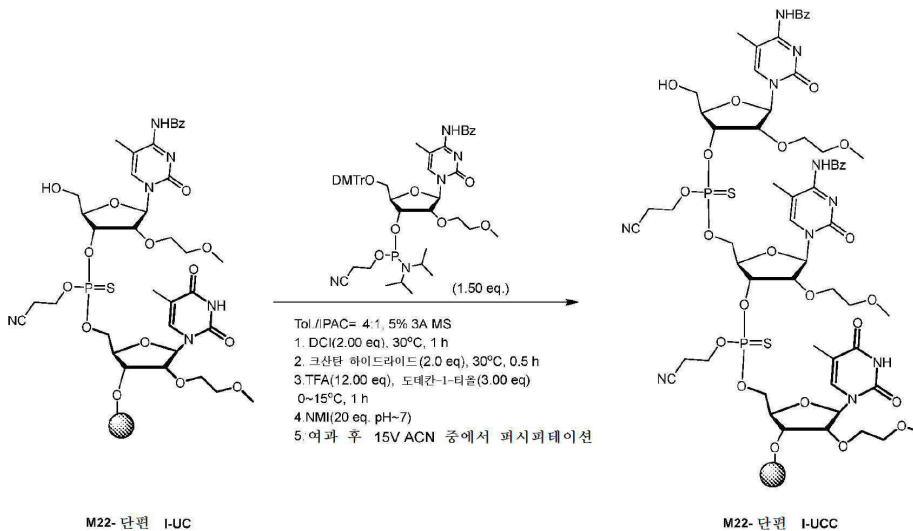
[1022] 화합물 M22-단편 I-UC의 일반 제조 절차



[1023]

[1024] Tol. (9.60 mL) 및 IPAC (2.40 mL) 중의 M22-단편 I-U (2.00 g, 1.21 mmol) 및 C-DMTr (1.67 g, 1.82 mmol)의 용액에 DCI (286 mg, 2.42 mmol) 및 분자체 3A (2.00 g)를 첨가하였다. 혼합물을 30°C에서 1 h 동안 교반하였다. TLC(디클로로메탄/메탄올 = 20/1, 생성물: R_f = 0.43)는 M22-단편 I-U가 완전히 소모되고 많은 새로운 스폿이 형성된 것으로 나타났다. 그 다음 크산탄 하이드라이드 (365 mg, 2.42 mmol)를 반응 혼합물에 첨가하였다. 그 다음 혼합물을 30°C에서 0.5 h 동안 교반하였다. 그 다음 도데칸-1-티올 (727 mg, 3.60 mmol, 860 uL) 및 TFA (2.04 g, 18.0 mmol, 1.33 mL)를 첨가하였다. 혼합물을 0°C에서 1 h 동안 교반하였다. TLC(디클로로메탄/메탄올 = 20/1, 생성물: R_f = 0.34)는 M22-단편 I-UC-DMTr이 완전히 소모되고 많은 새로운 스폿이 형성된 것으로 나타났다. NMI (20.0 eq)를 첨가하여 반응 혼합물을 쉐킷한 다음 여과하였다. 그 다음 ACN (300 mL)으로 분쇄하고 여과하였다. M22-단편 I-UC (2.64 g, 95.2% 수율, 95.1% 순도)를 백색 고체로 얻었다.

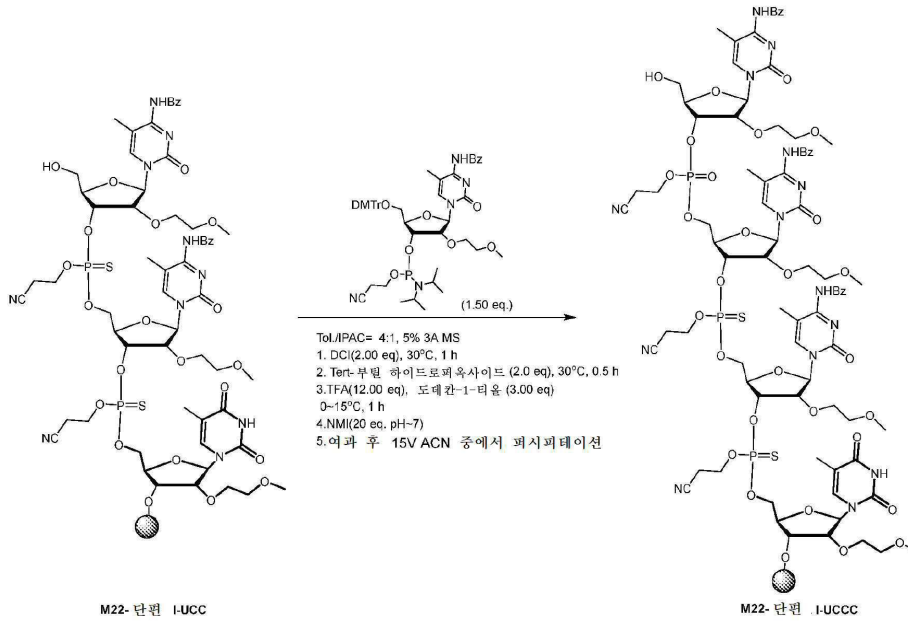
[1025] 화합물 M22-단편 I-UCC의 일반 제조 절차



[1026]

[1027] Tol. (12.6 mL) 및 IPAC (3.00 mL) 중의 M22-단편 I-UC (2.60 g, 1.18 mmol) 및 C-DMTr (1.64 g, 1.77 mmol)의 용액에 DCI (279 mg, 2.36 mmol) 및 분자체 3A (2.00 g)를 첨가하였다. 혼합물을 30°C에서 1 h 동안 교반하였다. TLC(디클로로메탄/메탄올 = 20/1, 생성물: R_f = 0.48)는 M22-단편 I-UC가 완전히 소모되고 많은 새로운 스폿이 형성된 것으로 나타났다. 그 다음 크산탄 하이드라이드 (358 mg, 2.38 mmol)를 반응 혼합물에 첨가하였다. 혼합물을 30°C에서 0.5 h 동안 교반하였다. 그 다음 도데칸-1-티올 (716 mg, 3.54 mmol, 846 uL) 및 TFA (2.02 g, 17.7 mmol, 1.31 mL)를 첨가하였다. 혼합물을 0°C에서 1 h 동안 교반하였다. TLC(디클로로메탄/메탄올 = 20/1, 생성물: R_f = 0.41)는 M22-단편 I-UCC-DMTr이 완전히 소모되고 2개의 새로운 스폿이 형성된 것으로 나타났다. NMI (20.0 eq)를 첨가하여 반응 혼합물을 쉐킷한 다음 여과하였다. 그 다음 ACN (300 mL)으로 분쇄하고 여과하였다. M22-단편 I-UCC (3.23 g, 조생성물)를 백색 고체로 얻었다.

[1028] 화합물 M22-단편 I-UCCC의 일반 제조 절차



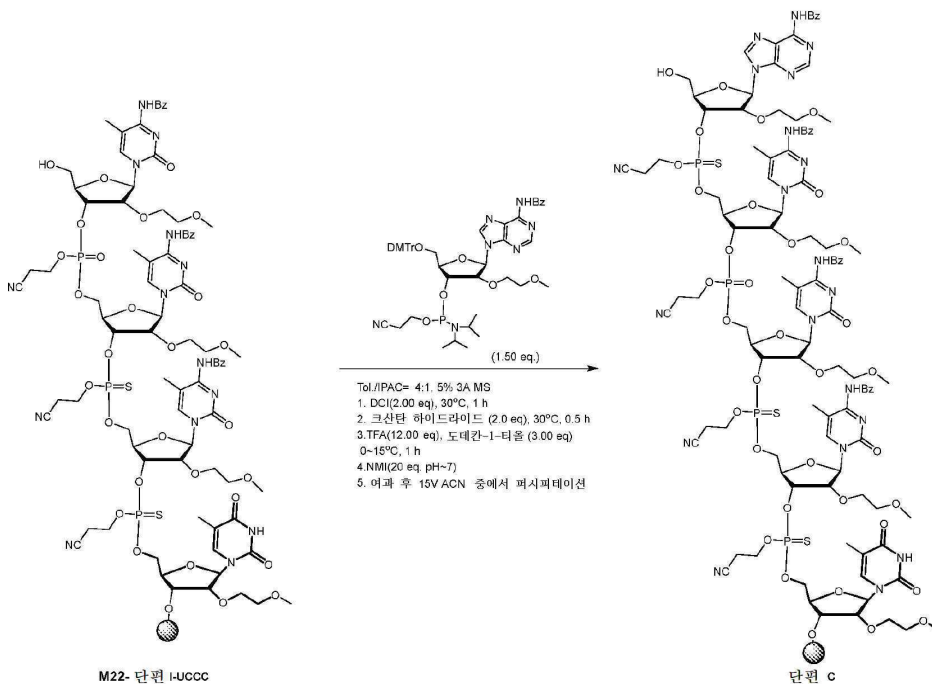
[1029]

[1030]

Tol. (15.4 mL) 및 ACN (3.80 mL) 중의 M22-단편 I-UCC (3.20 g, 1.16 mmol) 및 C-DMTr (1.61 g, 1.74 mmol)의 용액에 DCI (275 mg, 2.32 mmol) 및 분자체 3A (1.50 g)를 첨가하였다. 혼합물을 30°C에서 1 h 동안 교반하였다. TLC (디클로로메탄/메탄올 = 20/1, 2회, $R_f = 0.59$)는 M22-단편 I-UCC가 완전히 소모되고 많은 새로운 스폿이 형성된 것으로 나타났다. 그 다음 Tert-부틸 하이드로퍼옥사이드 (5.50 M, 1.18 mmol, 106.85 μ L)를 반응 혼합물에 첨가하였다. 혼합물을 30°C에서 0.5 h 동안 교반하였다. 그 다음 도데칸-1-티올 (711 mg, 3.52 mmol, 840 μ L) 및 TFA (2.00 g, 17.6 mmol, 1.30 mL)를 첨가하였다. 혼합물을 0°C에서 1 h 동안 교반하였다. TLC (디클로로메탄/메탄올 = 20/1, 3회, 생성물: $R_f = 0.54$)는 M22-단편 I-UCCC-DMTr이 완전히 소모되고 2개의 새로운 스폿이 형성된 것으로 나타났다. NMI (20.0 eq)를 첨가하여 반응 혼합물을 쉐킷한 다음 여과하였다. 그 다음 ACN (300 mL)으로 분쇄하고 여과하였다. 백색 고체를 감압 하에 농축하여 잔류물을 얻었다. M22-단편 I-UCCC (3.60g, 조생성물)를 백색 고체로 얻었다.

[1031]

올리고뉴클레오타이드 단편 C의 일반 제조 절차



[1032]

[1033] Tol.(16.0 mL) 및 ACN(4.00 mL) 중의 M22-단편 I-UCCC(3.40 g, 1.03 mmol) 및 A-DMTr(1.45 g, 1.55 mmol)의 용액에 DCI(244 mg, 2.06 mmol) 및 분자체 3A(1.00 g)를 첨가하였다. 혼합물을 30℃에서 1 h 동안 교반하였다. TLC(디클로로메탄/메탄올 = 15/1, 3회, $R_f = 0.47$)는 M22-단편 I-UCCC가 완전히 소모되고 많은 새로운 스폿이 형성된 것으로 나타났다. 그 다음 크산탄 하이드라이드(307 mg, 2.04 mmol)를 반응 혼합물에 첨가하였다. 혼합물을 30℃에서 0.5 h 동안 교반하였다. 그 다음 도데칸-1-티올(615 mg, 3.04 mmol, 727 μ L) 및 TFA(1.73 g, 15.2 mmol, 1.12 mL)를 반응 혼합물에 첨가하고, 혼합물을 0℃에서 1 h 동안 교반하였다. TLC(디클로로메탄/메탄올 = 15/1, 3회, 생성물: $R_f = 0.45$)는 M22-단편 I-UCCA-DMTr이 완전히 소모되고 2개의 새로운 스폿이 형성된 것으로 나타났다. NMI(20.0 eq)를 첨가하여 반응 혼합물을 켄칭한 다음 여과하였다. 그 다음 ACN(600 mL)으로 분쇄하고 여과하였다. 올리고뉴클레오티드 단편 C(3.90 g, 90.3% 수율 및 84.2% 순도)를 백색 고체로 얻었다.

[1034] **실시예 10. 올리고뉴클레오티드 단편 D의 합성**

[1035] a. 올리고뉴클레오티드 단편 D의 합성 도식

[1036] 도 5에 도시된 합성 도식에 따라 단편 D를 합성하였다.

[1037] b. 올리고뉴클레오티드 단편 D의 합성 절차

[1038] 올리고뉴클레오티드 단편 D의 합성 절차는 올리고뉴클레오티드 단편 A의 합성에 대해 기술된 것과 유사하였다.

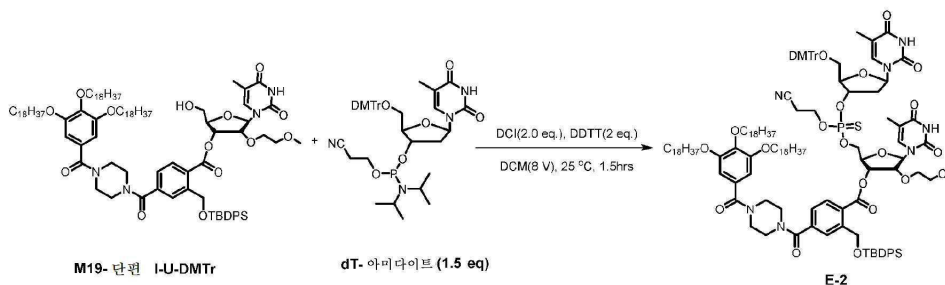
[1039] **실시예 11. 올리고뉴클레오티드 단편 E의 합성**

[1040] a. 올리고뉴클레오티드 단편 E의 합성 도식

[1041] 도 6에 도시된 합성 도식에 따라 단편 E를 합성하였다.

[1042] b. 올리고뉴클레오티드 단편 E의 합성 절차

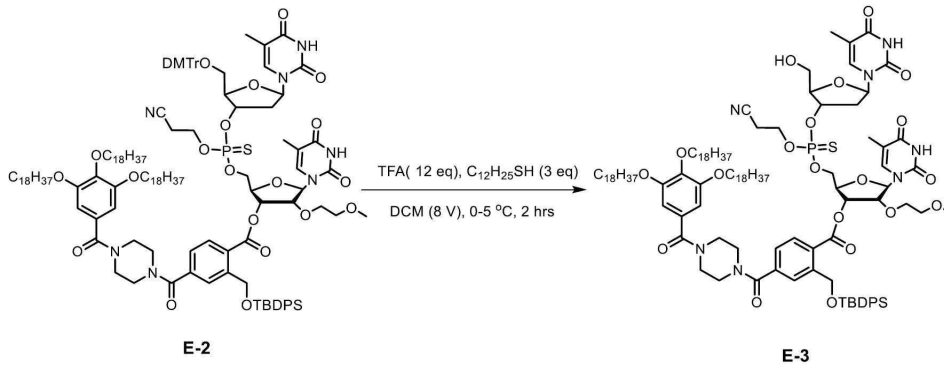
[1043] 화합물 E-2의 일반 제조 절차



[1044]

[1045] 화합물 M19-단편 I-U-DMTr(2.00 g, 1.17 mmol, 1.00 eq)을 무수 DCM(12.0 mL) 및 CH₃CN(4.00 mL)와 함께 감압 하에 농축하여 물을 3회 제거하였다. DCM(16 mL) 중의 화합물 M19-단편 I-U-DMTr(2.00 g, 1.17 mmol, 1.00 eq)의 용액에 3A MS(1.60 g)를 Ar 하에 25℃에서 한번에 첨가하고 0.5시간 동안 교반하였다. dT-아미다이트(1.31 g, 1.75 mmol, 1.5 eq) 및 DCI(276 mg, 2.34 mmol, 2.00 eq)를 첨가하고, 혼합물을 25℃에서 1시간 동안 교반하였다. HPLC는 출발 물질이 완전히 소모된 것으로 나타났다. DDTT(480 mg, 2.34 mmol, 2.00 eq)를 반응액에 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 0.5 hr 동안 교반하였다. HPLC는 출발 물질이 완전히 소모된 것으로 나타났다. 조생성물을 ACN(160 mL)으로 25℃에서 1 hr 동안 분쇄하였다. 혼합물을 여과하고 케이크를 진공에서 농축하였다. 화합물 E-2(2.3 g, 964 μ mol, 83.0% 수율)를 백색 고체로 얻었다. C₁₃₇H₁₉₈N₇O₂₂PSSiNa⁺ [M+Na⁺]에 대한 질량 계산치: 2408.4, 실측치: 2408.4.

[1046] 화합물 E-3의 일반 제조 절차



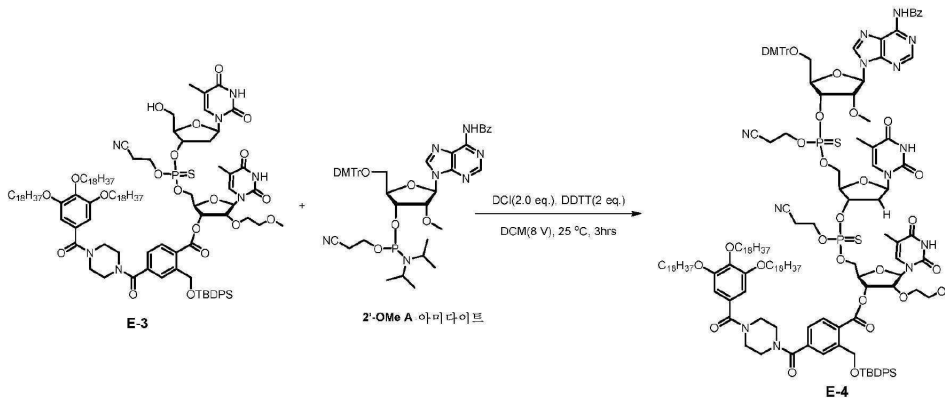
[1047]

[1048]

DCM(20.0 mL) 중의 화합물 **E-2**(2.30 g, 964 μmol , 1.00 eq)의 용액에 $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{SH}$ (585 mg, 2.89 mmol, 693 μL , 3.00 eq)를 25°C에서 N_2 하에 한번에 첨가하였다. TFA(1.32 g, 11.57 mmol, 856.38 μL , 12 eq)를 용액에 첨가하고, 혼합물을 0-5°C에서 교반하고 2시간 동안 교반하였다. LCMS는 출발 물질이 완전히 소모된 것으로 나타났다. NMI(1.19 g, 14.5 mmol, 1.15 mL, 15.0 eq)를 반응물에 첨가하고 0-5°C에서 0.5 hr 동안 교반하였다. 조 생성물을 ACN(200 mL)으로 25°C에서 1 hr 동안 분쇄하였다. 혼합물을 여과하고 케이크를 진공에서 농축하였다. 화합물 **E-3**(2.00 g, 960 μmol , 99% 수율)을 백색 고체로 얻었다. $\text{C}_{116}\text{H}_{181}\text{N}_7\text{O}_{20}\text{PSSi}^+ [\text{M}+\text{H}^+]$ 에 대한 질량 계산치: 2083.3, 실측치: 2083.3.

[1049]

화합물 E-4의 일반 제조 절차

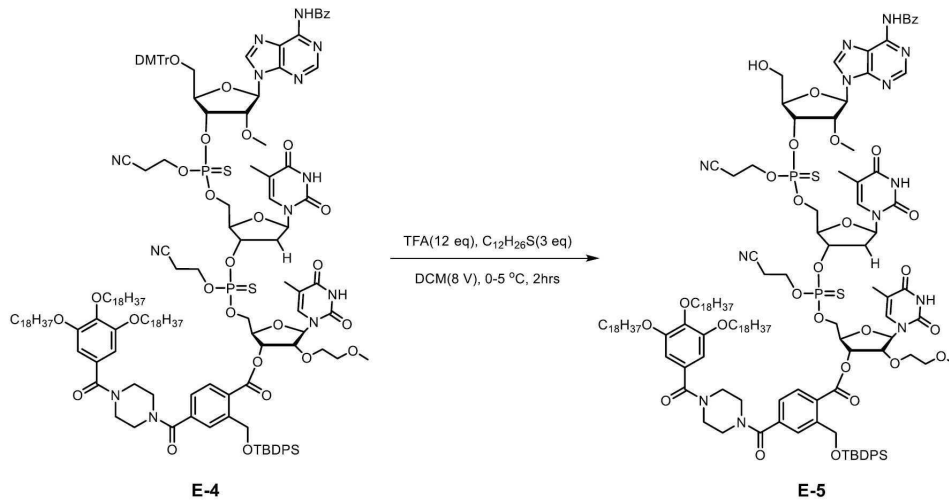


[1050]

[1051]

화합물 E-3(2.00 g, 959 μmol , 1.00 eq)을 무수 DCM(12.0 mL) 및 ACN(4.00 mL)과 함께 감압 하에 농축하여 물을 3회 제거하였다. DCM(16 mL) 중의 화합물 E-3(2.00 g, 959 μmol , 1.00 eq)의 용액에 3A MS(1.60 g)를 Ar 하에 25°C에서 한번에 첨가하고 0.5 hr 동안 교반하였다. 2'-OMe A 아미다이트(1.28 g, 1.44 mmol, 1.50 eq) 및 DCI(227 mg, 1.92 mmol, 2.00 eq)를 첨가하고, 혼합물을 25°C에서 1 hr 동안 교반하였다. LCMS는 출발 물질이 완전히 소모된 것으로 나타났다. DDTT(395 mg, 1.92 mmol, 2.00 eq)를 반응액에 첨가하고, 혼합물을 25°C에서 0.5 hr 동안 교반하였다. LCMS는 출발 물질이 완전히 소모된 것으로 나타났다. 조 생성물을 ACN(160 mL)으로 25 oC에서 1 hr 동안 분쇄하였다. 혼합물을 여과하고 케이크를 진공에서 농축하였다. 화합물 E-4(2.11 g, 727 μmol , 75.6% 수율)를 백색 고체로 얻었다. $\text{C}_{158}\text{H}_{219}\text{N}_{13}\text{O}_{28}\text{P}_2\text{S}_2\text{SiNa}^+ [\text{M}+\text{Na}^+]$ 에 대한 질량 계산치: 2923.5, 실측치: 2924.5.

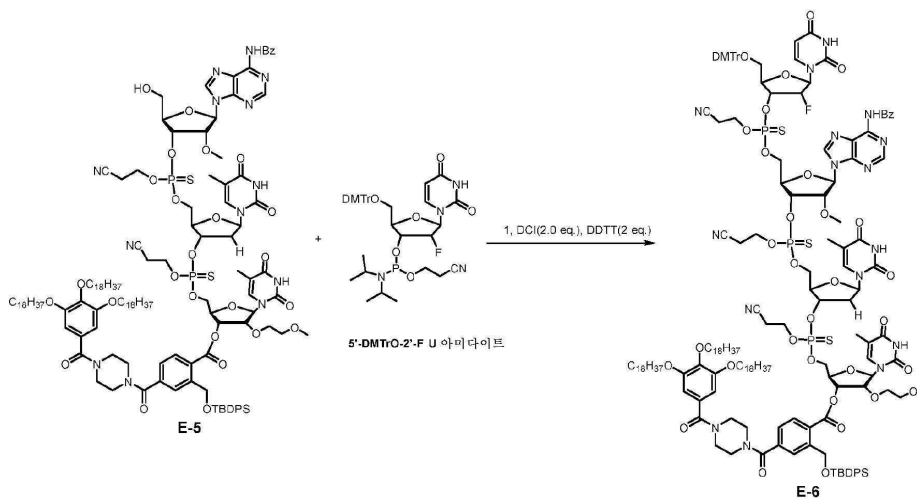
[1052] 화합물 E-5의 일반 제조 절차



[1053]

[1054] 화합물 **E-4**(2.1 g, 723 μmol , 1.00 eq)를 무수 DCM(12.0 ml) 및 ACN(4.00 mL)과 함께 감압 하에 농축하여 물을 3회 제거하였다. DCM(20.0 mL) 중의 화합물 **E-4**(2.1 g, 723 μmol , 1.00 eq)의 용액에 $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{SH}$ (439 mg, 2.17 mmol, 520 μL , 3.00 eq)를 25°C에서 N_2 하에 한번에 첨가하였다. TFA(990 mg, 8.68 mmol, 643 μL , 12.0 eq)를 용액에 넣고, 혼합물을 0-5°C에서 교반하고 2 hrs 동안 교반하였다. LCMS는 출발 물질이 완전히 소모된 것으로 나타났다. NMI(891 mg, 10.8 mmol, 865 μL , 15 eq)를 반응물에 첨가하고 0-5°C에서 0.5 hr 동안 교반하였다. 조생성물을 ACN(200 mL)으로 25°C에서 1 hr 동안 분쇄하였다. 혼합물을 여과하고 케이크를 진공에서 농축하였다. 화합물 **E-5**(1.7 g, 653.77 μmol , 90.37% 수율)를 백색 고체로 얻었다. $\text{C}_{137}\text{H}_{202}\text{N}_{13}\text{O}_{26}\text{P}_2\text{S}_2\text{Si}^+$ [M+H]⁺에 대한 질량 계산치: 2599.3, 실측치: 2599.4.

[1055] 화합물 E-6의 일반 제조 절차

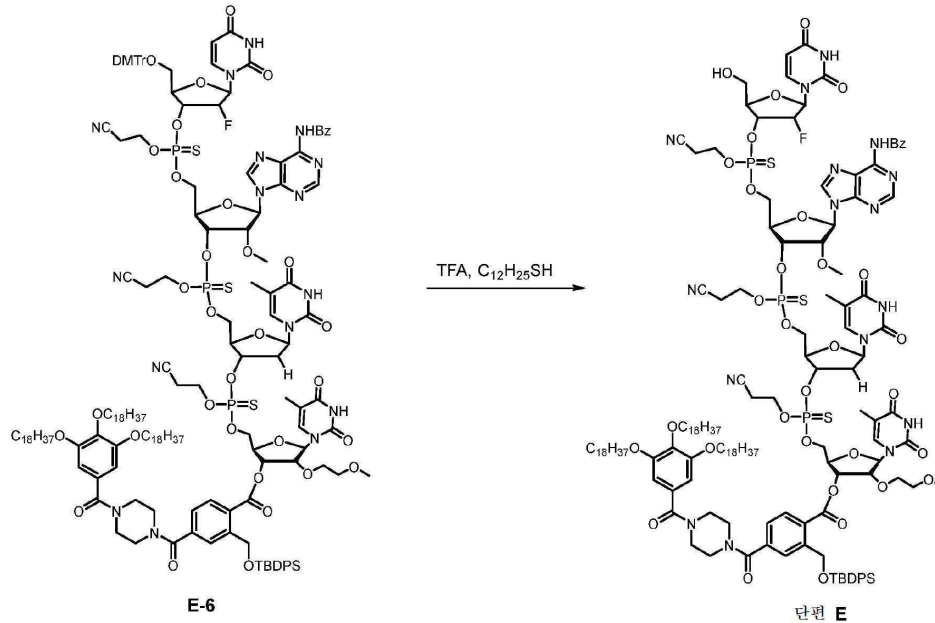


[1056]

[1057] 화합물 **E-5**(1.00 g, 385 μmol , 1.00 eq)를 무수 DCM(6.00 ml) 및 ACN(2.00 mL)과 함께 감압 하에 농축하여 물을 3회 제거하였다. DCM(8.00 mL) 중의 화합물 **E-5**(1.00 g, 385 μmol , 1.00 eq)의 용액에 3A MS(1.60 g)를 Ar 하에 25°C에서 한번에 첨가하고 0.5 hr 동안 교반하였다. 5'-DMTrO-2'-F U 아미다이트(440 mg, 577 μmol , 1.50 eq) 및 DCI(90.8 mg, 769 μmol , 2.00 eq)를 혼합물에 첨가하고, 혼합물을 25°C에서 1 hr 동안 교반하였다. LCMS는 출발 물질이 완전히 소모된 것으로 나타났다. DDTT(151 mg, 736 μmol , 2.00 eq)를 반응액에 첨가하고, 혼합물을 25°C에서 0.5 hr 동안 교반하였다. LCMS는 출발 물질이 완전히 소모된 것으로 나타났다. 조생성물을 ACN(80 mL)으로 25°C에서 1 hr 동안 분쇄하였다. 혼합물을 여과하고 케이크를 진공에서 농축하였다. 화합물 **E-6**(0.9 g, 273 μmol , 74.3% 수율)을 백색 고체로 얻었다. $\text{C}_{170}\text{H}_{233}\text{FN}_{16}\text{O}_{34}\text{P}_3\text{S}_3\text{Si}^+$ [M+H]⁺에 대한

질량 계산치: 3278.5118, 실측치: 3278.6255.

[1058] 단편 E의 일반 제조 절차



[1059]

[1060] 화합물 E-6(800 mg, 244 umol, 1.00 eq)을 무수 DCM(6.00 ml) 및 ACN(2.00 mL)과 함께 감압 하에 농축하여 물을 3회 제거하였다. DCM(8.00 mL) 중의 화합물 E-6(800 mg, 244 umol, 1.00 eq)의 용액에 C₁₂H₂₅SH(148 mg, 732 umol, 176 uL, 3.00 eq)를 25°C에서 N₂ 하에 한번에 첨가하였다. TFA(334 mg, 2.93 mmol, 217 uL, 12.0 eq)를 용액에 첨가하고, 혼합물을 0-5°C에서 교반하고 2 hrs 동안 교반하였다. HRMS는 출발 물질이 완전히 소모된 것으로 나타났다. NMI(300 mg, 3.66 mmol, 292 uL 15.0 eq)를 반응물에 첨가하고 0-5°C에서 0.5 hr 동안 교반하였다. 조생성물을 ACN(80.0 mL)으로 25°C에서 1 hr 동안 분쇄하였다. 혼합물을 여과하고 케이크를 진공에서 농축하였다. 단편 E(600 mg, 201 umol, 82.6% 수율)를 백색 고체로 얻었다. C₁₄₉H₂₁₄FN₁₆O₃₂P₃S₃Si⁺ [M+H]⁺에 대한 HRMS 계산치: 2976.3811, 실측치: 2976.3875.

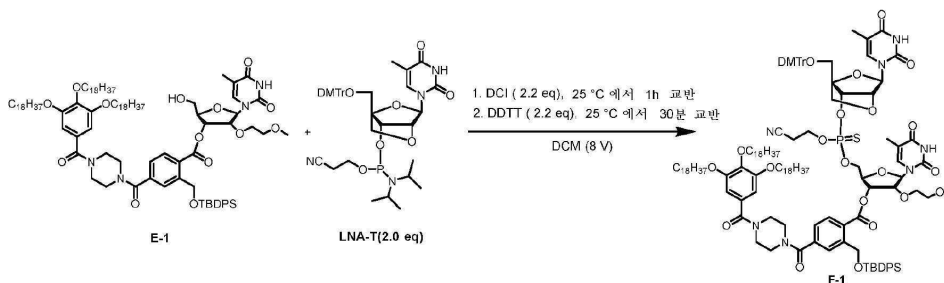
[1061] 실시예 12. 올리고뉴클레오타이드 단편 F의 합성

[1062] a. 올리고뉴클레오타이드 단편 F의 합성 도식

[1063] 도 7에 도시된 합성 도식에 따라 단편 F를 합성하였다.

[1064] b. 올리고뉴클레오타이드 단편 F의 합성 절차

[1065] 화합물 F-1의 일반 제조 절차

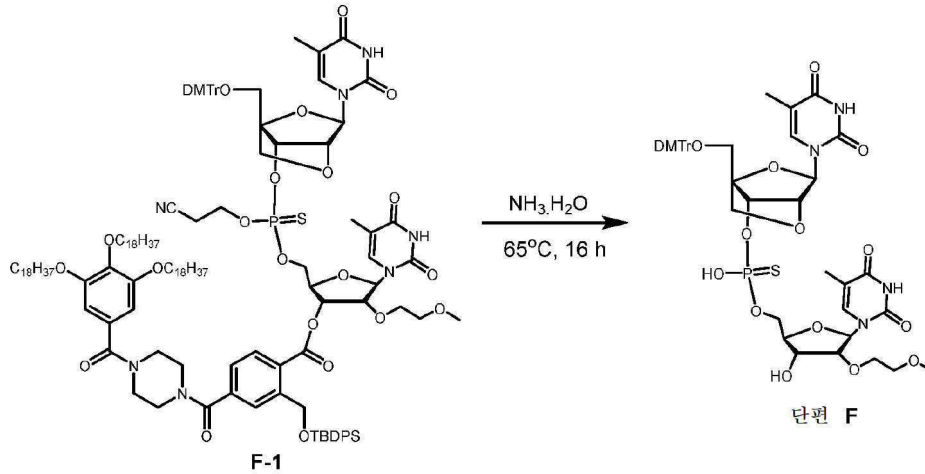


[1066]

[1067] 화합물 E-1(0.5 g, 292.31 umol, 1.00 eq)을 무수 DCM(4.0 ml) 및 CH₃CN(2.00 mL)과 함께 감압 하에 농축하여 물을 3회 제거하였다. DCM(5.00 mL) 중의 화합물 E-1(0.5 g, 292.31 umol, 1.00 eq)의 용액에 3A MS(0.50 g)를 Ar 하에 25°C에서 한번에 첨가하고 0.5 hr 동안 교반하였다. LNA-T 아미다이트(451.81 mg, 584.62 umol, 2.00 eq)와 DCI(75.95 mg, 643.08 umol, 2.20 eq)를 첨가하고, 혼합물을 25°C에서 1 hr 동안 교반하였다.

LCMS는 출발 물질이 완전히 소모된 것으로 나타났다. DDTT(480 mg, 2.34 mmol, 2.00 eq)를 반응액에 첨가하고, 혼합물을 25°C에서 0.5 hr 동안 교반하였다. LCMS는 출발 물질이 완전히 소모된 것으로 나타났다. 조생성물을 ACN(50 mL)으로 25°C에서 1 hr 동안 분쇄하였다. 혼합물을 여과하고 케이크를 진공에서 농축하였다. 화합물 **F-1**(2.3 g, 964 μmol, 83.0% 수율)을 백색 고체로 얻었다.

[1068] 단편 F의 일반 제조 절차



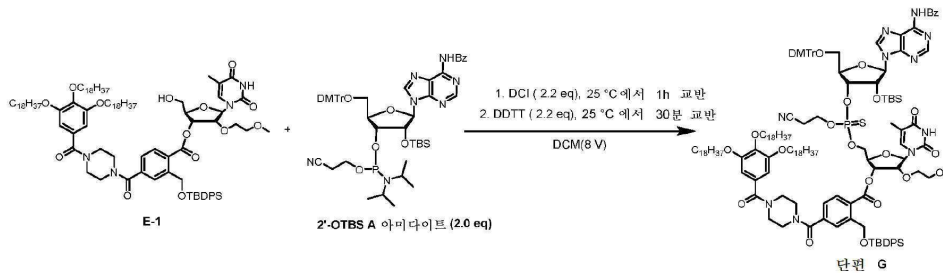
[1069]

[1070] $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (2.00 mL)로 포화된 화합물 **F-1**(50 mg, 19.23 μmol, 1.00 eq)의 용액을 4 mL의 밀봉된 튜브 중에서 70°C에서 16시간 동안 교반하였다. 어떠한 정제 없이 반응 혼합물을 여과하고, 여액을 LCMS에 제공하였다. LCMS에 의해 단편 F가 확인되었다: $\text{C}_{45}\text{H}_{50}\text{N}_4\text{O}_{16}\text{P}^- [\text{M}-\text{H}]^-$ 에 대한 HRMS 계산치: 965.2686, 실측치: 965.2846.

[1071] 실시예 13. 올리고뉴클레오타이드 단편 G의 합성

[1072] a. 올리고뉴클레오타이드 단편 G의 합성 도식

[1073] 하기 도시된 합성 도식에 따라 단편 G를 합성하였다.



[1074]

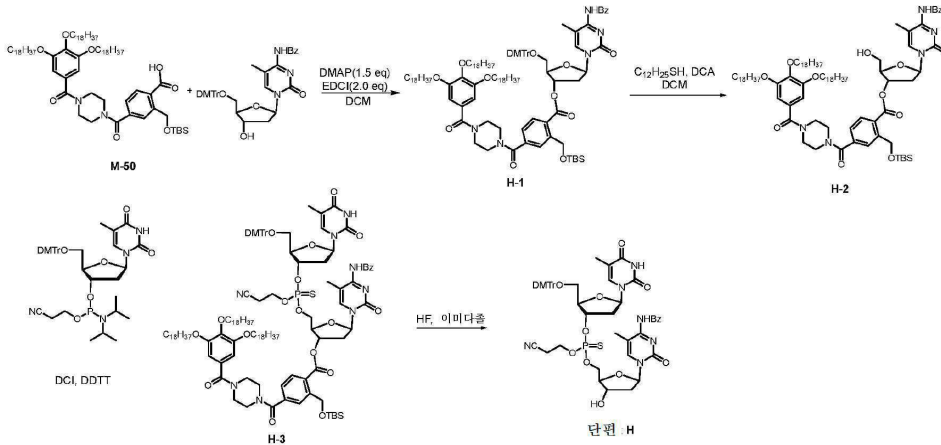
[1075] b. 올리고뉴클레오타이드 단편 G의 합성 절차

[1076] 화합물 E-1(500 mg, 292 μmol, 1.00 eq)을 무수 DCM(4.0 mL) 및 ACN(2.00 mL)과 함께 감압 하에 농축하여 물을 3회 제거하였다. DCM(4.00 mL) 중의 화합물 E-1(500 mg, 292 μmol, 1.00 eq)의 용액에 3A MS(500 mg)를 Ar 하에 25°C에서 한번에 첨가하고 0.5 hr 동안 교반하였다. 2'-OTBS A 아미다이트(578 mg, 585 μmol, 2.00 eq) 및 DCI(75.9 mg, 643 μmol, 2.20 eq)를 상기 혼합물에 첨가하고, 혼합물을 25°C에서 1 hr 동안 교반하였다. LCMS는 출발 물질이 완전히 소모된 것으로 나타났다. DDTT(480 mg, 2.34 mmol, 2.00 eq)를 반응액에 첨가하고, 혼합물을 25°C에서 0.5 hr 동안 교반하였다. LCMS는 출발 물질이 완전히 소모된 것으로 나타났다. 조생성물을 ACN(40 mL)으로 25°C에서 1 hr 동안 분쇄하였다. 혼합물을 여과하고 케이크를 진공에서 농축하였다. 단편 G(700 mg, 266 μmol, 91.1% 수율)를 백색 고체로 얻었다. $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{N}_{10}\text{O}_{22}\text{PSSi}_2^+ [\text{M}+\text{H}]^+$ 에 대한 질량 계산치: 2628.5043, 실측치: 2628.5959.

[1077] 실시예 14. 올리고뉴클레오타이드 단편 H의 합성

[1078] a. 올리고뉴클레오타이드 단편 H의 합성 도식

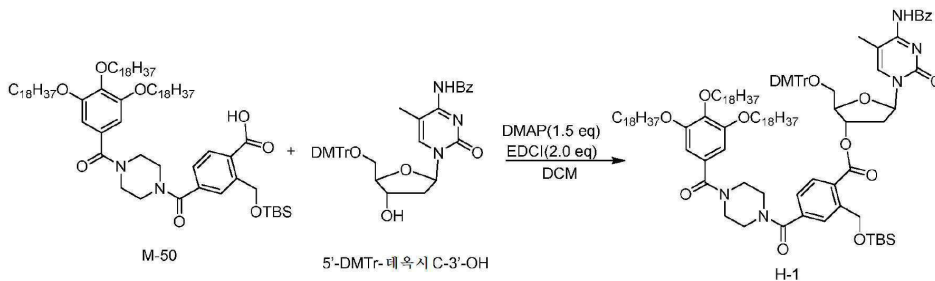
[1079] 하기 도시된 합성 도식에 따라 단편 H를 합성하였다:



[1080]

[1081] b. 올리고뉴클레오타이드 단편 H의 합성 절차

[1082] 화합물 H-1의 일반 제조 절차

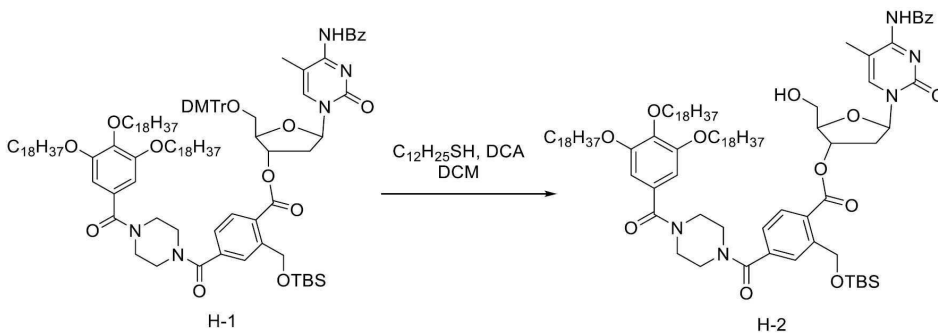


[1083]

[1084] DCM(6.0 mL) 중의 **M-50**(0.8 g, 621.08 μmol, 1.00 eq) 및 5'-DMTr-테옥시 C-3'-OH(804.57 mg, 1.24 mmol, 2.00 eq)의 용액에 DMAP(113.82 mg, 931.62 μmol, 1.50 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 0.5 h 동안 교반하고 EDCI(238.12 mg, 1.24 mmol, 2.00 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 3 hrs 동안 교반하였다. HPLC는 출발 물질이 완전히 소모된 것으로 나타났다. 잔류물을 H₂O(50 mL)로 희석하고 DCM(2 x 30 mL)으로 추출하였다. 합한 유기층을 무수 Na₂SO₄로 건조하고, 여과하고 감압 하에 농축하여 잔류물을 얻었다. 조생성물을 EtOH(30 V, 30.0 mL)로 25℃에서 30분 동안 분쇄하였다. 조생성물을 ACN(30 V, 30.0 mL)으로 25℃에서 30분 동안 분쇄하였다. 여과 및 농축하였다. 화합물 **H-1**(0.8 g, 0.41 mmol, 92.0% 순도, 67.17% 수율)을 백색 고체로 얻었다. C₁₁₈H₁₇₉N₅O₁₄Si₂ + [M+2H]⁺/2에 대한 질량 계산치: 959.1, 실측치: 960.

[1085]

화합물 H-2의 일반 제조 절차

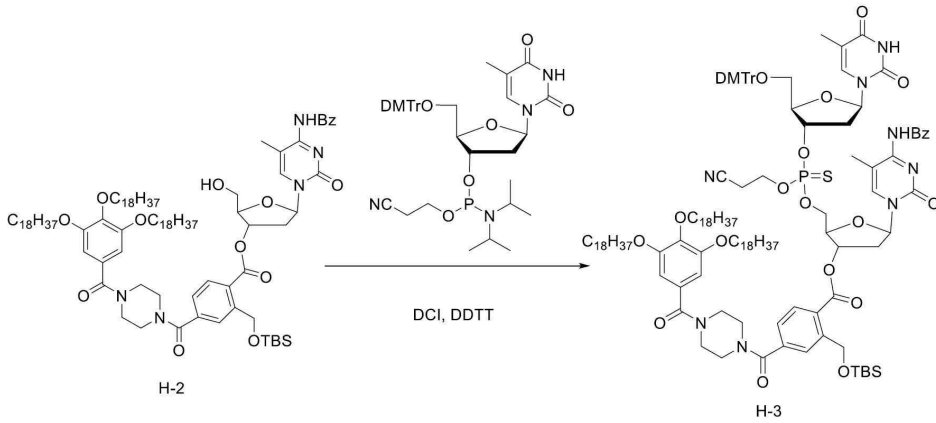


[1086]

[1087] DCM(16.0 mL) 중의 화합물 **H-1**(2.0 g, 1.04 mmol, 1.00 eq)의 용액에 C₁₂H₂₅SH(274.40 mg, 1.36 mmol, 324.74 μL, 1.30 eq) 및 DCA(1.08 g, 8.34 mmol, 685.20 μL, 8.00 eq)를 0-5℃에서 첨가하였다. 혼합물을 0-5℃에서 2.5 hrs 동안 교반하고 NMI(856.20 mg, 10.43 mmol, 831.26 μL, 10.00 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 0-5℃에서 0.5 hrs 동안 교반하였다. 잔류물을 NaHCO₄/H₂O(50 mL)로 희석하고 DCM(2 x 30 mL)으로 추출하였다. 합한 유

기층을 무수 Na₂SO₄로 건조하고, 여과하고 감압 하에 농축하여 잔류물을 얻었다. 조생성물을 ACN(30 V, 60.0 mL)으로 25℃에서 30분 동안 분쇄하였다. 여과 및 농축하였다. 화합물 **H-2**(1.4 g, 713.26 μmol, 82.3% 순도, 68.4% 수율)를 백색 고체로 얻었다. C₉₇H₁₆₀N₅O₁₂Si⁺ [M+H]⁺에 대한 질량 계산치: 1615.1, 실측치: 1615.6.

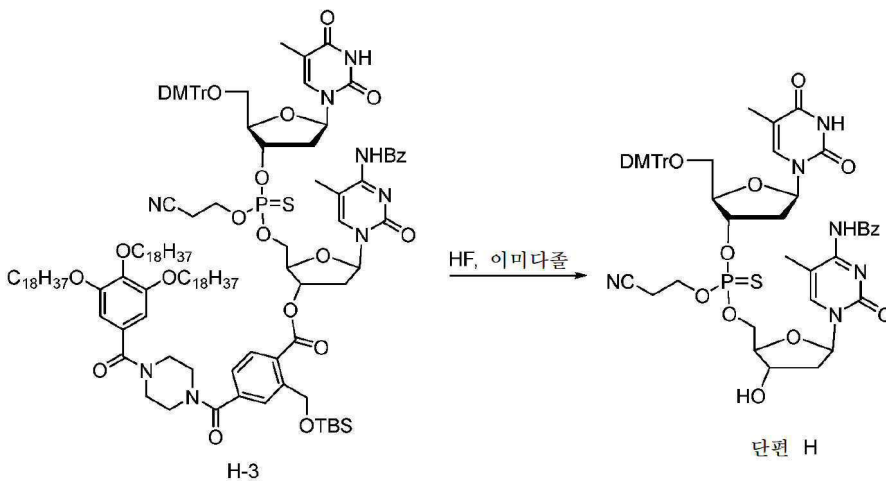
[1088] 화합물 H-3의 일반 제조 절차



[1089]

[1090] 화합물 **H-2**(900 mg, 557 μmol, 1.00 eq)를 무수 DCM(8.0 ml) 및 ACN(2.00 mL)을 감압 하에 농축하여 물을 3회 제거하였다. DCM(8.00 mL) 중의 화합물 **H-2**(900 mg, 557 μmol, 1.00 eq)의 용액에 3A MS(800 mg)을 25℃에서 Ar 하에 한번에 첨가하고 0.5 hr 동안 교반하였다. 5'-DMTr-테옥시 T-3'-포스포르아미다이트(830 mg, 1.11 mmol, 2.00 eq) 및 DCI(197.4 mg, 1.67 mmol, 3.0 eq)를 상기 혼합물에 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 1 hr 동안 교반하였다. LCMS는 출발 물질이 완전히 소모된 것으로 나타났다. DDTT(343 mg, 1.67 mmol, 3.00 eq)를 반응액에 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 0.5 hr 동안 교반하였다. LCMS는 출발 물질이 완전히 소모된 것으로 나타났다. 조생성물을 ACN(40 mL)으로 25℃에서 1 hr 동안 분쇄하였다. 혼합물을 여과하고 케이크를 진공에서 농축하였다. 화합물 **H-3**(600 mg, 145.85 mmol, 47.3% 수율)을 백색 고체로 얻었다. C₁₁₀H₁₇₆N₈O₁₈PSSi⁺ [M-DMTr+H]⁺에 대한 질량 계산치 1988.2; 실측치 1989.0.

[1091] 단편 H의 일반 제조 절차



[1092]

[1093] THF(1.6 mL) 중의 화합물 **H-3**(0.2 g, 87.29 μmol, 1.00 eq)의 용액에 THF(0.6mL) 중의 이미다졸(118.86 mg, 1.75 mmol, 20.0 eq) 및 피리딘/하이드로플루오라이드(24.94 mg, 872.95 μmol, 70% 순도, 10.0 eq)의 용액을 첨가하였다. 혼합물을 0-5℃에서 20 hrs 동안 교반하였다(화합물 **H-3**은 >95% 전환율로 단편 H로 전환되었음). 단편 H의 구조는 LCMS로 확인하였다. C₅₁H₅₄N₆O₁₃PS⁺ [M+H]⁺에 대한 질량 계산치: 1021.3, 실측치: 1021.4

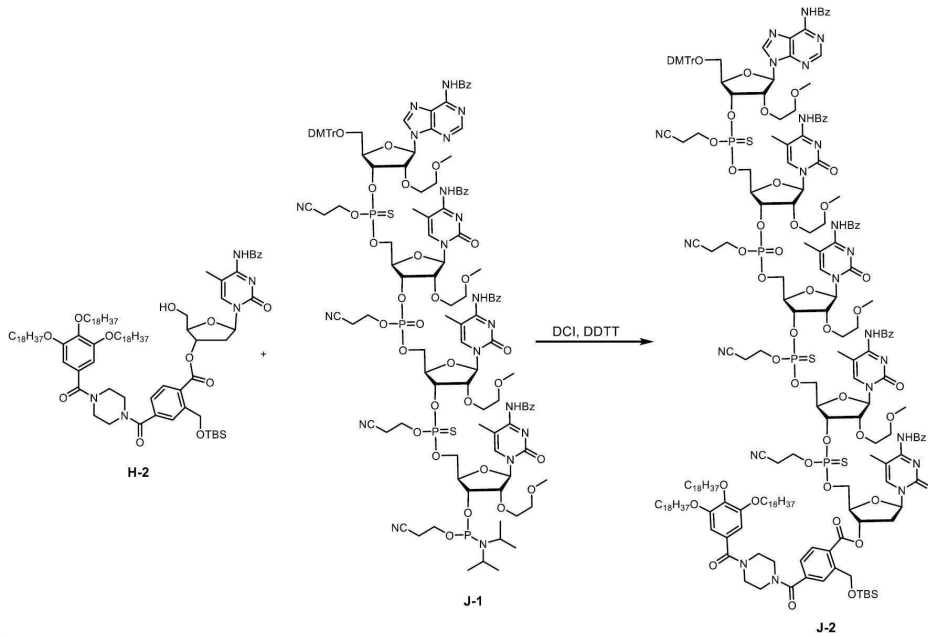
[1094] 실시예 15. 올리고뉴클레오타이드 단편 J의 합성

[1095] a. 올리고뉴클레오타이드 단편 J의 합성 도식

[1096] 도 8에 도시된 합성 도식에 따라 단편 J를 합성하였다.

[1097] b. 올리고뉴클레오타이드 단편 J의 합성 절차

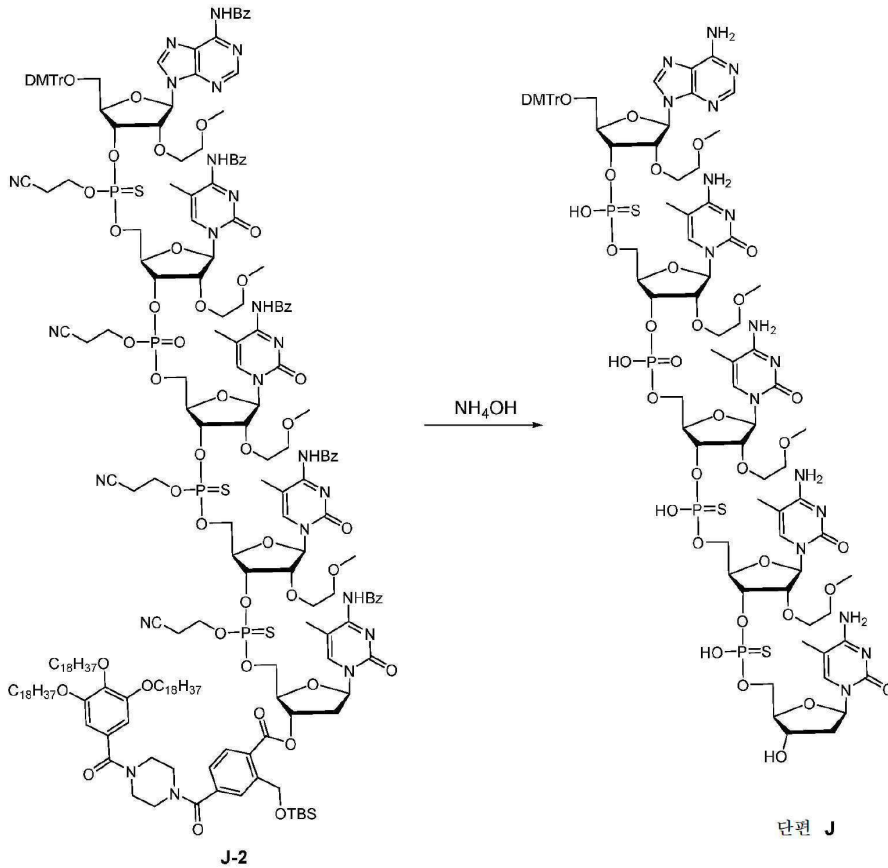
[1098] 화합물 J-2의 일반 제조 절차



[1099]

[1100] 화합물 H-2(500 mg, 0.309 μ mol, 1.00 eq)를 무수 DCM(8.0 ml) 및 ACN(2.00 mL)과 함께 감압 하에 농축하여 물을 3회 제거하였다. DCM(5.00 mL) 중의 화합물 H-2(500 mg, 0.309 mmol, 1.00 eq)의 용액에 3A MS(500 mg)를 Ar 하에 25°C에서 한번에 첨가하고 0.5 hr 동안 교반하였다. 5'-DMTr-MOE-ACCC-3'-포스포르아미다이트(화합물 J-1(합성 절차는 WO2020/227618, 단락 [0332]-[0333]에 기재되어 있으며, 이는 본 명세서에서 참조로 포함됨), 1590 mg, 0.62 mmol, 2.00 eq) 및 DCI(110 mg, 0.927 mmol, 3.0 eq)를 상기 혼합물에 첨가하고, 혼합물을 25°C에서 1 hr 동안 교반하였다. DDTT(254 mg, 1.23 mmol, 4.00 eq)를 반응액에 첨가하고, 25°C에서 0.5 hr 동안 교반하였다. 조생성물을 ACN(50 mL)으로 25°C에서 1 hr 동안 분쇄하였다. 혼합물을 여과하고 케이크를 진공에서 농축하였다. 화합물 J-2(770 mg, 61% 수율)를 백색 고체로 얻었다. C₂₁₀H₂₈₅N₂₃O₄₆P₄S₃Si⁺ [M+2H⁺]/2에 대한 질량 계산치: 2057.4, 실측치 2058.0.

[1101] 단편 J의 일반 제조 절차



[1102]

[1103] $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (2.00 mL)로 포화된 화합물 **J-2** (50 mg)의 용액을 4mL의 밀봉된 튜브 중에서 65°C에서 8시간 동안 교반 하였다. 어떠한 정제 없이 반응 혼합물을 여과하고, 여액을 LCMS에 제공하였다. **단편 J**: $\text{C}_{83}\text{H}_{109}\text{N}_{17}\text{O}_{34}\text{P}_4\text{S}_3$ [M-2H]⁻²에 대한 질량 계산치: 1053.8; 실측치 1054.4.

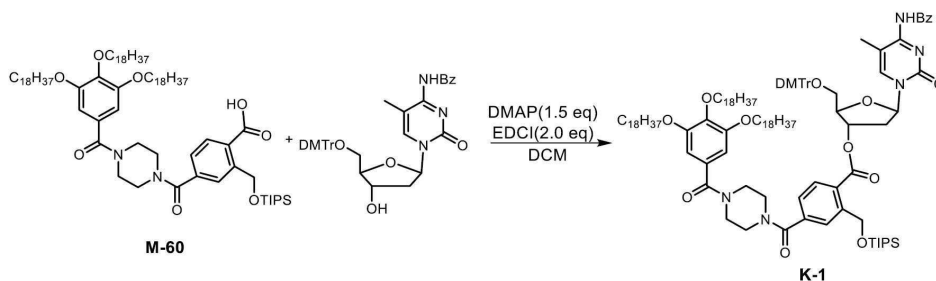
[1104] 실시예 16. **올리고뉴클레오타이드 단편 K의 합성**

[1105] a. **올리고뉴클레오타이드 단편 K의 합성 도식**

[1106] 도 9에 도시된 합성 도식에 따라 단편 K를 합성하였다.

[1107] b. **올리고뉴클레오타이드 단편 K의 합성 절차**

[1108] 화합물 K-1의 일반 제조 절차

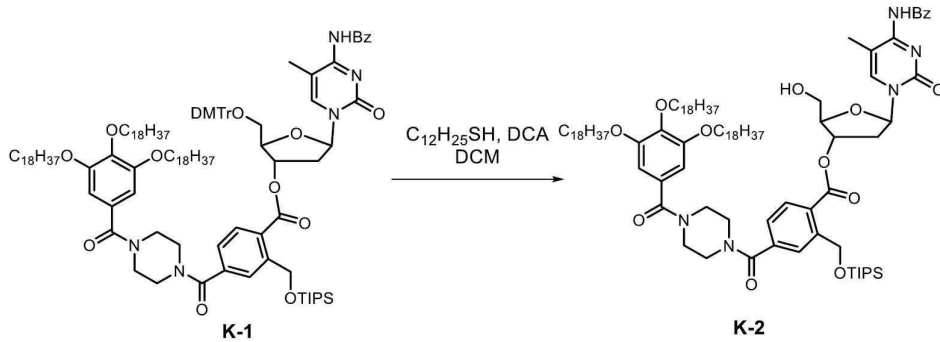


[1109]

[1110] DCM (10.0 mL) 중의 화합물 **M-60** (0.9 g, 676 μmol , 1.00 eq) 및 5'-DMTr-테옥시 C-3'-OH (876.5 mg, 1.35 mmol, 2.00 eq)의 용액에 DMAP (124 mg, 1.01 mmol, 1.50 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 0.5 h 동안 교반하고 EDCI (260 mg, 1.35 mmol, 2.00 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 3 hrs 동안 교반하였다. HPLC는 출발 물질이 완전히 소모된 것으로 나타났다. 잔류물을 H_2O (50 mL)로 희석하고 DCM (2 x 20 mL)으로 추출하였다. 합한 유기층을 무수 Na_2SO_4 로 건조하고, 여과하고 감압 하에 농축하여 잔류물을 얻었다. 조생성물을 EtOH (30 V,

30.0 mL)로 25℃에서 30분 동안 분쇄하였다. 조생성물을 ACN(30 V, 30.0 mL)으로 25℃에서 30분 동안 분쇄하였다. 여과 및 농축하였다. 화합물 **K-1**(1.2 g, 0.56 mmol, 82.4% 수율)을 백색 고체로 얻었다. $C_{121}H_{184}N_5O_{14}Si^+$ $[M+2H]^+$ 에 대한 질량 계산치: 980.7, 실측치: 981.1.

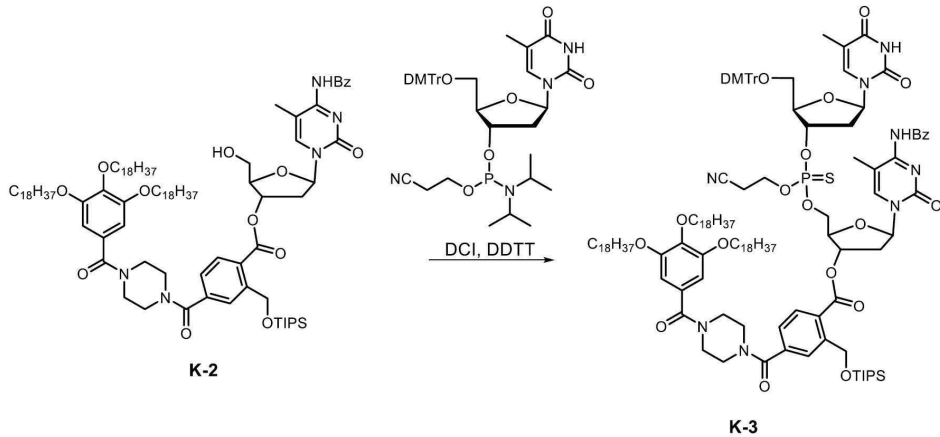
[1111] 화합물 K-2의 일반 제조 절차



[1112]

[1113] DCM(16.0 mL) 중의 **K-1**(2.0 g, 1.04 mmol, 1.00 eq)의 용액에 $C_{12}H_{25}SH$ (274.40 mg, 1.36 mmol, 324.74 μ L, 1.30 eq) 및 DCA(1.08 g, 8.34 mmol, 685.20 μ L, 8.00 eq)를 0-5℃에서 첨가하였다. 혼합물을 0-5℃에서 2.5 hrs 동안 교반하고 NMI(856.20 mg, 10.43 mmol, 831.26 μ L, 10.00 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 0-5℃에서 0.5 hrs 동안 교반하였다. 잔류물을 $NaHCO_4/H_2O$ (50 mL)로 희석하고 DCM(2 x 30 mL)으로 추출하였다. 합한 유기층을 무수 Na_2SO_4 로 건조하고, 여과하고 감압 하에 농축하여 잔류물을 얻었다. 조생성물을 ACN(30V, 60.0 mL)으로 25℃에서 30분 동안 분쇄하였다. 여과 및 농축하였다. 화합물 **K-2**(1.4 g, 713.26 μ mol, 68.4% 수율)를 백색 고체로 얻었다. $C_{100}H_{166}N_5O_{12}Si^+$ $[M+H]^+$ 에 대한 질량 계산치: 1657.2, 실측치: 1657.9.

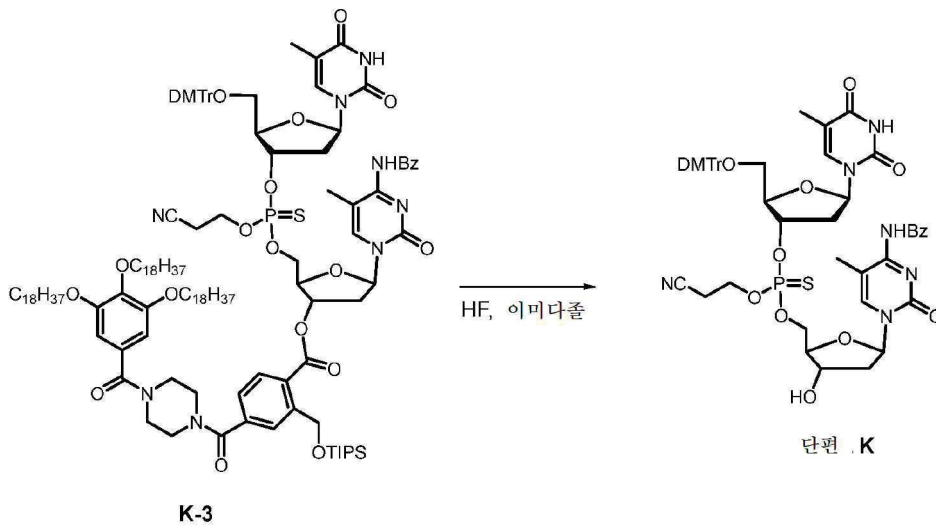
[1114] 화합물 K-3의 일반 제조 절차



[1115]

[1116] 화합물 **K-2**(1.0 g, 603 μ mol, 1.00 eq)를 무수 DCM(8.0 ml) 및 ACN(2.00 mL)과 함께 감압 하에 농축하여 물을 2회 제거하였다. DCM(8.00mL) 중의 화합물 **K-2**(1.0 g, 603 μ mol, 1.00 eq)의 용액에 3A MS(800 mg)를 Ar 하에 25℃에서 한번에 첨가하고 0.5 hr 동안 교반하였다. 5'-DMTr-테옥시 T-3'-포스포르아미다이트(898 mg, 1.21 mmol, 2.00 eq) 및 DCI(213.7 mg, 1.81 mmol, 3.0 eq)를 상기 혼합물에 첨가하였다. 혼합물을 25℃에서 1 hr 동안 교반하였다. LCMS는 출발 물질이 완전히 소모된 것으로 나타났다. DDTT(372 mg, 1.81 mmol, 3.00 eq)를 반응액에 첨가하고, 25℃에서 0.5 hr 동안 교반하였다. 조생성물을 ACN(40 mL)으로 25℃에서 1 hr 동안 분쇄하였다. 혼합물을 여과하고 케이크를 진공에서 농축하였다. 화합물 **K-3**(1.20 g, 77.3% 수율)을 백색 고체로 얻었다. $C_{113}H_{182}N_8O_{18}PSSi^+$ $[M-DMTr+H]^+$ 에 대한 질량 계산치: 2031.3, 실측치 2031.0.

[1117] 단편 K의 일반 제조 절차



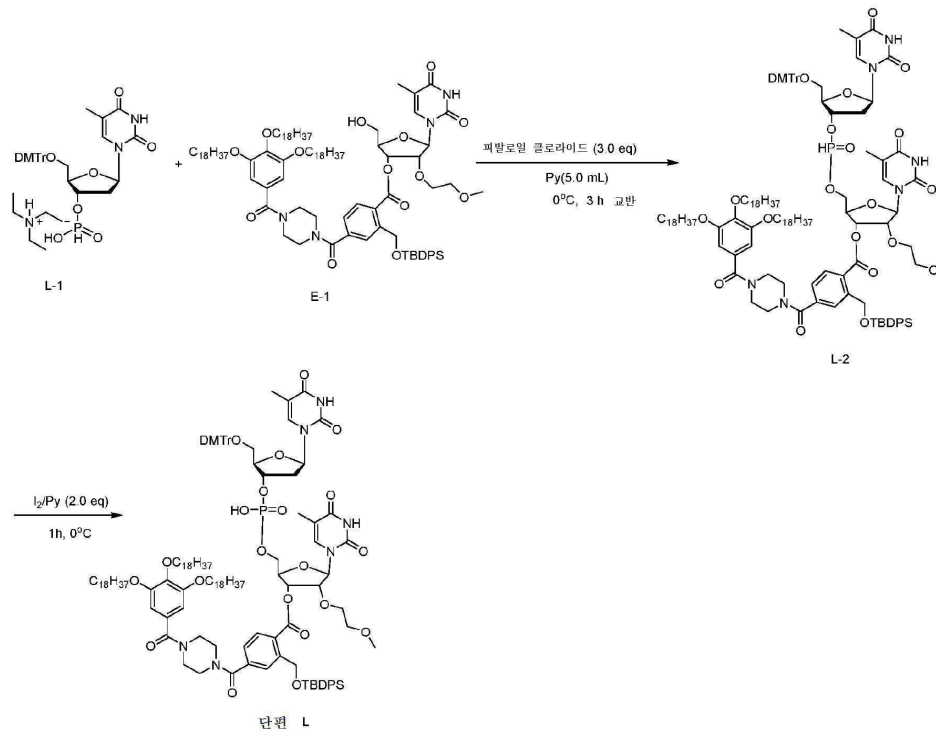
[1118]

[1119] THF(1.6 mL) 중의 화합물 **K-3**(0.2 g, 85.7 μmol , 1.00 eq)의 용액에 THF(0.6 mL) 중의 이미다졸(116.7 mg, 1.71 mmol, 20.0 eq) 및 피리딘/하이드로플루오라이드(24.5 mg, 857.2 μmol , 70% 순도, 10.0 eq)의 용액을 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 20 hrs 동안 교반하였다(화합물 **K-3**은 >95% 전환율로 단편 K로 전환되었음). 단편 K의 구조는 LCMS로 확인하였다. $\text{C}_{51}\text{H}_{53}\text{N}_6\text{NaO}_{13}\text{PS}^+$ $[\text{M}+\text{Na}^+]$ 에 대한 질량 계산치: 1043.3, 실측치: 1043.9.

[1120] 실시예 17. 단편 L을 제조하기 위한 H 인산염 화학

[1121] a. 단편 L의 합성 도식

[1122] 하기에 도시된 합성 도식에 따라 단편 L을 합성하였다:



[1123]

[1124] b. 올리고뉴클레오타이드 단편 L의 합성 절차

[1125] 단편 L의 일반 제조 절차

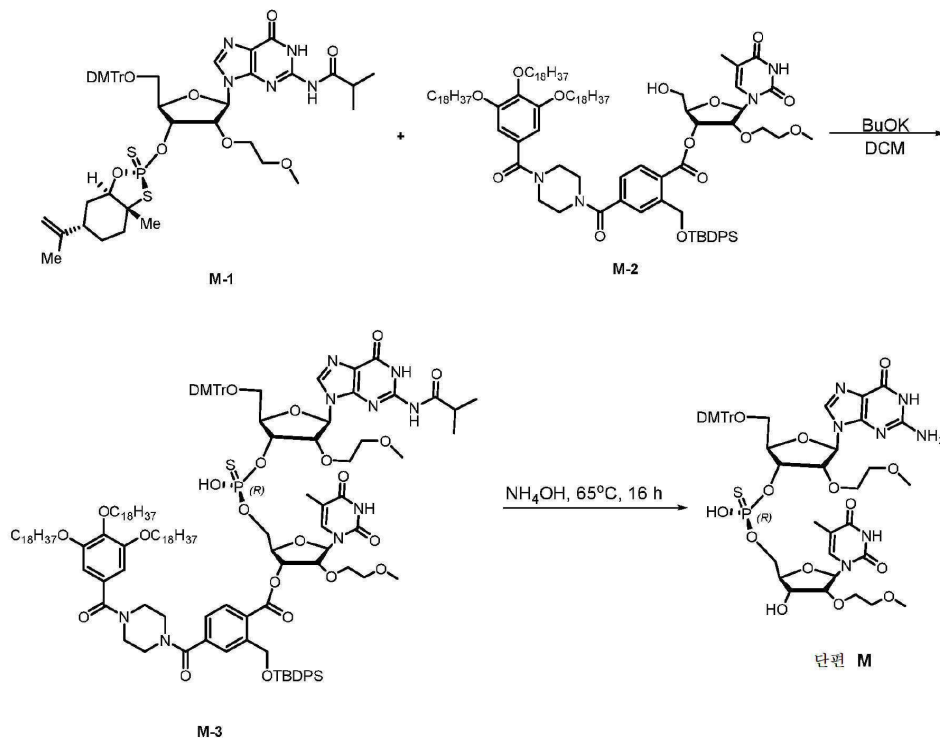
[1126] 피리딘(5 mL) 중의 화합물 **L-1**(0.5 g, 0.70 mmol, 3.00 eq), 피발로일 클로라이드(85 mg, 0.70 mmol, 3.0 eq)

의 혼합물을 0°C에서 1 h 동안 교반하고, **화합물 E-1**(402 mg, 235.1 mmol, 1.0 eq)을 첨가하고, 반응 혼합물을 0°C에서 2.0 h 동안 교반하였다. THF/H₂O(3 mL, 5:1, v/v) 중의 요오드(120 mg, 0.47 mmol, 2.00 eq) 및 피리딘(121 mg, 1.53 mmol, 6.5 eq)의 용액을 반응 혼합물에 0-5°C에서 적가하고, 0-5°C에서 1 h 동안 교반하였다. Na₂S₂O₃ 4 wt% 수용액(116 mg, 0.47 mmol, 2.00 eq)을 0-5°C에서 적가하고 15-25°C에서 10분 동안 교반하였다. EtOAc(50 mL)를 첨가하고 30분 동안 격렬하게 교반하였다. 상부 유기층을 분리하고, 5 wt% NaHCO₃ 용액(2 x 30 mL), 염수(30 mL)로 세척하고, MgSO₄로 건조하고, 여과하고, 농축하였다. 조생성물을 ACN(40 mL)으로 25°C에서 1 hr 동안 분쇄하였다. 혼합물을 여과하고 케이크를 진공에서 농축하였다. 단편 **L**(400 mg)을 백색 고체로 얻었다. C₁₃₄H₁₉₅N₆O₂₃PSi [M]/2에 대한 질량 계산치: 1157.6, 실측치: 1157.6.

[1127] 실시예 18. 키랄 올리고뉴클레오티드 단편 **M**의 합성

[1128] a. 키랄 올리고뉴클레오티드 단편 **M**의 합성 도식

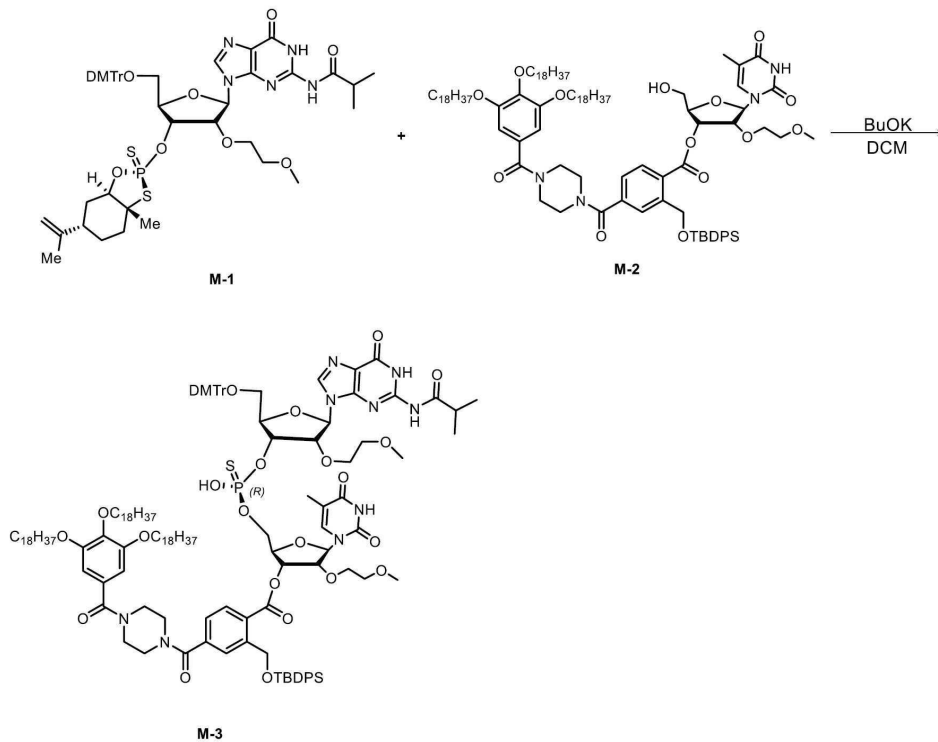
[1129] 하기에 도시된 합성 도식에 따라 키랄 올리고뉴클레오티드 단편 **M**을 합성하였다:



[1130]

[1131] b. 올리고뉴클레오티드 단편 **M**의 합성 절차

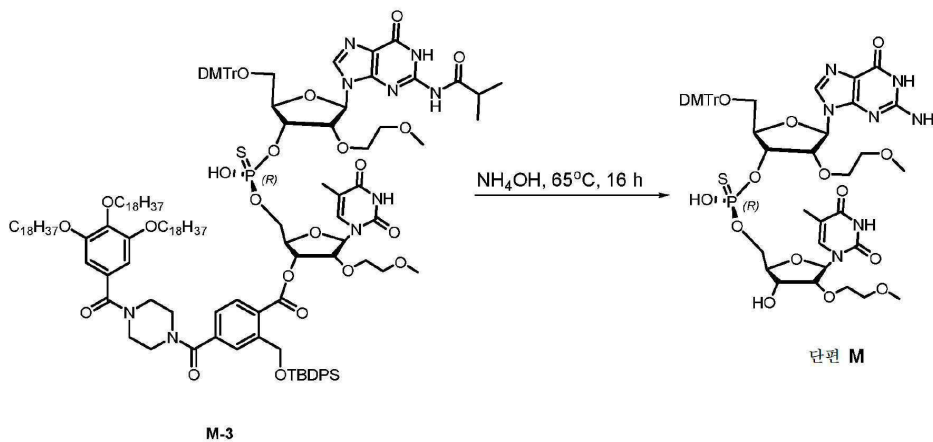
[1132] 화합물 M-3의 일반 제조 절차



[1133]

[1134] 화합물 M-1(134.7 mg, 140.3 μmol , 1.00 eq)을 무수 DCM(5.0 ml) 및 ACN(10.00 mL)과 함께 감압 하에 농축하여 물을 2회 제거하였다. DCM(2.00 mL) 중의 화합물 **M-1**(134.7 mg, 140.3 μmol , 1.00 eq) 및 화합물 **M-2**(160 mg, 93.5 μmol , 1.0 eq)의 용액에 3A MS(200 mg)를 Ar 하에 25°C에서 한번에 첨가하고, 0.5 hr 동안 교반하였다. BuOK(1.0 M, 281 μL , 3.00 eq)를 상기 혼합물에 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 1 hr 동안 교반하였다. LCMS는 출발 물질이 완전히 소모된 것으로 나타났다. 혼합물을 여과하고 DCM(0.5 mL)으로 세척하였다. 조생성물을 ACN(20 mL)으로 25°C에서 1 hr 동안 분쇄하였다. 혼합물을 여과하고 케이크를 진공에서 농축하였다. 키달 단편 M(175 mg, 69.9 μmol , 74.7% 수율)을 백색 고체로 얻었다. $\text{C}_{120}\text{H}_{189}\text{N}_9\text{O}_{22}\text{PSSi}^+ [\text{M-DMTr}+\text{H}^+]$ 에 대한 질량 계산치: 2200.3, 실측치: 2200.1. ^{31}P NMR(162 MHz, CDCl_3) δ 58.6 ppm.

[1135] 단편 M의 일반 제조 절차



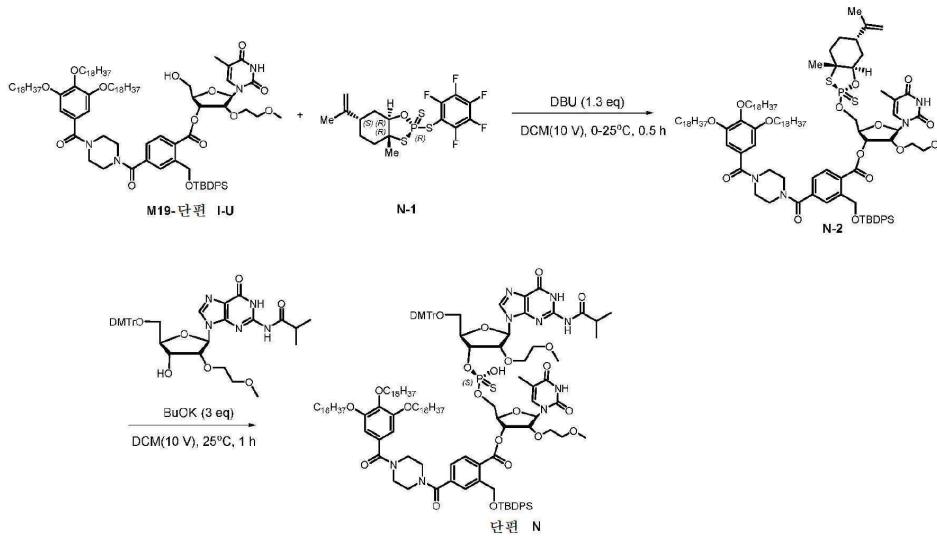
[1136]

[1137] $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (2.00 mL)로 포화된 화합물 M-3(30 mg)의 용액을 4 mL의 밀봉된 튜브 중에서 65°C에서 16시간 동안 교반하였다. 어떠한 정제 없이 반응 혼합물을 여과하고, 여액을 LCMS에 제공하였다. 단편 M이 LCMS에 의해 확인되었다. $\text{C}_{47}\text{H}_{56}\text{N}_7\text{O}_{16}\text{P}^- [\text{M-H}^-]$ 에 대한 HRMS 계산치: 1036.3169, 실측치: 1036.3502.

[1138] 실시예 19. 키랄 올리고뉴클레오티드 단편 N의 합성

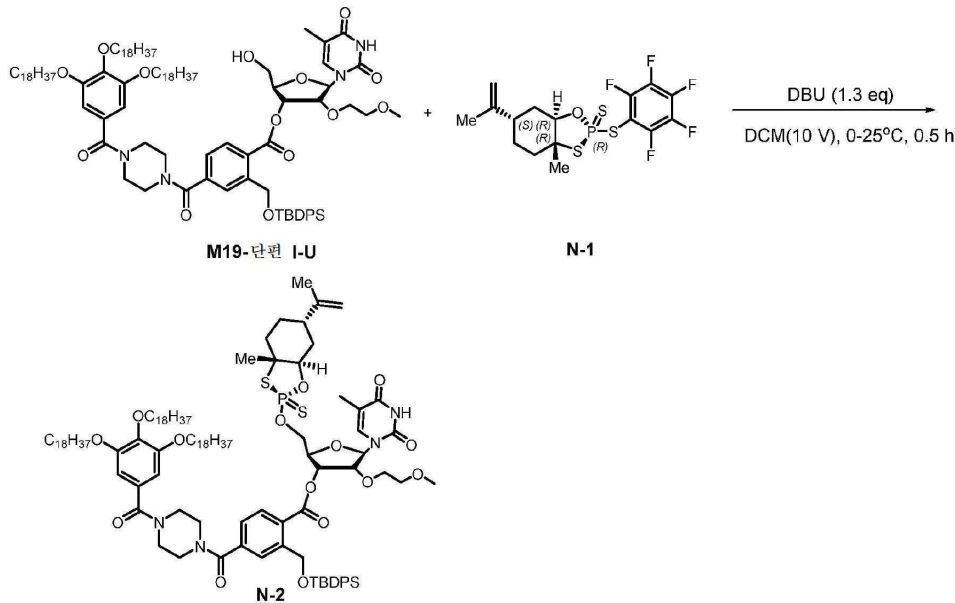
[1139] a. 키랄 올리고뉴클레오티드 단편 N의 합성 도식

[1140] 하기에 도시된 합성 도식에 따라 키랄 올리고뉴클레오티드 단편 N을 합성하였다:



[1141]

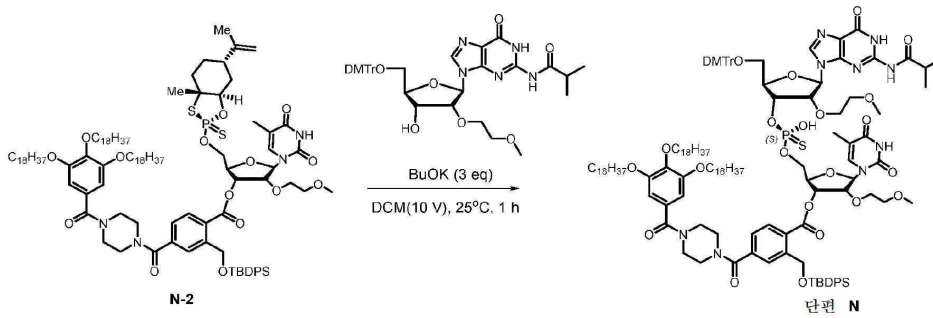
[1142] 화합물 N-2의 일반 제조 절차



[1143]

[1144] 화합물 M19-단편 I-U(200 mg, 117 umol, 1.00 eq)를 무수 DCM(1.0 mL) 및 DCM(3.0 mL)과 함께 감압 하에 농축 하여 물을 2회 제거하였다. DCM(2.00 mL) 중의 화합물 M19-단편 I-U(200 mg, 117 umol, 1.00 eq) 및 화합물 N-1(68 mg, 152 umol, 1.30 eq)의 용액에 3A MS(200 mg)를 Ar 하에 25°C에서 한번에 첨가하고 0.5 hr 동안 교반하였다. 상기 혼합물에 DBU(23 mg, 152 umol, 1.30 eq)를 첨가하고, 혼합물을 25°C에서 1 hr 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고 DCM(1.0 mL)으로 세척하였다. 조생성물을 ACN(30 mL)으로 25°C에서 1 hr 동안 분쇄하였다. 혼합물을 여과하고 케이크를 진공에서 농축하였다. 화합물 N-2(215 mg, 84.6 umol, 84.6% 수율)를 백색 고체로 얻었다.

[1145] 단편 N의 일반 제조 절차



[1146]

[1147] 화합물 N-2(109.4 mg, 153 umol, 1.50 eq)를 무수 CH₃CN(1.0 ml) 및 DCM(3.0 mL)과 함께 감압 하에 농축하여 물을 2회 제거하였다. DCM(2.00 mL) 중의 화합물 5(109.4 mg, 153 umol, 1.50 eq) 및 5'-DMTr-MOE G-3'-OH(200 mg, 102.2 umol, 1.0 eq)의 용액에 3A MS(200 mg)을 25°C에서 Ar 하에 한번에 첨가하고 0.5 hr 동안 교반하였다. BuOK(1.0 M, 307 uL, 3.0 eq)를 상기 혼합물에 첨가하고, 혼합물을 25°C에서 1 hr 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고 DCM(1.0 mL)으로 세척하였다. 조생성물을 ACN(25 mL)으로 25°C에서 1 hr 동안 분쇄하였다. 혼합물을 여과하고 케이크를 진공에서 농축하였다. 키랄 단편 N(175 mg, 54.1 umol, 68.1% 수율)을 백색 고체로 얻었다. C₁₂₀H₁₈₉N₉O₂₂PSSi⁺ [M-DMTr+H]⁺에 대한 질량 계산치: 2200.3, 실측치: 2200.1. ³¹P NMR(162 MHz, CDCl₃) δ 58.6 ppm.

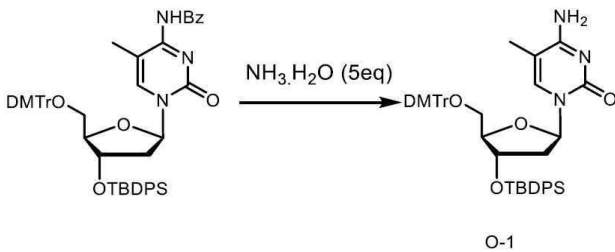
[1148] 실시예 20. 올리고뉴클레오타이드 단편 O의 합성

[1149] a. 올리고뉴클레오타이드 단편 O의 합성 도식

[1150] 도 10에 도시된 합성 도식에 따라 올리고뉴클레오타이드 단편 N을 합성하였다.

[1151] b. 올리고뉴클레오타이드 단편 O의 합성 절차

[1152] 화합물 O-1의 일반 제조 절차

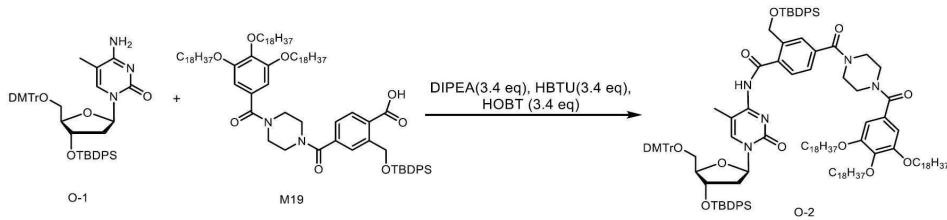


[1153]

[1154] 5'-DMTrO-C-OTBDPS-3'(5.0 g, 5.2 mmol, 1.00 당량), NH₃·H₂O(25%, 3.6 g,

[1155] 26.0 mmol, 5.00 당량) 및 THF(40 mL)의 용액을 20±5°C에서 1.0 h 동안 교반하였다(HPLC는 5'-DMTrO-C-OTBDPS-3'의 42.8% 전환율을 나타냄). 혼합물을 농축하여 조생성물의 잔류물을 얻고 실리카겔 크로마토그래피(용리액으로서 DCM 중 0-10% THF)에 의해 정제하였다. 화합물 O-1을 담황색 고체 형태로 얻었다(1.6g, 36.0% 수율). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 8.02 (s, 1H), 7.90 (d, J = 9.0 Hz, 1 H), 7.64 (d, J = 9.0 Hz, 2 H), 7.58-7.09 (m, 22H), 6.93-6.72 (m, 5H), 5.96 (s, 1H), 4.33 (t, J = 4.5 Hz, 1H), 4.12 (s, 1H), 3.63 (t, J = 3.0 Hz, 1 H), 3.39 (s, 2H), 3.34 (t, J = 3.0 Hz, 2 H), 3.28-3.19 (m, 2H), 3.18 (s, 3H), 3.05-2.93 (m, 1H), 1.39 (s, 3H), 0.94 (s, 9H). ¹³C{¹H} NMR (75 MHz, DMSO-d₆) δ 168.4, 165.8, 158.6, 155.3, 114.9, 135.9, 135.7, 135.4, 133.1, 130.2, 128.6, 128.2, 128.1, 127.9, 113.7, 102.0, 87.8, 86.5, 82.5, 81.7, 71.7, 71.4, 69.2, 63.1, 58.6, 55.5, 27.1, 19.3, 13.3. C₅₀H₅₈N₃O₈Si⁺ [M+H]⁺에 대한 HRMS 계산치: 856.3988, 실측치: 856.4009

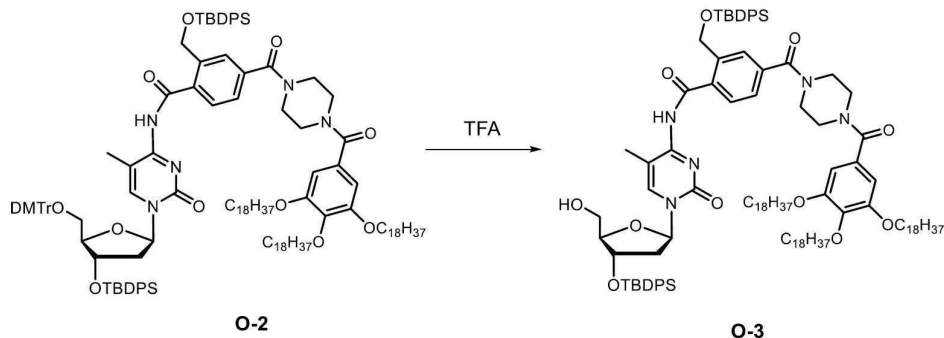
[1156] 화합물 0-2의 일반 제조 절차



[1157]

[1158] DCM(5.00 mL) 중의 화합물 **0-1**(498 mg, 0.64 mmol, 1.50 eq) 및 화합물 **M19**(600 mg, 0.42 mmol, 1.0 eq)의 용액에 DIPEA(186 mg, 3.4 eq), HBTU(549 mg, 3.4 eq) 및 HOBT(192 mg, 3.4 eq)를 25°C 아래에서 첨가하고 4시간 동안 교반하였다. 조생성물을 ACN(40 mL)으로 25°C에서 1 hr 동안 분쇄하였다. 혼합물을 여과하고 케이크를 진공에서 농축하였다. 화합물 **0-2**(700 mg, 0.32 mmol, 76.7% 수율)를 백색 고체로 얻었다. $C_{137}H_{196}N_5O_{13}PSSi_2^+$ $[M+H]^+$ 에 대한 질량 계산치: 2175.4363, 실측치: 2175.4373.

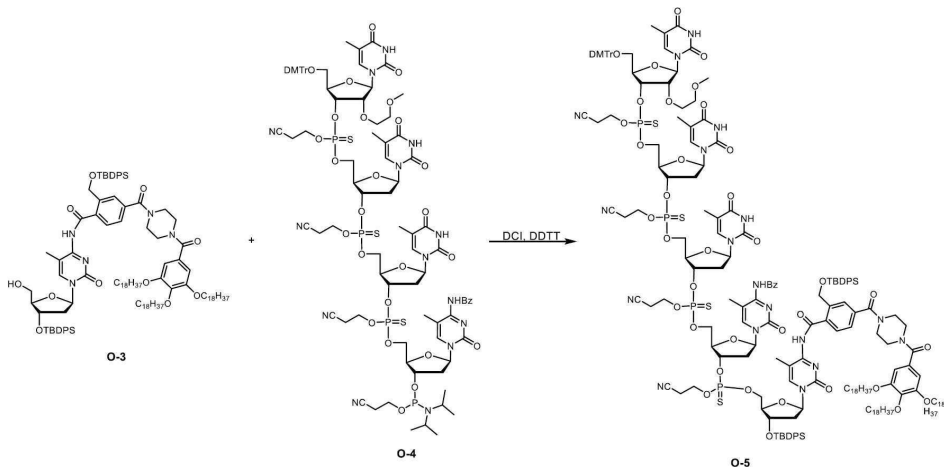
[1159] 화합물 0-3의 일반 제조 절차



[1160]

[1161] DCM(6.0 mL) 중의 화합물 **0-2**(650 mg, 0.298 mmol, 1.00 eq)의 용액에 $C_{12}H_{25}SH$ (180 mg, 3.0 eq) 및 DCA(339 mg, 10.0 eq)를 0-5°C에서 첨가하였다. 혼합물을 0-5°C에서 2.5시간 동안 교반하고 NMI(293.5 mg, 12.00 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 0-5°C에서 0.5 hrs 동안 교반하였다. 잔류물을 $NaHCO_4/H_2O$ (50 mL)로 희석하고 DCM(2 x 30 mL)으로 추출하였다. 조생성물을 ACN(40.0 mL)으로 25°C에서 30분 동안 분쇄하였다. 여과 및 농축하였다. 화합물 **0-3**(500 mg, 89% 수율)을 백색 고체로 얻었다. $C_{116}H_{178}N_5O_{11}Si_2^+$ $[M+H]^+$ 에 대한 질량 계산치: 1874.3, 실측치: 1874.1.

[1162] 화합물 0-5의 일반 제조 절차

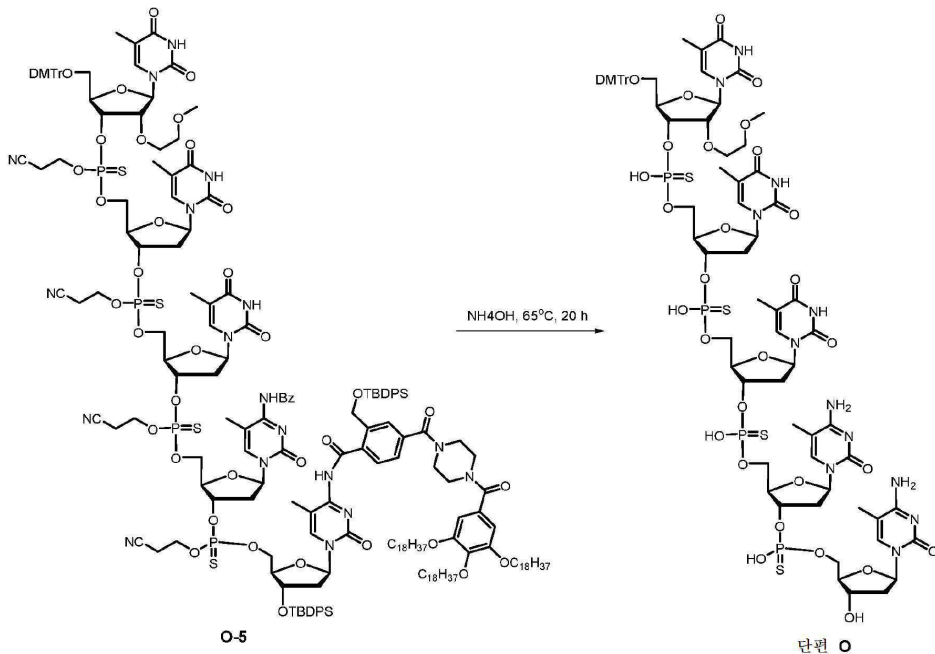


[1163]

[1164] 화합물 **0-3**(0.25 g, 133 umol, 1.00 eq)를 무수 DCM(4.0 ml) 및 ACN(4.00mL)과 함께 감압 하에 농축하여 물을

2회 제거하였다. DCM(4.00 mL) 중의 화합물 **0-3**(0.25 g, 133 μmol , 1.00 eq)의 용액에 3A MS(200 mg)를 Ar 하에 25°C에서 한번에 첨가하고 0.5 hr 동안 교반하였다. 화합물 **0-5**(816 mg, 0.4 mmol, 3.00 eq) 및 DCI(50 mg, 426 μmol , 3.2 eq)를 상기 혼합물에 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 1 hr 동안 교반하였다. DDTT(60 mg, 292 μmol , 2.20 eq)를 반응액에 첨가하고, 혼합물을 25°C에서 0.5 hr 동안 교반하였다. 조생성물을 ACN(40 mL)으로 25°C에서 1 hr 동안 분쇄하였다. 혼합물을 여과하고 케이크를 진공에서 농축하였다. 화합물 **0-5**(0.25 g, 50% 수율)를 백색 고체로 얻었다.

[1165] 단편 0의 일반 제조 절차



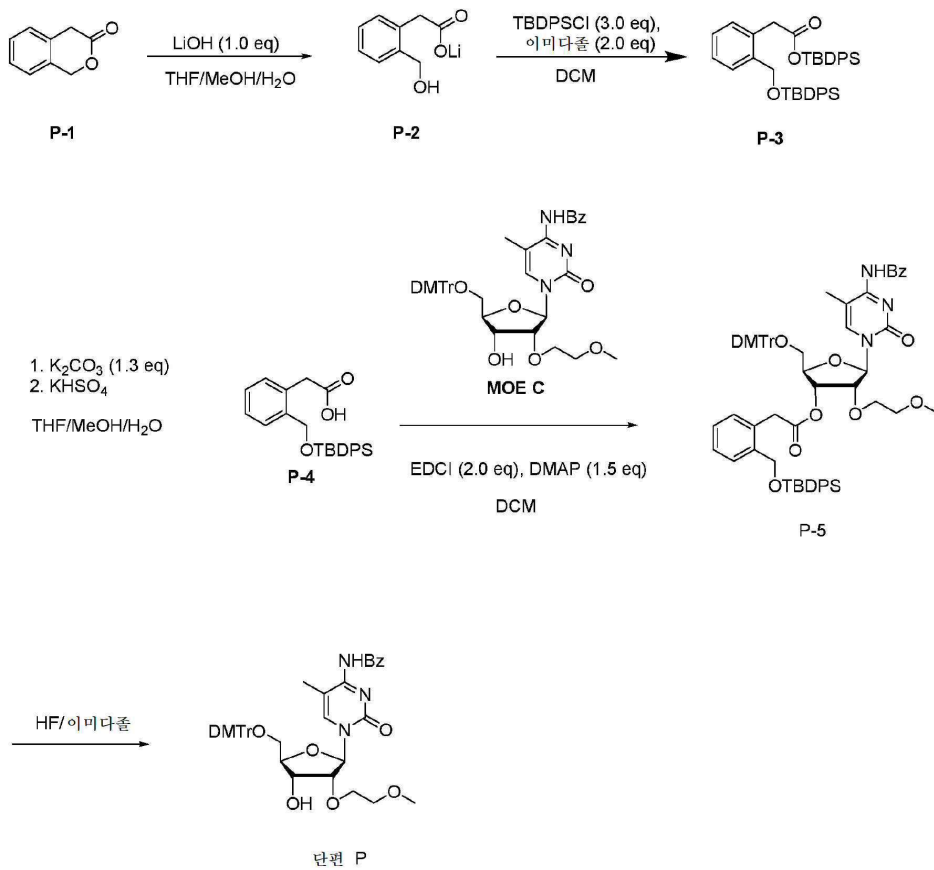
[1166]

[1167] $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (2.00 mL)로 포화된 화합물 **0-5**(20 mg)의 용액을 4 mL의 밀봉된 튜브 중에서 65°C에서 20시간 동안 교반하였다. 어떠한 정제 없이 반응 혼합물을 여과하고, 여액을 LCMS에 제공하였다. 단편 0가 LCMS에 의해 확인되었다. $\text{C}_{74}\text{H}_{91}\text{N}_{12}\text{O}_{31}\text{P}_4\text{S}_4^-$ [$\text{M}-\text{H}^-$]에 대한 HRMS 계산치: 1895.3752, 실측치: 1895.3716.

[1168] 실시예 21. 모노머 단편 P의 합성

[1169]

a. 모노머 단편 P의 합성 도식



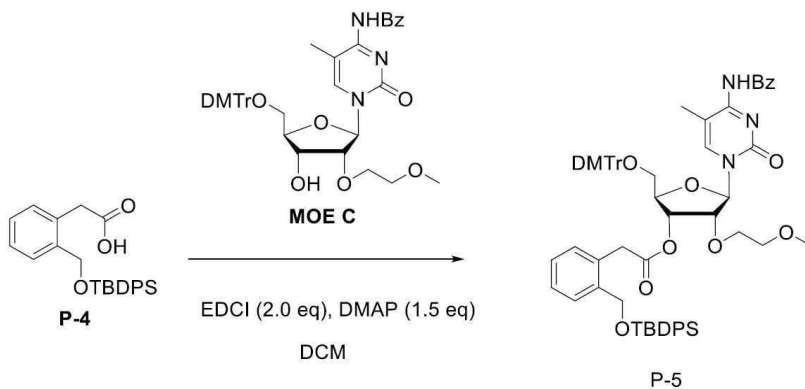
[1170]

[1171]

b. 단편 P의 합성 절차

[1172]

화합물 P-5의 일반 제조 절차

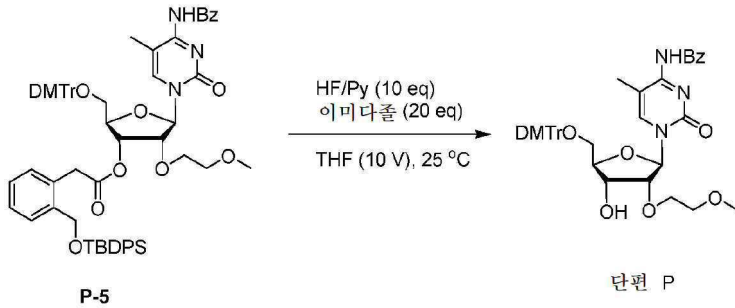


[1173]

[1174]

DCM(20.0 mL) 중의 화합물 P-4((합성 절차는 European Journal of Organic Chemistry (2003), (12), 2327-2335에 기재되어 있고, 이 문헌은 본 명세서에서 참조로 포함됨), 1.0 g, 2.47 mmol, 1.0 eq) 및 5'-DMTr-MOE C-3'-OH(1.78 g, 2.47 mmol, 1.0 eq)의 용액에 EDCI(947 mg, 2.0 eq) 및 DMAP(453 mg, 1.5 eq)를 25°C 아래에서 첨가하고 24시간 동안 교반하였다. 혼합물을 진공에서 농축하고 잔류물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(헵탄/EtOAc 5:1에서 3:1)로 정제하였다. 화합물 P-5를 백색 고체(1.7 g, 1.48 mmol, 60% 수율)로 얻었다. $C_{66}H_{69}N_3O_{11}Si^+$ $[M+H]^+$ 에 대한 질량 계산치: 1108.4 실측치: 1108.4.

[1175] 단편 P의 일반 제조 절차

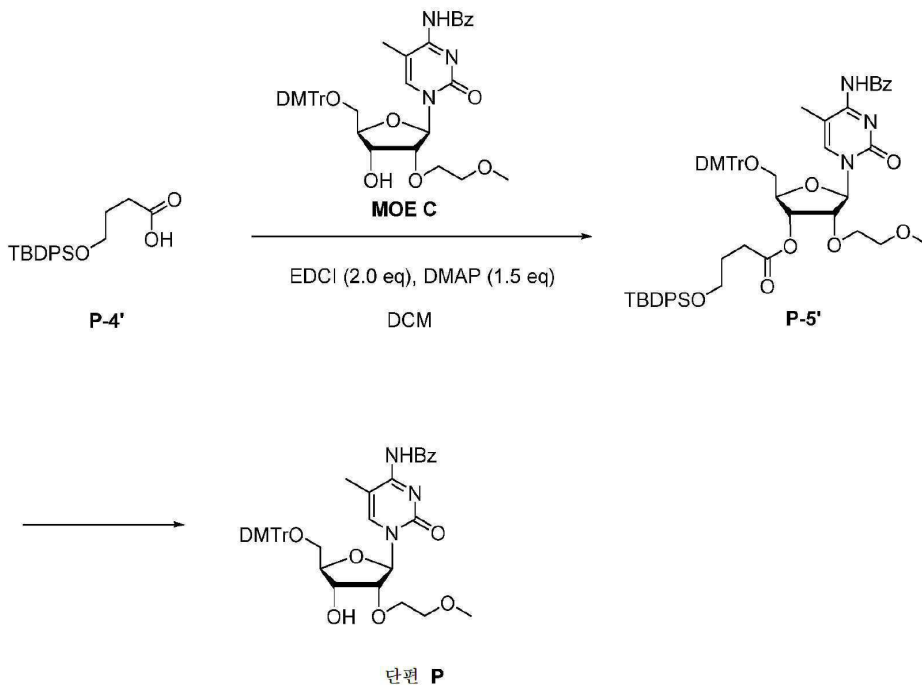


[1176]

[1177] THF(1.0 mL) 중의 화합물 P-5(0.5 g, 0.45 mmol, 1.00 eq)의 용액에 THF(2.0 mL) 중의 이미다졸(614.2 mg, 9.02 mmol, 20.0 eq) 및 피리딘/하이드로플루오라이드(128.9 mg, 4.5 mmol, 70% 순도, 10.0 eq)의 용액을 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 20 hrs 동안 교반하였다(화합물 P-5는 >95% 전환율로 단편 P로 전환되었음).

[1178]

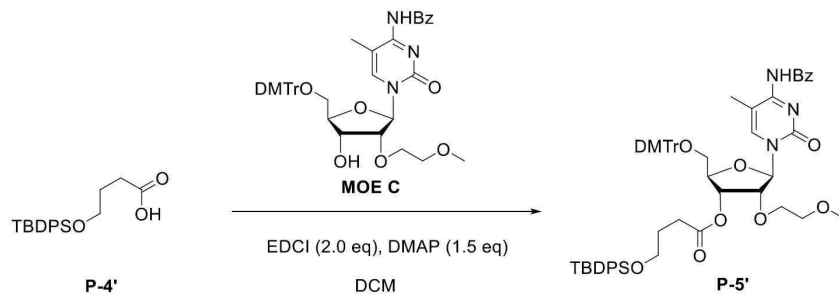
c. 단량체 단편 P의 대체 합성 도식



[1179]

[1180] d. 단편 P의 대체 합성 절차

[1181] 화합물 P-5'의 일반 제조 절차

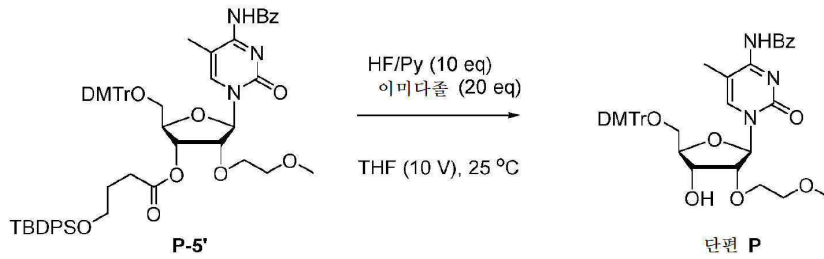


[1182]

[1183] DCM(10.0 mL) 중의 화합물 P-4'(1.0 g, 2.92 mmol, 1.0 eq) 및 5'-DMTr-MOE C-3'-OH(2.10 g, 2.92 mmol, 1.0 eq)의 용액에 EDCI(2.80 g, 5.0 eq) 및 DMAP(0.71 g, 2.0 eq)를 25°C 아래에서 첨가하고 24시간 동안 교반하였다. 혼합물을 진공에서 농축하고 잔류물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(헵탄/EtOAc 5:1에서 3:1)로 정제하였다. 화합물 P-5'를 백색 고체로 얻었다(1.97 g, 90% 수율). C₆₁H₆₇N₃O₁₁Si⁺ [M+H]⁺에 대한 질량 계산치:

1046.4 실측치: 1046.4.

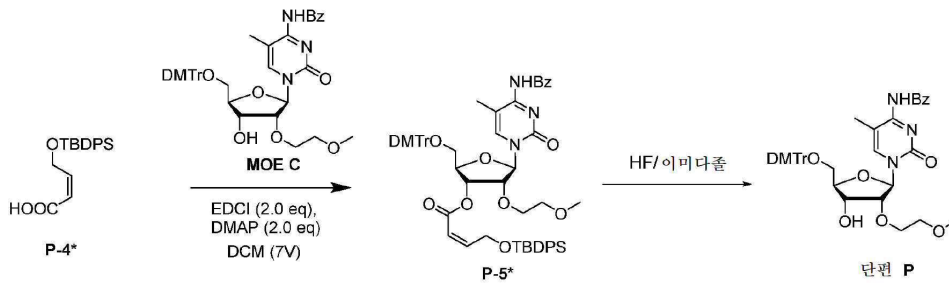
[1184] 단편 P의 일반 제조 절차



[1185]

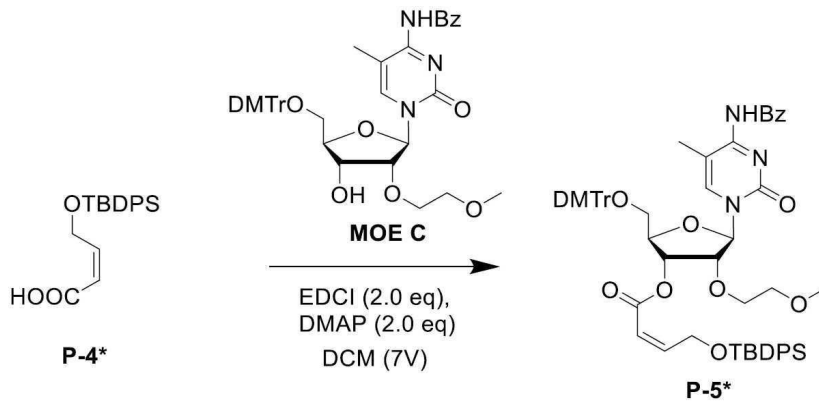
[1186] THF(1.0 mL) 중의 화합물 **P-5'**(0.3 g, 0.29 mmol, 1.00 eq)의 용액에 THF(2.0 mL) 중의 이미다졸(390.2 mg, 5.73 mmol, 20.0 eq) 및 피리딘/하이드로플루오라이드(81.9 mg, 2.9 mmol, 70% 순도, 10.0 eq)의 용액을 첨가하였다. 혼합물을 25°C에서 20시간 동안 교반하였고 화합물 **P-5'**가 ~60% 전환율로 단편 P로 전환되었다.

[1187] e. 모노머 단편 P의 대체 합성 도식



[1188]

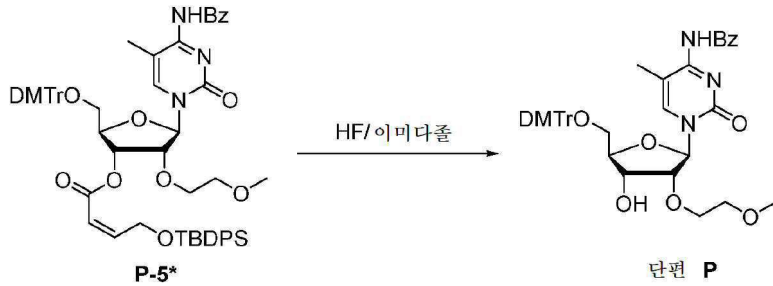
[1189] 화합물 P-5*의 일반 제조 절차



[1190]

[1191] DCM(20.0 mL) 중의 화합물 **P-4***(2.12 g, 6.23 mmol, 1.5 eq) 및 5'-DMTr-MOE C-3'-OH(3.0 g, 4.16 mmol, 1.0 eq)의 용액에 EDCI(1.59 g, 2.0 eq) 및 DMAP(1.02 g, 2.0 eq)를 25°C 아래에서 첨가하고 24시간 동안 교반하였다. 혼합물을 진공에서 농축하고 잔류물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(헵탄/EtOAc 5:1에서 3:1)로 정제하였다. 화합물 **P-5***를 점착성 오일로 얻었다(2.5 g, 93% 수율). $C_{61}H_{65}N_3O_{11}Si^+$ $[M+H]^+$ 에 대한 질량 계산치: 1046.4 실측치: 1044.4.

[1192] 단편 P의 일반 제조 절차



[1193]

[1194] THF(1.0 mL) 중의 화합물 P-5* (0.15 g, 0.145 mmol, 1.00 eq)의 용액에 THF(2.0 mL) 중의 이미다졸(195.1 mg, 2.87 mmol, 20.0 eq) 및 피리딘/하이드로플루오라이드(41 mg, 1.45 mmol, 70% 순도, 10.0 eq)의 용액을 첨가하였다. 혼합물을 50°C에서 6 hrs 동안 교반하였고 화합물 P-5*가 ~90% 전환율로 단편 P로 전환되었다.

[1195] 실시예 22. M40으로부터 올리고뉴클레오티드 단편 B의 합성

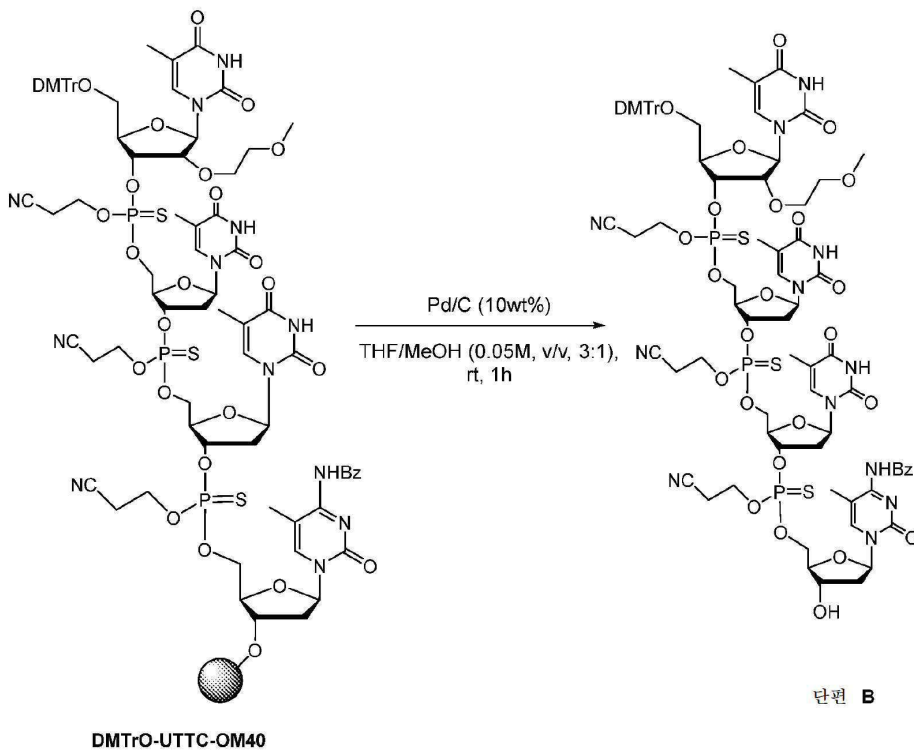
[1196] a. M40으로부터 올리고뉴클레오티드 단편 B의 합성 도식

[1197] 도 11에 도시된 합성 도식에 따라 단편 B를 합성하였다.

[1198] b. 시약 M40으로부터 올리고뉴클레오티드 단편 B의 합성 절차

[1199] 시약 M40으로부터 올리고뉴클레오티드 단편 B를 합성하는 절차는, M40의 선택적 탈보호의 마지막 단계를 제외하고는, M19로부터 올리고뉴클레오티드 단편 B의 합성에 대해 기술된 것과 유사하였다. M40의 선택적 탈보호 절차는 아래에 기재되어 있다.

[1200] M40의 선택적 탈보호 절차

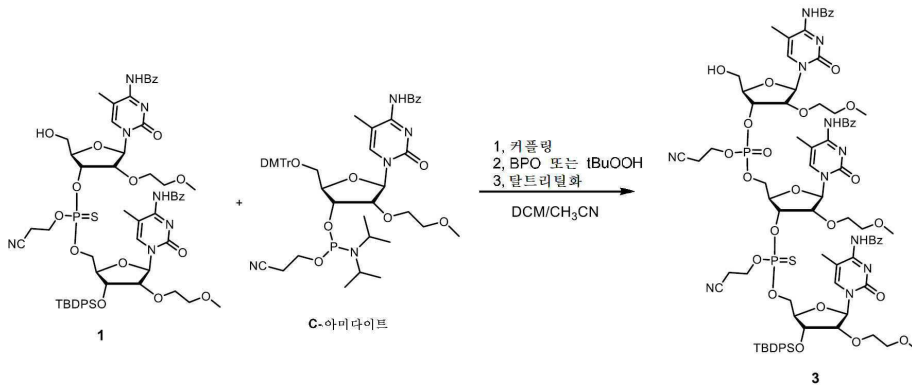


[1201]

[1202] 수소 분위기 하에서, 테트라하이드로푸란 및 메탄올(0.05M, v/v, 3:1) 중의 DMTrO-UTTC-OM40(1.0 eq) 및 탄소상 팔라듐(10wt%)의 혼합물을 실온에서 1시간 동안 격렬하게 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고 농축하여 잔류물을 얻었고, 이를 MTBE 중에서 석출시켜 목적한 생성물을 얻었다. 단편 B가 70.5% 수율 및 85.2% 순도로 담황색 고체로 얻어졌다.

[1203] 실시예 23. P=O 결합의 제조를 위한 원 포트 절차

[1204] a. P=O 결합의 원 포트 제조 절차를 위한 도식



[1205]

[1206] b. P=O 결합의 제조 절차

[1207] CH₃CN/DCM(100mL, v/v = 1:3) 중의 **화합물 1**(12 g, 10 mmol, 1.00 eq), MOE C 아미다이트(11.16 g, 12 mmol, 1.20 eq) 및 3 Å MS(12.0 g)의 혼합물을 20-30°C에서 1 h 동안 교반하고, DCI(1.94 g, 15 mmol, 1.50 eq)를 첨가하고, 반응 혼합물을 20-30°C에서 1.0 h 동안 교반하였다(HPLC는 반응 전환율 >99.5%를 나타냄). H₂O(40 mg, 2 mmol, 0.2 eq)를 첨가하고 혼합물을 25°C에서 30분 동안 교반하였다. NMI(1.35 g, 15 mmol, 1.5 eq), BPO(3.89 g, 11 mmol, 1.1 eq) 및 요오드(DCM 6 mL 중 278 mg, 1 mmol, 0.1 eq)를 반응 혼합물에 0-5°C에서 첨가하고 0-5°C에서 1 h 동안 교반하였다. 피페라진(652 mg, 7 mmol, 0.7 eq)을 반응 혼합물에 첨가하고 0-5°C에서 30분 동안 교반하였다. 도데칸-1-티올(6.64 g, 3.0 eq) 및 3 Å MS(10.0 g)를 첨가하고 혼합물을 0-10°C에서 60분 동안 교반하였다. TFA(13.7 g, 110 mmol, 11.00 eq)를 0-5°C에서 적가하고 10-20°C에서 60분 동안 교반하였다. NMI(9.88 g, 110 mmol, 11.0 eq)를 0-5°C에서 첨가하고 0-5°C에서 10분 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하여 3 Å MS를 제거하고 격렬하게 교반하면서 5% NaHCO₃ 용액(120 mL)에 첨가하였다. EtOAc(120 mL) 및 MTBE(120 mL)를 첨가하고 10분 동안 격렬하게 교반하였다. 유기층을 분리하고, 5% NaHCO₃ 수용액(120 mL), H₂O(120 mL), 염수(120 mL)로 세척하고, MgSO₄(24 g)로 건조하고, 여과하고, 진공에서 농축하였다. 조생성물을 EtOAc(36 mL)에 용해시키고 헵탄/TBME(216 L, 1:1, v/v)의 혼합물에 천천히 첨가하였다. 석출된 생성물을 여과하고, 헵탄/TBME(2 x 400 mL, 1:1, v/v)로 세척하고 20-30°C에서 16 h 동안 진공 하에 건조하여 **화합물 3**을 백색 고체로 얻었다(14.3 g, 80.1% 수율). C₈₂H₉₇N₁₁O₂₄P₂SSi⁺ [M+H]⁺에 대한 HRMS 계산치: 1742.5751, 실측치: 1742.5732.

[1208] c. 상이한 산화 시약 간의 비교

[1209] 요오드/피리딘, mCPBA, BPO 및 tBuOOH를 포함하여, 여러 산화 시약을, P=O 결합의 제조를 위한 원 포트 절차(커플링/산화/탈트리틸화)에서 테스트하였다. 반응 생성물 3 및 부산물 1 및 2를 나타내는 도식은 도 12에 도시되어 있다. 각 산화 시약의 성능을 하기 표 2에 정리하였다.

표 2

[1210]

산화 시약	부산물 1	부산물 2	정제
요오드/피리딘	0.4-1.0%		탈트리틸화 전에 피리딘의 제거가 필요함
mCPBA		>10% PS가 PO로 전환되었음	
BPO	<0.2%	<0.1%	
tBuOOH	<0.2%	<0.1%	

[1211] 산화 시약 BPO 및 tBuOOH는 올리고뉴클레오타이드에서 P=O 결합의 제조를 위한 원 포트 절차에서 요오드/피리딘 및 mCPBA보다 우수한 산화 성능을 나타냈다. BPO 또는 tBuOOH가 원 포트 절차에 사용된 경우, 둘 다 요오드/피

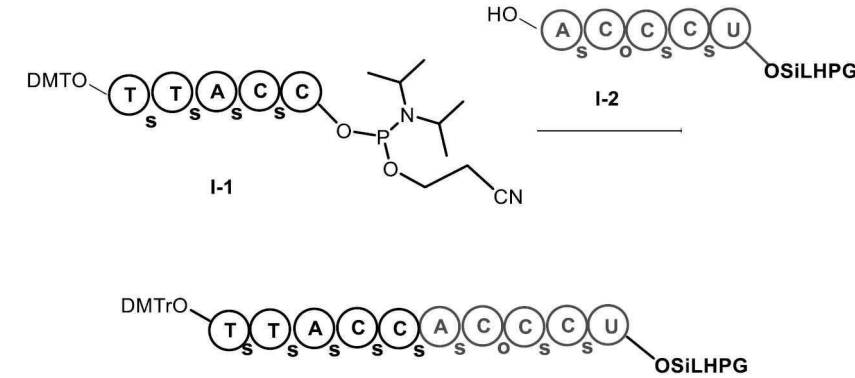
리딘 및 mCPBA보다 더 적은 부산물을 생성하였다. 또한, 탈트리틸화 단계를 수행하기 전에 피리딘을 제거하기 위한 추가 정제 단계가 필요하기 때문에 원 포트 절차는 요오드/피리딘에 대해 성공적이지 않았다.

[1212] 실시예 24. 올리고뉴클레오타이드 I의 합성

[1213]

[1214]

단계 1: 화합물 I-3의 합성



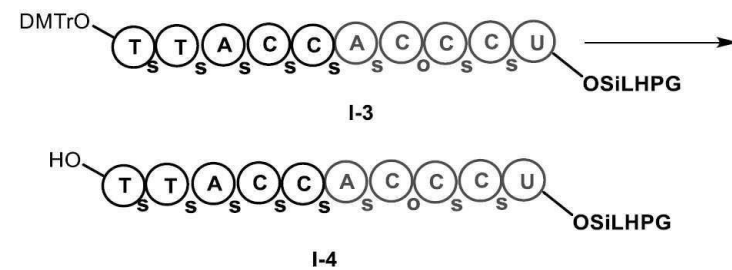
[1215]

[1216]

제1 둥근 바닥 플라스크(RBF)에 Ar 하에 화합물 I-2(1 eq)를 첨가하였다. 그를 25-30°C에서 (DCM/ACN=3:1,4 v)과 함께 공증발시켜 3회 건조하였다. 그 다음 DCM/ACN=2:1(6V)을 RBF에 첨가한 다음, 25-30°C에서 1 h 동안 3A MS(5%)를 첨가하였다. 그 다음 화합물 I-1(1.5 eq)을 Ar 하에 제2 RBF에 첨가하고 25-30°C에서 (ACN 4 v)와 함께 공증발시켜 3회 건조하였다. 제2 RBF에 DCM(2V)을 첨가하고 제2 RBF의 생성된 용액을 제1 RBF에 20-25°C에서 적가한 다음, DCI(2 eq)를 첨가하였다. 생성된 혼합물을 25-30°C에서 1 h 동안 교반하였다. 분석을 위해 샘플을 채취하였다. 그 다음 반응 혼합물에 DDTT(2 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 25-30°C에서 0.5 h 동안 교반하였다. 분석을 위해 샘플을 채취하였다. 그 다음 혼합물을 여과하여 3 Å MS를 제거하고, DCM(2V x 2)으로 세척하였다. 생성된 용액을 20°C에서 0.5 h 동안 ACN(50V)에 천천히 첨가하였다. 고체를 여과 수집하고, ACN(5 V x 2)으로 세척하여 화합물 I-3을 백색 고체로 얻었다.

[1217]

단계 2: 화합물 I-3의 탈트리틸화

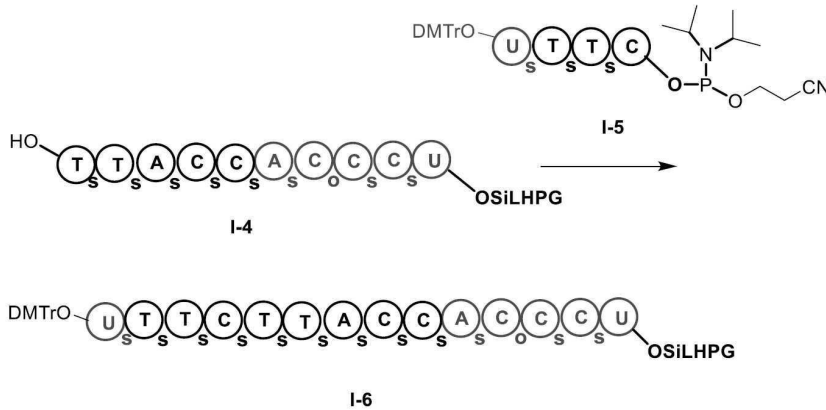


[1218]

[1219]

화합물 I-3(1 eq)을 Ar 하에 RBF에 첨가한 후, DCM(7 V)을 Ar 하에 0-5°C에서 및 3A MS(5%)를 20-25°C에서 1 h 동안 첨가하였다. 그 다음 혼합물에 C₁₂H₂₅SH(2 eq)를 첨가한 다음, TCA(10 eq)를 0-5°C에서 2 h 동안 적하하였다. 분석을 위해 샘플을 채취하였다. Py(12 eq)를 0-5°C에서 첨가하였다. 혼합물을 여과하여 3 Å MS를 제거하고 DCM(2V x 2)으로 세척하였다. NaHCO₃(4% wt, 10 V)를 첨가하여 pH 값을 7~8로 조정하였다. 그 다음 혼합물을 DCM(2V x 2)으로 추출하였다. 유기층을 무수 MgSO₄로 건조하고, 여과하고, DCM(2 V x 2)으로 세척하였다. 여액을 ~5V로 농축하고 ACN(50V)에 20°C에서 0.5 h 동안 천천히 첨가하였다. 고체를 여과 수집하고 ACN(5 V x 2)으로 세척하여 화합물 I-4를 백색 고체로 얻었다.

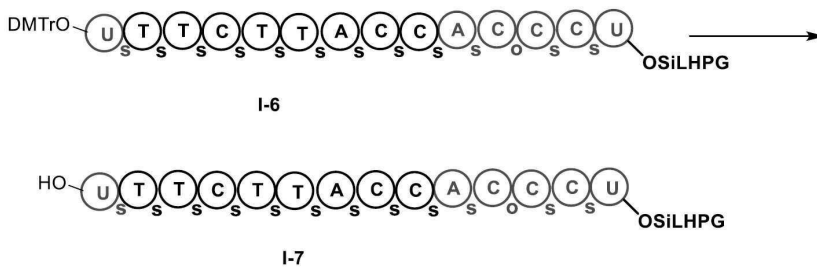
[1220] 단계 3: 화합물 I-6의 합성



[1221]

[1222] 화합물 I-4(1 eq)를 Ar 하에 제1 RBF에 첨가하였다. 그를 25-30℃에서 DCM/ACN(3:1,4 v)과 함께 공증발하여 3회 건조하였다. 그 다음 DCM/ACN(2:1, 6V)을 RBF에 첨가한 다음, 3A MS(5%)를 25-30에서 1 h 동안 첨가하였다. 화합물 I-5를 Ar하에 제2 RBF에 첨가하였다(1.5 eq). 혼합물을 25-30℃에서 ACN(4 v)과 함께 공증발시켜 3회 건조한 후 DCM(2V)을 첨가하였다. 제2 RBF의 생성된 용액을 20-25℃에서 제1 RBF로 적하하여 이동한 다음, DCI(2 eq)를 첨가하였다. 생성된 혼합물을 25-30℃에서 1 h 동안 교반하였다. 분석을 위해 샘플을 채취하였다. DDTT(2eq)를 RBF에 첨가하였다. 생성된 혼합물을 25-30℃에서 0.5 h 동안 교반하였다. 분석을 위해 샘플을 채취하였다. 그 다음 반응 혼합물을 여과하여 3 Å MS를 제거하고, DCM(2V x 2)으로 세척하였다. 생성된 용액을 20℃에서 0.5 h 동안 ACN(50 V)에 천천히 첨가하였다. 고체를 여과 수집하고 ACN(5 V x 2)으로 세척하여 화합물 I-6을 백색 고체로 얻었다.

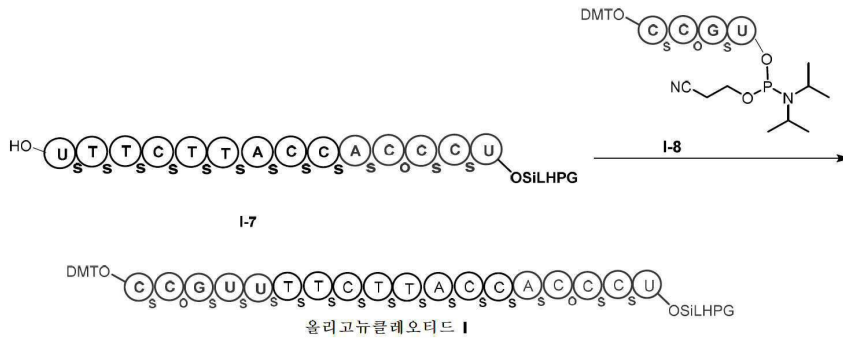
[1223] 단계 4: 화합물 I-6의 탈트리틸화



[1224]

[1225] 화합물 I-6(1 eq)을 Ar 하에 둥근 바닥 플라스크(RBF)에 첨가한 다음, DCM(7 V)을 Ar 하에 0-5℃에서 및 3A MS(5%)를 20-25℃에서 1 h 동안 첨가하였다. 그 다음 혼합물에 C₁₂H₂₅SH(3 eq)를 첨가한 다음, TCA(12 eq)를 0-5℃에서 2 h 동안 적하하였다. 분석을 위해 샘플을 채취하였다. 그 다음 Py(15 eq)를 0-5℃에서 RBF에 첨가하였다. 혼합물을 여과하여 3 Å MS를 제거하고 DCM(2V x 2)으로 세척하였다. NaHCO₃(4% wt, 10 V)를 첨가하여 pH 값을 7-8로 조정하였다. 그 다음 DCM(2V x 2)으로 추출하였다. 유기층을 무수 MgSO₄로 건조하고, 여과하고, DCM(2 V x 2)으로 세척하였다. 여액을 ~5V로 농축하고 ACN(50 V)에 20℃에서 0.5 h 동안 천천히 첨가하였다. 고체를 여과 수집하고 ACN(5 V x 2)으로 세척하여 화합물 I-7을 백색 고체로 얻었다.

[1226] 단계 5: 올리고뉴클레오타이드 I의 합성



[1227]

[1228] 화합물 I-7(1 eq)을 Ar 하에 제1 RBF에 첨가하였다. 그를 25-30℃에서 DCM/ACN(3:1, 4 v)과 함께 공증발하여 3번 건조하였다. 그 다음 DCM/ACN(3:1, 10V)을 RBF에 첨가한 다음, 3A MS(5%)를 25-30℃에서 1 h 동안 첨가하였다. 화합물 I-8을 Ar 하에 제2 RBF에 첨가하였다(1.7eq). 혼합물을 25-30℃에서 ACN(4 v)과 함께 공증발시켜 3회 건조한 후 DCM(2V)을 첨가하였다. 제2 RBF의 생성된 용액을 20-25℃에서 제1 RBF로 적하하여 이동한 후, DCI(2.5 eq)를 첨가하였다. 생성된 혼합물을 25-30℃에서 1 h 동안 교반하였다. 분석을 위해 샘플을 채취하였다. DDTT(2eq)를 RBF에 첨가하였다. 생성된 혼합물을 25-30℃에서 0.5 h 동안 교반하였다. 분석을 위해 샘플을 채취하였다. 그 다음 반응 혼합물을 여과하여 3 Å MS를 제거하고 DCM(2V x 2)으로 세척하였다. 생성된 용액을 20℃에서 0.5 h 동안 ACN(50 V)에 천천히 첨가하였다. 고체를 여과 수집하고 ACN(5 V x 2)으로 세척하여 올리고뉴클레오타이드 I를 3.1g(76.4% 수율, 69% UV 순도)으로 백색 고체로 얻었다.

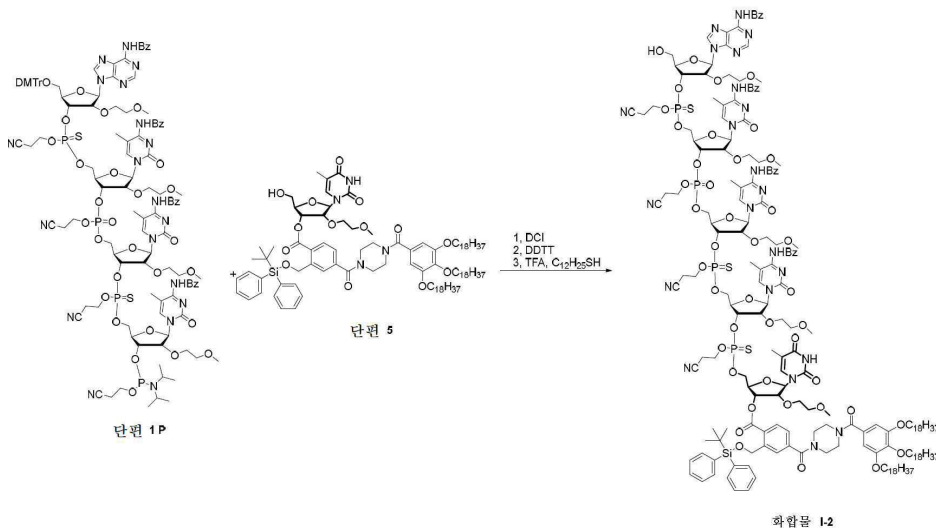
[1229] 실시예 25. 올리고뉴클레오타이드 I의 규모 확대 합성

[1230] a. 올리고뉴클레오타이드 I의 합성 도식

[1231] 도 13에 도시된 합성 도식에 따라 올리고뉴클레오타이드 I을 50그램 규모로 합성하였다.

[1232] b. 올리고뉴클레오타이드 I의 합성 절차

[1233] 화합물 I-2의 일반 제조 절차

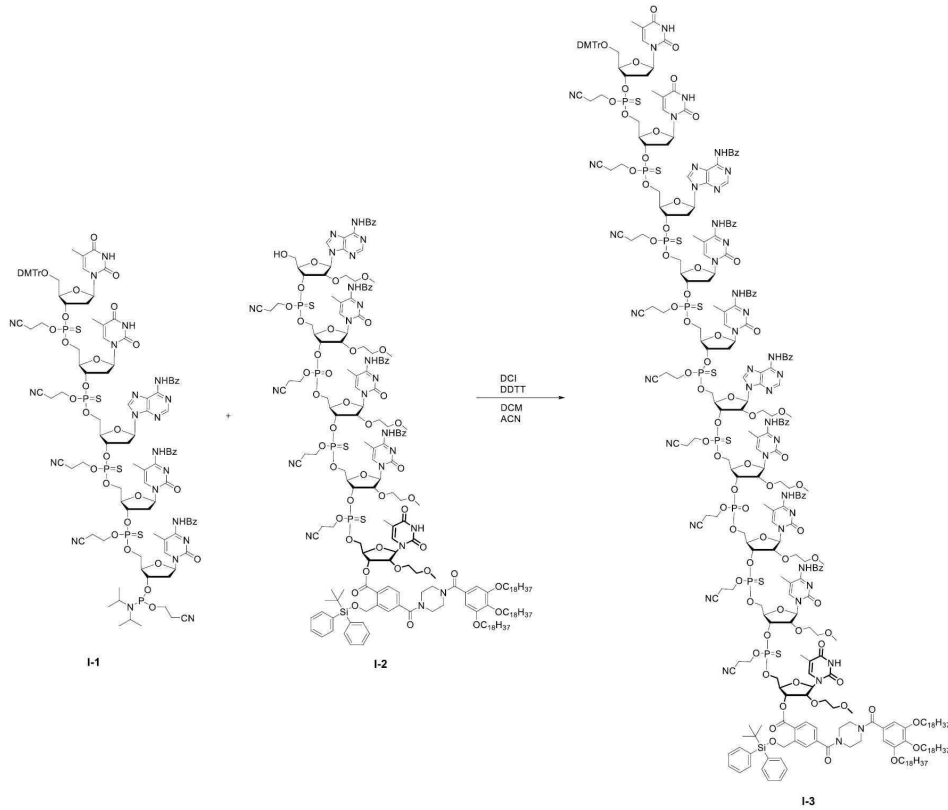


[1234]

[1235] N₂ 분위기 하의 단편 1P(24.0 g, 14.1 mmol), 단편 5(44.1 g, 17.2 mmol), 3 Å MS(5 g/100 mL, 12 g), 및 DCM(240 mL)의 혼합물을 20-25℃에서 1.0 h 동안 교반하였다. DCI(6.6 g, 56.4 mmol)를 첨가하고 반응 혼합물을 20-30℃에서 1.0 h 동안 교반하였다. DDTT(7.2 g, 35.25 mmol)를 첨가하고 반응 혼합물을 20-25℃에서 30분 동안 교반하였다. 도데칸-1-티올(9.94 g, 49.3 mmol)을 첨가하고 반응 혼합물을 0±5℃에서 10분 동안 교반하였다. TFA(14.4 g, 126.9 mmol)를 천천히 첨가하고 반응 혼합물을 0±5℃에서 1.0 h 동안 교반하였다. NMI(12.7 g, 155.1 mmol)를 10분 안에 첨가하고, 반응 혼합물을 여과하여 3 Å MS를 제거하고, 회전 증발기에서 약 100 mL로 농축하고, 0±5℃에서 격렬하게 교반하면서 30분 안에 CH₃CN(2.6 L)에 첨가하였다. 석출된 생성물

을 여과하고, ACN(2 x 100 mL)으로 세척하고 20-30°C에서 16 h 동안 진공 하에 건조하여 **화합물 I-2**를 백색 고체로 얻었다 (46.7 g, 85.1% 수율).

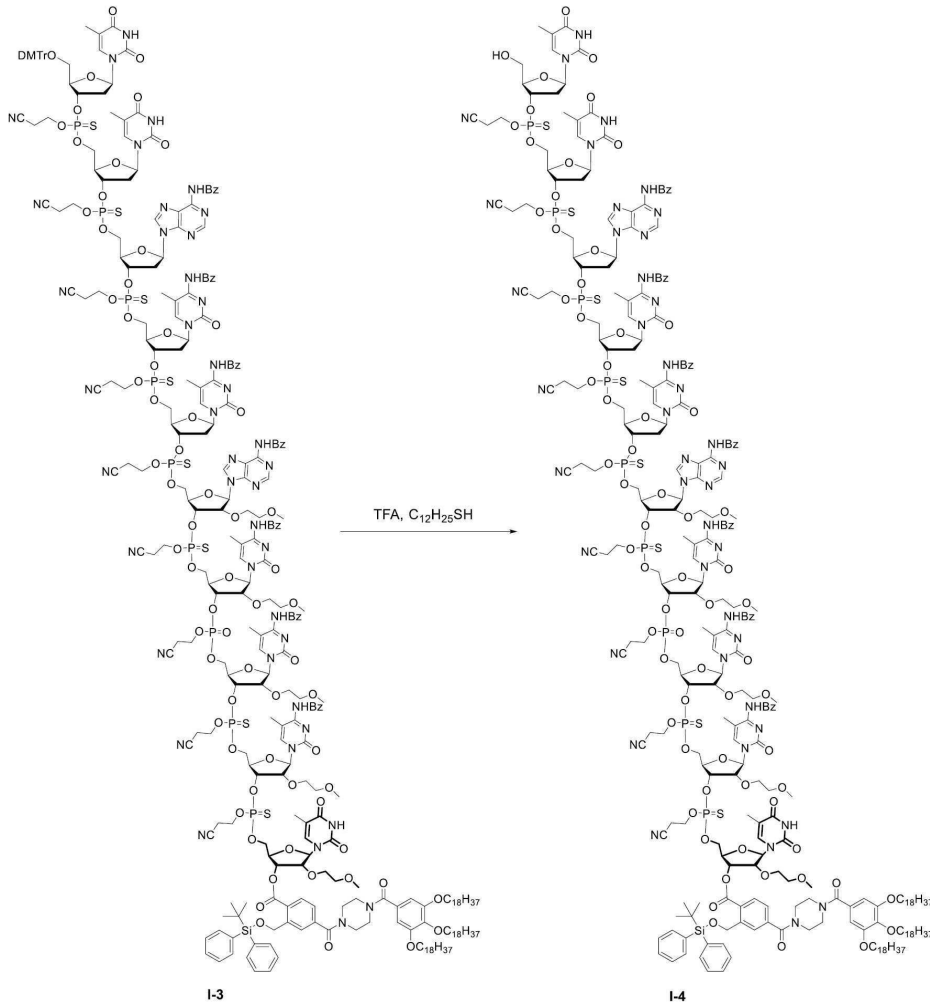
[1236] **화합물 I-3**의 일반 제조 절차



[1237]

[1238] **화합물 I-2**(44.0 g, 11.3 mmol), **화합물 I-1**(40.8 g, 15.9 mmol), 3 Å MS(44 g) 및 ACN/DCM(440 mL, 1:3, v/v)의 혼합물을 20-25°C에서 1.0 h 동안 N₂ 분위기 하에 교반하였다. DCI(6.66 g, 56.5 mmol)를 첨가하고, 반응 혼합물을 1.0 h 동안 교반하였다. DDTT(5.1 g, 34.9 mmol)를 첨가하고 반응 혼합물을 20-25°C에서 30분 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고 3 Å MS 여과 케이크를 DCM(2 x 50 mL)으로 세척하였다. 합한 여액을 회전 증발기에서 약 200 mL로 농축하고 0±5°C에서 격렬하게 교반하면서 30분 안에 ACN(2 L)에 첨가하였다. 석출된 생성물을 여과하고, ACN(2 x 100 mL)으로 세척하고 20-30°C에서 12 h 동안 진공 하에 건조하여 **화합물 I-3**을 약간 노란색의 고체로 얻었다(71.4 g, 98.6% 수율).

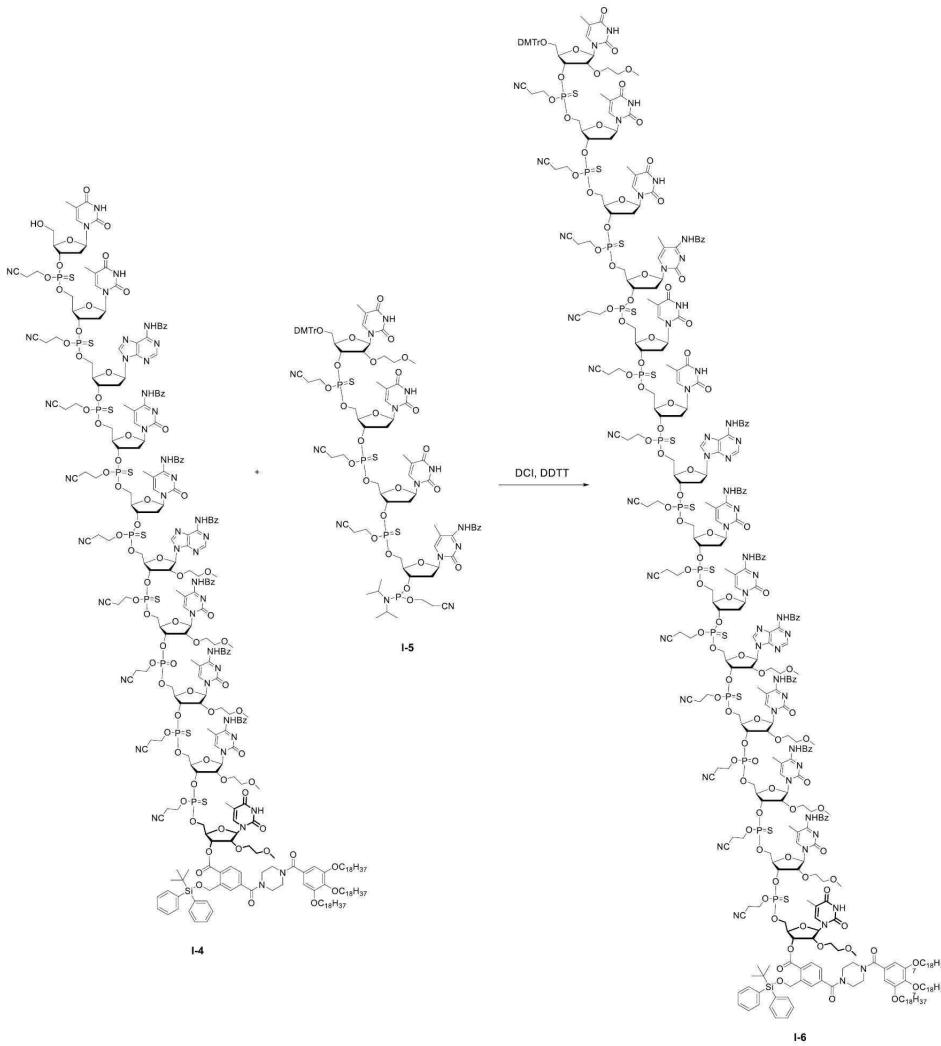
[1239] 화합물 I-4의 일반 제조 절차



[1240]

[1241] **화합물 I-3**(69.0 g, 10.8 mmol), 3 Å MS(71.0 g) 및 DCM(480 mL)의 혼합물을 20-25°C에서 1.0 h 동안 N₂ 분위기 하에 교반하고 0±5°C로 냉각시켰다. 도데칸-1-티올(5.6 g, 27 mmol)을 첨가하고 반응 혼합물을 0°C에서 10 분 동안 교반하였다. TFA(13.6 g, 118.8 mmol)를 천천히 첨가하고 반응 혼합물을 0±5°C에서 1.5 동안 교반하였다. NMI(11.5g, 140.4mmol)를 10분 안에 첨가하고, 반응 혼합물을 여과하여 3 Å MS를 제거하고, 회전 증발기에서 약 200 mL로 농축하고, 0±5°C에서 격렬하게 교반하면서 30분 안에 ACN(2.5 L)에 첨가하였다. 석출된 생성물을 여과하고, ACN(2 x 172 mL)으로 세척하고 20-30°C에서 14 h 동안 진공 하에 건조하여 **화합물 I-4**를 백색 고체로 얻었다(55.86 g, 85.0% 수율).

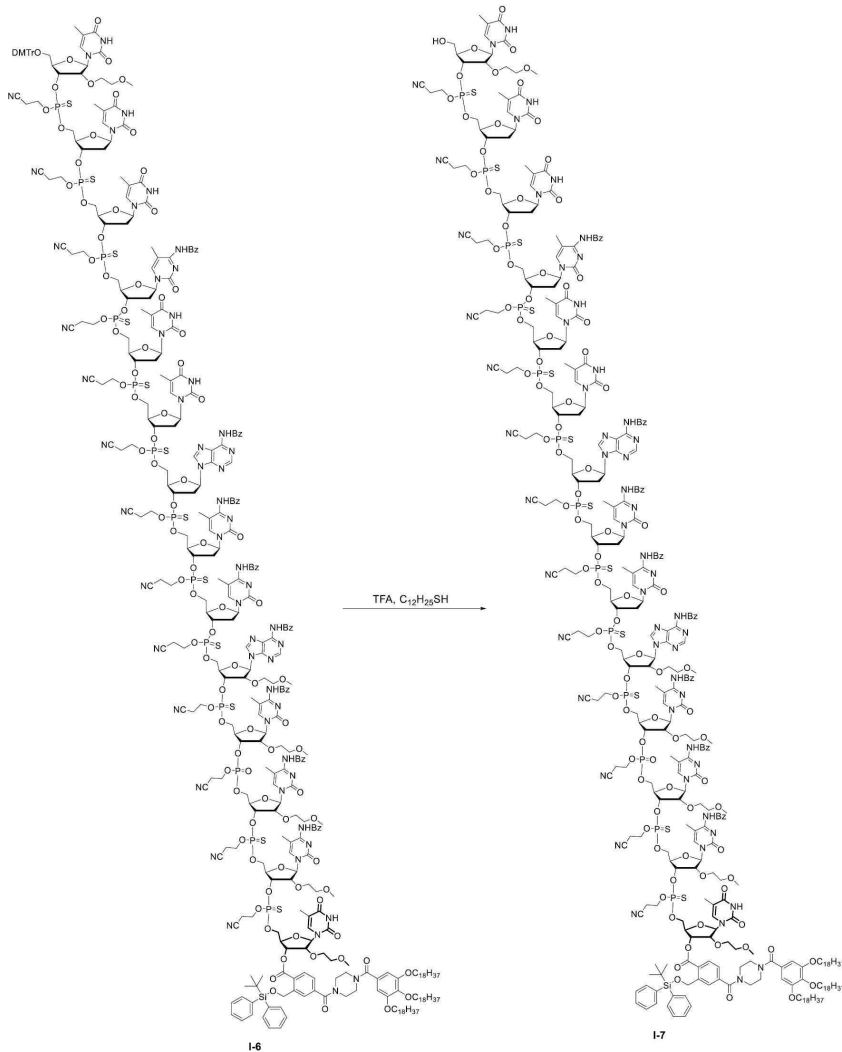
[1242] 화합물 I-6의 일반 제조 절차



[1243]

[1244] **화합물 I-4**(39.9 g, 6.55 mmol), **화합물 I-5**(18.8 g, 9.17 mmol), 3 Å MS(40 g) 및 ACN/DCM(400 mL, 1:3, v/v)의 혼합물을 20-25°C에서 1.0 h 동안 N₂ 분위기 하에 교반하였다. DCI(3.87 g, 32.8 mmol)를 첨가하고 반응 혼합물을 1.0 h 동안 교반하였다. DDTT(2.96 g, 14.4 mmol)를 첨가하고 반응 혼합물을 20-25°C에서 30분 동안 교반하였다. DCM(100 mL)을 첨가하고 반응 혼합물을 여과하고 3 Å MS 여과 케이크를 DCM(2 x 30 mL)으로 세척하였다. 합한 여액을 회전식 증발기에서 약 200 mL로 농축하고 0±5°C에서 격렬하게 교반하면서 30분 안에 ACN(1.36 L)에 천천히 첨가하였다. 석출된 생성물을 여과하고, ACN(3 x 100 mL)으로 세척하고 20-30°C에서 12 h 동안 진공 하에 건조하여 **화합물 I-6**을 연황색 고체로 얻었다(49.8 g, 94.3% 수율).

[1245] 화합물 I-7의 일반 제조 절차

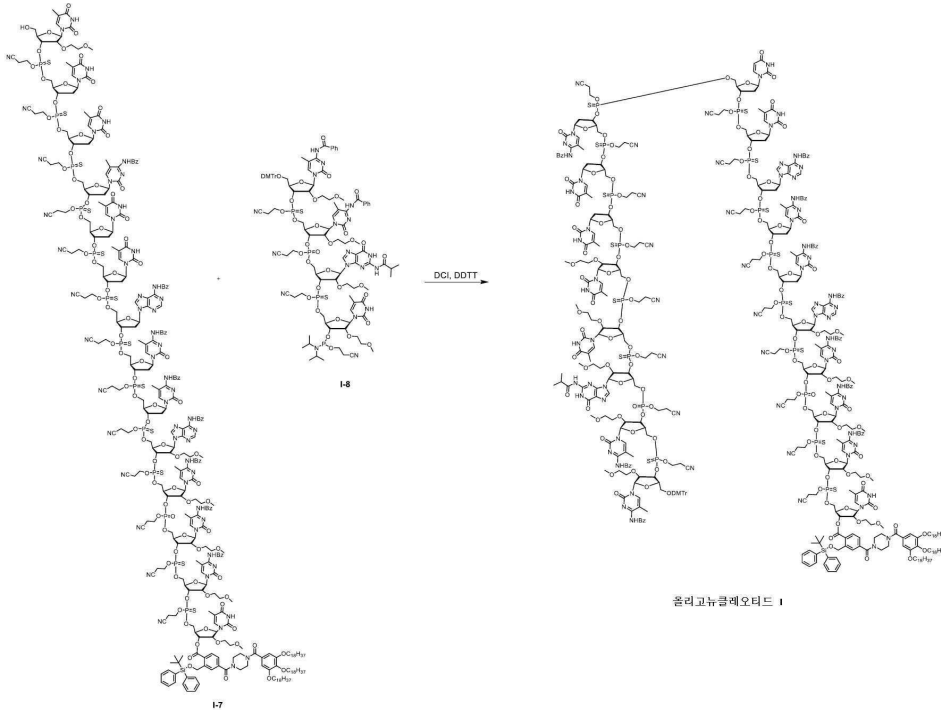


[1246]

[1247]

화합물 I-6(50.0 g, 6.20 mmol), 3 Å MS(18.0 g) 및 DCM(350 mL)의 혼합물을 20-25°C에서 1.0 h 동안 N₂ 분위기 하에 교반하고 0±5°C로 냉각시켰다. 도데칸-1-티올(3.77 g, 18.6 mmol)을 첨가하고, 반응 혼합물을 0°C에서 10분 동안 교반하였다. TFA(9.19 g, 80.6 mmol)를 천천히 첨가하고 반응 혼합물을 0±5°C에서 1.5 h 동안 교반하였다. NMI(8.14 g, 99.2 mmol)를 10분 내에 첨가하고, 반응 혼합물을 여과하고, 3 Å MS 여과 케이크를 DCM으로 세척하였다. 합한 여액을 회전 증발기에서 약 200 mL로 농축하고 0±5°C에서 격렬하게 교반하면서 30분 안에 ACN(2.65 L)에 첨가하였다. 석출된 생성물을 여과하고, ACN(3 x 150 mL)으로 세척하고 20-30°C에서 14 h 동안 진공 하에 건조하여 **화합물 I-7**을 백색 고체로 얻었다(45.9 g, 95.3% 수율).

[1248] 올리고뉴클레오타이드 I의 일반 제조 절차



[1249]

[1250] **화합물 I-7**(42.0 g, 5.41 mmol), **화합물 I-8**(23.9 g, 9.74 mmol), 3 Å MS(42 g) 및 DCM/CH₃CN(400 mL, 3:1, v/v)의 혼합물을 20-25°C에서 1.0 h 동안 N₂ 분위기 하에 교반하였다. DCI(3.2 g, 27.05 mmol)를 첨가하고, 반응 혼합물을 1.0 h 동안 교반하였다. DDTT(2.45 g, 11.9 mmol)를 첨가하고 반응 혼합물을 20-25°C에서 30분 동안 교반하였다. DCM(200 mL)을 첨가하고 반응 혼합물을 여과하고, 3 Å MS 여과 케이크를 DCM(2 x 50 mL)으로 세척하였다. 합한 반응 혼합물을 회전식 증발기에서 약 300 mL로 농축하고 0±5°C에서 격렬하게 교반하면서 30분 안에 ACN(2.50 L)에 천천히 첨가하였다. 석출된 생성물을 여과하고, ACN(2 x 150 mL)으로 세척하고 20-30°C에서 14 h 동안 진공 하에 건조하여 올리고뉴클레오타이드 I을 연황색 고체로 수득하였다(51.6 g, 94.1% 수율).

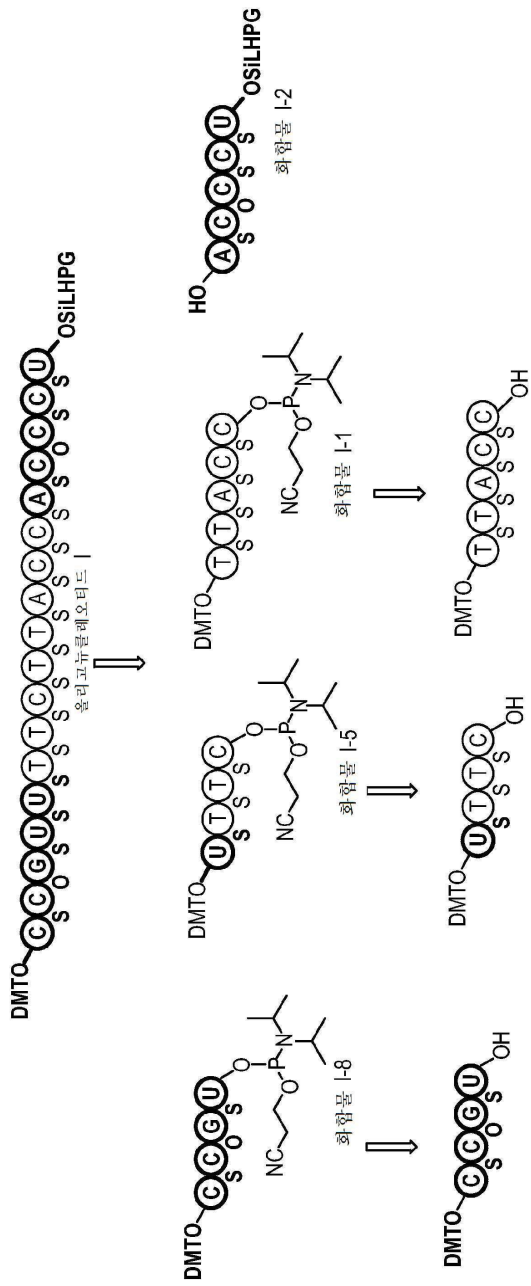
[1251] 올리고뉴클레오타이드 I의 특성화: 4mL 압력 플라스크 중의 올리고뉴클레오타이드 I(100.0 mg)과 30% NH₄OH(2 mL)의 혼합물을 65°C에서 4 h 동안 교반하였다. 생성된 화합물을 LCMS에서 확인하였다. 올리고뉴클레오타이드 I의 구조가 LCMS로 확인되었다. C₂₃₁H₃₁₈N₅₃O₁₁₈P₁₇S₁₅/4⁻ [M]⁻/4에 대한 HRMS 계산치: 1682.0, 실측치: 1682.1.

[1252] 특정 구현예에 대한 전술한 설명은 본 발명의 일반적인 특성을 충분히 드러낼 것이므로, 다른 사람들이, 당해 기술 분야의 지식을 적용함으로써, 과도한 실험 없이도, 본 개시의 일반 개념을 벗어나지 않으면서, 이러한 특정 구현예를 용이하게 수정 및/또는 다양한 적용에 적응시킬 수 있을 것이다. 그러므로, 그러한 적응 및 수정은, 본 명세서에 제시된 교시 및 지침에 기초하여, 개시된 구현예의 균등물의 의미 및 범위 내에 있도록 의도된 것이다. 본 명세서의 표현 또는 용어(phraseology or terminology)는, 본 명세서의 용어 또는 표현이 교시 및 지침에 비추어 숙련된 기술자에 의해 해석되도록 하기 위한 것이며, 이는 설명을 위한 것이며 제한하려는 것이 아닌 것으로 이해되어야 한다.

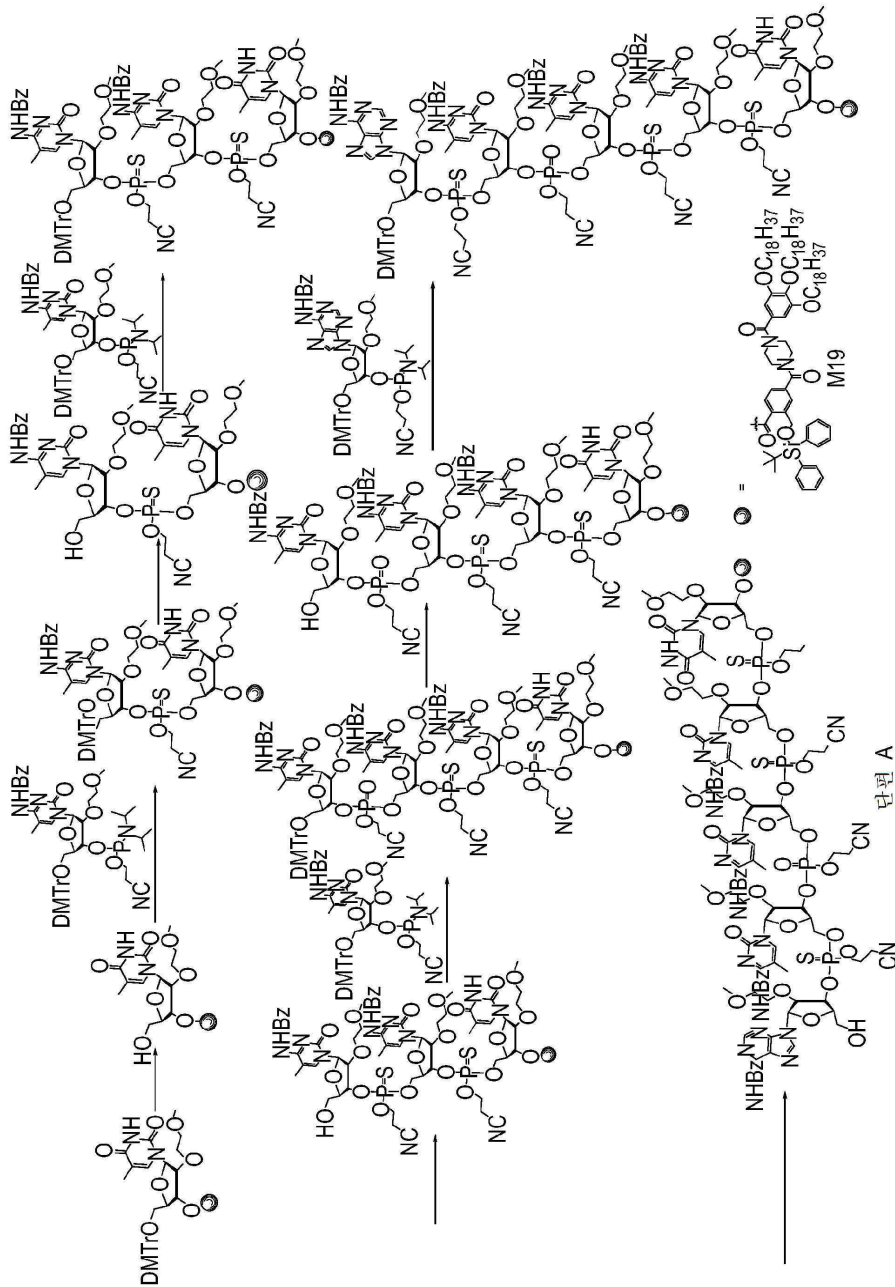
[1253] 본 개시의 폭과 범위는 상술한 예시적인 구현예 중 어느 것에 의해서도 제한되어서는 안 되며, 다음의 청구범위 및 그 균등물에 따라서만 한정되어야 한다.

도면

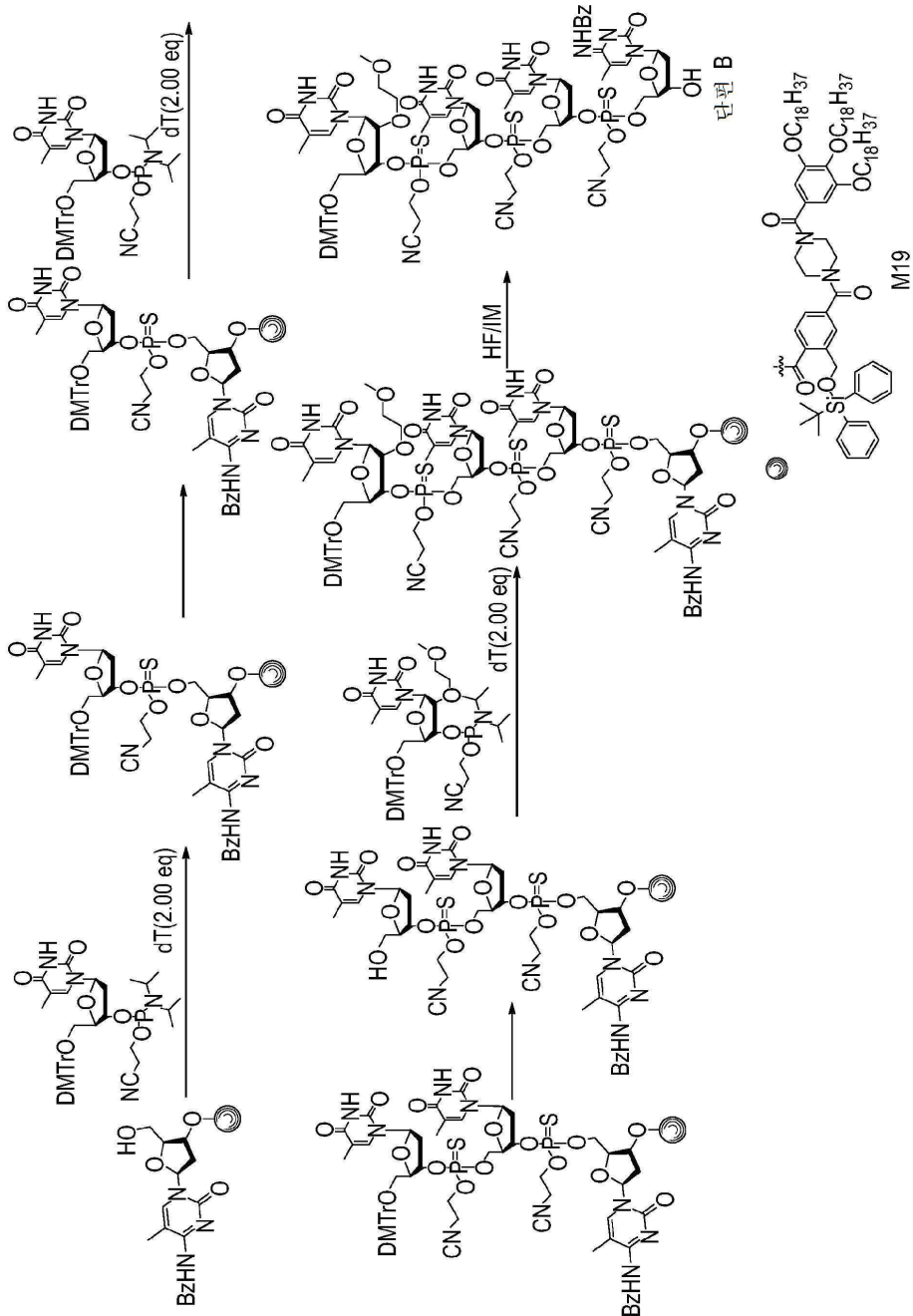
도면1



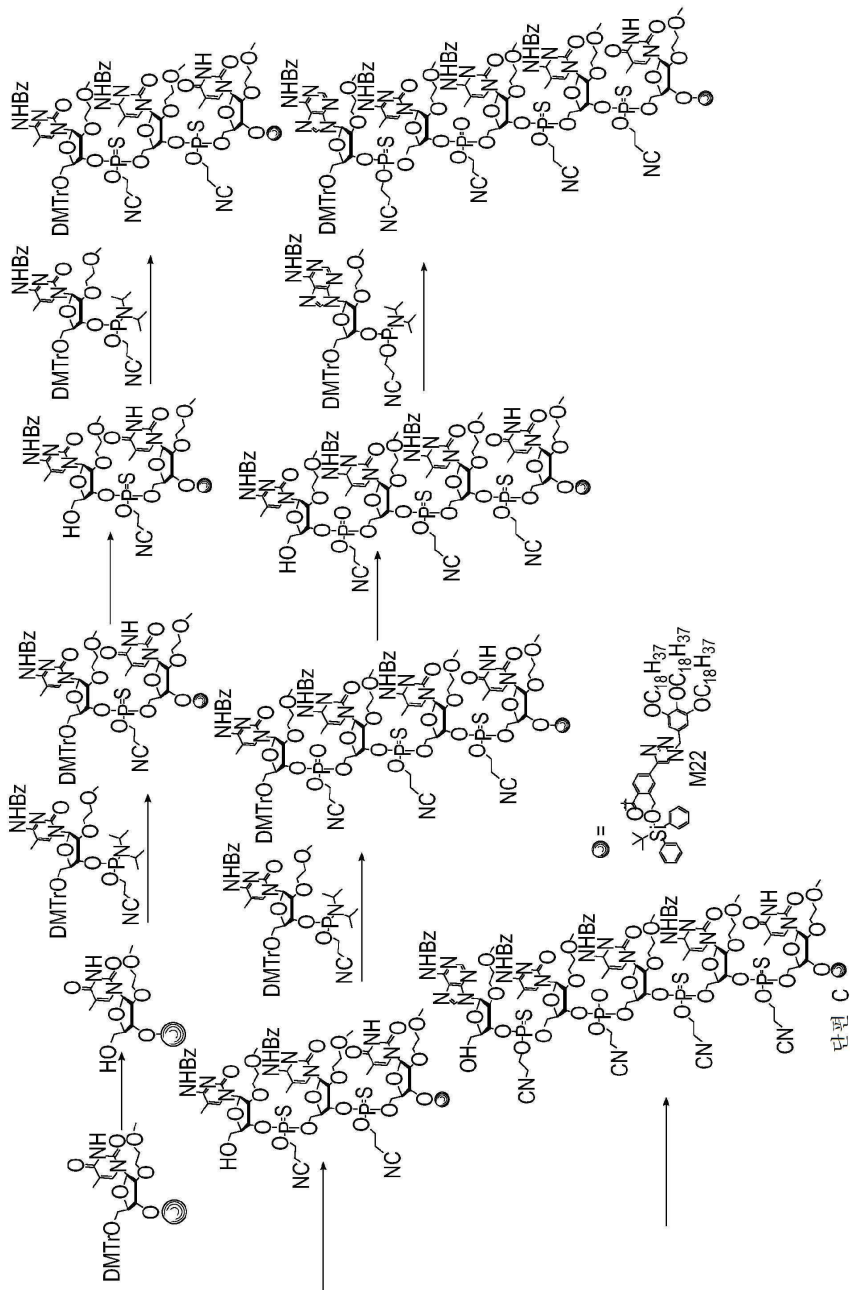
도면2



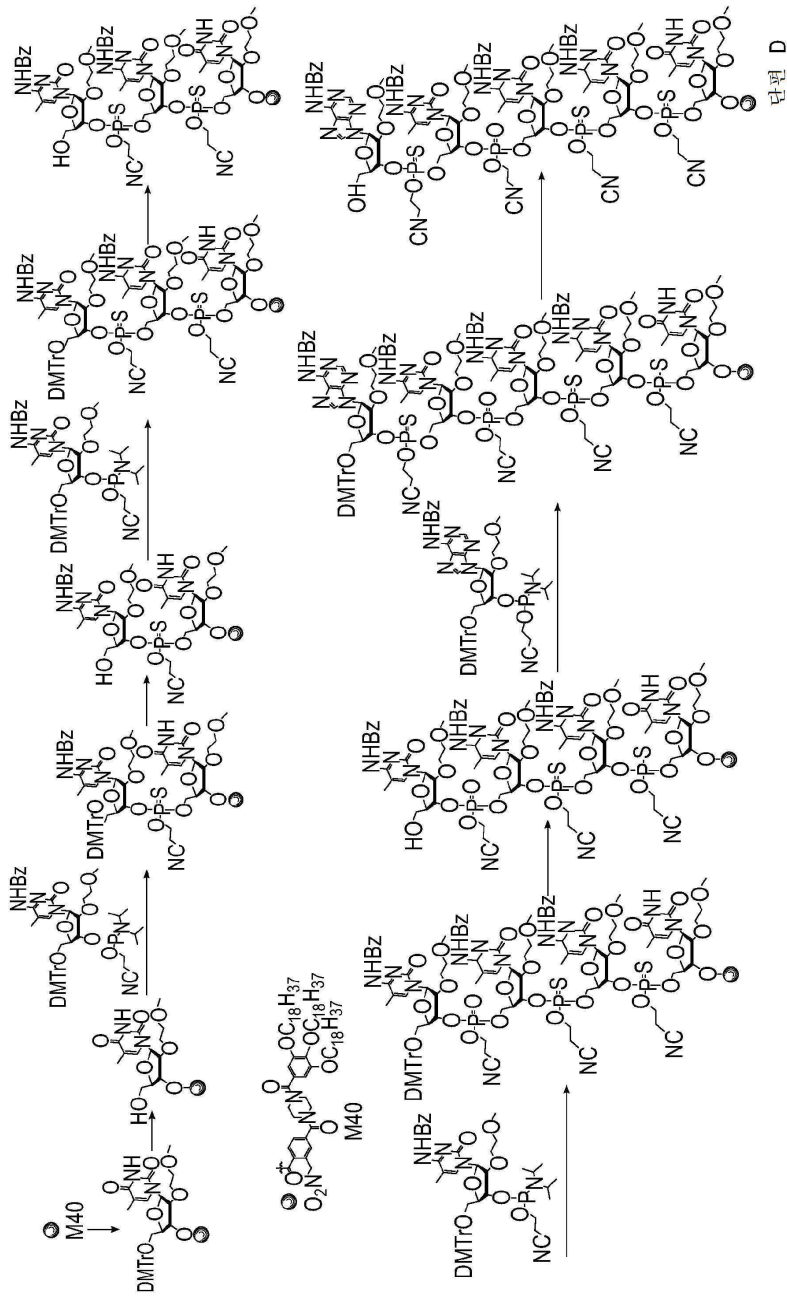
도면3



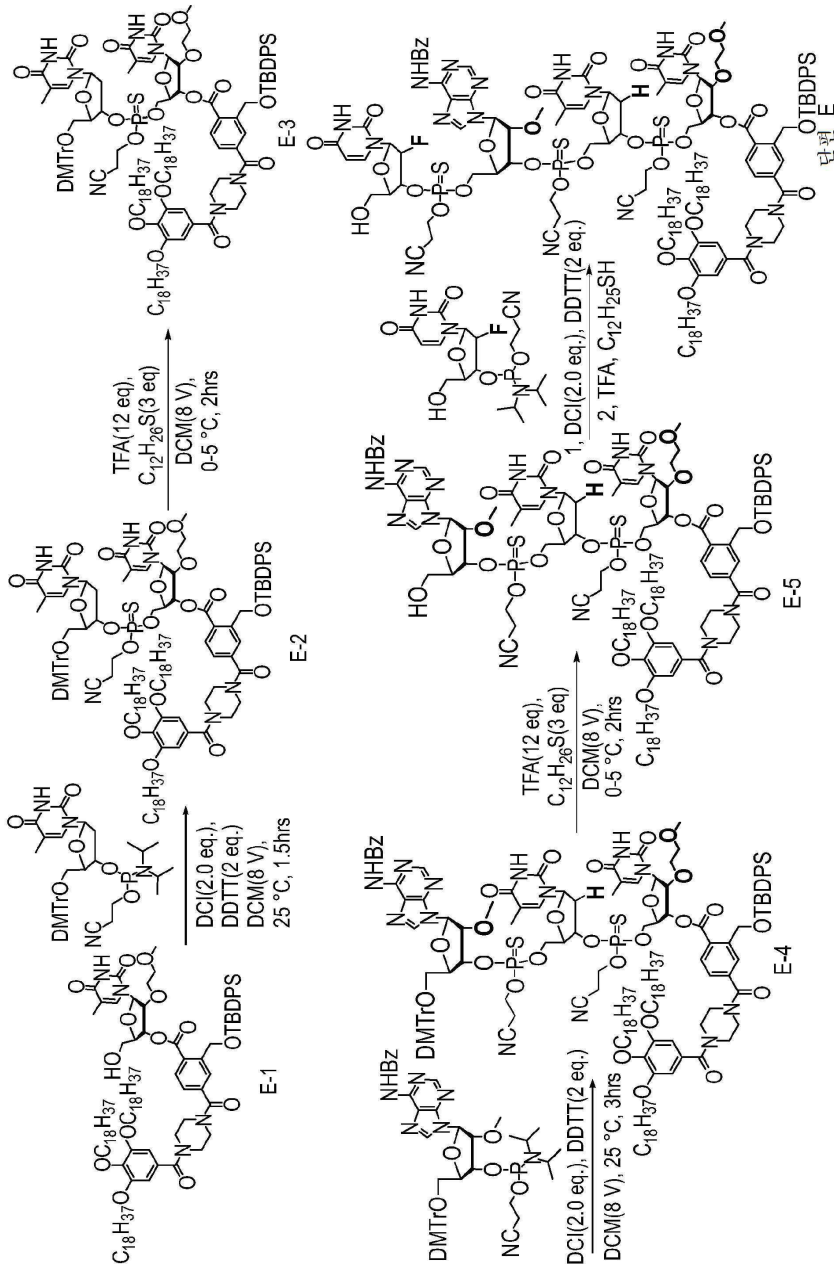
도면4



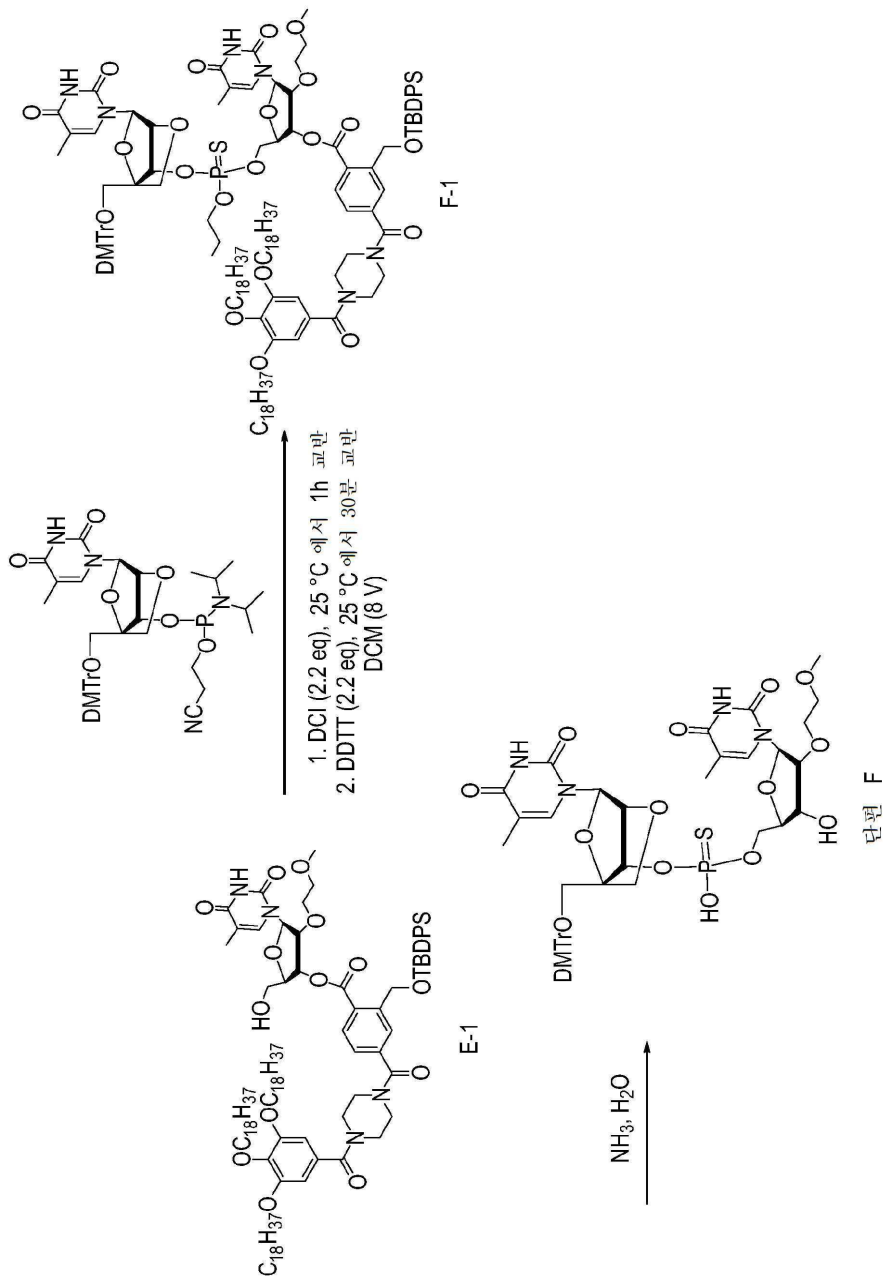
도면5



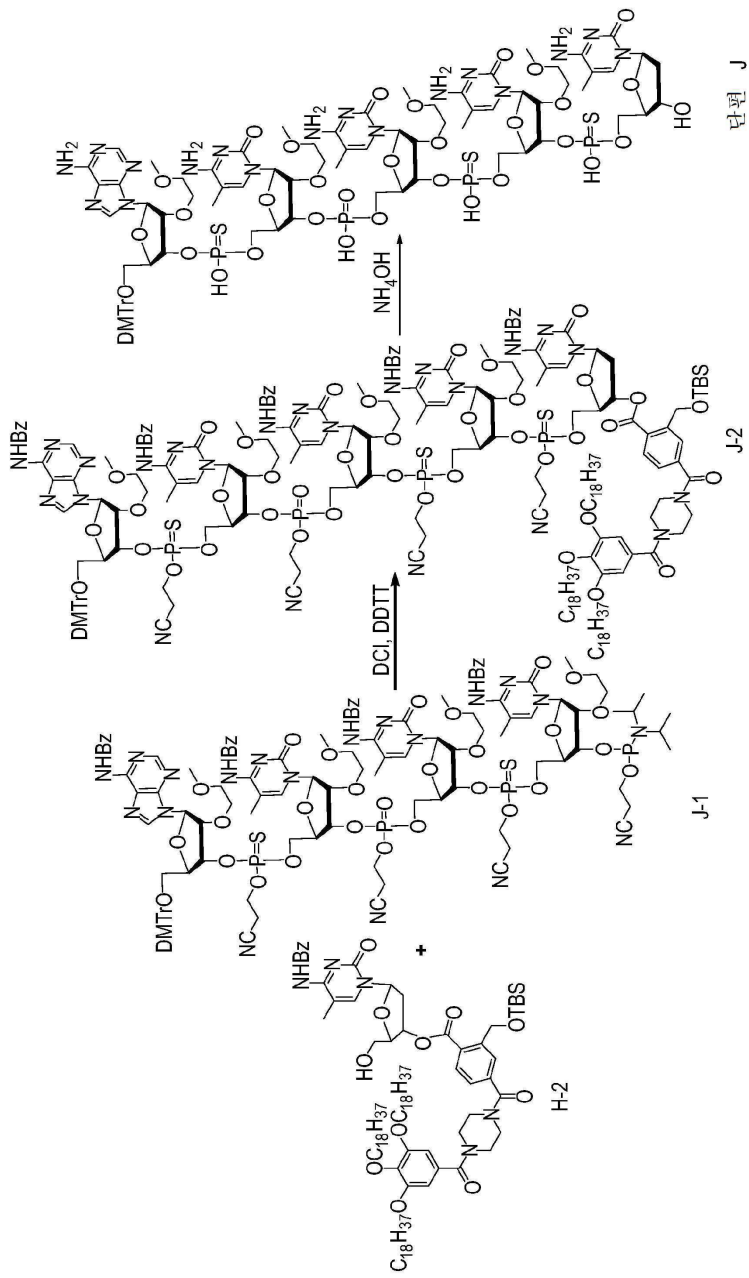
도면6



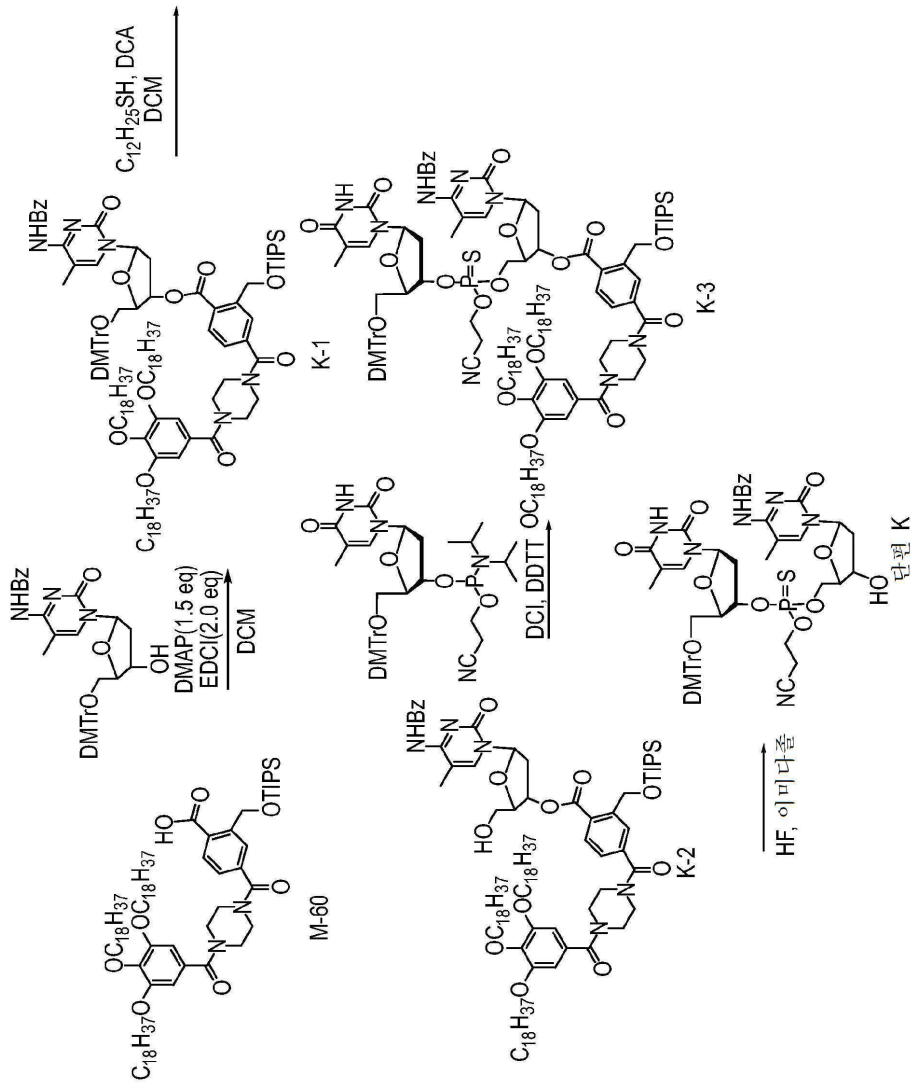
도면7



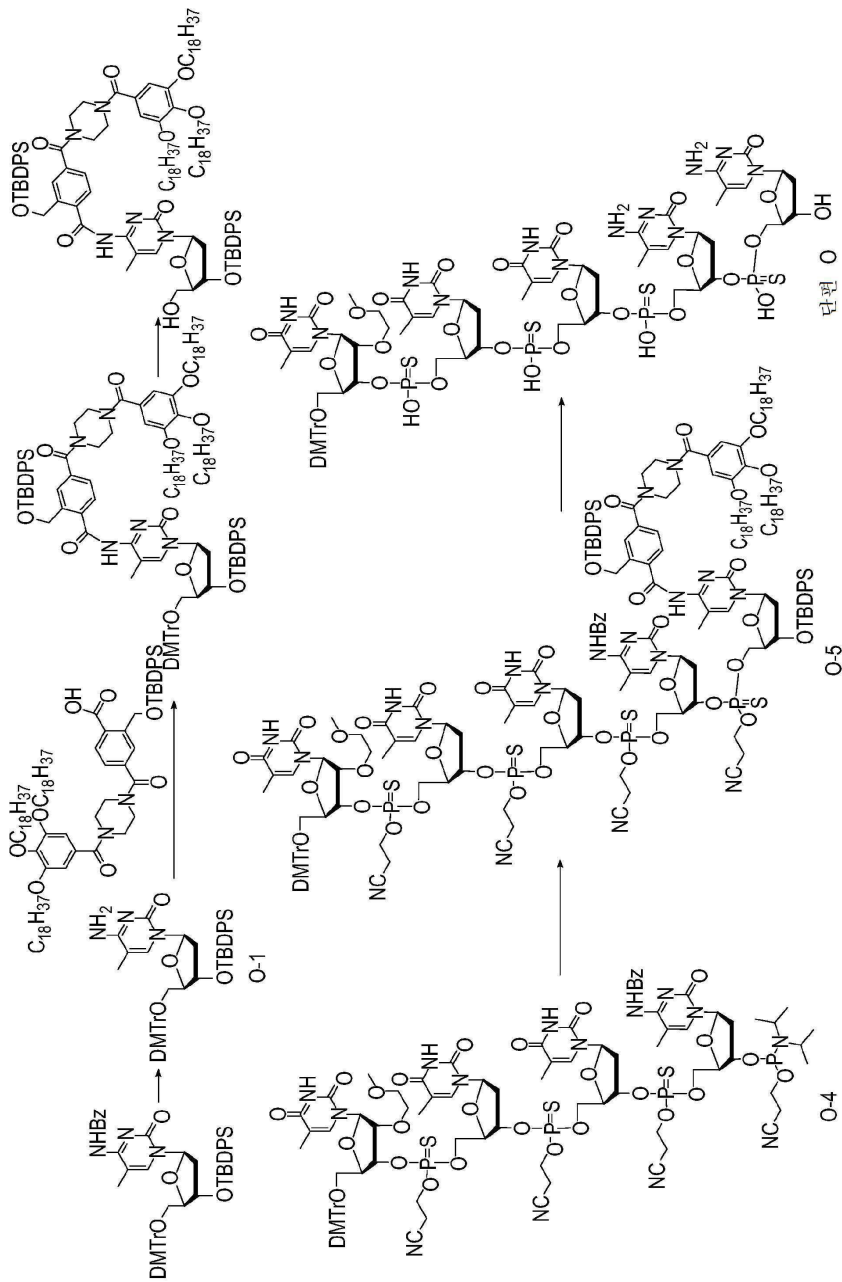
도면8



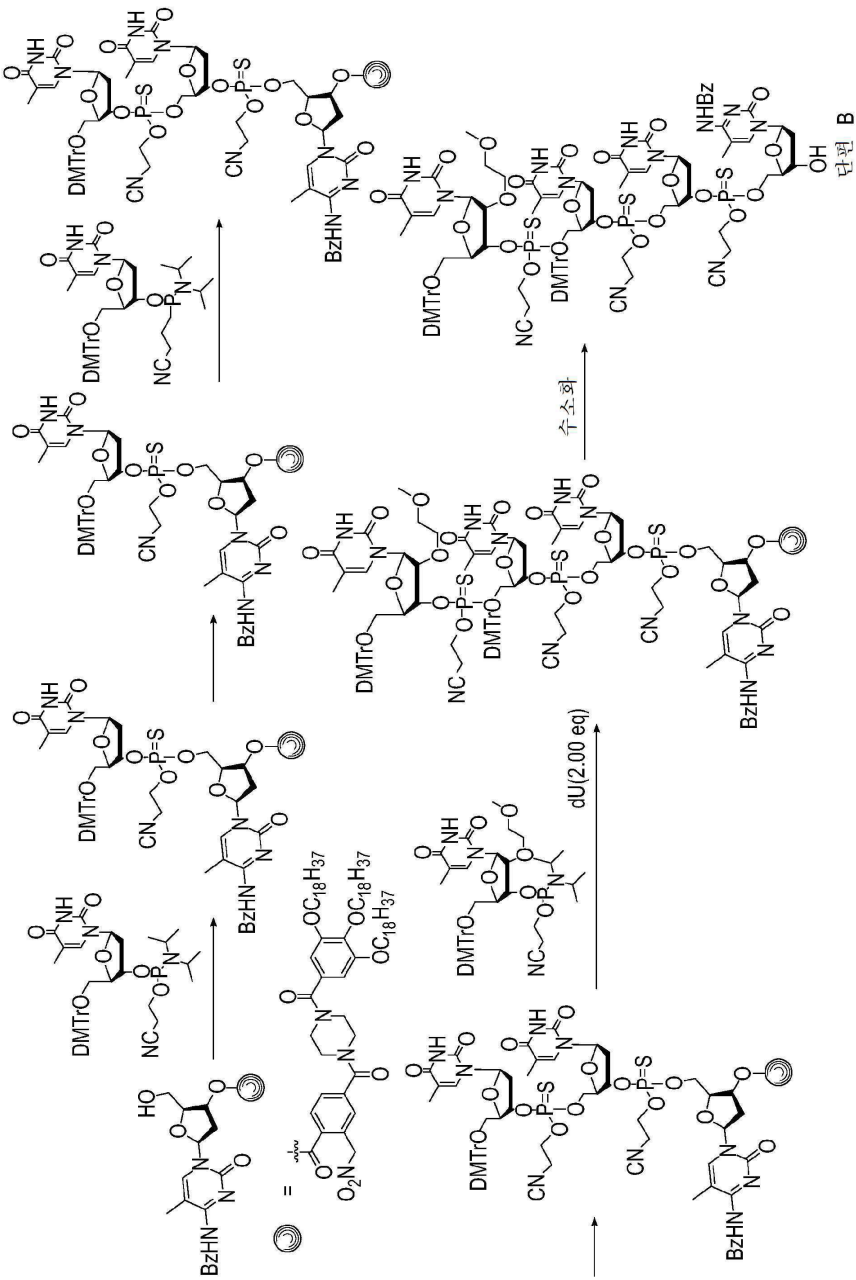
도면9



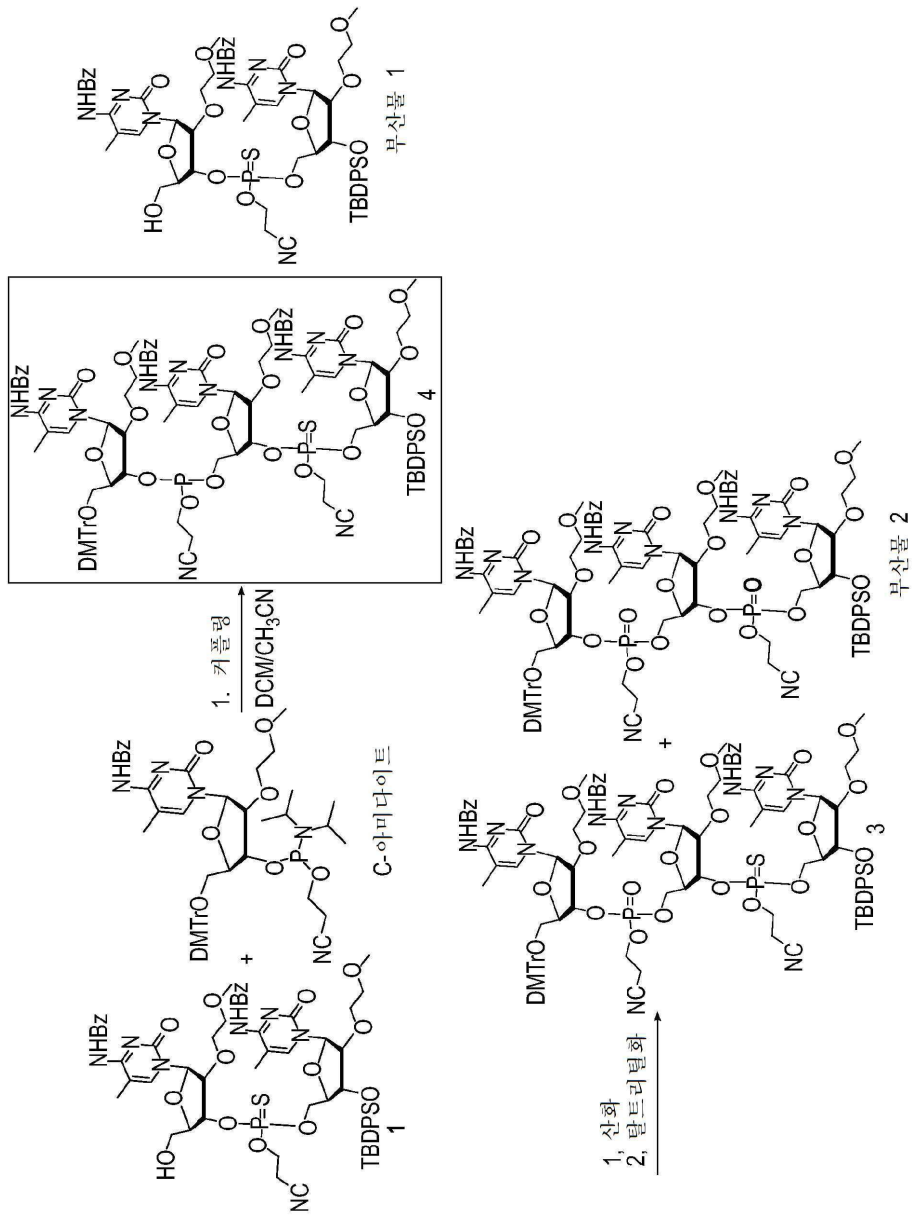
도면10



도면11



도면12



도면13

