



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0164787  
(43) 공개일자 2024년11월20일

- |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)<br/> <i>C07H 19/06</i> (2006.01) <i>A61K 31/713</i> (2006.01)<br/> <i>C07D 207/46</i> (2006.01) <i>C07D 409/12</i> (2006.01)<br/> <i>C07D 413/06</i> (2006.01) <i>C07D 513/08</i> (2006.01)<br/> <i>C07H 13/12</i> (2006.01) <i>C07H 15/04</i> (2006.01)<br/> <i>C07H 15/12</i> (2006.01) <i>C07H 15/18</i> (2006.01)<br/> <i>C07H 21/00</i> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류<br/> <i>C07H 19/06</i> (2013.01)<br/> <i>A61K 31/713</i> (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2024-7033946</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2023년03월15일<br/>         심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2024년10월11일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/IB2023/052532</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2023/175536<br/>         국제공개일자 2023년09월21일</p> <p>(30) 우선권주장<br/>         63/320,689 2022년03월16일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인<br/>         얀센 바이오테크 인코포레이티드<br/>         미국 펜실베이니아주 19044 호삼 릿지뷰 드라이브<br/>         800/850</p> <p>(72) 발명자<br/>         프리셉씨, 마리자<br/>         미국 펜실베이니아 19477 스프링 하우스 맥킨 로드<br/>         1400<br/>         진, 이<br/>         미국 펜실베이니아 19477 스프링 하우스 맥킨 로드<br/>         1400<br/>         라마세산, 마헤쉬<br/>         미국 펜실베이니아 19477 스프링 하우스 맥킨 로드<br/>         1400</p> <p>(74) 대리인<br/>         특허법인한성</p> |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

전체 청구항 수 : 총 74 항

(54) 발명의 명칭 RNA의 치료적 전달을 위한 지질 단량체

(57) 요약

하나 이상의 친유성 모이어티(lipophilic moiety)를 함유하고, 하나 이상의 친유성 단량체를 제조하는 데 사용될 수 있는 화합물이 본 명세서에 제공된다. 올리고뉴클레오타이드의 적어도 한쪽 가닥 상의 하나 이상의 위치에 접합될 수 있는 친유성 단량체, 및 적어도 하나의 상기 친유성 단량체를 포함하는 올리고뉴클레오타이드가 또한 본 명세서에 제공된다.

(52) CPC특허분류

*C07D 207/46* (2013.01)

*C07D 409/12* (2013.01)

*C07D 413/06* (2013.01)

*C07D 513/08* (2013.01)

*C07H 13/12* (2013.01)

*C07H 15/04* (2013.01)

*C07H 15/12* (2013.01)

*C07H 15/18* (2013.01)

*C07H 21/00* (2013.01)

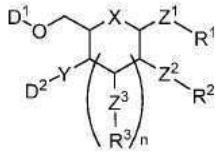
---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

화합식 (I)의 화합물 또는 이의 입체이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염:



(I)

(상기 식에서,

X는 O 또는 S이고;

Y는 O 또는 NR<sup>a</sup>이고;

D<sup>1</sup>은 H, 하이드록실 보호기, 또는 반응성 인(phosphorus) 기이고;

D<sup>2</sup>는 H, 하이드록실 보호기, 또는 반응성 인 기이거나;

또는 D<sup>1</sup>과 D<sup>2</sup>는 함께, 이들이 부착되어 있는 산소 및 Y 둘 모두에 대해 보호기를 형성하고;

Z<sup>1</sup>, Z<sup>2</sup>, 및 Z<sup>3</sup>는 각각 독립적으로 -O-, -NR<sup>a</sup>-, \*-OC(=O)-, \*-NR<sup>a</sup>C(=O)-, -OC(=O)O-, \*-NR<sup>a</sup>C(=O)O-, \*-OC(=O)NR<sup>b</sup>-, \*-NR<sup>a</sup>C(=O)NR<sup>b</sup>-, \*-OC(=S)-, \*-NR<sup>a</sup>C(=S)-, -OC(=S)O-, \*-NR<sup>a</sup>C(=S)O-, \*-OC(=S)NR<sup>b</sup>-, \*-NR<sup>a</sup>C(=S)NR<sup>b</sup>-, \*-OC(=O)S-, \*-NR<sup>a</sup>C(=O)S-, \*-OS(O)<sub>x</sub>-, 또는 \*-NR<sup>a</sup>S(O)<sub>x</sub>-이고; 여기서 \*는 X를 함유하는 고리를 향한 방향을 나타내고;

R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, 및 R<sup>3</sup>는 각각 독립적으로 H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알콕시로 선택적으로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬, 또는 -(G-L)<sub>m</sub>-R이되, 단, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, 및 R<sup>3</sup> 중 적어도 하나는 -(G-L)<sub>m</sub>-R이고;

각각의 경우의 G는 독립적으로 C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> 알킬렌이고;

각각의 경우의 L은 독립적으로 -O-, -NR<sup>a</sup>-, -C(=O)-, \*-OC(=O)-, \*-C(=O)O-, \*-NR<sup>a</sup>C(=O)-, \*-C(=O)NR<sup>b</sup>-, -OC(=O)O-, \*-NR<sup>a</sup>C(=O)O-, \*-OC(=O)NR<sup>b</sup>-, \*-NR<sup>a</sup>C(=O)NR<sup>b</sup>-, \*-OC(=S)-, \*-C(=S)O-, \*-NR<sup>a</sup>C(=S)-, \*-C(=S)NR<sup>b</sup>-, -OC(=S)O-, \*-NR<sup>a</sup>C(=S)O-, \*-OC(=S)NR<sup>b</sup>-, \*-NR<sup>a</sup>C(=S)NR<sup>b</sup>-, \*-OC(=O)S-, \*-SC(=O)O-, \*-NR<sup>a</sup>C(=O)S-, \*-SC(=O)NR<sup>b</sup>-, \*-OS(O)<sub>x</sub>-, \*-S(O)<sub>x</sub>O-, \*-NR<sup>a</sup>S(O)<sub>x</sub>-, 또는 \*-S(O)<sub>x</sub>NR<sup>b</sup>-이고; 여기서 \*는 X를 함유하는 고리를 향한 방향을 나타내고;

각각의 경우의 R<sup>a</sup>는 독립적으로 H 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬이고;

각각의 경우의 R<sup>b</sup>는 독립적으로 H 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬이고;

각각의 경우의 R은 독립적으로 C<sub>12</sub>-C<sub>32</sub> 알킬 또는 C<sub>12</sub>-C<sub>32</sub> 알케닐이고;

x는 1 또는 2이고;

n은 0 또는 1이고;

m은 0, 1, 또는 2임).

## 청구항 2

제1항에 있어서, X는 O인, 화합물.

## 청구항 3

제1항에 있어서, X는 S인, 화합물.

## 청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, Y는 O인, 화합물.

## 청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, Y는 NH인, 화합물.

## 청구항 6

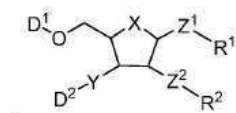
제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서,  $Z^1$ ,  $Z^2$ , 및  $Z^3$ 은 각각 독립적으로 -O-, -NH-, \*-OC(=O)-, \*-NHC(=O)-, -OC(=O)O-, \*-NHC(=O)O-, \*-OC(=O)NH-, 또는 -NHC(=O)NH-인, 화합물.

## 청구항 7

제6항에 있어서,  $Z^1$ ,  $Z^2$ , 및  $Z^3$ 은 모두 -O-인, 화합물.

## 청구항 8

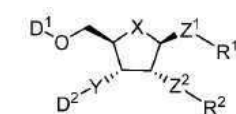
제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 화학식 (I-A)의 화합물 또는 이의 입체이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염인, 화합물:



(I-A).

## 청구항 9

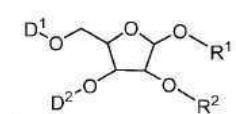
제8항에 있어서, 화학식 (I-A-1)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염인, 화합물:



(I-A-1).

## 청구항 10

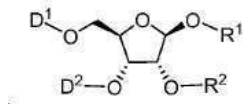
제8항에 있어서, 화학식 (II-A)의 화합물 또는 이의 입체이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염인, 화합물:



(II-A).

## 청구항 11

제10항에 있어서, 화학식 (II-A-1)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염인, 화합물:



(II-A-1).

#### 청구항 12

제8항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, R<sup>1</sup>은 -(G-L)<sub>m</sub>-R이고, R<sup>2</sup>는 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알콕시로 선택적으로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬인, 화합물.

#### 청구항 13

제8항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, R<sup>2</sup>는 -(G-L)<sub>m</sub>-R이고, R<sup>1</sup>은 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알콕시로 선택적으로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬인, 화합물.

#### 청구항 14

제8항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, R<sup>1</sup>과 R<sup>2</sup>는 각각 독립적으로 -(G-L)<sub>m</sub>-R인, 화합물.

#### 청구항 15

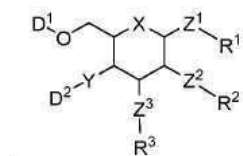
제8항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, -(G-L)<sub>m</sub>-R은 -R인, 화합물.

#### 청구항 16

제8항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, -(G-L)<sub>m</sub>-R은 -(C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub> 알킬렌)-NH-C(=O)-R인, 화합물.

#### 청구항 17

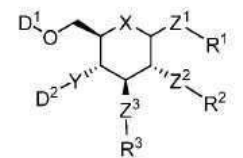
제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 화학식 (I-B)의 화합물 또는 이의 입체이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염인, 화합물:



(I-B).

#### 청구항 18

제17항에 있어서, 화학식 (I-B-1)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염인, 화합물:

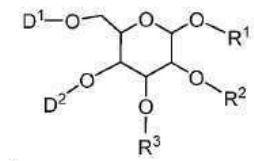


(I-B-1).

#### 청구항 19

제17항에 있어서, 화학식 (II-B)의 화합물 또는 이의 입체이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염인, 화

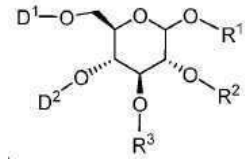
합물:



(II-B).

#### 청구항 20

제19항에 있어서, 화학식 (II-B-1)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염인, 화합물:



(II-B-1).

#### 청구항 21

제17항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, R<sup>1</sup> 및 R<sup>2</sup>는 각각 독립적으로 -(G-L)<sub>m</sub>-R이고, R<sup>3</sup>은 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알콕시로 선택적으로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬인, 화합물.

#### 청구항 22

제17항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, R<sup>1</sup> 및 R<sup>3</sup>은 각각 독립적으로 -(G-L)<sub>m</sub>-R이고, R<sup>2</sup>는 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알콕시로 선택적으로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬인, 화합물.

#### 청구항 23

제17항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, R<sup>2</sup> 및 R<sup>3</sup>은 각각 독립적으로 -(G-L)<sub>m</sub>-R이고, R<sup>1</sup>은 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알콕시로 선택적으로 치환된 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬인, 화합물.

#### 청구항 24

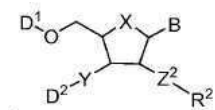
제17항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, -(G-L)<sub>m</sub>-R은 -R인, 화합물.

#### 청구항 25

제17항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, -(G-L)<sub>m</sub>-R은 -(C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub> 알킬렌)-NH-C(=O)-R인, 화합물.

#### 청구항 26

화학식 (III)의 화합물 또는 이의 입체이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염:



(III)

(상기 식에서,

B는 변형 또는 비변형된 핵염기이고;

X는 O 또는 S이고;

Y는 O 또는  $\text{NR}^a$ 이고;

$D^1$ 은 H, 하이드록실 보호기, 또는 반응성 인 기이고;

$D^2$ 는 H, 하이드록실 보호기, 또는 반응성 인 기이거나;

또는  $D^1$ 과  $D^2$ 는 함께, 이들이 부착되어 있는 산소 및 Y 둘 모두에 대해 보호기를 형성하고;

$Z^2$ 는  $-\text{O}-$ ,  $-\text{NR}^a-$ ,  $^*\text{-OC(=O)-}$ ,  $^*\text{-NR}^a\text{C(=O)-}$ ,  $-\text{OC(=O)O}-$ ,  $^*\text{-NR}^a\text{C(=O)O}-$ ,  $^*\text{-OC(=O)NR}^b-$ ,  $^*\text{-NR}^a\text{C(=O)NR}^b-$ ,  $^*\text{-OC(=S)-}$ ,  $^*\text{-NR}^a\text{C(=S)-}$ ,  $-\text{OC(=S)O}-$ ,  $^*\text{-NR}^a\text{C(=S)O}-$ ,  $^*\text{-OC(=S)NR}^b-$ ,  $^*\text{-NR}^a\text{C(=S)NR}^b-$ ,  $^*\text{-OC(=O)S}-$ ,  $^*\text{-NR}^a\text{C(=O)S}-$ ,  $^*\text{-OS(O)}_x-$ , 또는  $^*\text{-NR}^a\text{S(O)}_x-$ 이고; 여기서 \*는 X를 함유하는 고리를 향한 방향을 나타내고;

$R^2$ 는  $-(\text{G-L})_m-\text{R}$ 이고;

각각의 경우의 G는 독립적으로  $\text{C}_1-\text{C}_8$  알킬렌 또는  $\text{C}_3-\text{C}_{10}$  사이클로알킬렌이고;

각각의 경우의 L은 독립적으로  $-\text{O}-$ ,  $-\text{NR}^a-$ ,  $-\text{C(=O)-}$ ,  $^*\text{-OC(=O)-}$ ,  $^*\text{-C(=O)O}-$ ,  $^*\text{-NR}^a\text{C(=O)-}$ ,  $^*\text{-C(=O)NR}^b-$ ,  $-\text{OC(=O)O}-$ ,  $^*\text{-NR}^a\text{C(=O)O}-$ ,  $^*\text{-OC(=O)NR}^b-$ ,  $^*\text{-NR}^a\text{C(=O)NR}^b-$ ,  $^*\text{-OC(=S)-}$ ,  $^*\text{-C(=S)O}-$ ,  $^*\text{-NR}^a\text{C(=S)-}$ ,  $^*\text{-C(=S)NR}^b-$ ,  $-\text{OC(=S)O}-$ ,  $^*\text{-NR}^a\text{C(=S)O}-$ ,  $^*\text{-OC(=S)NR}^b-$ ,  $^*\text{-NR}^a\text{C(=S)NR}^b-$ ,  $^*\text{-OC(=O)S}-$ ,  $^*\text{-SC(=O)O}-$ ,  $^*\text{-NR}^a\text{C(=O)S}-$ ,  $^*\text{-SC(=O)NR}^b-$ ,  $^*\text{-OS(O)}_x-$ ,  $^*\text{-S(O)}_x\text{O}-$ ,  $^*\text{-NR}^a\text{S(O)}_x-$ , 또는  $^*\text{-S(O)}_x\text{NR}^b-$ 이고; 여기서 \*는 X를 함유하는 고리를 향한 방향을 나타내고;

각각의 경우의  $R^a$ 는 독립적으로 H 또는  $\text{C}_1-\text{C}_6$  알킬이고;

각각의 경우의  $R^b$ 는 독립적으로 H 또는  $\text{C}_1-\text{C}_6$  알킬이고;

R은  $\text{C}_{12}-\text{C}_{32}$  알킬 또는  $\text{C}_{12}-\text{C}_{32}$  알케닐이고;

x는 1 또는 2이고;

m은 0, 1, 또는 2이되,

단, X가 O이고, Y가 O이고,  $Z^2$ 가  $-\text{O}-$ 일 때,

(i) R은  $-\text{L}''-(\text{CH}_2)_{0-3}-\text{R}''$ 으로 치환되고, 여기서

$\text{L}''$ 은 부재하거나,  $-\text{O}-$ ,  $-\text{NR}^a-$ ,  $-\text{C(=O)-}$ ,  $^*\text{-OC(=O)-}$ ,  $^*\text{-C(=O)O}-$ ,  $^*\text{-NR}^a\text{C(=O)-}$ ,  $^*\text{-C(=O)NR}^b-$ ,  $-\text{OC(=O)O}-$ ,  $^*\text{-NR}^a\text{C(=O)O}-$ ,  $^*\text{-OC(=O)NR}^b-$ ,  $^*\text{-NR}^a\text{C(=O)NR}^b-$ ,  $^*\text{-OC(=S)-}$ ,  $^*\text{-C(=S)O}-$ ,  $^*\text{-NR}^a\text{C(=S)-}$ ,  $^*\text{-C(=S)NR}^b-$ ,  $-\text{OC(=S)O}-$ ,  $^*\text{-NR}^a\text{C(=S)O}-$ ,  $^*\text{-OC(=S)NR}^b-$ ,  $^*\text{-NR}^a\text{C(=S)NR}^b-$ ,  $^*\text{-OC(=O)S}-$ ,  $^*\text{-SC(=O)O}-$ ,  $^*\text{-NR}^a\text{C(=O)S}-$ ,  $^*\text{-SC(=O)NR}^b-$ ,  $^*\text{-OS(O)}_x-$ ,  $^*\text{-S(O)}_x\text{O}-$ ,  $^*\text{-NR}^a\text{S(O)}_x-$ , 또는  $^*\text{-S(O)}_x\text{NR}^b-$ 이고; 여기서 \*는 R을 향한 방향을 나타내고;

$\text{R}''$ 은 모노사이클릭, 융합된, 가교된 또는 스피로 고리 모이어티이며, 여기서 상기 고리 모이어티는 하나 이상의  $\text{C}_1-\text{C}_6$  알킬, 옥소, 또는 페닐로 선택적으로 치환되며, 여기서 알킬 또는 페닐은 하나 이상의 할로젠, 페닐, 또는 페녹시로 선택적으로 치환되며, 여기서 페닐 또는 페녹시는 하나 이상의 할로젠 또는  $\text{C}_1-\text{C}_6$  알콕시로 선택적으로 치환되거나;

(ii) R은  $\text{C}_{12}-\text{C}_{32}$  알케닐이거나;

(iii) m은 1 또는 2이고; L은 -O- 또는  $^{b-}\text{-C(=O)NR}^b$ -이거나; 또는

(iv) m은 1 또는 2이고, 적어도 하나의 G는 C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub> 사이클로알킬렌임).

#### 청구항 27

제26항에 있어서, X는 O인, 화합물.

#### 청구항 28

제26항에 있어서, X는 S인, 화합물.

#### 청구항 29

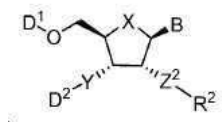
제26항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, Y는 O인, 화합물.

#### 청구항 30

제26항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, Y는 NH인, 화합물.

#### 청구항 31

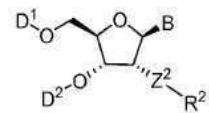
제26항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 화학식 (III-A)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염인, 화합물:



(III-A).

#### 청구항 32

제31항에 있어서, 화학식 (III-A-1)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염인, 화합물:



(III-A-1).

#### 청구항 33

제26항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, Z<sup>2</sup>는 -OC(=O)NH-, -NHC(=O)-, -NHC(=O)NH-, 또는 -NHC(=O)S-인, 화합물.

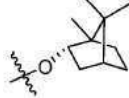
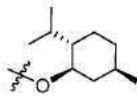
#### 청구항 34

제26항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, X가 O이고, Y가 O이고, Z<sup>2</sup>가 -O-이고, m은 0이고, R은 -L<sup>n</sup>-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-R<sup>n</sup>으로 치환되는, 화합물.

#### 청구항 35

제34항에 있어서, R은 아다만틸로 치환되는, 화합물.

#### 청구항 36

제34항에 있어서, R은  또는  로 치환되는, 화합물.

#### 청구항 37

제26항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, X가 O이고, Y가 O이고, Z<sup>2</sup>가 -O-일 때, R<sup>2</sup>는 -(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 알킬렌)-C(=O)NH-R 또는 -(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 알킬렌)-O-R인, 화합물.

#### 청구항 38

제26항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, B는 아데닌(A), 구아닌(G), 티민(T), 시토신(C), 또는 우라실(U)인, 화합물.

#### 청구항 39

제1항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, D<sup>1</sup>은 하이드록실 보호기인, 화합물.

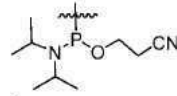
#### 청구항 40

제39항에 있어서, D<sup>1</sup>은 4,4'-다이메톡시트라이틸 클로라이드(DMTri)인, 화합물.

#### 청구항 41

제1항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, D<sup>2</sup>는 반응성 인 기인, 화합물.

#### 청구항 42

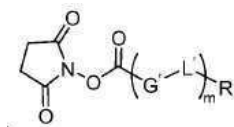
제41항에 있어서, D<sup>2</sup>는  인, 화합물.

#### 청구항 43

제1항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, D<sup>1</sup>은 H이고, D<sup>2</sup>는 H인, 화합물.

#### 청구항 44

화학식 (IV)의 화합물 또는 이의 입체이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염:



(IV)

(상기 식에서,

각각의 경우의 G'은 독립적으로 C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> 알킬렌 또는 C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> 사이클로알킬렌이고;

각각의 경우의 L'은 독립적으로 \*-NR<sup>c</sup>C(=O)-이고; 여기서 \*는 피롤리딘-2,5-다이온 고리를 향한 방향을 나타내고;

각각의 경우의 R<sup>c</sup>는 독립적으로 H, C<sub>1</sub>-C<sub>32</sub> 알킬, 또는 C<sub>2</sub>-C<sub>32</sub> 알케닐이고;

R은 C<sub>4</sub>-C<sub>32</sub> 알킬 또는 C<sub>4</sub>-C<sub>32</sub> 알케닐이고;

m은 0, 1, 또는 2임).

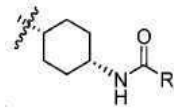
#### 청구항 45

제44항에 있어서, m은 0인, 화합물.

#### 청구항 46

제44항에 있어서, m은 1인, 화합물.

#### 청구항 47

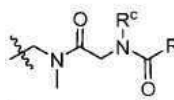


제46항에 있어서, -(G'-L')<sub>m</sub>-R은 인, 화합물.

#### 청구항 48

제44항에 있어서, m은 2인, 화합물.

#### 청구항 49



제48항에 있어서, -(G'-L')<sub>m</sub>-R은 인, 화합물.

#### 청구항 50

제1항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, R은 C<sub>14</sub>-C<sub>18</sub> 알킬인, 화합물.

#### 청구항 51

제1항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, R은 비치환된, 화합물.

#### 청구항 52

제1항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, R은 -L''-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-R''으로 치환되며, 여기서

L''은 부재하거나, -O-, -NR<sup>a</sup>-, -C(=O)-, \*-OC(=O)-, \*-C(=O)O-, \*-NR<sup>a</sup>C(=O)-, \*-C(=O)NR<sup>b</sup>-, -OC(=O)O-, \*-NR<sup>a</sup>C(=O)O-, \*-OC(=O)NR<sup>b</sup>-, \*-NR<sup>a</sup>C(=O)NR<sup>b</sup>-, \*-OC(=S)-, \*-C(=S)O-, \*-NR<sup>a</sup>C(=S)-, \*-C(=S)NR<sup>b</sup>-, -OC(=S)O-, \*-NR<sup>a</sup>C(=S)O-, \*-OC(=S)NR<sup>b</sup>-, \*-NR<sup>a</sup>C(=S)NR<sup>b</sup>-, \*-OC(=O)S-, \*-SC(=O)O-, \*-NR<sup>a</sup>C(=O)S-, \*-SC(=O)NR<sup>b</sup>-, \*-OS(O)<sub>x</sub>-, \*-S(O)<sub>x</sub>O-, \*-NR<sup>a</sup>S(O)<sub>x</sub>-, 또는 \*-S(O)<sub>x</sub>NR<sup>b</sup>-이고; 여기서 \*는 R을 향한 방향을 나타내고;

각각의 경우의 R<sup>a</sup>는 독립적으로 H 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬이고;

각각의 경우의 R<sup>b</sup>는 독립적으로 H 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬이고;

x는 1 또는 2이고;

R''은 모노사이클릭, 융합된, 가교된 또는 스피로 고리 모이어티이며, 여기서 상기 고리 모이어티는 하나 이상의 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬, 옥소, 또는 페닐로 선택적으로 치환되며, 여기서 알킬 또는 페닐은 하나 이상의 할로젠, 페닐, 또는 페녹시로 선택적으로 치환되며, 여기서 페닐 또는 페녹시는 하나 이상의 할로젠 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알콕시로 선택적으로

치환되는, 화합물.

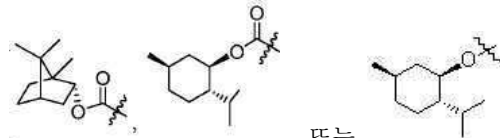
### 청구항 53

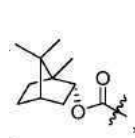
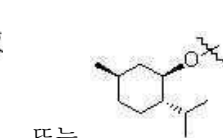
제52항에 있어서, 상기 고리 모이어티는 C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub> 사이클로알킬인, 화합물.

### 청구항 54

제52항에 있어서, 상기 고리 모이어티는 O, N, 및 S로부터 독립적으로 선택되는 1 내지 4개의 헤테로원자를 함유하는 4원 내지 10원 헤테로사이클릴인, 화합물.

### 청구항 55



제52항에 있어서, R은 , 또는 로 치환되는, 화합물.

### 청구항 56

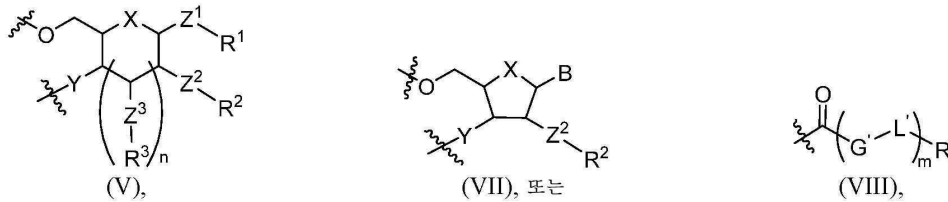
제52항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, R은 말단 위치에서 치환되는, 화합물.

### 청구항 57

표 1의 화합물, 또는 이의 입체이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염.

### 청구항 58

적어도 하나의 하기 화학식의 친유성 단량체를 포함하는 올리고뉴클레오타이드:



(상기 식에서, X, Y, Z<sup>1</sup>, Z<sup>2</sup>, Z<sup>3</sup>, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, B, G', L', R, n, 및 m은 제1항 내지 제57항 중 어느 한 항에 정의된 바와 같음).

### 청구항 59

제58항에 있어서, 상기 올리고뉴클레오타이드는 안티센스, 안타고미르, 마이크로RNA, siRNA, 전(pre)-마이크로RNA, 안티미르, 리보자임, RNA 활성화제, U1 압타머, 면역 자극제 또는 압타머인, 올리고뉴클레오타이드.

### 청구항 60

제59항에 있어서, 상기 올리고뉴클레오타이드는 siRNA이며, 상기 siRNA는

표적 유전자에 상보적인 안티센스 가닥;

상기 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하는, 올리고뉴클레오타이드.

### 청구항 61

제60항에 있어서, 상기 친유성 단량체는 상기 안티센스 가닥 또는 상기 센스 가닥 중 어느 한쪽 가닥에 존재하는, 올리고뉴클레오타이드.

### 청구항 62

제60항에 있어서, 상기 친유성 단량체는 상기 센스 가닥에 존재하는, 올리고뉴클레오타이드.

#### 청구항 63

제60항에 있어서, 상기 친유성 단량체는 상기 센스 가닥 또는 상기 안티센스 가닥의 3'-단부 또는 5'-단부에 접합되는, 올리고뉴클레오타이드.

#### 청구항 64

제60항에 있어서, 상기 친유성 단량체는 상기 센스 가닥 또는 상기 안티센스 가닥의 내부 위치에 위치되는, 올리고뉴클레오타이드.

#### 청구항 65

제60항 내지 제64항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 센스 가닥 및 안티센스 가닥은 각각 15 내지 30개의 뉴클레오타이드 길이인, 올리고뉴클레오타이드.

#### 청구항 66

제65항에 있어서, 상기 센스 가닥 및 안티센스 가닥은 각각 15 내지 25개의 뉴클레오타이드 길이인, 올리고뉴클레오타이드.

#### 청구항 67

제66항에 있어서, 상기 센스 가닥 및 안티센스 가닥은 각각 21 내지 23개의 뉴클레오타이드 길이인, 올리고뉴클레오타이드.

#### 청구항 68

제60항 내지 제67항 중 어느 한 항에 있어서, 표적화 리간드를 추가로 포함하는, 올리고뉴클레오타이드.

#### 청구항 69

표 2의 적어도 하나의 친유성 단량체, 또는 이의 입체이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 올리고뉴클레오타이드.

#### 청구항 70

올리고뉴클레오타이드를 세포에 전달하는 방법으로서,

제58항 내지 제69항 중 어느 한 항의 올리고뉴클레오타이드를 세포에 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

#### 청구항 71

제70항에 있어서, 상기 투여에 의해, 상기 세포에 전달되는 상기 올리고뉴클레오타이드의 양은, 동일하지만 상기 친유성 단량체를 함유하지 않는 올리고뉴클레오타이드의 전달에 비해 증가되는, 방법.

#### 청구항 72

제71항에 있어서, 상기 전달되는 올리고뉴클레오타이드의 양의 증가는 상기 올리고뉴클레오타이드의 치료적 활성의 증가에 의해 결정되는, 방법.

#### 청구항 73

세포에서 표적 유전자의 발현을 감소시키는 방법으로서,

상기 세포를 제58항 내지 제69항 중 어느 한 항의 올리고뉴클레오타이드와 접촉시키는 단계를 포함하는, 방법.

#### 청구항 74

대상체에서 표적 유전자의 발현을 감소시키는 방법으로서,

제58항 내지 제69항 중 어느 한 항의 올리고뉴클레오타이드를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

## 발명의 설명

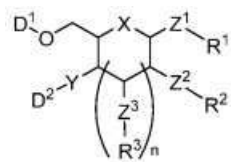
### 배경 기술

[0001] 간을 넘어서 치료용 RNA를 효율적으로 전달하는 것이 이의 임상 유용성을 막는 근본적인 장애물이다. 접합체-매개 전달이 siRNA에 대한 임상적으로 우세한 전달 패러다임으로서 부상하고 있다. 지질은 siRNA 전달을 개선하는 데 널리 사용되는 접합체들의 주요 부류인데, 이는, 지질 접합이 혈장 반감기를 증가시키고, siRNA의 조직 축적 및 세포 취입(cellular uptake)을 향상시키기 때문이다. siRNA는 고도로 친수성이어서 불량한 약리학적 특성을 갖는다. 지질 접합은 siRNA의 소수성을 조절하며, 이는, 내인성 지질단백질 경로 내로의 선택적인 제자리에서의 통합(*in-situ* incorporation)을 유도함으로써 약동학적 거동 및 조직 생체내분포를 지배한다. siRNA가 지방산, 콜레스테롤, 토크페롤과 결합되어 왔지만, 여전히 더 우수한 치료 여유(therapeutic margin)를 향해 안전성과 효능이 균형을 이룰 수 있는 효율적이고 견고한 지질 전달 시스템의 개발에 대한 지속적인 필요가 있다. 본 출원은 siRNA를 간을 넘어서 다른 조직에 전달하기 위한 다양한 지질 부류에 접합된 siRNA에 관한 것이다.

### 발명의 내용

[0002] 일 실시 형태에서, 하나 이상의 친유성 모이어티(lipophilic moiety)를 함유하고, 하나 이상의 친유성 단량체를 제조하는 데 사용될 수 있는 화합물이 본 명세서에 제공된다. 일 실시 형태에서, 선택적으로 링커 또는 담체를 통해, 올리고뉴클레오타이드의 적어도 한쪽 가닥 상의 하나 이상의 위치에 접합될 수 있는 친유성 단량체가 본 명세서에 제공된다.

[0003] 일 실시 형태에서, 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 입체이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 본 명세서에 제공된다:

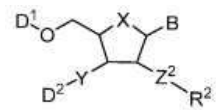


[0004]

[0005] (I)

[0006] (상기 식에서, X, Y, D¹, D², Z¹, Z², Z³, R¹, R², R³, 및 n은 본 명세서의 어딘가 다른 곳에 정의된 바와 같음).

[0007] 일 실시 형태에서, 화학식 (III)의 화합물 또는 이의 입체이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 본 명세서에 제공된다:

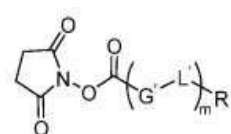


[0008]

[0009] (III)

[0010] (상기 식에서, X, Y, D¹, D², Z², R², 및 B는 본 명세서의 어딘가 다른 곳에 정의된 바와 같음).

[0011] 일 실시 형태에서, 화학식 (IV)의 화합물 또는 이의 입체이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 본 명세서에 제공된다:

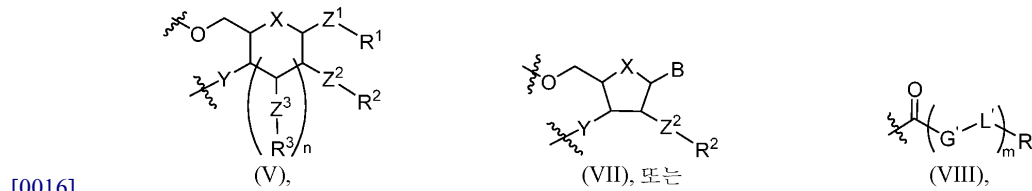


[0012]

[0013] (IV)

[0014] (상기 식에서, G', L', R, 및 m은 본 명세서의 어딘가 다른 곳에 정의된 바와 같음).

[0015] 일 실시 형태에서, 적어도 하나의 하기 화학식의 친유성 단량체를 포함하는 올리고뉴클레오타이드가 본 명세서에 제공된다:



[0017] (상기 식에서, X, Y, Z<sup>1</sup>, Z<sup>2</sup>, Z<sup>3</sup>, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, B, G', L', R, n, 및 m은 본 명세서의 어딘가 다른 곳에 정의된 바와 같음).

[0018] 본 명세서에 제공된 올리고뉴클레오타이드를 사용하여, 세포 또는 대상체에서 표적 유전자의 발현을 감소시키는 방법이 본 명세서에 또한 제공된다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0019] 정의

[0020] 달리 정의되지 않는 한, 본 명세서에 사용된 모든 기술 및 과학 용어는 당업자에 의해 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 모든 특허, 출원, 공개 출원 및 기타 간행물은 전체적으로 참고로 포함된다. 본 명세서에서의 용어에 대해 복수의 정의가 존재하는 경우에, 달리 언급되지 않는 한 이 섹션에 있는 것들이 우선한다.

[0021] 본 명세서에 그리고 첨부된 청구범위에 사용되는 바와 같이, 부정 관사("a" 및 "an") 및 정관사("the")는 문맥이 명확하게 달리 나타내지 않는 한 단수의 지시 대상뿐만 아니라 복수의 지시 대상도 포함한다.

[0022] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "포함하는"과 "구비하는"은 상호교환 가능하게 사용될 수 있다. 용어 "포함하는"과 "구비하는"은, 지칭된 바와 같이 언급된 특징부 또는 구성요소의 존재를 명시하지만, 하나 이상의 특징부, 또는 구성요소, 또는 이들의 군의 존재 또는 추가를 배제하지 않는 것으로서 해석되어야 한다. 추가적으로, 용어 "포함하는" 및 "구비하는"은 용어 "~로 이루어진"에 의해 망라되는 예를 포함시키고자 한다. 결과적으로, 용어 "~로 이루어진"은 용어 "포함하는" 및 "구비하는" 대신에 더 구체적인 실시 형태를 제공하는 데 사용될 수 있다.

[0023] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "또는"은 어느 하나 또는 임의의 조합을 의미하는 포괄적인 "또는"으로 해석되어야 한다. 따라서, "A, B, 또는 C"는 다음 중 임의의 것을 의미한다: "A; B; C; A 및 B; A 및 C; B 및 C; A, B 및 C". 이러한 정의에 대한 예외는 요소, 기능, 단계 또는 동작의 조합이 일부 방법에서 본질적으로 상호 배타적일 때에만 발생할 것이다.

[0024] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 본 명세서에서 "A 및/또는 B"와 같은 어구에 사용되는 바와 같이, 어구 "및/또는"은 A 및 B 둘 모두; A 또는 B; A(단독); 및 B(단독)를 포함하도록 의도된다. 마찬가지로, "A, B, 및/또는 C"와 같은 어구에 사용되는 바와 같이, 어구 "및/또는"은 하기 실시 형태 각각을 포함하도록 의도된다: A, B, 및 C; A, B, 또는 C; A 또는 C; A 또는 B; B 또는 C; A 및 C; A 및 B; B 및 C; A(단독); B(단독); 및 C(단독).

[0025] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 그리고 달리 명시되지 않는 한, 본 명세서에서 상호교환 가능하게 사용되는 바와 같이, 용어 "폴리뉴클레오타이드" 또는 "핵산"은 임의의 길이의 뉴클레오타이드의 중합체를 지칭하며, 예를 들어 DNA 및 RNA를 포함한다. 뉴클레오타이드는 데옥시리보뉴클레오타이드, 리보뉴클레오타이드, 변형된 뉴클레오타이드 또는 염기, 및/또는 이들의 유사체, 또는 DNA 또는 RNA 폴리머라제에 의해, 또는 합성 반응에 의해 중합체 내로 도입될 수 있는 임의의 기질일 수 있다. 폴리뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드, 예컨대 메틸화된 뉴클레오타이드 및 이들의 유사체를 포함할 수 있다. 핵산은 단일 가닥 또는 이중 가닥 형태 중 어느 하나일 수 있다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 그리고 달리 명시되지 않는 한, "핵산"은 또한 핵산 모방체, 예컨대 잠금 핵산(LNA), 펩티드 핵산(PNA), 및 모르폴리노를 포함한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 그리고 달리 명시되지 않는 한, 용어 "올리고뉴클레오타이드"는, 일반적으로 길이가 약 200개 미만의 뉴클레오타이드이지만 반드시 그러하지는 않은, 짧은 합성 폴리뉴클레오타이드를 지칭한다. 용어 "올리고뉴클레오타이드"와 "폴리뉴클레오타이드"는 상호 배타적이지 않다. 폴리뉴클레오타이드에 대한 상기 설명은 올리고뉴클레오타이드에 동일하고 완전하게 적용가능하다. 달리 명시되지 않는 한, 본 명세서에 개시된 임의의 단일-가닥 폴리뉴클레오타이드 서열의 좌측 단부는

5' 단부이고; 이중-가닥 폴리뉴클레오티드 서열의 좌측 방향은 5' 방향으로 지칭된다. 신생(nascent) RNA 전사체의 5'으로부터 3'으로의 부가의 방향은 전사 방향으로 지칭되고; RNA 전사체의 5' 단부에 대해 5'에 있는 RNA 전사체와 동일한 서열을 갖는 DNA 가닥 상의 서열 영역은 "상류 서열"로 지칭되며; RNA 전사체의 3' 단부에 대해 3'에 있는 RNA 전사체와 동일한 서열을 갖는 DNA 가닥 상의 서열 영역은 "하류 서열"로 지칭된다.

[0026] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "이중 가닥 RNA 작용제" 또는 "dsRNA 작용제"는 서열 특이적 방식으로 유전자 발현을 억제할 수 있는 RNA 또는 RNA-유사(예를 들어, 화학적으로 변형된 RNA) 올리고뉴클레오티드 분자를 함유하는 작용제를 의미한다. dsRNA 작용제의 센스 가닥 및/또는 안티센스 가닥은 다른 모이어티(예를 들어, 지질 모이어티)를 포함할 수 있다. 예를 들어, 지질 모이어티는 dsRNA 작용제의 센스 가닥 내로 도입될 수 있다. dsRNA 작용제의 센스 가닥 및/또는 안티센스 가닥은 다른 모이어티(예를 들어, 지질 모이어티)에 직접 또는 간접적으로 연결 또는 접합될 수 있다. 예를 들어, dsRNA 작용제의 센스 가닥은 다른 모이어티(예를 들어, 지질 모이어티)에 직접 또는 간접적으로 연결 또는 접합될 수 있다. 구체적인 실시 형태에서, dsRNA 작용제는 이중 가닥 영역을 형성하는 센스 가닥과 안티센스 가닥을 포함하는 이중 가닥 RNA 또는 RNA-유사(예를 들어, 화학적으로 변형된 RNA) 올리고뉴클레오티드이다. 이중 가닥 영역은 센스 가닥, 안티센스 가닥, 또는 양쪽 모두의 전체 길이일 수 있다. 대안적으로, 이중 가닥 영역은 센스 가닥, 안티센스 가닥, 또는 양쪽 모두의 전체 길이보다 작을 수 있다. 이중 가닥 영역은 안티센스 가닥이 센스 가닥에 완전히 상보적이거나, 부분적으로 상보적이거나, 또는 실질적으로 상보적인 것으로 인한 결과일 수 있다. 구체적인 실시 형태에서, dsRNA 작용제의 안티센스 가닥은 표적 RNA 전사체에 부분적으로 상보적이다. 다른 구체적인 실시 형태에서, dsRNA 작용제의 안티센스 가닥은 표적 RNA 전사체에 실질적으로 상보적이다. 다른 구체적인 실시 형태에서, dsRNA 작용제의 안티센스 가닥은 표적 RNA 전사체에 완전히 상보적이다.

[0027] 이중 가닥 영역 또는 이중체 구조를 형성하는 이들 2개의 가닥은 하나의 더 큰 RNA 분자의 상이한 부분일 수 있거나, 이들은 별개의 RNA 분자일 수 있다. 2개의 가닥이 하나의 더 큰 RNA 분자의 일부이며, 이에 따라 한쪽 가닥의 3'-단부와 각각의 다른 한쪽 가닥의 5'-단부 사이의 뉴클레오티드들의 연속 사슬에 의해 연결되어 이중 가닥 영역 또는 이중체 구조를 형성하는 경우, 그러한 연결 RNA 사슬은 "헤어핀 루프"로 지칭된다. 헤어핀 루프는 적어도 하나의 쌍 비형성된(unpaired) 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 헤어핀 루프는 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 20개, 적어도 23개 또는 그 이상의 쌍 비형성된 뉴클레오티드, 또는 dsRNA 작용제의 표적 부위로 유도되지 않는 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 헤어핀 루프는 1 내지 10개의 쌍 비형성된 뉴클레오티드일 수 있다. 일부 실시 형태에서, 헤어핀 루프는 1 내지 8개의 쌍 비형성된 뉴클레오티드일 수 있다. 일부 실시 형태에서, 헤어핀 루프는 4 내지 10개의 쌍 비형성된 뉴클레오티드일 수 있다. 일부 실시 형태에서, 헤어핀 루프는 4 내지 8개의 쌍 비형성된 뉴클레오티드일 수 있다.

[0028] dsRNA 작용제의 2개의 실질적으로 상보적인 가닥이 별개의 RNA 분자에 의해 포함되는 경우, 그러한 분자들은 그럴 필요는 없지만, 공유적으로 연결될 수 있다. 2개의 가닥이, 이중체 구조를 형성하는 한쪽 가닥의 3'-단부와 각각의 다른 한쪽 가닥의 5'-단부 사이의 뉴클레오티드들의 연속 사슬 이외의 수단으로 공유적으로 연결되는 소정 실시 형태에서, 연결 구조는 "링커"로 지칭된다. dsRNA 작용제의 RNA 가닥들은 동일하거나 상이한 수의 뉴클레오티드를 가질 수 있다.

[0029] 일부 실시 형태에서, dsRNA 작용제의 한쪽 가닥 또는 양쪽 가닥은 돌출부를 포함한다. 다른 실시 형태에서, dsRNA 작용제는 무딘 단부를 갖는다(blunt ended).

[0030] 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 dsRNA 작용제는 서열-특이적 방식으로 메신저 RNA(mRNA) 분해 또는 mRNA의 번역의 억제를 매개한다. 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 dsRNA 작용제는 RNA-유도 침묵 복합체(RISC) 경로를 통해 유전자 발현을 억제한다. 일부 실시 형태에서, 이론에 의해 구애됨이 없이, 본 명세서에 기재된 dsRNA 작용제는 짧은 간섭 RNA(siRNA)처럼 기능한다. 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 dsRNA 작용제는 siRNA이다.

[0031] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "상보적"은, 제2 뉴클레오티드 서열(예를 들어, dsRNA 작용제의 안티센스 가닥, 또는 단일 가닥 안티센스 올리고뉴클레오티드)과 관련하여 제1 뉴클레오티드 서열(예를 들어, dsRNA 작용제의 센스 가닥, 또는 표적화된 서열)을 설명하기 위해 사용되는 경우, 제2 뉴클레오티드 서열을 포함하는 올리고뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드와 혼성화(포유동물의 생리학적 조건(또는 시험관내에서의 유사한 조건) 하에서 염기쌍 수소 결합을 형성)되고 특정 조건 하에서 이중체 또는 이중 나선 구조를 형성하는 제1 뉴클레오티드 서열을 포함하는 올리고뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드의 능력을 의미한다. 상보적 서열은 왓슨

-크릭 염기쌍 또는 비-왓슨-크릭 염기쌍을 포함하고, 적어도 상기 혼성화 요건이 충족되는 한에 있어서 천연 또는 변형된 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 모방체를 포함한다. 서열 동일성 또는 상보성은 변형과 무관하다. 예를 들어, fA 및 mA는 U(또는 T)에 상보적이고, 동일성 또는 상보성을 결정하기 위한 목적상 A와 동일하다.

[0032] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 2개의 뉴클레오타이드 서열과 관련하여 용어 "완전히 상보적인"은 제1 뉴클레오타이드 서열의 연속 서열 내의 모든(100%) 염기가 제2 뉴클레오타이드 서열의 연속 서열 내의 동일한 수의 염기에 혼성화되어 이중체를 형성할 것임을 의미한다. 2개의 뉴클레오타이드 서열이 혼성화 시에 하나 이상의 단일 가닥 돌출부를 형성하도록 설계되는 경우, 그러한 돌출부는 상보성의 결정에 있어서 불일치(mismatch)로 간주되지 않을 것이다. 예를 들어, 21개의 뉴클레오타이드 길이의 하나의 올리고뉴클레오타이드 및 23개의 뉴클레오타이드 길이의 다른 하나의 올리고뉴클레오타이드를 포함하고, 여기서 23개의 뉴클레오타이드의 올리고뉴클레오타이드는 21개의 뉴클레오타이드의 올리고뉴클레오타이드에 완전히 상보적인 21개의 뉴클레오타이드의 서열을 포함하는 dsRNA 작용제는 본 명세서에 기재된 목적상 "완전히 상보적인" 것으로 간주된다. 구체적인 실시 형태에서, 2개의 뉴클레오타이드 서열은 제1 뉴클레오타이드 서열의 모든(100%) 염기가 제2 뉴클레오타이드 서열 내의 모든(100%) 염기에 혼성화되어 이중체를 형성할 때 "완전히 상보적"이다. 구체적인 일 실시 형태에서, 2개의 뉴클레오타이드 서열은 엄격한 조건 하에서 혼성화된다. 다른 구체적인 실시 형태에서, 2개의 뉴클레오타이드 서열은 매우 엄격한 조건 하에서 혼성화된다.

[0033] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 2개의 뉴클레오타이드 서열과 관련하여 용어 "부분적으로 상보적인"은 제1 뉴클레오타이드 서열의 연속 서열 내의 적어도 65%이지만 80% 미만의 염기가 제2 뉴클레오타이드 서열의 연속 서열 내의 동일한 수의 염기에 혼성화되어 이중체를 형성할 것임을 의미한다. 구체적인 일 실시 형태에서, 2개의 뉴클레오타이드 서열은 엄격한 조건 하에서 혼성화된다. 다른 구체적인 실시 형태에서, 2개의 뉴클레오타이드 서열은 매우 엄격한 조건 하에서 혼성화된다.

[0034] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 2개의 뉴클레오타이드 서열과 관련하여 용어 "실질적으로 상보적인"은 제1 뉴클레오타이드 서열의 연속 서열 내의 적어도 80%이지만 100% 미만의 염기가 제2 뉴클레오타이드 서열의 연속 서열 내의 동일한 수의 염기에 혼성화되어 이중체를 형성할 것임을 의미한다. 일부 실시 형태에서, 2개의 뉴클레오타이드 서열은 제1 올리고뉴클레오타이드의 연속 서열 내의 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%이지만 100% 미만의 염기가 제2 올리고뉴클레오타이드의 연속 서열 내의 동일한 수의 염기에 혼성화되어 이중체를 형성할 때, 실질적으로 상보적이다. 구체적인 일 실시 형태에서, 2개의 뉴클레오타이드 서열은 엄격한 조건 하에서 혼성화된다. 다른 구체적인 실시 형태에서, 2개의 뉴클레오타이드 서열은 매우 엄격한 조건 하에서 혼성화된다.

[0035] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 수치 값을 지칭할 때 용어 "약" 및 "대략"은 인용된 수치 값 및 +/- 20% 이내의 변동을 포함한다. 예를 들어, 약 20%는 16% 내지 24% 및 이들 사이의 값(20%를 포함함)을 포함할 것이다. 일 실시 형태에서, 수치 값을 지칭할 때 용어 "약" 및 "대략"은 인용된 수치 값 및 +/- 15% 이내의 변동을 포함한다. 다른 실시 형태에서, 수치 값을 지칭할 때 용어 "약" 및 "대략"은 인용된 수치 값 및 +/- 10% 이내의 변동을 포함한다. 다른 실시 형태에서, 수치 값을 지칭할 때 용어 "약" 및 "대략"은 인용된 수치 값 및 +/- 5% 이내의 변동을 포함한다.

[0036] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 혼성화를 지칭할 때 용어 "엄격한"은 "엄격한 조건" 또는 "엄격한 혼성화 조건" 하에서, 제1 뉴클레오타이드 서열이 다른 서열에 대한 최소한의 혼성화를 가지면서 제2 뉴클레오타이드에 혼성화될 것임을 의미한다. 구체적인 실시 형태에서, 안티센스 서열은 엄격한 조건 하에서 다른 서열에 대한 최소한의 표적화를 가지면서 그의 표적 서열에 혼성화될 것이다. 엄격한 조건은 서열 의존적이며(예를 들어, 서열 길이, 상보성), 상이한 환경 파라미터(예를 들어, 검정 조건, 생리학적 환경) 하에서 달라진다. 엄격한 혼성화 조건의 예에는 다음이 포함될 수 있다: 400 mM NaCl, 40 mM PIPES pH 6.4, 1 mM EDTA, 50°C 또는 70°C에서 12 내지 16시간 후 세척. 당업자는 혼성화의 엄격성에 있어서의 변동이 본질적으로 기재되어 있음을 이해할 것이다.

[0037] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 혼성화를 지칭할 때 용어 "매우 엄격한"은 "매우 엄격한 조건" 또는 "매우 엄격한 혼성화 조건" 하에서, 제1 뉴클레오타이드 서열이 단지 제2 뉴클레오타이드에만 혼성화되는 것으로 관찰될 것임을 의미한다. 구체적인 실시 형태에서, 안티센스 서열은 매우 엄격한 조건 하에서 단지 그의 표적 서열에만 혼성화되는 것으로 관찰될 것이다. 또한, 매우 엄격한 조건은 부분적으로 상보적인 서열들 사이에서 혼성화가 일어나지 않게 할 수 있다. 매우 엄격한 조건은 서열 의존적이며(예를 들어, 서열 길이, 상보성), 상이한 환경 파라미터(예를 들어, 검정 조건, 생리학적 환경) 하에서 달라진다. 매우 엄격한 조건은 동일한 상황 하에서 엄

격한 조건에 비해 더 높은 온도, 더 낮은 이온 강도, 및/또는 더 짧은 반응 시간을 포함할 수 있다. 예를 들어, 매우 엄격한 조건은 약 71℃, 약 72℃, 약 73℃, 약 74℃, 약 75℃, 약 76℃, 약 77℃, 약 78℃, 약 79℃, 약 80℃, 또는 그 이상의 혼성화 온도를 포함할 수 있다. 당업자는 혼성화의 엄격성에 있어서의 변동이 본질적으로 기재되어 있음을 이해할 것이다.

[0038] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "표적 서열"은 유전자의 전사 동안 형성되는 RNA 분자의 뉴클레오타이드 서열의 연속적인 부분을 지칭하며, 이에는 1차 전사 생성물의 RNA 처리의 생성물인 mRNA(예를 들어, 대체 스플라이싱으로부터 생성되는 mRNA)가 포함된다. 일 실시 형태에서, 뉴클레오타이드 서열의 연속적인 부분은 적어도, 유전자의 전사 동안 형성된 mRNA 분자의 뉴클레오타이드 서열의 그러한 부분에서 또는 그 부근에서 RNAi-유도 절단을 위한 기질로서의 역할을 하기에 충분히 길다. 구체적인 실시 형태에서, 표적 서열은 약 15 내지 30개의 뉴클레오타이드 길이이다. 예를 들어, 표적 서열은 약 15 내지 30개의 뉴클레오타이드 길이, 15 내지 29개, 15 내지 28개, 15 내지 27개, 15 내지 26개, 15 내지 25개, 15 내지 24개, 15 내지 23개, 15 내지 22개, 15 내지 21개, 15 내지 20개, 15 내지 19개, 15 내지 18개, 15 내지 17개, 18 내지 30개, 18 내지 29개, 18 내지 28개, 18 내지 27개, 18 내지 26개, 18 내지 25개, 18 내지 24개, 18 내지 23개, 18 내지 22개, 18 내지 21개, 18 내지 20개, 19 내지 30개, 19 내지 29개, 19 내지 28개, 19 내지 27개, 19 내지 26개, 19 내지 25개, 19 내지 24개, 19 내지 23개, 19 내지 22개, 19 내지 21개, 19 내지 20개, 20 내지 30개, 20 내지 29개, 20 내지 28개, 20 내지 27개, 20 내지 26개, 20 내지 25개, 20 내지 24개, 20 내지 23개, 20 내지 22개, 20 내지 21개, 21 내지 30개, 21 내지 29개, 21 내지 28개, 21 내지 27개, 21 내지 26개, 21 내지 25개, 21 내지 24개, 21 내지 23개, 또는 21개 또는 22개의 뉴클레오타이드 길이일 수 있다. 소정 실시 형태에서, 표적 서열은 19 내지 25개의 뉴클레오타이드 길이이다. 일부 실시 형태에서, 표적 서열은 21 내지 23개의 뉴클레오타이드 길이이다. 상기에 언급된 범위 및 길이에 중간인 범위 및 길이가 또한 본 발명의 일부인 것으로 고려된다.

[0039] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 어구 "안티센스 가닥 뉴클레오타이드 서열 중 어느 하나에 상응하는 뉴클레오타이드 서열", "안티센스 가닥 뉴클레오타이드 서열에 상응하는 뉴클레오타이드 서열", "센스 가닥 뉴클레오타이드 서열 중 어느 하나에 상응하는 뉴클레오타이드 서열", "센스 가닥 뉴클레오타이드 서열에 상응하는 뉴클레오타이드 서열", 또는 "뉴클레오타이드 서열 중 어느 하나에 상응하는 뉴클레오타이드 서열"은 언급된 비변형된 뉴클레오타이드, 또는 하나 이상의 변형된 뉴클레오타이드, 또는 하나 이상의 접합된 모이어티(예를 들어, 본 명세서에 기재된 모이어티, 예컨대 지질, 또는 본 명세서에 기재된 모이어티에 접합된 변형된 뉴클레오타이드)를 포함하는 뉴클레오타이드들의 사슬을 포함하는 올리고뉴클레오타이드를 지칭한다. 당업자는 언급된 비변형된 뉴클레오타이드가 그러한 대체 모이어티를 갖는 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드의 염기쌍 형성 특성을 실질적으로 변경시키지 않으면서 다른 모이어티로 대체될 수 있음을 인식하고 있다. 예를 들어, 염기로서 이노신을 포함하는 뉴클레오타이드는 아데닌, 시토신, 또는 우라실을 함유하는 뉴클레오타이드와 염기쌍을 형성할 수 있다. 따라서, 우라실, 구아닌, 또는 아데닌을 함유하는 뉴클레오타이드가, 예를 들어 이노신을 함유하는 뉴클레오타이드로 대체될 수 있다. 다른 예에서, 아데닌 및 시토신이 각각 구아닌 및 우라실로 대체되어 표적 mRNA와 G-U 워블 염기쌍을 형성할 수 있다.

[0040] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 어구 "비자연 발생 이중 가닥 리보핵산(dsRNA) 작용제", "비자연 발생 이중 가닥 리보핵산 작용제", 또는 "비자연 발생 dsRNA 작용제"는 자연에서 발견되지 않는 dsRNA 작용제를 지칭한다. 비자연 발생 dsRNA는 하나 이상의 변형된 뉴클레오타이드를 함유할 수 있다.

[0041] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 5' 또는 3' 뉴클레오타이드 돌출부와 관련하여 용어 "돌출부"는 dsRNA 작용제의 이중체 구조로부터 돌출된 적어도 하나의, 쌍 비형성된 뉴클레오타이드를 지칭한다. 예를 들어, dsRNA 작용제의 한쪽 가닥의 3'-단부가 다른 한쪽 가닥의 5'-단부를 넘어서 연장되거나 또는 그 반대일 때, 뉴클레오타이드 돌출부가 존재한다. 일부 실시 형태에서, 돌출부는 센스 가닥, 안티센스 가닥, 또는 양쪽 가닥의 3'-단부에 존재한다. 일 실시 형태에서, 3'-돌출부는 안티센스 가닥에 존재한다. 다른 실시 형태에서, 3'-돌출부는 센스 가닥에 존재한다. 일부 실시 형태에서, 돌출부는 센스 가닥, 안티센스 가닥, 또는 양쪽 가닥의 5'-단부에 존재한다. 일 실시 형태에서, 5'-돌출부는 안티센스 가닥에 존재한다. 다른 실시 형태에서, 5'-돌출부는 센스 가닥에 존재한다. 돌출부는, 한쪽 가닥이 다른 한쪽 가닥보다 더 길다는 것에 기인할 수 있거나, 또는 동일한 길이의 2개의 가닥이 엇갈린 것으로 인한 결과일 수 있다. 일부 실시 형태에서, 돌출부는 표적 서열과 불일치를 형성한다. 다른 실시 형태에서, 돌출부는 표적화된 유전자 서열과 상보적이다. dsRNA 작용제의 돌출부 영역 내의 뉴클레오타이드들은 각각 독립적으로, 변형된 또는 비변형된 뉴클레오타이드(예를 들어, 2'-플루오로-변형된 뉴클레오타이드, 2'-O-메틸 변형된 뉴클레오타이드, 데옥시뉴클레오타이드, 또는 이들의 조합)일 수 있다.

[0042] 일부 실시 형태에서, dsRNA 작용제의 센스 가닥 또는 안티센스 가닥의 5'- 또는 3'- 돌출부는 인산화된다. 소

정 실시 형태에서, dsRNA 작용제의 센스 가닥 및 안티센스 가닥의 5'- 또는 3'- 돌출부는 인산화된다. 일부 실시 형태에서, 돌출부 영역(들)은 2개(또는 그 이상)의 뉴클레오타이드를 함유하되, 이들 2개(또는 그 이상)의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트가 존재하며, 그러한 2개(또는 그 이상)의 뉴클레오타이드는 동일하거나 상이할 수 있다.

[0043] 일부 실시 형태에서, dsRNA 작용제는 단지 단일 돌출부만을 함유하며, 이는 이의 전체 안정성에 영향을 주지 않고서, dsRNA 작용제의 간섭 활성을 강화할 수 있다. 예를 들어, 단일 가닥 돌출부는 dsRNA 작용제의 센스 가닥의 3'-말단 단부에 위치할 수 있거나, 또는 대안적으로, dsRNA 작용제의 안티센스 가닥의 3'-말단 단부에 위치할 수 있다. dsRNA 작용제는 또한, 안티센스 가닥의 5'-단부(또는 센스 가닥의 3'-단부)에 위치되거나 또는 그 반대로 위치된 무딘 단부를 가질 수 있다. 일부 실시 형태에서, dsRNA 작용제의 안티센스 가닥은 3'-단부에 뉴클레오타이드 돌출부를 가지며, 5'-단부는 무딘 단부를 갖는다.

[0044] 일부 실시 형태에서, dsRNA 작용제의 한쪽 가닥은 적어도 1개의 뉴클레오타이드, 적어도 2개의 뉴클레오타이드, 또는 적어도 3개의 뉴클레오타이드의 5'-단부 돌출부, 3'-단부 돌출부, 또는 5'-단부 돌출부 및 3'-단부 돌출부 양쪽 모두를 포함한다. 소정 실시 형태에서, dsRNA 작용제의 한쪽 가닥은 적어도 1개의 뉴클레오타이드, 적어도 2개의 뉴클레오타이드, 또는 적어도 3개의 뉴클레오타이드이지만, 5개 이하의 뉴클레오타이드의 5'-단부 돌출부, 3'-단부 돌출부, 또는 5'-단부 돌출부 및 3'-단부 돌출부 양쪽 모두를 포함한다. 일부 실시 형태에서, dsRNA 작용제의 한쪽 가닥은 1개의 뉴클레오타이드, 2개의 뉴클레오타이드, 또는 3개의 뉴클레오타이드의 5'-단부 돌출부, 3'-단부 돌출부, 또는 5'-단부 돌출부 및 3'-단부 돌출부 양쪽 모두를 포함한다. 소정 실시 형태에서, dsRNA 작용제의 한쪽 가닥은 1개 또는 2개의 뉴클레오타이드, 1 내지 3개의 뉴클레오타이드, 1 내지 4개의 뉴클레오타이드, 또는 1 내지 5개의 뉴클레오타이드의 5'-단부 돌출부, 3'-단부 돌출부, 또는 5'-단부 돌출부 및 3'-단부 돌출부 양쪽 모두를 포함한다. 일부 실시 형태에서, dsRNA 작용제의 한쪽 가닥은 2개 또는 3개의 뉴클레오타이드, 2 내지 4개의 뉴클레오타이드, 또는 2 내지 5개의 뉴클레오타이드의 5'-단부 돌출부, 3'-단부 돌출부, 또는 5'-단부 돌출부 및 3'-단부 돌출부 양쪽 모두를 포함한다. 소정 실시 형태에서, dsRNA 작용제의 한쪽 가닥은 3개 또는 4개의 뉴클레오타이드, 또는 4개 또는 5개의 뉴클레오타이드의 5'-단부 돌출부, 3'-단부 돌출부, 또는 5'-단부 돌출부 및 3'-단부 돌출부 양쪽 모두를 포함한다. 가닥은 안티센스 가닥 또는 센스 가닥일 수 있다. 뉴클레오타이드 돌출부는 뉴클레오타이드 유사체 또는 뉴클레오시드 유사체를 포함하거나 이로 이루어질 수 있다.

[0045] 일부 실시 형태에서, dsRNA 작용제의 각각의 가닥은 적어도 1개의 뉴클레오타이드, 적어도 2개의 뉴클레오타이드, 또는 적어도 3개의 뉴클레오타이드의 5'-단부 돌출부, 3'-단부 돌출부, 또는 5'-단부 돌출부 및 3'-단부 돌출부 양쪽 모두를 포함한다. 소정 실시 형태에서, dsRNA 작용제의 각각의 가닥은 적어도 1개의 뉴클레오타이드, 적어도 2개의 뉴클레오타이드, 또는 적어도 3개의 뉴클레오타이드이지만, 5개 이하의 뉴클레오타이드의 5'-단부 돌출부, 3'-단부 돌출부, 또는 5'-단부 돌출부 및 3'-단부 돌출부 양쪽 모두를 포함한다. 일부 실시 형태에서, dsRNA 작용제의 각각의 가닥은 1개의 뉴클레오타이드, 2개의 뉴클레오타이드, 또는 3개의 뉴클레오타이드의 5'-단부 돌출부, 3'-단부 돌출부, 또는 5'-단부 돌출부 및 3'-단부 돌출부 양쪽 모두를 포함한다. 소정 실시 형태에서, dsRNA 작용제의 각각의 가닥은 1개 또는 2개의 뉴클레오타이드, 1 내지 3개의 뉴클레오타이드, 1 내지 4개의 뉴클레오타이드, 또는 1 내지 5개의 뉴클레오타이드의 5'-단부 돌출부, 3'-단부 돌출부, 또는 5'-단부 돌출부 및 3'-단부 돌출부 양쪽 모두를 포함한다. 일부 실시 형태에서, dsRNA 작용제의 각각의 가닥은 2개 또는 3개의 뉴클레오타이드, 2 내지 4개의 뉴클레오타이드, 또는 2 내지 5개의 뉴클레오타이드의 5'-단부 돌출부, 3'-단부 돌출부, 또는 5'-단부 돌출부 및 3'-단부 돌출부 양쪽 모두를 포함한다. 소정 실시 형태에서, dsRNA 작용제의 각각의 가닥은 3개 또는 4개의 뉴클레오타이드, 또는 4개 또는 5개의 뉴클레오타이드의 5'-단부 돌출부, 3'-단부 돌출부, 또는 5'-단부 돌출부 및 3'-단부 돌출부 양쪽 모두를 포함한다. 뉴클레오타이드 돌출부는 뉴클레오타이드 유사체 또는 뉴클레오시드 유사체를 포함하거나 이로 이루어질 수 있다.

[0046] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, dsRNA 작용제와 관련하여 용어 "무딘" 또는 "무딘 단부를 갖는"은 dsRNA의 주어진 말단 단부에 쌍 비형성된 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 유사체가 없음을, 즉, 뉴클레오타이드 돌출부가 없음을 의미한다. 일부 실시 형태에서, dsRNA 작용제의 한쪽 단부는 무딘 단부를 갖는다. 다시 말하면, 한쪽 가닥의 5'-단부와 다른 한쪽 가닥의 3'-단부는 쌍 비형성된 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 유사체를 포함하지 않는다. 일부 실시 형태에서, dsRNA 작용제의 양쪽 단부는 무딘 단부를 갖는다. 다시 말하면, dsRNA 작용제의 어느 한쪽 말단에도 뉴클레오타이드 돌출부는 없다.

[0047] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, dsRNA 작용제와 관련하여 용어 "안티센스 가닥" 또는 "가이드 가닥"은 표적 서열에 상보적인 영역을 포함하는 가닥을 지칭한다.

- [0048] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, dsRNA 작용제와 관련하여 용어 "센스 가닥" 또는 "패신저 가닥"은 안티센스 가닥의 영역에 상보적인 영역을 포함하는 dsRNA 작용제의 가닥을 지칭한다.
- [0049] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, dsRNA 작용제의 핵염기와 관련하여 용어 "변형된"은 RNA 분자에서 자연에서 발견되지 않는 핵염기를 지칭한다. 자연 발생 RNA 서열은 퓨린 염기인 아데닌(A) 및 구아닌(G), 및 피리미딘 염기인 시토신(C) 및 우라실(U)을 포함한다.
- [0050] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, RNA 서열, 예컨대 dsRNA 작용제의 뉴클레오티드와 관련하여 용어 "변형된"은 RNA 분자에서 자연에서 발견되지 않는 뉴클레오티드를 지칭한다.
- [0051] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "약제학적으로 허용되는"은 미연방 또는 주 정부의 규제 기관에 의해 승인되어 있거나 미국 약전, 유럽 약전, 또는 동물에서의, 그리고 더 구체적으로는 인간에서의 사용에 대해 일반적으로 승인된 기타 약전에 열거되어 있음을 의미한다.
- [0052] 일 실시 형태에서, 약제학적 조성물의 다른 성분과 상용성이고, 과도한 독성, 자극, 알레르기성 반응, 면역원성, 또는 다른 문제 또는 합병증 없이 인간 및 동물의 조직 또는 장기와 접촉되어 사용하기에 적합하며, 합리적인 이익/위험 비에 상응한다는 의미에서, 각각의 성분은 "약제학적으로 허용가능"하다. 예를 들어, 문헌 [Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, PA, 2005; Handbook of Pharmaceutical Excipients, 6th ed.]; 문헌[Rowe et al., Eds.; The Pharmaceutical Press and the American Pharmaceutical Association: 2009]; 문헌[Handbook of Pharmaceutical Additives, 3rd ed.; Ash and Ash Eds.; Gower Publishing Company: 2007]; 문헌[Pharmaceutical Preformulation and Formulation, 2nd ed.; Gibson Ed.; CRC Press LLC: Boca Raton, FL, 2009]을 참조한다. 일부 실시 형태에서, 약제학적으로 허용되는 부형제는 사용된 투여량 및 농도에서 이에 노출되는 세포 또는 포유류에 대해 비독성이다. 일부 실시 형태에서, 약제학적으로 허용되는 부형제는 수성 pH 완충 용액이다.
- [0053] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 그리고 달리 명시되지 않는 한, 용어 "약제학적으로 허용되는 염"은 무기 산 및 유기 산을 포함한, 약제학적으로 허용되고 비교적 비독성인 산으로부터 제조된 염을 지칭한다. 소정 실시 형태에서, 적합한 산에는 아세트산, 벤젠설폰산, 벤조산, 캄페실폰산, 탄산, 시트르산, 이수소인산, 에탄설폰산, 푸마르산, 갈락투론산, 글루콘산, 글루쿠론산, 글루탐산, 브롬화수소산, 염산, 요오드화수소산, 아이소부티르산, 이세티온산, 락트산, 말레산, 말산, 말론산, 만델산, 메탄설폰산, 일수소탄산, 일수소인산, 일수소황산, 점액산, 질산, 파모산, 판토텐산, 인산, 프탈산, 프로피온산, 수베르산, 석신산, 황산, 타르타르산, 톨루엔설폰산 등이 포함되지만 이로 한정되지 않는다(예를 들어, 문헌[S. M. Berge *et al.*, *J. Pharm. Sci.*, 66:1-19 (1977)]; 및 문헌[*Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use*, P. H. Stahl and C. G. Wermuth, Eds., (2002), Wiley, Weinheim] 참조). 소정 실시 형태에서, 적합한 산은 강산(예를 들어, pKa가 약 1 미만인 것)이며, 이에 염산, 브롬화수소산, 황산, 질산, 메탄설폰산, 벤젠 설폰산, 톨루엔 설폰산, 나프탈렌 설폰산, 나프탈렌 다이설폰산, 피리딘-설폰산, 또는 다른 치환된 설폰산이 포함되지만 이로 한정되지 않는다. 아미노산, 예컨대 아스파르트산 등을 포함한 산성 특징을 갖는 비교적 비독성인 다른 화합물, 및 아스피린, 이부프로펜, 사카린 등과 같은 다른 화합물의 염이 또한 포함된다. 중성 형태의 화합물을, 순수(neat) 상태로 또는 적합한 용매 중에서, 충분한 양의 원하는 산과 접촉시킴으로써 산 부가 염이 얻어질 수 있다. 고체로서, 염은 결정질 또는 비정질 형태, 또는 이들의 혼합물로 존재할 수 있다. 염은 또한 다형 형태로 존재할 수 있다.
- [0054] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 그리고 달리 명시되지 않는 한, 용어 "보호기"는 바람직하지 않은 반응으로부터 화합물 내의 반응성 작용기 또는 작용기들(예컨대, 제한 없이, 카르복시, 하이드록시, 및 아미노 모이어티)을 차단하는 화학기를 지칭한다. 당업자에게 알려진 보호기가 본 명세서에 제공되어 있으며, 이를 테면, 문헌 [Protective Groups in Organic Synthesis, Greene, T. W.; Wuts, P. G. M., John Wiley & Sons, New York, N.Y., (5<sup>th</sup> Edition, 2014)]에 기재된 것들이며, 이는 본 명세서에 기재된 절차를 사용하여 부가 또는 제거될 수 있다. 보호되는 하이드록실 기의 예에는 실릴 에테르, 예컨대 하이드록실 기와, 예컨대 제한 없이, 다음 시약의 반응에 의해 얻어지는 것들이 포함되지만 이로 한정되지 않는다: t-부틸다이페닐클로로실란, t-부틸다이메틸-클로로실란, 트라이메틸클로로실란, 트라이아이소프로필클로로실란, 트라이에틸클로로실란; 치환된 메틸 및 에틸 에테르, 예컨대 제한 없이, 메톡시메틸 에테르, 메틸티오메틸 에테르, 벤질옥시메틸 에테르, t-부톡시메틸 에테르, 2-메톡시에톡시메틸 에테르, 테트라하이드로피라닐 에테르, 1-에톡시에틸 에테르, 알릴 에테르, 벤질 에테르, 2-시아노에틸 에테르; 에스테르, 예컨대 제한 없이, 벤조일포르메이트, 포르메이트, 아세테이트, 트라이클로로아세테이트, 및 트라이플루오로아세테이트. 보호기의 예에는 아미딘(예를 들어, Me<sub>2</sub>N-CH=)이 포함되지

만 이로 한정되지 않는다.

[0055] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 그리고 달리 명시되지 않는 한, 용어 "반응성 인 기"는, 예를 들어 포스포다이에스테르 및 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 결합체(linkage)를 포함한 뉴클레오시드간 결합체를 형성하는 데 유용한 화학기 또는 모이어티를 지칭한다. 그러한 반응성 인 기는 당업계에 알려져 있으며, P III 또는 P V 원자가 상태(valence state)의 인 원자를 함유하며, 이에는 포스포르아미다이트, H-포스포네이트, 포스페이트 트라이에스테르 및 인 함유 키랄 보조제가 포함되지만 이로 한정되지 않는다. 일 실시 형태에서, 고상 합성은 반응성 포스파이트로서 포스포르아미다이트(P III 화학)를 이용한다. 후속으로, 중간 포스파이트 화합물은 알려진 방법을 사용하여 P V 상태로 산화되어, 일부 실시 형태에서 포스포다이에스테르 또는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 결합체를 얻는다.

[0056] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 그리고 달리 명시되지 않는 한, 용어 "뉴클레오시드간 결합체" 또는 "뉴클레오시드간 연결기"는 인 함유 뉴클레오시드간 연결기, 예컨대 포스포다이에스테르 및 포스포로티오에이트, 비-인 함유 뉴클레오시드간 연결기, 예컨대 포름아세틸 및 메틸렌이미노, 및 중성 비이온성 뉴클레오시드간 연결기, 예컨대 3'-CH<sub>2</sub>-C(=O)-N(H)-5' 또는 3'-CH<sub>2</sub>-N(H)-C(=O)-5'을 포함하지만 이로 한정되지 않는 당업계에 알려진 뉴클레오시드간 연결기의 모든 방식을 포함하는 것으로 의미된다.

[0057] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 그리고 달리 명시되지 않는 한, 용어 "알킬"은, 단지 탄소 및 수소 원자로만 이루어지고 포화된 직쇄 또는 분지형 탄화수소 사슬 라디칼을 지칭한다. 일 실시 형태에서, 알킬 기는, 예를 들어 1 내지 40개의 탄소 원자(C<sub>1</sub>-C<sub>40</sub> 알킬), 1 내지 24개의 탄소 원자(C<sub>1</sub>-C<sub>24</sub> 알킬), 4 내지 20개의 탄소 원자(C<sub>4</sub>-C<sub>20</sub> 알킬), 6 내지 16개의 탄소 원자(C<sub>6</sub>-C<sub>16</sub> 알킬), 6 내지 9개의 탄소 원자(C<sub>6</sub>-C<sub>9</sub> 알킬), 1 내지 15개의 탄소 원자(C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 알킬), 1 내지 12개의 탄소 원자(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 알킬), 1 내지 8개의 탄소 원자(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> 알킬) 또는 1 내지 6개의 탄소 원자(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬)를 가지며, 단일 결합에 의해 분자의 나머지 부분에 부착된다. 알킬 기의 예에는 메틸, 에틸, n-프로필, 1-메틸에틸(아이소프로필), n-부틸, n-펜틸, 1,1-다이메틸에틸(t-부틸), 3-메틸헥실, 2-메틸헥실, 펜타데실, 헥사데실, (1s,3r,5R,7S)-1-헵탈-3-옥틸아다만탄 등이 포함되지만 이로 한정되지 않는다. 달리 명시되지 않는 한, 알킬 기는 선택적으로 치환된다.

[0058] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 그리고 달리 명시되지 않는 한, 용어 "알케닐"은, 단지 탄소 및 수소 원자로만 이루어지고, 하나 이상의 탄소-탄소 이중 결합을 함유하는 직쇄 또는 분지형 탄화수소 사슬 라디칼을 지칭한다. 용어 "알케닐"은 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, "시스" 및 "트랜스" 배치, 또는 대안적으로, "E" 및 "Z" 배치를 갖는 라디칼을 또한 포함한다. 일 실시 형태에서, 알케닐 기는, 예를 들어 2 내지 40개의 탄소 원자(C<sub>2</sub>-C<sub>40</sub> 알케닐), 2 내지 24개의 탄소 원자(C<sub>2</sub>-C<sub>24</sub> 알케닐), 4 내지 20개의 탄소 원자(C<sub>4</sub>-C<sub>20</sub> 알케닐), 6 내지 16개의 탄소 원자(C<sub>6</sub>-C<sub>16</sub> 알케닐), 6 내지 9개의 탄소 원자(C<sub>6</sub>-C<sub>9</sub> 알케닐), 2 내지 15개의 탄소 원자(C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub> 알케닐), 2 내지 12개의 탄소 원자(C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> 알케닐), 2 내지 8개의 탄소 원자(C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> 알케닐) 또는 2 내지 6개의 탄소 원자(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> 알케닐)를 가지며, 단일 결합에 의해 분자의 나머지 부분에 부착된다. 알케닐 기의 예에는 에테닐, 프로프-1-에닐, 부트-1-에닐, 펜트-1-에닐, 헥탄-1,4-다이에닐, (4Z,7Z,10Z,13Z)-노나데카-4,7,10,13-테트라엔, (4Z,7Z,10Z,13Z)-16,16-다이메틸아이코사-4,7,10,13-테트라엔 등이 포함되지만 이로 한정되지 않는다. 달리 명시되지 않는 한, 알케닐 기는 선택적으로 치환된다.

[0059] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 그리고 달리 명시되지 않는 한, 용어 "알킬렌" 또는 "알킬렌 사슬"은, 분자의 나머지 부분을 라디칼 기(또는 기들)에 연결시키고, 단지 탄소 및 수소로만 이루어지고 포화된 직쇄 또는 분지형 다가(예를 들어, 2가 또는 3가) 탄화수소 사슬을 지칭한다. 일 실시 형태에서, 알킬렌은, 예를 들어 1 내지 24개의 탄소 원자(C<sub>1</sub>-C<sub>24</sub> 알킬렌), 1 내지 15개의 탄소 원자(C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub> 알킬렌), 1 내지 12개의 탄소 원자(C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 알킬렌), 1 내지 8개의 탄소 원자(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> 알킬렌), 1 내지 6개의 탄소 원자(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬렌), 2 내지 4개의 탄소 원자(C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub> 알킬렌), 1개 또는 2개의 탄소 원자(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> 알킬렌)를 갖는다. 알킬렌 기의 예에는 메틸렌, 에틸렌, 프로필렌, n-부틸렌 등이 포함되지만 이로 한정되지 않는다. 알킬렌 사슬은 단일 결합을 통해 분자의 나머지 부분에, 그리고 단일 결합을 통해 라디칼 기에 부착된다. 분자의 나머지 부분에 대한 그리고 라디칼 기(들)에 대한 알킬렌 사슬의 부착점은 사슬 내의 하나의 탄소 또는 임의의 2개(또는 그 이상)의 탄소를 통할 수 있다. 달리 명시되지 않는 한, 알킬렌 사슬은 선택적으로 치환된다.

[0060] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 그리고 달리 명시되지 않는 한, 용어 "알케닐렌"은, 분자의 나머지 부분을 라

디칼 기(또는 기들)에 연결시키고, 단지 탄소 및 수소로만 이루어지고, 하나 이상의 탄소-탄소 이중 결합을 함유하는 직쇄 또는 분지형 다가(예를 들어, 2가 또는 3가) 탄화수소 사슬을 지칭한다. 일 실시 형태에서, 알케닐렌은, 예를 들어 2 내지 24개의 탄소 원자( $C_2-C_{24}$  알케닐렌), 2 내지 15개의 탄소 원자( $C_2-C_{15}$  알케닐렌), 2 내지 12개의 탄소 원자( $C_2-C_{12}$  알케닐렌), 2 내지 8개의 탄소 원자( $C_2-C_8$  알케닐렌), 2 내지 6개의 탄소 원자( $C_2-C_6$  알케닐렌) 또는 2 내지 4개의 탄소 원자( $C_2-C_4$  알케닐렌)를 갖는다. 알케닐렌의 예에는 에테닐렌, 프로페닐렌, n-부테닐렌 등이 포함되지만 이로 한정되지 않는다. 알케닐렌은 단일 결합 또는 이중 결합을 통해 분자의 나머지 부분에, 그리고 단일 결합 또는 이중 결합을 통해 라디칼 기에 부착된다. 분자의 나머지 부분에 대한 그리고 라디칼 기(들)에 대한 알케닐렌의 부착점은 사슬 내의 하나의 탄소 또는 임의의 2개(또는 그 이상)의 탄소를 통할 수 있다. 달리 명시되지 않는 한, 알케닐렌은 선택적으로 치환된다.

[0061] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 그리고 달리 명시되지 않는 한, 용어 "사이클로알킬"은, 단지 탄소 및 수소 원자로만 이루어지고 포화된 비방향족 모노사이클릭 또는 폴리사이클릭 탄화수소 라디칼을 지칭한다. 사이클로알킬 기는 융합된, 가교된, 또는 스피로 고리 시스템을 포함할 수 있다. 일 실시 형태에서, 사이클로알킬은, 예를 들어 3 내지 15개의 고리 탄소 원자( $C_3-C_{15}$  사이클로알킬), 3 내지 10개의 고리 탄소 원자( $C_3-C_{10}$  사이클로알킬), 또는 3 내지 8개의 고리 탄소 원자( $C_3-C_8$  사이클로알킬)를 갖는다. 사이클로알킬은 단일 결합에 의해 분자의 나머지 부분에 부착된다. 모노사이클릭 사이클로알킬 라디칼의 예에는 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로헥실, 사이클로헵틸, 및 사이클로옥틸이 포함되지만 이로 한정되지 않는다. 폴리사이클릭 사이클로알킬 라디칼의 예에는 아다만틸, 노르보르닐, 데칼리닐, 7,7-다이메틸-바이사이클로[2.2.1]헵타닐 등이 포함되지만 이로 한정되지 않는다. 달리 명시되지 않는 한, 사이클로알킬 라디칼이 방향족 고리에 융합될 때, 생성되는 융합된 고리는 여전히 사이클로알킬인 것으로 여겨진다. 달리 명시되지 않는 한, 사이클로알킬 기는 선택적으로 치환된다.

[0062] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 그리고 달리 명시되지 않는 한, 용어 "사이클로알킬렌"은 다가(예를 들어, 2가 또는 3가) 사이클로알킬 기이다. 달리 명시되지 않는 한, 사이클로알킬렌 기는 선택적으로 치환된다.

[0063] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 그리고 달리 명시되지 않는 한, 용어 "헤테로사이클릴"은 질소, 산소, 인, 및 황으로부터 독립적으로 선택되는 하나 이상(예를 들어, 1개, 1개 또는 2개, 1 내지 3개, 또는 1 내지 4개)의 헤테로원자를 함유하는 비방향족 라디칼 모노사이클릭 또는 폴리사이클릭 모이어티를 지칭한다. 헤테로사이클릴은 임의의 헤테로원자 또는 탄소 원자에서 주요 구조에 부착될 수 있다. 헤테로사이클릴 기는 모노사이클릭, 바이사이클릭, 트라이사이클릭, 테트라사이클릭, 또는 다른 폴리사이클릭 고리 시스템일 수 있으며, 여기서 폴리사이클릭 고리 시스템은 융합된, 가교된 또는 스피로 고리 시스템일 수 있다. 헤테로사이클릴 폴리사이클릭 고리 시스템은 하나 이상의 고리에 하나 이상의 헤테로원자를 포함할 수 있다. 헤테로사이클릴 기는 포화 또는 부분 불포화될 수 있다. 포화 헤테로사이클로알킬 기는 "헤테로사이클로알킬"로 명명될 수 있다. 부분 포화 헤테로사이클로알킬 기는, 헤테로사이클릴이 적어도 하나의 이중 결합을 함유하는 경우 "헤테로사이클로알케닐"로 명명될 수 있거나, 또는 헤테로사이클릴이 적어도 하나의 삼중 결합을 함유하는 경우 "헤테로사이클로알키닐"로 명명될 수 있다. 일 실시 형태에서, 헤테로사이클릴은, 예를 들어 3 내지 18개의 고리 원자(3원 내지 18원 헤테로사이클릴), 4 내지 18개의 고리 원자(4원 내지 18원 헤테로사이클릴), 5 내지 18개의 고리 원자(5원 내지 18원 헤테로사이클릴), 4 내지 8개의 고리 원자(4원 내지 8원 헤테로사이클릴), 또는 5 내지 8개의 고리 원자(5원 내지 8원 헤테로사이클릴)를 갖는다. 본 명세서에 나타날 때는 언제나, 수치 범위, 예컨대 "3 내지 18"은 주어진 범위 내의 각각의 정수를 지칭하며, 예를 들어 "3 내지 18개의 고리 원자"는 최대 18개의 고리 원자를 포함하여, 헤테로사이클릴 기가 3개의 고리 원자, 4개의 고리 원자, 5개의 고리 원자, 6개의 고리 원자, 7개의 고리 원자, 8개의 고리 원자, 9개의 고리 원자, 10개의 고리 원자 등으로 이루어질 수 있음을 의미한다. 헤테로사이클릴 기의 예에는 이미다졸릴, 이미다졸리디닐, 옥사졸릴, 옥사졸리디닐, 티아졸릴, 티아졸리디닐, 피라졸리디닐, 피라졸릴, 아이소옥사졸리디닐, 아이소옥사졸릴, 아이소티아졸리디닐, 아이소티아졸릴, 모르폴리닐, 피롤릴, 피롤리디닐, 푸릴, 테트라하이드로푸릴, 티오펜릴, 피리디닐, 피페리디닐, 퀴놀릴, 및 아이소퀴놀릴이 포함되지만 이로 한정되지 않는다. 달리 명시되지 않는 한, 헤테로사이클릴 기는 선택적으로 치환된다.

[0064] 본 명세서에 기재된 기가 "치환된"으로 되어 있을 때, 이들은 임의의 적절한 치환체 또는 치환체들로 치환될 수 있다. 치환체의 예시적인 예에는 본 명세서에 제공된 예시적인 화합물 및 실시 형태에서 발견되는 것들뿐만 아니라, 할로젠 원자, 예컨대 F, Cl, Br, 또는 I; 시아노; 옥소(=O); 하이드록실(-OH); 알킬; 알케닐; 알키닐; 사이클로알킬; 아릴;  $-(C(=O)OR')$ ;  $-O(C(=O)R')$ ;  $-C(=O)R'$ ;  $-OR'$ ;  $-S(O)_xR'$ ;  $-SR'$ ;  $-C(=O)SR'$ ;  $-SC(=O)R'$ ;  $-NR'R'$ ;

$-NR'C(=O)R'$ ;  $-C(=O)NR'R'$ ;  $-NR'C(=O)NR'R'$ ;  $-OC(=O)NR'R'$ ;  $-NR'C(=O)OR'$ ;  $-NR'S(O)_xNR'R'$ ;  $-NR'S(O)_xR'$ ; 및  $-S(O)_xNR'R'$  (여기서,  $R'$ 은 각각의 경우에 독립적으로 H,  $C_1-C_{15}$  알킬 또는 사이클로알킬이고,  $x$ 는 0, 1 또는 2 임)이 포함되지만 이로 한정되지 않는다. 일부 실시 형태에서, 치환체는  $C_1-C_{12}$  알킬 기이다. 다른 실시 형태에서, 치환체는 사이클로알킬 기이다. 다른 실시 형태에서, 치환체는 할로 기, 예컨대 플루오로이다. 다른 실시 형태에서, 치환체는 하이드록실 기이다. 다른 실시 형태에서, 치환체는 알콕시 기( $-OR'$ )이다. 다른 실시 형태에서, 치환체는 카르복실 기이다. 다른 실시 형태에서, 치환체는 아미노 기( $-NR'R'$ )이다.

[0065] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 그리고 달리 명시되지 않는 한, 용어 "선택적인" 또는 "선택적으로"(예를 들어, 선택적으로 치환된)는 후속으로 설명된 사건 또는 상황이 일어날 수 있거나 일어나지 않을 수 있다는 것, 그리고 설명이 상기 사건 또는 상황이 일어나는 경우 및 그것이 일어나지 않은 경우를 포함한다는 것을 의미한다. 예를 들어, "선택적으로 치환된 알킬"은 알킬 라디칼이 치환되거나 치환되지 않을 수 있고, 설명이 치환된 알킬 라디칼 및 치환을 갖지 않는 알킬 라디칼 둘 모두를 포함한다는 것을 의미한다.

[0066] 본 명세서에 제공된 화합물은 하나 이상의 비대칭 중심을 함유할 수 있으며, 따라서 절대 입체화학의 관점에서 (R)- 또는 (S)-로서, 또는 아미노산에 대해서는 (D)- 또는 (L)-로서 정의될 수 있는 거울상 이성질체, 부분입체 이성질체, 및 다른 입체이성질체 형태를 발생시킬 수 있다. 달리 명시되지 않는 한, 본 명세서에 제공된 화합물은 모든 그러한 가능한 이성질체뿐만 아니라, 그들의 라세미 형태 및 광학적으로 순수한 형태를 포함하는 것으로 의미된다. 광학 활성 (+) 및 (-), (R)- 및 (S)-, 또는 (D)- 및 (L)- 이성질체는 키랄 신포논 또는 키랄 시약을 사용하여 제조되거나, 통상적인 기법, 예를 들어 크로마토그래피 및 분별 결정화를 사용하여 분할될 수 있다. 개별 거울상 이성질체의 제조/단리를 위한 통상적인 기법은 적합한 광학적으로 순수한 전구체로부터의 키랄 합성 또는 예를 들어 키랄 고압 액체 크로마토그래피(HPLC)를 사용한 라세미체(또는 염 또는 유도체의 라세미체)의 분할을 포함한다. 본 명세서에 기재된 화합물이 올레핀 이중 결합 또는 기타 비대칭의 다른 중심을 함유할 때, 그리고 달리 명시되지 않는 한, 그러한 화합물은 E 기타 이성질체 및 Z 기타 이성질체 둘 모두를 포함하도록 의도된다. 마찬가지로, 모든 호변이성질체 형태가 또한 포함되는 것으로 의도된다.

[0067] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 그리고 달리 명시되지 않는 한, 용어 "이성질체"는 동일한 분자식을 갖는 상이한 화합물들을 지칭한다. "입체이성질체"는 원자가 공간에 배열되는 방식에 있어서만 상이한 이성질체이다. "회전장애 이성질체"는 단일 결합 주위의 장애 회전으로부터의 입체이성질체이다. "거울상 이성질체"는 서로 겹쳐질 수 없는 거울상인 한 쌍의 입체이성질체들이다. 임의의 비율의 한 쌍의 거울상 이성질체의 혼합물은 "라세미" 혼합물로서 알려져 있을 수 있다. "부분입체 이성질체"는, 적어도 2개의 비대칭 원자를 갖지만 이들은 서로 거울상이 아닌 입체이성질체이다.

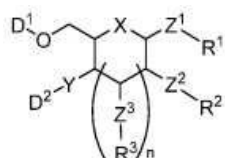
[0068] "입체이성질체"는 또한 E 및 Z 이성질체, 또는 이들의 혼합물, 및 시스 및 트랜스 이성질체 또는 이들의 혼합물을 포함할 수 있다. 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 화합물은 E 또는 Z 이성질체 중 어느 하나로 단리된다. 다른 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 화합물은 E 이성질체와 Z 이성질체의 혼합물이다.

[0069] 묘사된 구조와 그러한 구조에 대한 명칭 사이에 불일치가 있다면, 묘사된 구조에 더 많은 비중을 두어야 함에 유의해야 한다.

[0070] 화합물

[0071] 달리 명시되지 않는 한, 본 명세서에 제공된 설명은 그들이 적용가능한 범위 내에서, 본 명세서에 제공된 모든 화학식(예를 들어, 화학식 (I) 내지 화학식 (VIII), 이들의 하위 화학식을 포함함)에 적용된다.

[0072] 일 실시 형태에서, 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 입체이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 본 명세서에 제공된다:

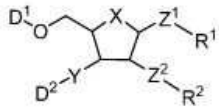


[0073]

[0074] (I)

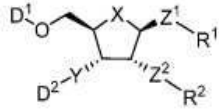
[0075] (상기 식에서,

- [0076] X는 O 또는 S이고;
- [0077] Y는 O 또는  $\text{NR}^a$ 이고;
- [0078]  $\text{D}^1$ 은 H, 하이드록실 보호기, 또는 반응성 인 기이고;
- [0079]  $\text{D}^2$ 는 H, 하이드록실 보호기, 또는 반응성 인 기이거나;
- [0080] 또는  $\text{D}^1$ 과  $\text{D}^2$ 는 함께, 이들이 부착되어 있는 산소 및 Y 둘 모두에 대해 보호기를 형성하고;
- [0081]  $\text{Z}^1$ ,  $\text{Z}^2$ , 및  $\text{Z}^3$ 은 각각 독립적으로  $-\text{O}-$ ,  $-\text{NR}^a-$ ,  $*-\text{OC}(=\text{O})-$ ,  $*-\text{NR}^a\text{C}(=\text{O})-$ ,  $-\text{OC}(=\text{O})\text{O}-$ ,  $*-\text{NR}^a\text{C}(=\text{O})\text{O}-$ ,  $*-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^b-$ ,  $*-\text{NR}^a\text{C}(=\text{O})\text{NR}^b-$ ,  $*-\text{OC}(=\text{S})-$ ,  $*-\text{NR}^a\text{C}(=\text{S})-$ ,  $-\text{OC}(=\text{S})\text{O}-$ ,  $*-\text{NR}^a\text{C}(=\text{S})\text{O}-$ ,  $*-\text{OC}(=\text{S})\text{NR}^b-$ ,  $*-\text{NR}^a\text{C}(=\text{S})\text{NR}^b-$ ,  $*-\text{OC}(=\text{O})\text{S}-$ ,  $*-\text{NR}^a\text{C}(=\text{O})\text{S}-$ ,  $*-\text{OS}(\text{O})_x-$ , 또는  $*-\text{NR}^a\text{S}(\text{O})_x-$ 이고; 여기서 \*는 X를 함유하는 고리를 향한 방향을 나타내고;
- [0082]  $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^2$ , 및  $\text{R}^3$ 은 각각 독립적으로 H,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$  알콕시로 선택적으로 치환된  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$  알킬, 또는  $-(\text{G-L})_m-\text{R}$ 이되, 단,  $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^2$ , 및  $\text{R}^3$  중 적어도 하나는  $-(\text{G-L})_m-\text{R}$ 이고;
- [0083] 각각의 경우의 G는 독립적으로  $\text{C}_1$ - $\text{C}_8$  알킬렌이고;
- [0084] 각각의 경우의 L은 독립적으로  $-\text{O}-$ ,  $-\text{NR}^a-$ ,  $-\text{C}(=\text{O})-$ ,  $*-\text{OC}(=\text{O})-$ ,  $*-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$ ,  $*-\text{NR}^a\text{C}(=\text{O})-$ ,  $*-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^b-$ ,  $-\text{OC}(=\text{O})\text{O}-$ ,  $*-\text{NR}^a\text{C}(=\text{O})\text{O}-$ ,  $*-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^b-$ ,  $*-\text{NR}^a\text{C}(=\text{O})\text{NR}^b-$ ,  $*-\text{OC}(=\text{S})-$ ,  $*-\text{C}(=\text{S})\text{O}-$ ,  $*-\text{NR}^a\text{C}(=\text{S})-$ ,  $*-\text{C}(=\text{S})\text{NR}^b-$ ,  $-\text{OC}(=\text{S})\text{O}-$ ,  $*-\text{NR}^a\text{C}(=\text{S})\text{O}-$ ,  $*-\text{OC}(=\text{S})\text{NR}^b-$ ,  $*-\text{NR}^a\text{C}(=\text{S})\text{NR}^b-$ ,  $*-\text{OC}(=\text{O})\text{S}-$ ,  $*-\text{SC}(=\text{O})\text{O}-$ ,  $*-\text{NR}^a\text{C}(=\text{O})\text{S}-$ ,  $*-\text{SC}(=\text{O})\text{NR}^b-$ ,  $*-\text{OS}(\text{O})_x-$ ,  $*-\text{S}(\text{O})_x\text{O}-$ ,  $*-\text{NR}^a\text{S}(\text{O})_x-$ , 또는  $*-\text{S}(\text{O})_x\text{NR}^b-$ 이고; 여기서 \*는 X를 함유하는 고리를 향한 방향을 나타내고;
- [0085] 각각의 경우의  $\text{R}^a$ 는 독립적으로 H 또는  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$  알킬이고;
- [0086] 각각의 경우의  $\text{R}^b$ 는 독립적으로 H 또는  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$  알킬이고;
- [0087] 각각의 경우의 R은 독립적으로  $\text{C}_{12}$ - $\text{C}_{32}$  알킬 또는  $\text{C}_{12}$ - $\text{C}_{32}$  알케닐이거나, 또는  $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^2$ , 및  $\text{R}^3$  중 하나 초과가  $-(\text{G-L})_m-\text{R}$ 일 때, 하나 이상의 R은 독립적으로  $\text{C}_{12}$ - $\text{C}_{32}$  알킬,  $\text{C}_{12}$ - $\text{C}_{32}$  알케닐, 또는 선택적으로 보호된 만노스이고;
- [0088] x는 1 또는 2이고;
- [0089] n은 0 또는 1이고;
- [0090] m은 0, 1, 또는 2임).
- [0091] 일 실시 형태에서, X는 O이다. 일 실시 형태에서, X는 S이다.
- [0092] 일 실시 형태에서, Y는 O이다. 일 실시 형태에서, Y는  $\text{NR}^a$ 이다. 일 실시 형태에서, Y는 NH이다.
- [0093] 일 실시 형태에서,  $\text{Z}^1$ ,  $\text{Z}^2$ , 및  $\text{Z}^3$ (존재하는 경우)은 각각 독립적으로  $-\text{O}-$ ,  $-\text{NR}^a-$ ,  $*-\text{OC}(=\text{O})-$ ,  $*-\text{NR}^a\text{C}(=\text{O})-$ ,  $-\text{OC}(=\text{O})\text{O}-$ ,  $*-\text{NR}^a\text{C}(=\text{O})\text{O}-$ ,  $*-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^b-$ , 또는  $*-\text{NR}^a\text{C}(=\text{O})\text{NR}^b-$ 이다. 일 실시 형태에서,  $\text{Z}^1$ ,  $\text{Z}^2$ , 및  $\text{Z}^3$ (존재하는 경우)은 각각 독립적으로  $-\text{O}-$ ,  $-\text{NH}-$ ,  $*-\text{OC}(=\text{O})-$ ,  $*-\text{NHC}(=\text{O})-$ ,  $-\text{OC}(=\text{O})\text{O}-$ ,  $*-\text{NHC}(=\text{O})\text{O}-$ ,  $*-\text{OC}(=\text{O})\text{NH}-$ , 또는  $-\text{NHC}(=\text{O})\text{NH}-$ 이다. 일 실시 형태에서,  $\text{Z}^1$ ,  $\text{Z}^2$ , 및  $\text{Z}^3$ (존재하는 경우)은 모두  $-\text{O}-$ 이다.
- [0094] 일 실시 형태에서, n은 0이다. 일 실시 형태에서, 화합물은 화학식 (I-A)의 화합물 또는 이의 입체이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다:



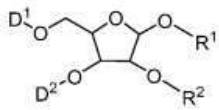
(I-A).

일 실시 형태에서, 화합물은 화학식 (I-A-1)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다:



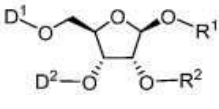
(I-A-1).

일 실시 형태에서, 화합물은 화학식 (II-A)의 화합물 또는 이의 입체이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다:



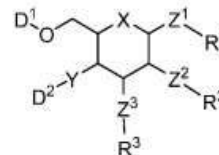
(II-A).

일 실시 형태에서, 화합물은 화학식 (II-A-1)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다:



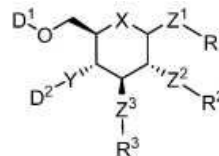
(II-A-1).

일 실시 형태에서, n은 1이다. 일 실시 형태에서, 화합물은 화학식 (I-B)의 화합물 또는 이의 입체이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다:



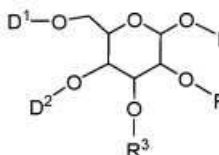
(I-B).

일 실시 형태에서, 화합물은 화학식 (I-B-1)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다:



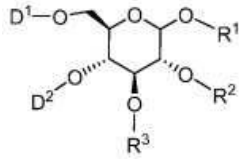
(I-B-1).

일 실시 형태에서, 화합물은 화학식 (II-B)의 화합물 또는 이의 입체이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다:



[0114] (II-B).

[0115] 일 실시 형태에서, 화합물은 화학식 (II-B-1)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다:



[0116]

[0117] (II-B-1).

[0118] 달리 명시되지 않는 한, 본 명세서에 제공된 화학식에서 소정 위치의 입체화학이 지정되어 있지 않을 때, 그러한 화학식의 화합물은 그 위치에서 입체이성질체일 수 있거나, 또는 이들의 혼합물일 수 있다. 예를 들어, 일 실시 형태에서, 화학식 (I-B-1) 또는 화학식 (II-B-1)의 화합물은 1-위치에서 알파-이성질체이고; 다른 실시 형태에서, 화합물은 1-위치에서 베타-이성질체이고; 또 다른 실시 형태에서, 화합물은 알파-이성질체와 베타-이성질체의 혼합물이다.

[0119] 일 실시 형태에서, R<sup>1</sup>은 H이다. 일 실시 형태에서, R<sup>1</sup>은 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬이다. 일 실시 형태에서, R<sup>1</sup>은 메틸이다. 일 실시 형태에서, R<sup>1</sup>은 에틸이다. 일 실시 형태에서, R<sup>1</sup>은 n-프로필이다. 일 실시 형태에서, R<sup>1</sup>은 아이소프로필이다. 일 실시 형태에서, R<sup>1</sup>은 n-부틸이다. 일 실시 형태에서, R<sup>1</sup>은 n-펜틸이다. 일 실시 형태에서, R<sup>1</sup>은 n-헥실이다. 일 실시 형태에서, 알킬은 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알콕시로 치환된다. 일 실시 형태에서, 알콕시는 메톡시이다. 일 실시 형태에서, 알콕시는 에톡시이다. 일 실시 형태에서, 알콕시는 n-프로폭시이다. 일 실시 형태에서, R<sup>1</sup>은 2-메톡시에틸(MOE)이다.

[0120] 일 실시 형태에서, R<sup>2</sup>은 H이다. 일 실시 형태에서, R<sup>2</sup>은 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬이다. 일 실시 형태에서, R<sup>2</sup>은 메틸이다. 일 실시 형태에서, R<sup>2</sup>은 에틸이다. 일 실시 형태에서, R<sup>2</sup>은 n-프로필이다. 일 실시 형태에서, R<sup>2</sup>은 아이소프로필이다. 일 실시 형태에서, R<sup>2</sup>은 n-부틸이다. 일 실시 형태에서, R<sup>2</sup>은 n-펜틸이다. 일 실시 형태에서, R<sup>2</sup>은 n-헥실이다. 일 실시 형태에서, 알킬은 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알콕시로 치환된다. 일 실시 형태에서, 알콕시는 메톡시이다. 일 실시 형태에서, 알콕시는 에톡시이다. 일 실시 형태에서, 알콕시는 n-프로폭시이다. 일 실시 형태에서, R<sup>2</sup>은 2-메톡시에틸(MOE)이다.

[0121] 일 실시 형태에서, R<sup>3</sup>은 H이다. 일 실시 형태에서, R<sup>3</sup>은 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬이다. 일 실시 형태에서, R<sup>3</sup>은 메틸이다. 일 실시 형태에서, R<sup>3</sup>은 에틸이다. 일 실시 형태에서, R<sup>3</sup>은 n-프로필이다. 일 실시 형태에서, R<sup>3</sup>은 아이소프로필이다. 일 실시 형태에서, R<sup>3</sup>은 n-부틸이다. 일 실시 형태에서, R<sup>3</sup>은 n-펜틸이다. 일 실시 형태에서, R<sup>3</sup>은 n-헥실이다. 일 실시 형태에서, 알킬은 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알콕시로 치환된다. 일 실시 형태에서, 알콕시는 메톡시이다. 일 실시 형태에서, 알콕시는 에톡시이다. 일 실시 형태에서, 알콕시는 n-프로폭시이다. 일 실시 형태에서, R<sup>3</sup>은 2-메톡시에틸(MOE)이다.

[0122] 일 실시 형태에서, R<sup>1</sup>은 -(G-L)<sub>m</sub>-R이다. 일 실시 형태에서, R<sup>2</sup>은 -(G-L)<sub>m</sub>-R이다. 일 실시 형태에서, R<sup>3</sup>은 -(G-L)<sub>m</sub>-R이다. 일 실시 형태에서, R<sup>1</sup> 및 R<sup>2</sup>은 -(G-L)<sub>m</sub>-R이다. 일 실시 형태에서, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> 및 R<sup>3</sup>은 -(G-L)<sub>m</sub>-R이다. 일 실시 형태에서, R<sup>1</sup> 및 R<sup>2</sup>은 -(G-L)<sub>m</sub>-R이며, 여기서 R<sup>1</sup>에서의 R은 C<sub>12</sub>-C<sub>32</sub> 알킬 또는 C<sub>12</sub>-C<sub>32</sub> 알케닐이고, R<sup>2</sup>에서의 R은 선택적으로 보호된 만노스이다. 일 실시 형태에서, R<sup>1</sup> 및 R<sup>3</sup>은 -(G-L)<sub>m</sub>-R이며, 여기서 R<sup>1</sup>에서의 R은 C<sub>12</sub>-C<sub>32</sub> 알킬 또는 C<sub>12</sub>-C<sub>32</sub> 알케닐이고, R<sup>3</sup>에서의 R은 선택적으로 보호된 만노스이다. 일 실시 형태에서, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> 및 R<sup>3</sup>은 -(G-L)<sub>m</sub>-R이며, 여기서 R<sup>1</sup>에서의 R은 C<sub>12</sub>-C<sub>32</sub> 알킬 또는 C<sub>12</sub>-C<sub>32</sub> 알케닐이고, R<sup>2</sup> 및 R<sup>3</sup>에서의 R은 선택적으로 보

호된 만노스이다. 일부 실시 형태에서, 선택적으로 보호된 만노스는 아세틸 모이어티에 의해 보호된다.

[0123]  $n$ 이 0인 일 실시 형태에서,  $R^1$ 은  $-(G-L)_m-R$ 이고,  $R^2$ 는  $C_1-C_6$  알콕시로 선택적으로 치환된  $C_1-C_6$  알킬이다. 일 실시 형태에서,  $R^2$ 는  $-(G-L)_m-R$ 이고,  $R^1$ 은  $C_1-C_6$  알콕시로 선택적으로 치환된  $C_1-C_6$  알킬이다. 일 실시 형태에서,  $R^1$  및  $R^2$ 는 각각 독립적으로  $-(G-L)_m-R$ 이다.

[0124]  $n$ 이 1인 일 실시 형태에서,  $R^1$ 은  $-(G-L)_m-R$ 이고,  $R^2$  및  $R^3$ 은 각각 독립적으로,  $C_1-C_6$  알콕시로 선택적으로 치환된  $C_1-C_6$  알킬이다. 일 실시 형태에서,  $R^2$ 는  $-(G-L)_m-R$ 이고,  $R^1$  및  $R^3$ 은 각각 독립적으로,  $C_1-C_6$  알콕시로 선택적으로 치환된  $C_1-C_6$  알킬이다. 일 실시 형태에서,  $R^3$ 은  $-(G-L)_m-R$ 이고,  $R^1$  및  $R^2$ 는 각각 독립적으로,  $C_1-C_6$  알콕시로 선택적으로 치환된  $C_1-C_6$  알킬이다. 일 실시 형태에서,  $R^1$  및  $R^2$ 는 각각 독립적으로  $-(G-L)_m-R$ 이고,  $R^3$ 은  $C_1-C_6$  알콕시로 선택적으로 치환된  $C_1-C_6$  알킬이다. 일 실시 형태에서,  $R^1$  및  $R^3$ 은 각각 독립적으로  $-(G-L)_m-R$ 이고,  $R^2$ 는  $C_1-C_6$  알콕시로 선택적으로 치환된  $C_1-C_6$  알킬이다. 일 실시 형태에서,  $R^2$  및  $R^3$ 은 각각 독립적으로  $-(G-L)_m-R$ 이고,  $R^1$ 은  $C_1-C_6$  알콕시로 선택적으로 치환된  $C_1-C_6$  알킬이다. 일 실시 형태에서,  $R^1$ ,  $R^2$ , 및  $R^3$ 은 각각 독립적으로  $-(G-L)_m-R$ 이다.

[0125] 일 실시 형태에서,  $m$ 은 0이다. 일 실시 형태에서,  $-(G-L)_m-R$ 은  $-R$ 이다.

[0126] 일 실시 형태에서,  $m$ 은 1이다. 일 실시 형태에서,  $m$ 은 2이다.

[0127] 일 실시 형태에서, 각각의 경우의  $G$ 는 독립적으로  $C_1-C_8$  알킬렌이다. 일 실시 형태에서, 각각의 경우의  $G$ 는 독립적으로  $C_1-C_4$  알킬렌이다. 일 실시 형태에서, 알킬렌은  $C_1$  알킬렌이다. 일 실시 형태에서, 알킬렌은  $C_2$  알킬렌이다. 일 실시 형태에서, 알킬렌은  $C_3$  알킬렌이다. 일 실시 형태에서, 알킬렌은  $C_4$  알킬렌이다. 일 실시 형태에서, 알킬렌은  $C_5$  알킬렌이다. 일 실시 형태에서, 알킬렌은  $C_6$  알킬렌이다. 일 실시 형태에서, 알킬렌은  $-CH_2-$ 이다. 일 실시 형태에서, 알킬렌은  $-CH_2CH_2-$ 이다. 일 실시 형태에서, 알킬렌은  $-CH_2CH_2CH_2-$ 이다.

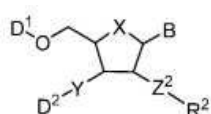
[0128] 일 실시 형태에서, 각각의 경우의  $L$ 은 독립적으로  $-O-$ ,  $-NH-$ ,  $^*-OC(=O)-$ ,  $^*-C(=O)O-$ ,  $^*-NHC(=O)-$ ,  $^*-C(=O)NH-$ ,  $-OC(=O)O-$ ,  $^*-NHC(=O)O-$ ,  $^*-OC(=O)NH-$ , 또는  $^*-NHC(=O)NH-$ 이다. 일 실시 형태에서, 각각의 경우의  $L$ 은 독립적으로  $^*-NHC(=O)-$ 이다.

[0129] 일 실시 형태에서,  $-(G-L)_m-R$ 은  $-(C_2-C_6 \text{ 알킬렌})-NH-C(=O)-R$ 이다. 일 실시 형태에서,  $-(G-L)_m-R$ 은  $-(C_2-C_3 \text{ 알킬렌})-NH-C(=O)-R$ 이다. 일 실시 형태에서,  $-(G-L)_m-R$ 은  $-CH_2CH_2-NH-C(=O)-R$ 이다. 일 실시 형태에서,  $-(G-L)_m-R$ 은  $-CH_2CH_2CH_2-NH-C(=O)-R$ 이다.

[0130] 일 실시 형태에서,  $R^a$ 는 H이다. 일 실시 형태에서,  $R^a$ 는  $C_1-C_6$  알킬이다. 일 실시 형태에서,  $R^a$ 는 메틸이다.

[0131] 일 실시 형태에서,  $R^b$ 는 H이다. 일 실시 형태에서,  $R^b$ 는  $C_1-C_6$  알킬이다. 일 실시 형태에서,  $R^b$ 는 메틸이다.

[0132] 일 실시 형태에서, 화학식 (III)의 화합물 또는 이의 입체이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 본 명세서에 제공된다:



[0133]

[0134] (III)

[0135] (상기 식에서,

- [0136] B는 변형 또는 비변형된 핵염기이고;
- [0137] X는 O 또는 S이고;
- [0138] Y는 O 또는  $\text{NR}^a$ 이고;
- [0139]  $\text{D}^1$ 은 H, 하이드록실 보호기, 또는 반응성 인 기이고;
- [0140]  $\text{D}^2$ 는 H, 하이드록실 보호기, 또는 반응성 인 기이거나;
- [0141] 또는  $\text{D}^1$ 과  $\text{D}^2$ 는 함께, 이들이 부착되어 있는 산소 및 Y 둘 모두에 대해 보호기가 되고;
- [0142]  $\text{Z}^2$ 는  $-\text{O}-$ ,  $-\text{NR}^a-$ ,  $^{*-}\text{OC}(=\text{O})-$ ,  $^{*-}\text{NR}^a\text{C}(=\text{O})-$ ,  $-\text{OC}(=\text{O})\text{O}-$ ,  $^{*-}\text{NR}^a\text{C}(=\text{O})\text{O}-$ ,  $^{*-}\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^b-$ ,  $^{*-}\text{NR}^a\text{C}(=\text{O})\text{NR}^b-$ ,  $^{*-}\text{OC}(=\text{S})-$ ,  $^{*-}\text{NR}^a\text{C}(=\text{S})-$ ,  $-\text{OC}(=\text{S})\text{O}-$ ,  $^{*-}\text{NR}^a\text{C}(=\text{S})\text{O}-$ ,  $^{*-}\text{OC}(=\text{S})\text{NR}^b-$ ,  $^{*-}\text{NR}^a\text{C}(=\text{S})\text{NR}^b-$ ,  $^{*-}\text{OC}(=\text{O})\text{S}-$ ,  $^{*-}\text{NR}^a\text{C}(=\text{O})\text{S}-$ ,  $^{*-}\text{OS}(\text{O})_x-$ , 또는  $^{*-}\text{NR}^a\text{S}(\text{O})_x-$ 이고; 여기서 \*는 X를 함유하는 고리를 향한 방향을 나타내고;
- [0143]  $\text{R}^2$ 는  $-(\text{G}-\text{L})_m-\text{R}$ 이고;
- [0144] 각각의 경우의 G는 독립적으로  $\text{C}_1-\text{C}_8$  알킬렌 또는  $\text{C}_3-\text{C}_{10}$  사이클로알킬렌이고;
- [0145] 각각의 경우의 L은 독립적으로  $-\text{O}-$ ,  $-\text{NR}^a-$ ,  $-\text{C}(=\text{O})-$ ,  $^{*-}\text{OC}(=\text{O})-$ ,  $^{*-}\text{C}(=\text{O})\text{O}-$ ,  $^{*-}\text{NR}^a\text{C}(=\text{O})-$ ,  $^{*-}\text{C}(=\text{O})\text{NR}^b-$ ,  $-\text{OC}(=\text{O})\text{O}-$ ,  $^{*-}\text{NR}^a\text{C}(=\text{O})\text{O}-$ ,  $^{*-}\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^b-$ ,  $^{*-}\text{NR}^a\text{C}(=\text{O})\text{NR}^b-$ ,  $^{*-}\text{OC}(=\text{S})-$ ,  $^{*-}\text{C}(=\text{S})\text{O}-$ ,  $^{*-}\text{NR}^a\text{C}(=\text{S})-$ ,  $^{*-}\text{C}(=\text{S})\text{NR}^b-$ ,  $-\text{OC}(=\text{S})\text{O}-$ ,  $^{*-}\text{NR}^a\text{C}(=\text{S})\text{O}-$ ,  $^{*-}\text{OC}(=\text{S})\text{NR}^b-$ ,  $^{*-}\text{NR}^a\text{C}(=\text{S})\text{NR}^b-$ ,  $^{*-}\text{OC}(=\text{O})\text{S}-$ ,  $^{*-}\text{SC}(=\text{O})\text{O}-$ ,  $^{*-}\text{NR}^a\text{C}(=\text{O})\text{S}-$ ,  $^{*-}\text{SC}(=\text{O})\text{NR}^b-$ ,  $^{*-}\text{OS}(\text{O})_x-$ ,  $^{*-}\text{S}(\text{O})_x\text{O}-$ ,  $^{*-}\text{NR}^a\text{S}(\text{O})_x-$ , 또는  $^{*-}\text{S}(\text{O})_x\text{NR}^b-$ 이고; 여기서 \*는 X를 함유하는 고리를 향한 방향을 나타내고;
- [0146] 각각의 경우의  $\text{R}^a$ 는 독립적으로 H 또는  $\text{C}_1-\text{C}_6$  알킬이고;
- [0147] 각각의 경우의  $\text{R}^b$ 는 독립적으로 H 또는  $\text{C}_1-\text{C}_6$  알킬이고;
- [0148] R은  $\text{C}_{12}-\text{C}_{32}$  알킬 또는  $\text{C}_{12}-\text{C}_{32}$  알케닐이고;
- [0149] x는 1 또는 2이고;
- [0150] m은 0, 1, 또는 2이되,
- [0151] 단, X가 O이고, Y가 O이고,  $\text{Z}^2$ 가  $-\text{O}-$ 일 때,
- [0152] (i) R은  $-\text{L}''-(\text{CH}_2)_{0-3}-\text{R}''$ 으로 치환되고, 여기서
- [0153]  $\text{L}''$ 은 부재하거나,  $-\text{O}-$ ,  $-\text{NR}^a-$ ,  $-\text{C}(=\text{O})-$ ,  $^{*-}\text{OC}(=\text{O})-$ ,  $^{*-}\text{C}(=\text{O})\text{O}-$ ,  $^{*-}\text{NR}^a\text{C}(=\text{O})-$ ,  $^{*-}\text{C}(=\text{O})\text{NR}^b-$ ,  $-\text{OC}(=\text{O})\text{O}-$ ,  $^{*-}\text{NR}^a\text{C}(=\text{O})\text{O}-$ ,  $^{*-}\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^b-$ ,  $^{*-}\text{NR}^a\text{C}(=\text{O})\text{NR}^b-$ ,  $^{*-}\text{OC}(=\text{S})-$ ,  $^{*-}\text{C}(=\text{S})\text{O}-$ ,  $^{*-}\text{NR}^a\text{C}(=\text{S})-$ ,  $^{*-}\text{C}(=\text{S})\text{NR}^b-$ ,  $-\text{OC}(=\text{S})\text{O}-$ ,  $^{*-}\text{NR}^a\text{C}(=\text{S})\text{O}-$ ,  $^{*-}\text{OC}(=\text{S})\text{NR}^b-$ ,  $^{*-}\text{NR}^a\text{C}(=\text{S})\text{NR}^b-$ ,  $^{*-}\text{OC}(=\text{O})\text{S}-$ ,  $^{*-}\text{SC}(=\text{O})\text{O}-$ ,  $^{*-}\text{NR}^a\text{C}(=\text{O})\text{S}-$ ,  $^{*-}\text{SC}(=\text{O})\text{NR}^b-$ ,  $^{*-}\text{OS}(\text{O})_x-$ ,  $^{*-}\text{S}(\text{O})_x\text{O}-$ ,  $^{*-}\text{NR}^a\text{S}(\text{O})_x-$ , 또는  $^{*-}\text{S}(\text{O})_x\text{NR}^b-$ 이고; 여기서 \*는 R을 향한 방향을 나타내고;
- [0154]  $\text{R}''$ 은 모노사이클릭, 융합된, 가교된 또는 스피로 고리 모이어티이며, 여기서 상기 고리 모이어티는 하나 이상의  $\text{C}_1-\text{C}_6$  알킬, 옥소, 또는 페닐로 선택적으로 치환되며, 여기서 알킬 또는 페닐은 하나 이상의 할로젠, 페닐, 또는 페녹시로 선택적으로 치환되며, 여기서 페닐 또는 페녹시는 하나 이상의 할로젠 또는  $\text{C}_1-\text{C}_6$  알콕시로 선택적으로 치환되거나;
- [0155] (ii) R은  $\text{C}_{12}-\text{C}_{32}$  알케닐이거나;

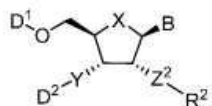
[0156] (iii) m은 1 또는 2이고; L은 -O- 또는  $^{*}\text{-C(=O)NR}^b$ -이거나; 또는

[0157] (iv) m은 1 또는 2이고, 적어도 하나의 G는  $\text{C}_3\text{-C}_{10}$  사이클로알킬렌임).

[0158] 일 실시 형태에서, X는 O이다. 일 실시 형태에서, X는 S이다.

[0159] 일 실시 형태에서, Y는 O이다. 일 실시 형태에서, Y는  $\text{NR}^a$ 이다. 일 실시 형태에서, Y는 NH이다.

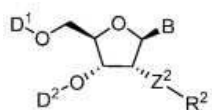
[0160] 일 실시 형태에서, 화합물은 화학식 (III-A)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다:



[0161]

[0162] (III-A).

[0163] 일 실시 형태에서, 화합물은 화학식 (III-A-1)의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다:



[0164]

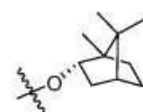
[0165] (III-A-1).

[0166] 일 실시 형태에서,  $Z^2$ 는 -O-,  $^{*}\text{-OC(=O)-}$ ,  $^{*}\text{-NR}^a\text{C(=O)-}$ ,  $\text{-OC(=O)O-}$ ,  $^{*}\text{-NR}^a\text{C(=O)O-}$ ,  $^{*}\text{-OC(=O)NR}^b$ -,  $^{*}\text{-NR}^a\text{C(=O)NR}^b$ -,  $^{*}\text{-OC(=O)S-}$ , 또는  $^{*}\text{-NR}^a\text{C(=O)S-}$ 이다. 일 실시 형태에서,  $Z^2$ 는  $\text{-OC(=O)NH-}$ 이다. 일 실시 형태에서,  $Z^2$ 는  $\text{-NHC(=O)-}$ 이다. 일 실시 형태에서,  $Z^2$ 는  $\text{-NHC(=O)NH-}$ 이다. 일 실시 형태에서,  $Z^2$ 는  $\text{-NHC(=O)S-}$ 이다. 일 실시 형태에서,  $Z^2$ 는 -O-이다.

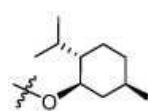
[0167] 일 실시 형태에서, X가 O이고, Y가 O이고,  $Z^2$ 가 -O-일 때, R은  $\text{C}_{12}\text{-C}_{32}$  알케닐이다. 일 실시 형태에서, m은 0이고, R은  $\text{C}_{12}\text{-C}_{32}$  알케닐이다.

[0168] 일 실시 형태에서, X가 O이고, Y가 O이고,  $Z^2$ 가 -O-일 때, R은  $\text{-L}^{\prime\prime}\text{-(CH}_2\text{)}_{0-3}\text{-R}^{\prime\prime}$ 으로 치환된다. 일 실시 형태에서, m은 0이고, R은  $\text{-L}^{\prime\prime}\text{-(CH}_2\text{)}_{0-3}\text{-R}^{\prime\prime}$ 으로 치환된다. 일 실시 형태에서, m은 0이고, R은 융합된, 가교된 또는 스피로 사이클로알킬로 치환된다. 일 실시 형태에서, R은 아다만틸로 치환된다. 일 실시 형태에서, 아다만틸은

1-아다만틸이다. 일 실시 형태에서, 아다만틸은 2-아다만틸이다. 일 실시 형태에서, R은



로 치환된다.



[0169] 일 실시 형태에서, X가 O이고, Y가 O이고,  $Z^2$ 가 -O-일 때, m은 1 또는 2이고; L은 -O- 또는  $^{*}\text{-C(=O)NR}^b$ -이다. 일 실시 형태에서, m은 1이고, L은  $^{*}\text{-C(=O)NR}^b$ -이다. 일 실시 형태에서, m은 1이고, L은 -O-이다. 일 실시 형태에서, X가 O이고, Y가 O이고,  $Z^2$ 가 -O-일 때,  $R^2$ 는  $\text{-(C}_2\text{-C}_6\text{ 알킬렌)-C(=O)NH-R}$ 이다. 일 실시 형태에서,  $R^2$ 는  $\text{-(C}_2\text{-C}_3\text{ 알킬렌)-C(=O)NH-R}$ 이다. 일 실시 형태에서,  $R^2$ 는  $\text{-CH}_2\text{CH}_2\text{-C(=O)NH-R}$ 이다. 일 실시 형태에서,  $R^2$ 는  $\text{-CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-C(=O)NH-R}$ 이다. 일 실시 형태에서, X가 O이고, Y가 O이고,  $Z^2$ 가 -O-일 때,  $R^2$ 는  $\text{-(C}_2\text{-C}_6\text{ 알킬렌)-O-R}$ 이다. 일 실시 형태에서,  $R^2$ 는  $\text{-(C}_2\text{-C}_3\text{ 알킬렌)-O-R}$ 이다. 일 실시 형태에서,  $R^2$ 는  $\text{-CH}_2\text{CH}_2\text{-O-R}$ 이다. 일 실시

형태에서,  $R^2$ 는  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{O}-\text{R}$ 이다.

[0170] 일 실시 형태에서, X가 0이고, Y가 0이고,  $Z^2$ 가 -O-일 때, m은 1 또는 2이고, 적어도 하나의 G는  $\text{C}_3-\text{C}_{10}$  사이클로알킬렌이다. 일 실시 형태에서, m은 1이고, G는  $\text{C}_3-\text{C}_{10}$  사이클로알킬렌이다.

[0171] 일 실시 형태에서, m은 0이다. 일 실시 형태에서, m은 1이다. 일 실시 형태에서, m은 2이다.

[0172] 일 실시 형태에서, 각각의 경우의 G는 독립적으로  $\text{C}_1-\text{C}_8$  알킬렌이다. 일 실시 형태에서, 각각의 경우의 G는 독립적으로  $\text{C}_1-\text{C}_4$  알킬렌이다. 일 실시 형태에서, 알킬렌은  $\text{C}_1$  알킬렌이다. 일 실시 형태에서, 알킬렌은  $\text{C}_2$  알킬렌이다. 일 실시 형태에서, 알킬렌은  $\text{C}_3$  알킬렌이다. 일 실시 형태에서, 알킬렌은  $\text{C}_4$  알킬렌이다. 일 실시 형태에서, 알킬렌은  $\text{C}_5$  알킬렌이다. 일 실시 형태에서, 알킬렌은  $\text{C}_6$  알킬렌이다. 일 실시 형태에서, 알킬렌은  $-\text{CH}_2-$ 이다. 일 실시 형태에서, 알킬렌은  $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 이다. 일 실시 형태에서, 알킬렌은  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 이다.

[0173] 일 실시 형태에서, 각각의 경우의 G는 독립적으로  $\text{C}_3-\text{C}_{10}$  사이클로알킬렌이다. 일 실시 형태에서, 각각의 경우의 G는 독립적으로  $\text{C}_3-\text{C}_8$  사이클로알킬렌이다. 일 실시 형태에서, 사이클로알킬렌은 사이클로프로필렌이다. 일 실시 형태에서, 사이클로알킬렌은 사이클로부틸렌이다. 일 실시 형태에서, 사이클로알킬렌은 사이클로펜틸렌이다. 일 실시 형태에서, 사이클로알킬렌은 사이클로헥실렌이다. 일 실시 형태에서, 사이클로알킬렌은 사이클로헵틸렌이다. 일 실시 형태에서, 사이클로알킬렌은 사이클로옥틸렌이다.

[0174] 일 실시 형태에서, 각각의 경우의 L은 독립적으로 -O-, -NH-,  $^*- \text{OC}(=\text{O})-$ ,  $^*- \text{C}(=\text{O})\text{O}-$ ,  $^*- \text{NHC}(=\text{O})-$ ,  $^*- \text{C}(=\text{O})\text{NH}-$ ,  $^*- \text{OC}(=\text{O})\text{O}-$ ,  $^*- \text{NHC}(=\text{O})\text{O}-$ ,  $^*- \text{OC}(=\text{O})\text{NH}-$ , 또는  $^*- \text{NHC}(=\text{O})\text{NH}-$ 이다. 일 실시 형태에서, 각각의 경우의 L은 독립적으로  $^*- \text{C}(=\text{O})\text{NH}-$ 이다.

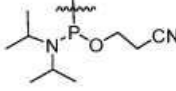
[0175] 일 실시 형태에서,  $-(\text{G}-\text{L})_m-\text{R}$ 은  $-(\text{C}_2-\text{C}_6 \text{ 알킬렌})-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-\text{R}$ 이다. 일 실시 형태에서,  $-(\text{G}-\text{L})_m-\text{R}$ 은  $-(\text{C}_2-\text{C}_3 \text{ 알킬렌})-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-\text{R}$ 이다. 일 실시 형태에서,  $-(\text{G}-\text{L})_m-\text{R}$ 은  $-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-\text{R}$ 이다. 일 실시 형태에서,  $-(\text{G}-\text{L})_m-\text{R}$ 은  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-\text{R}$ 이다.

[0176] 일 실시 형태에서,  $\text{R}^a$ 는 H이다. 일 실시 형태에서,  $\text{R}^a$ 는  $\text{C}_1-\text{C}_6$  알킬이다. 일 실시 형태에서,  $\text{R}^a$ 는 메틸이다.

[0177] 일 실시 형태에서,  $\text{R}^b$ 는 H이다. 일 실시 형태에서,  $\text{R}^b$ 는  $\text{C}_1-\text{C}_6$  알킬이다. 일 실시 형태에서,  $\text{R}^b$ 는 메틸이다.

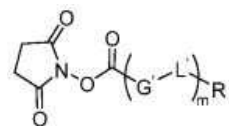
[0178] 일 실시 형태에서, B는 아데닌(A), 구아닌(G), 티민(T), 시토신(C), 또는 우라실(U)이다. 일 실시 형태에서, B는 비변형된(천연) 핵염기이다. 일 실시 형태에서, B는 본 명세서에 제공되거나 당업계에 알려진 바와 같이, 변형된(천연) 핵염기이다.

[0179] 일 실시 형태에서,  $\text{D}^1$ 은 하이드록실 보호기이다. 일 실시 형태에서,  $\text{D}^1$ 은 4,4'-다이메톡시트라이틸 클로라이드(DMTr)이다. 일 실시 형태에서,  $\text{D}^1$ 은 4-모노메톡시트라이틸(MMTTr)이다.

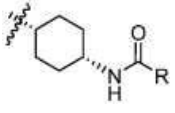
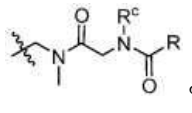
[0180] 일 실시 형태에서,  $\text{D}^2$ 는 반응성 인 기이다. 일 실시 형태에서,  $\text{D}^2$ 는 이다.

[0181] 일 실시 형태에서,  $\text{D}^1$ 은 H이고,  $\text{D}^2$ 는 H이다.

[0182] 일 실시 형태에서, 화학식 (IV)의 화합물 또는 이의 입체이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이 본 명세서에 제공된다:



[0183]

- [0184] (IV)
- [0185] (상기 식에서,
- [0186] 각각의 경우의 G'은 독립적으로 C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> 알킬렌 또는 C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> 사이클로알킬렌이고;
- [0187] 각각의 경우의 L'은 독립적으로 \*-NR<sup>c</sup>C(=O)-이고; 여기서 \*는 피롤리딘-2,5-다이온 고리를 향한 방향을 나타내고;
- [0188] 각각의 경우의 R<sup>c</sup>는 독립적으로 H, C<sub>1</sub>-C<sub>32</sub> 알킬, 또는 C<sub>2</sub>-C<sub>32</sub> 알케닐이고;
- [0189] R은 C<sub>4</sub>-C<sub>32</sub> 알킬 또는 C<sub>4</sub>-C<sub>32</sub> 알케닐이고;
- [0190] m은 0, 1, 또는 2임).
- [0191] 일 실시 형태에서, m은 0이다. 일 실시 형태에서, m은 1이다. 일 실시 형태에서, m은 2이다.
- [0192] 일 실시 형태에서, 각각의 경우의 G'은 독립적으로 C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> 알킬렌이다. 일 실시 형태에서, 각각의 경우의 G'은 독립적으로 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알킬렌이다. 일 실시 형태에서, 알킬렌은 C<sub>1</sub> 알킬렌이다. 일 실시 형태에서, 알킬렌은 C<sub>2</sub> 알킬렌이다. 일 실시 형태에서, 알킬렌은 C<sub>3</sub> 알킬렌이다. 일 실시 형태에서, 알킬렌은 C<sub>4</sub> 알킬렌이다. 일 실시 형태에서, 알킬렌은 C<sub>5</sub> 알킬렌이다. 일 실시 형태에서, 알킬렌은 C<sub>6</sub> 알킬렌이다. 일 실시 형태에서, 알킬렌은 -CH<sub>2</sub>-이다. 일 실시 형태에서, 알킬렌은 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-이다. 일 실시 형태에서, 알킬렌은 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-이다.
- [0193] 일 실시 형태에서, 각각의 경우의 G'은 독립적으로 C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> 사이클로알킬렌이다. 일 실시 형태에서, 각각의 경우의 G'은 독립적으로 C<sub>4</sub>-C<sub>6</sub> 사이클로알킬렌이다. 일 실시 형태에서, 사이클로알킬렌은 사이클로프로필렌이다. 일 실시 형태에서, 사이클로알킬렌은 사이클로부틸렌이다. 일 실시 형태에서, 사이클로알킬렌은 사이클로펜틸렌이다. 일 실시 형태에서, 사이클로알킬렌은 사이클로헥실렌이다. 일 실시 형태에서, 사이클로알킬렌은 사이클로헵틸렌이다. 일 실시 형태에서, 사이클로알킬렌은 사이클로옥틸렌이다.
- [0194] 일 실시 형태에서,  -(G'-L')<sub>m</sub>-R은 일 실시 형태에서,  이다.
- [0195] 본 명세서에 제공된 R에 대한 설명은 그들이 적용가능한 범위 내에서 본 명세서에 제공된 모든 화학식에 적용된다.
- [0196] 일 실시 형태에서, R은 C<sub>4</sub>-C<sub>32</sub> 알킬이다. 일 실시 형태에서, R은 C<sub>6</sub>-C<sub>32</sub> 알킬이다. 일 실시 형태에서, R은 C<sub>8</sub>-C<sub>32</sub> 알킬이다. 일 실시 형태에서, R은 C<sub>10</sub>-C<sub>32</sub> 알킬이다. 일 실시 형태에서, R은 C<sub>12</sub>-C<sub>32</sub> 알킬이다. 일 실시 형태에서, R은 C<sub>12</sub>-C<sub>24</sub> 알킬이다. 일 실시 형태에서, R은 C<sub>14</sub>-C<sub>18</sub> 알킬이다. 일 실시 형태에서, R은 C<sub>4</sub> 알킬이다. 일 실시 형태에서, R은 C<sub>6</sub> 알킬이다. 일 실시 형태에서, R은 C<sub>8</sub> 알킬이다. 일 실시 형태에서, R은 C<sub>10</sub> 알킬이다. 일 실시 형태에서, R은 C<sub>12</sub> 알킬이다. 일 실시 형태에서, R은 C<sub>14</sub> 알킬이다. 일 실시 형태에서, R은 C<sub>15</sub> 알킬이다. 일 실시 형태에서, R은 C<sub>16</sub> 알킬이다. 일 실시 형태에서, R은 C<sub>17</sub> 알킬이다. 일 실시 형태에서, R은 C<sub>18</sub> 알킬이다. 일 실시 형태에서, 알킬은 직쇄 알킬이다. 일 실시 형태에서, 알킬은 분지형 알킬이다.
- [0197] 일 실시 형태에서, R은 C<sub>4</sub>-C<sub>32</sub> 알케닐이다. 일 실시 형태에서, R은 C<sub>6</sub>-C<sub>32</sub> 알케닐이다. 일 실시 형태에서, R은 C<sub>8</sub>-C<sub>32</sub> 알케닐이다. 일 실시 형태에서, R은 C<sub>10</sub>-C<sub>32</sub> 알케닐이다. 일 실시 형태에서, R은 C<sub>12</sub>-C<sub>32</sub> 알케닐이다. 일 실시 형태에서, R은 C<sub>12</sub>-C<sub>24</sub> 알케닐이다. 일 실시 형태에서, R은 C<sub>14</sub>-C<sub>18</sub> 알케닐이다. 일 실시 형태에서, R은 C<sub>4</sub> 알케닐이다. 일 실시 형태에서, R은 C<sub>6</sub> 알케닐이다. 일 실시 형태에서, R은 C<sub>8</sub> 알케닐이다. 일 실시

형태에서, R은 C<sub>10</sub> 알케닐이다. 일 실시 형태에서, R은 C<sub>12</sub> 알케닐이다. 일 실시 형태에서, R은 C<sub>14</sub> 알케닐이다. 일 실시 형태에서, R은 C<sub>15</sub> 알케닐이다. 일 실시 형태에서, R은 C<sub>16</sub> 알케닐이다. 일 실시 형태에서, R은 C<sub>17</sub> 알케닐이다. 일 실시 형태에서, R은 C<sub>18</sub> 알케닐이다. 일 실시 형태에서, 알케닐은 직쇄 알케닐이다. 일 실시 형태에서, 알케닐은 분지형 알케닐이다.

[0198] 일 실시 형태에서, R은 비치환된다. 일 실시 형태에서, R은  $-(CH_2)_{13-17}CH_3$ 이다.

[0199] 일 실시 형태에서, R은  $-L^a-(CH_2)_{0-3}-R^b$ 으로 치환되고, 여기서

[0200] L<sup>a</sup>은 부재하거나,  $-O-$ ,  $-NR^a-$ ,  $-C(=O)-$ ,  $*-OC(=O)-$ ,  $*-C(=O)O-$ ,  $*-NR^aC(=O)-$ ,  $*-C(=O)NR^b-$ ,  $-OC(=O)O-$ ,  $*-NR^aC(=O)O-$ ,  $*-OC(=O)NR^b-$ ,  $*-NR^aC(=O)NR^b-$ ,  $*-OC(=S)-$ ,  $*-C(=S)O-$ ,  $*-NR^aC(=S)-$ ,  $*-C(=S)NR^b-$ ,  $-OC(=S)O-$ ,  $*-NR^aC(=S)O-$ ,  $*-OC(=S)NR^b-$ ,  $*-NR^aC(=S)NR^b-$ ,  $*-OC(=O)S-$ ,  $*-SC(=O)O-$ ,  $*-NR^aC(=O)S-$ ,  $*-SC(=O)NR^b-$ ,  $*-OS(O)_x-$ ,  $*-S(O)_xO-$ ,  $*-NR^aS(O)_x-$ , 또는  $*-S(O)_xNR^b-$ 이고; 여기서 \*는 R을 향한 방향을 나타내고;

[0201] 각각의 경우의 R<sup>a</sup>는 독립적으로 H 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬이고;

[0202] 각각의 경우의 R<sup>b</sup>는 독립적으로 H 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬이고;

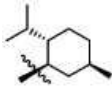
[0203] x는 1 또는 2이고;

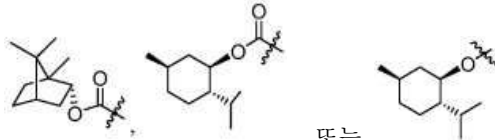
[0204] R<sup>a</sup>는 모노사이클릭, 융합된, 가교된 또는 스피로 고리 모이어티이며, 여기서 상기 고리 모이어티는 하나 이상의 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬, 옥소, 또는 페닐로 선택적으로 치환되며, 여기서 알킬 또는 페닐은 하나 이상의 할로젠, 페닐, 또는 페녹시로 선택적으로 치환되며, 여기서 페닐 또는 페녹시는 하나 이상의 할로젠 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알콕시로 선택적으로 치환된다.

[0205] 일 실시 형태에서, 고리 모이어티는 C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub> 사이클로알킬이다. 일 실시 형태에서, R<sup>a</sup>는 모노사이클릭 사이클로알킬이다. 일 실시 형태에서, R<sup>a</sup>는 융합된 사이클로알킬이다. 일 실시 형태에서, R<sup>a</sup>는 가교된 사이클로알킬이다. 일 실시 형태에서, R<sup>a</sup>는 스피로 사이클로알킬이다. 일 실시 형태에서, 사이클로알킬은 C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub> 사이클로알킬이다. 일 실시 형태에서, 사이클로알킬은 사이클로헥실이다. 일 실시 형태에서, 사이클로알킬은 바이사이클로[2.2.1]헵틸이다. 일 실시 형태에서, 사이클로알킬은 아다만틸이다. 일 실시 형태에서, 사이클로알킬은 하나 이상의 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬로 치환된다. 일 실시 형태에서, 사이클로알킬은 하나 이상의 메틸 또는 아이소프로필로 치환된다.

[0206] 일 실시 형태에서, 고리 모이어티는 O, N, 및 S로부터 독립적으로 선택되는 1 내지 4개의 헤테로원자를 함유하는 4원 내지 10원 헤테로사이클릴이다.

[0207] 일 실시 형태에서, R은  $-L^a-R^b$ 으로 치환되고, 여기서 L<sup>a</sup>은 부재하거나,  $-O-$ , 또는  $-C(=O)O-$ 이고, R<sup>a</sup>는 모노사이클릭, 융합된, 가교된 또는 스피로 사이클로알킬이며, 이는 하나 이상의 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 알킬로 선택적으로 치환된다. 일 실시 형태에서, R은 R<sup>a</sup>으로 치환된다. 일 실시 형태에서, R은  $-O-R^b$ 으로 치환된다. 일 실시 형태에서, R은  $-C(=O)O-R^b$ 으로 치환된다. 일 실시 형태에서, 치환체는 R의 말단 위치 상에 위치되어 있다. 일 실시 형태에서, R은  $-(CH_2)_{14-18}-L^a-R^b$ 이다.

[0208] 일 실시 형태에서, R<sup>a</sup>는 이다. 일 실시 형태에서, R<sup>a</sup>는 이다. 일 실시 형태에서, R<sup>a</sup>는 이다.



[0209] 일 실시 형태에서, R은 , 또는 로 치환된다.

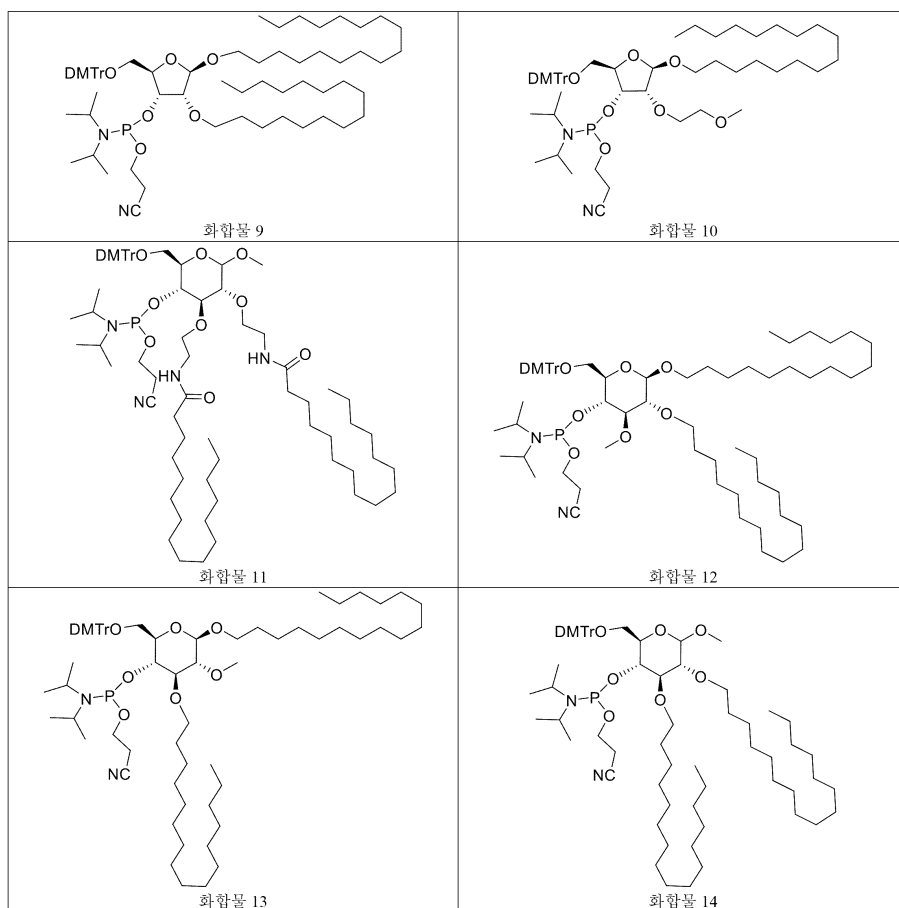
[0210] 일 실시 형태에서, R은 말단 위치에서 치환된다.

[0211] 일 실시 형태에서, 화합물은 표 1의 화합물, 또는 이의 입체이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염(여기서, B는 변형 또는 비변형된 핵염기임)이다.

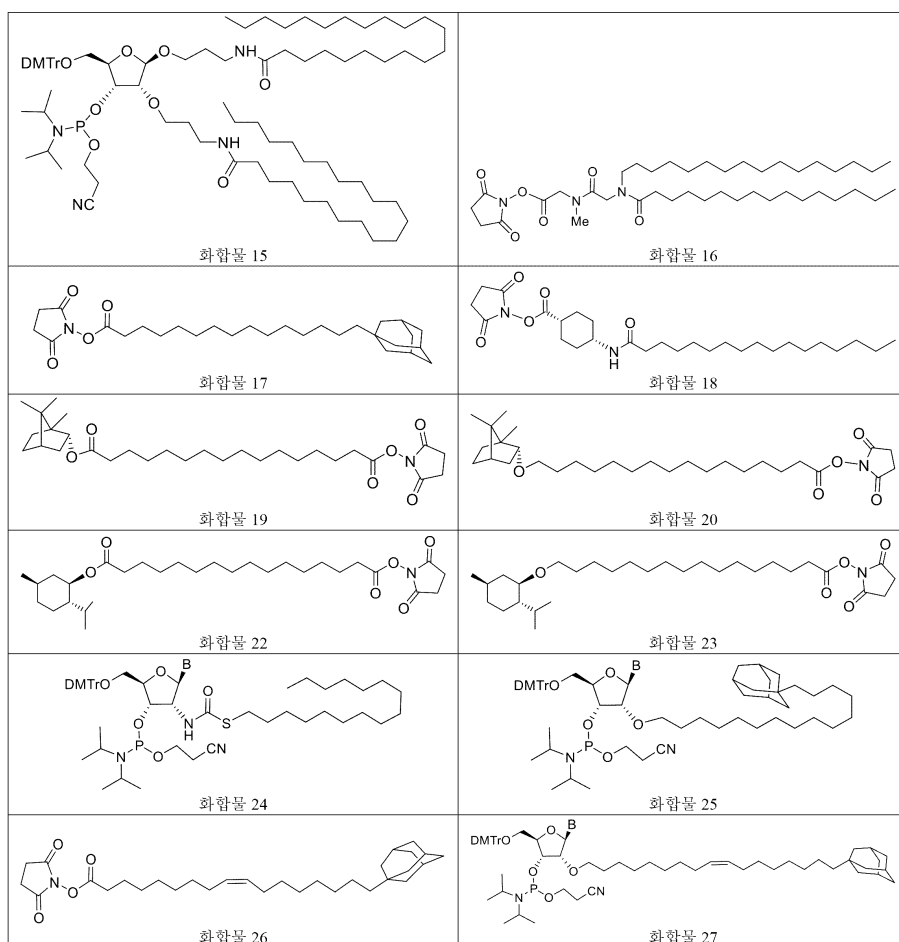
[0212] [표 1]

|              |              |
|--------------|--------------|
| <p>화합물 1</p> | <p>화합물 2</p> |
| <p>화합물 3</p> | <p>화합물 4</p> |
| <p>화합물 5</p> | <p>화합물 6</p> |
| <p>화합물 7</p> | <p>화합물 8</p> |

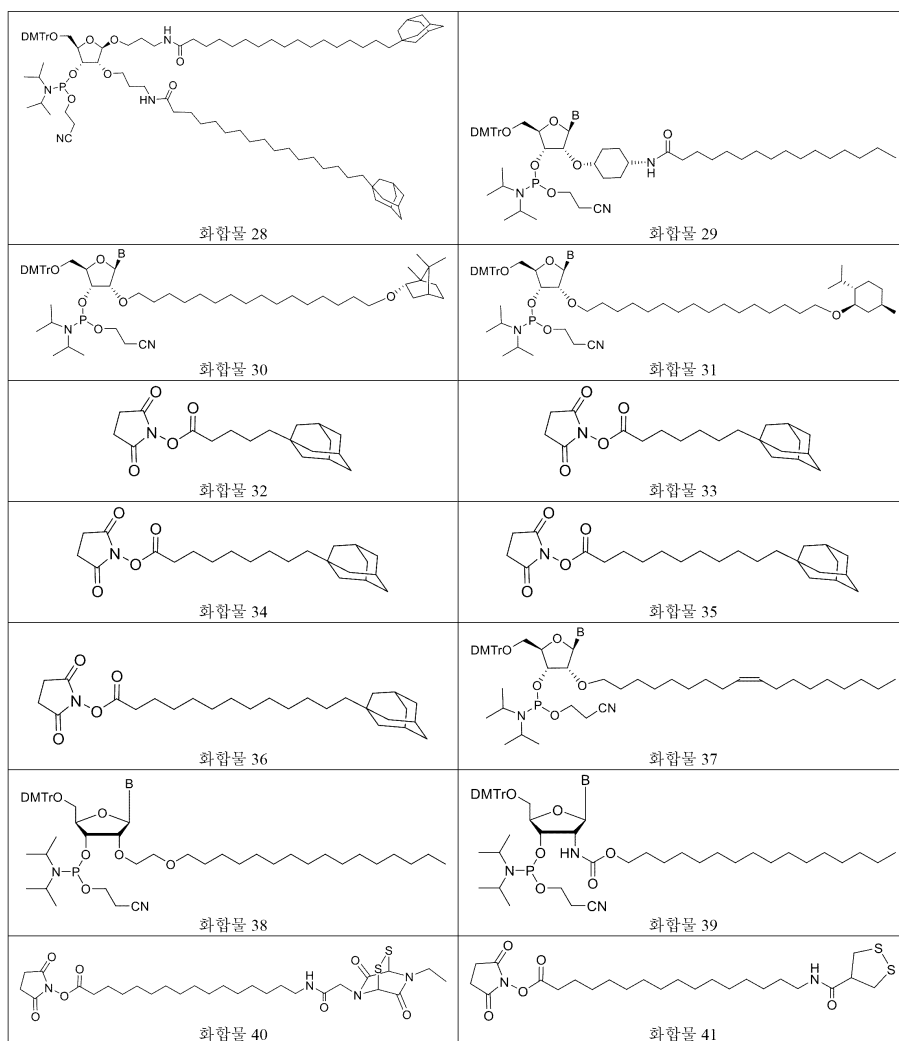
[0213]



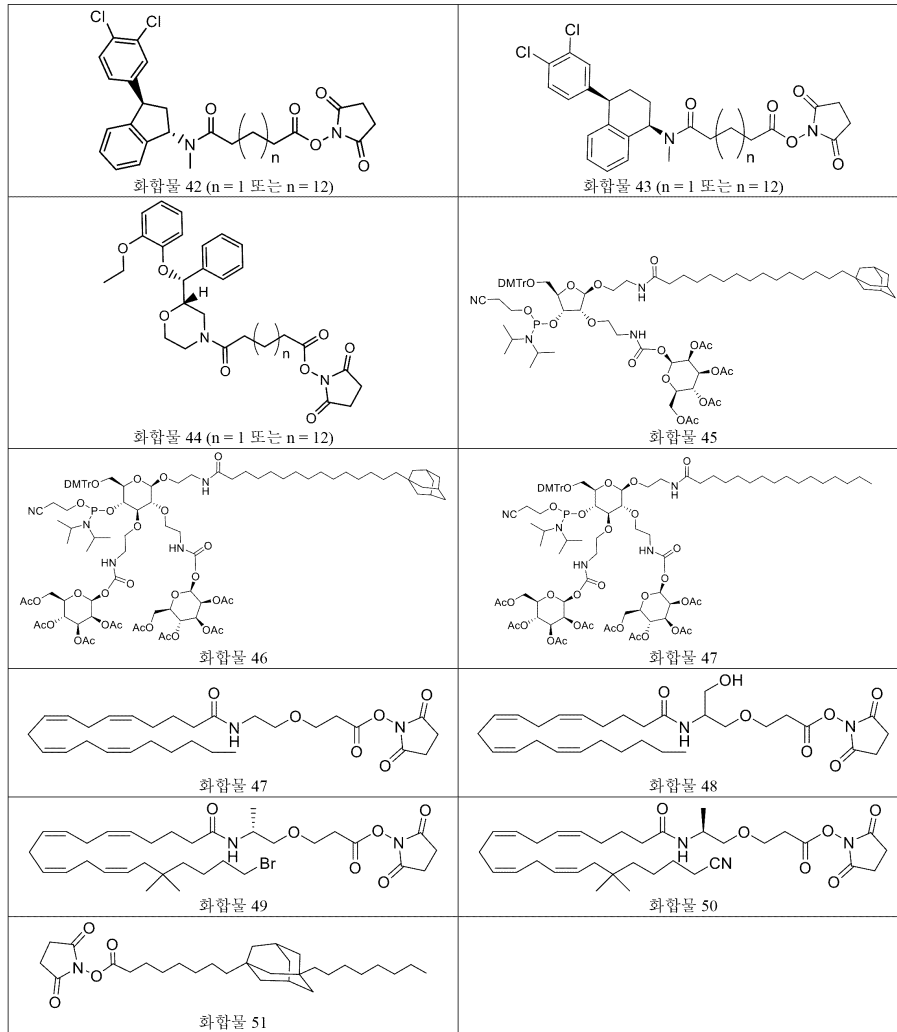
[0214]



[0215]



[0216]



[0217]

[0218]

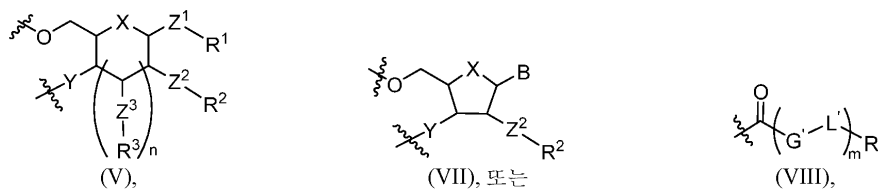
핵염기 B를 갖는 표 1의 화합물(예를 들어, 화합물 1)의 경우, "B"가 본 명세서에 제공된 특정 핵염기로 대체된 상응하는 화합물들이 또한 본 명세서에 구체적으로 제공됨이 이해되어야 한다. 일 실시 형태에서, "B"가 우라실(U)로 대체된 상응하는 화합물들이 본 명세서에 구체적으로 제공된다. 일 실시 형태에서, "B"가 시토신(C)으로 대체된 상응하는 화합물들이 본 명세서에 구체적으로 제공된다. 일 실시 형태에서, "B"가 아데닌(A)으로 대체된 상응하는 화합물들이 본 명세서에 구체적으로 제공된다. 일 실시 형태에서, "B"가 구아닌(G)으로 대체된 상응하는 화합물들이 본 명세서에 구체적으로 제공된다. 일부 실시 형태에서, 본 출원에서의 "표 1"에 대한 언급은 핵염기-변형된 화합물을 포함한다.

[0219]

올리고뉴클레오타이드

[0220]

일 실시 형태에서, 적어도 하나의 하기 화학식의 친유성 단량체를 포함하는 올리고뉴클레오타이드가 본 명세서에 제공된다:



[0221]

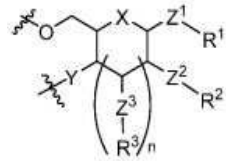
[0222]

(상기 식에서, X, Y,  $Z^1$ ,  $Z^2$ ,  $Z^3$ ,  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ , B, G', L', R, n, 및 m은 본 명세서의 어딘가 다른 곳에 정의된 바와 같음(예를 들어, 화학식 (I), 화학식 (III), 화학식 (IV) - 이들의 하위화학식을 포함함 - 에 각각 정의된 바와 같음)).

[0223]

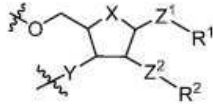
일 실시 형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 적어도 하나의 화학식 (V)의 친유성 단량체 또는 이의 입체이성질체,

또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:



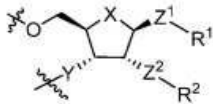
(V).

일 실시 형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 적어도 하나의 화학식 (V-A)의 친유성 단량체 또는 이의 입체이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:



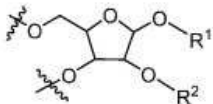
(V-A).

일 실시 형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 적어도 하나의 화학식 (V-A-1)의 친유성 단량체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:



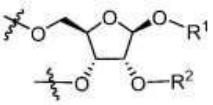
(V-A-1).

일 실시 형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 적어도 하나의 화학식 (VI-A)의 친유성 단량체 또는 이의 입체이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:



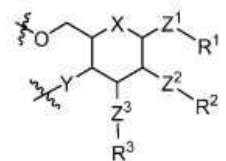
(VI-A).

일 실시 형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 적어도 하나의 화학식 (VI-A-1)의 친유성 단량체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:



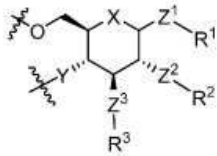
(VI-A-1).

일 실시 형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 적어도 하나의 화학식 (V-B)의 친유성 단량체 또는 이의 입체이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:



(V-B).

일 실시 형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 적어도 하나의 화학식 (V-B-1)의 친유성 단량체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:



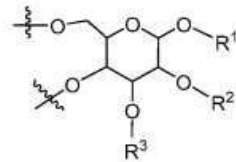
[0242]

[0243]

(V-B-1).

[0244]

일 실시 형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 적어도 하나의 화학식 (VI-B)의 친유성 단량체 또는 이의 입체이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:



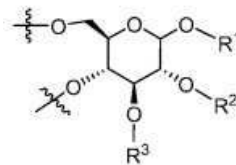
[0245]

[0246]

(VI-B).

[0247]

일 실시 형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 적어도 하나의 화학식 (VI-B-1)의 친유성 단량체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:



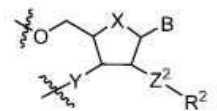
[0248]

[0249]

(VI-B-1).

[0250]

일 실시 형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 적어도 하나의 화학식 (VII)의 친유성 단량체 또는 이의 입체이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:



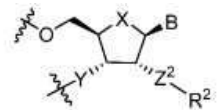
[0251]

[0252]

(VII).

[0253]

일 실시 형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 적어도 하나의 화학식 (VII-A)의 친유성 단량체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:



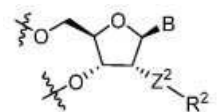
[0254]

[0255]

(VII-A).

[0256]

일 실시 형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 적어도 하나의 화학식 (VII-A-1)의 친유성 단량체 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:



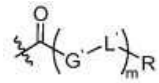
[0257]

[0258]

(VII-A-1).

[0259]

일 실시 형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 적어도 하나의 화학식 (VIII)의 친유성 단량체 또는 이의 입체이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함한다:



[0260]

[0261]

(VIII).

[0262]

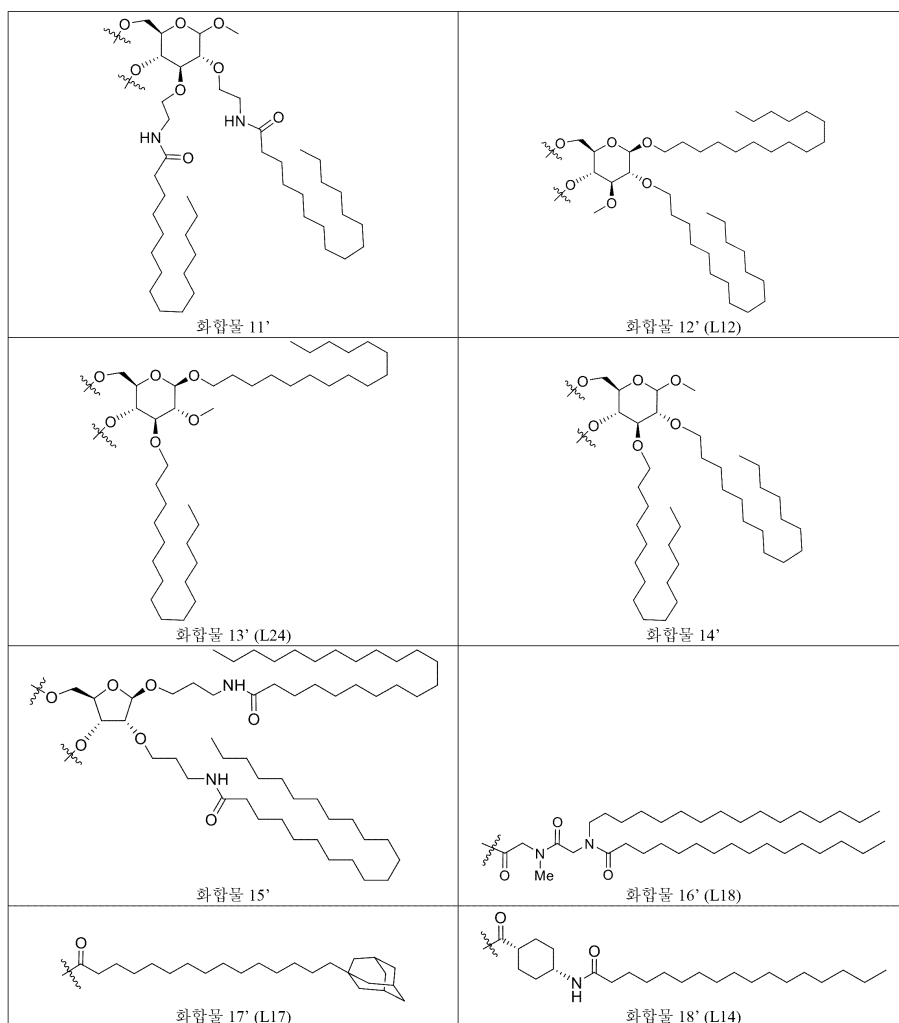
일 실시 형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 적어도 하나의 표 2의 친유성 단량체, 또는 이의 입체이성질체, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염(여기서, B는 변형 또는 비변형된 핵염기임)을 포함한다.

[0263]

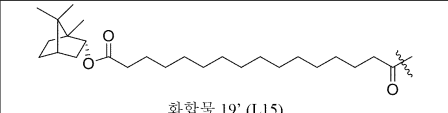
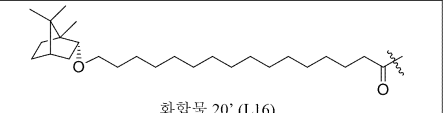
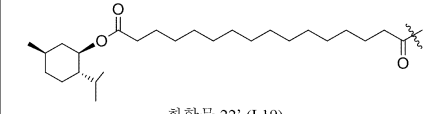
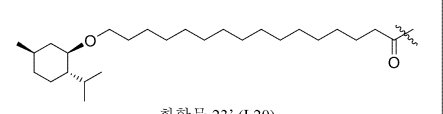
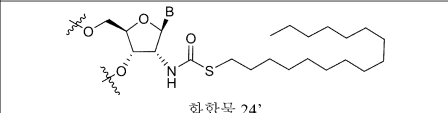
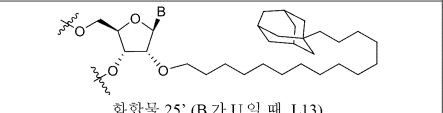
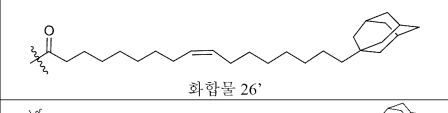
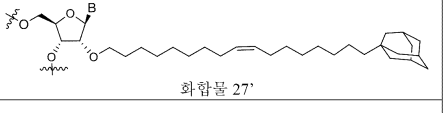
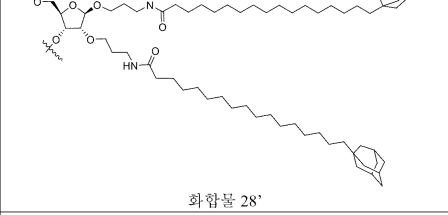
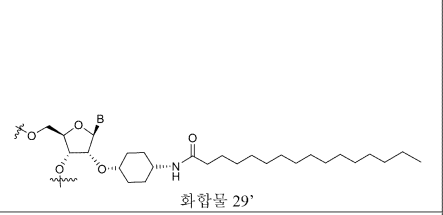
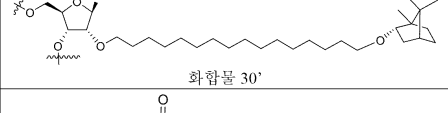
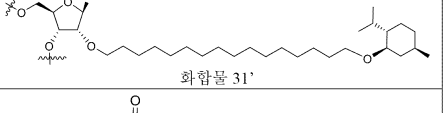
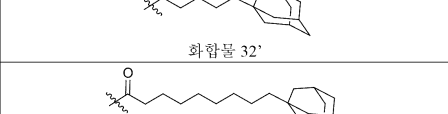
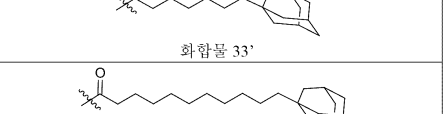
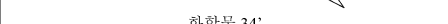
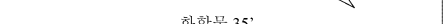
[표 2]

|                              |                                                                       |
|------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| <p>화합물 1' (B가 U 일 때, L5)</p> | <p>화합물 2' (B가 U 일 때 L4; B가 A 일 때 L21; B가 C 일 때 L22; B가 G 일 때 L23)</p> |
| <p>화합물 3' (B가 U 일 때, L3)</p> | <p>화합물 4'</p>                                                         |
| <p>화합물 5' (L2)</p>           | <p>화합물 6'</p>                                                         |
| <p>화합물 7' (L9)</p>           | <p>화합물 8' (L11)</p>                                                   |
| <p>화합물 9' (L10)</p>          | <p>화합물 10' (L8)</p>                                                   |

[0264]



[0265]

|                                                                                     |                                                                                      |
|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
|    |    |
| 화합물 19' (L15)                                                                       | 화합물 20' (L16)                                                                        |
|    |    |
| 화합물 22' (L19)                                                                       | 화합물 23' (L20)                                                                        |
|    |    |
| 화합물 24'                                                                             | 화합물 25' (B 가 U 일 때, L13)                                                             |
|    |    |
| 화합물 26'                                                                             | 화합물 27'                                                                              |
|    |    |
| 화합물 28'                                                                             | 화합물 29'                                                                              |
|   |   |
| 화합물 30'                                                                             | 화합물 31'                                                                              |
|  |  |
| 화합물 32'                                                                             | 화합물 33'                                                                              |
|  |  |
| 화합물 34'                                                                             | 화합물 35'                                                                              |

[0266]

|  |  |
|--|--|
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |
|  |  |

[0267]

[0268]

[0269]

핵염기 B를 갖는 표 2의 화합물(예를 들어, 화합물 1')의 경우, "B"가 본 명세서에 제공된 특정 핵염기로 대체된 상응하는 화합물들이 또한 본 명세서에 구체적으로 제공됨이 이해되어야 한다. 일 실시 형태에서, "B"가 우라실(U)로 대체된 상응하는 화합물들이 본 명세서에 구체적으로 제공된다. 일 실시 형태에서, "B"가 시토신(C)으로 대체된 상응하는 화합물들이 본 명세서에 구체적으로 제공된다. 일 실시 형태에서, "B"가 아데닌(A)으로 대체된 상응하는 화합물들이 본 명세서에 구체적으로 제공된다. 일 실시 형태에서, "B"가 구아닌(G)으로 대체된 상응하는 화합물들이 본 명세서에 구체적으로 제공된다. 일부 실시 형태에서, 본 출원에서의 "표 2"에 대한 언급은 핵염기-변형된 화합물을 포함한다.

[0270]

일 실시 형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 안티센스, 안타고미르, 마이크로RNA, siRNA, 전(pre)-마이크로RNA, 안티미르, 리보자임, RNA 활성화제, U1 압타머, 번역 자극제 또는 압타머인, 올리고뉴클레오타이드. 일 실시 형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 이중 가닥 RNA(dsRNA)이다. 일 실시 형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 siRNA이다.

[0271]

일 실시 형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 siRNA이며, 상기 siRNA는

[0272] 표적 유전자에 상보적인 안티센스 가닥;

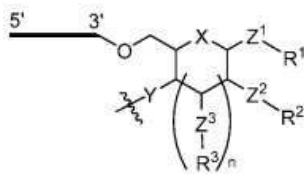
[0273] 상기 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함한다.

[0274] 일 실시 형태에서, 친유성 단량체는 안티센스 가닥 또는 센스 가닥 중 어느 한쪽 가닥에 존재한다. 일 실시 형태에서, 친유성 단량체는 센스 가닥에 존재한다. 일 실시 형태에서, 친유성 단량체는 안티센스 가닥에 존재한다.

[0275] 일 실시 형태에서, 친유성 단량체는 올리고뉴클레오타이드의 말단 위치(예를 들어, 3'-단부 또는 5'-단부)에 접합된다. 일 실시 형태에서, 친유성 단량체는 올리고뉴클레오타이드의 3'-단부에 접합된다. 일 실시 형태에서, 친유성 단량체는 올리고뉴클레오타이드의 5'-단부에 접합된다. 일 실시 형태에서, 친유성 단량체는 센스 가닥 또는 안티센스 가닥의 말단 위치(예를 들어, 3'-단부 또는 5'-단부)에 접합된다. 일 실시 형태에서, 친유성 단량체는 센스 가닥의 3'-단부에 접합된다. 일 실시 형태에서, 친유성 단량체는 센스 가닥의 5'-단부에 접합된다. 일 실시 형태에서, 친유성 단량체는 안티센스 가닥의 3'-단부에 접합된다. 일 실시 형태에서, 친유성 단량체는 안티센스 가닥의 5'-단부에 접합된다.

[0276] 일 실시 형태에서, 친유성 단량체는 올리고뉴클레오타이드의 3'-단부 또는 5'-단부에 직접 접합된다. 일 실시 형태에서, 친유성 단량체는 링커 기를 통해 올리고뉴클레오타이드의 3'-단부 또는 5'-단부에 접합된다.

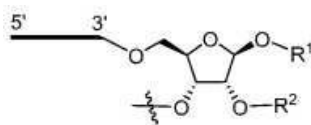
[0277] 일 실시 형태에서, 화학식 (V)(또는 이의 임의의 하위화학식)의 친유성 단량체가 올리고뉴클레오타이드의 말단 위치(예를 들어, 3'-단부 또는 5'-단부)에 접합된다. 일 실시 형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 하기 구조를 포함한다:



[0278] ,

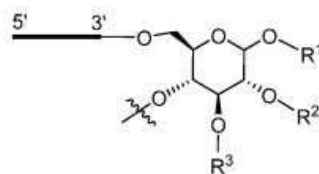
[0279] 상기 식에서,  $\text{5'---3'}$  는 5'-3' 배향으로 올리고뉴클레오타이드의 하나 이상의 뉴클레오타이드를 포함한다. 일 실시 형태에서,  $\text{5'---3'}$  는 3'-단부에서 1 내지 3개의 뉴클레오타이드로 이루어진 링커를 포함한다(즉, 화학식 (V)의 친유성 단량체의 O는 뉴클레오타이드 링커에 직접 연결되며, 뉴클레오타이드 링커는 올리고뉴클레오타이드의 나머지 부분에 연결됨). 일 실시 형태에서, 링커는 dTdT이다. 일 실시 형태에서, Y는 수소에 연결된다.

[0280] 일 실시 형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 하기 구조를 포함한다:



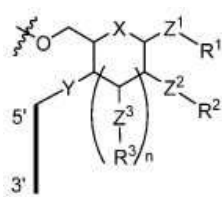
[0281] .

[0282] 일 실시 형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 하기 구조를 포함한다:



[0283] .

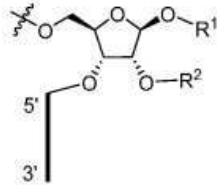
[0284] 일 실시 형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 하기 구조를 포함한다:



[0285] ,

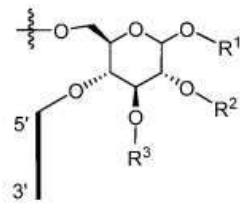
[0286] 상기 식에서,  $\text{5' } \text{---} \text{3'}$  는 5'-3' 배향으로 올리고뉴클레오타이드의 하나 이상의 뉴클레오타이드를 포함한다. 일 실시 형태에서,  $\text{5' } \text{---} \text{3'}$  는 5'-단부에서 1 내지 3개의 뉴클레오타이드로 이루어진 링커를 포함한다(즉, 화학식 (V)의 친유성 단량체의 Y는 뉴클레오타이드 링커에 직접 연결되며, 뉴클레오타이드 링커는 올리고뉴클레오타이드의 나머지 부분에 연결됨). 일 실시 형태에서, 링커는 dTdT이다. 일 실시 형태에서, O는 수소에 연결된다.

[0287] 일 실시 형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 하기 구조를 포함한다:



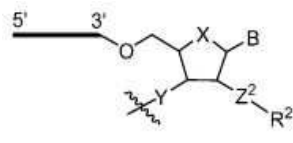
[0288]

[0289] 일 실시 형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 하기 구조를 포함한다:



[0290]

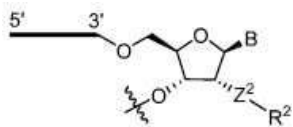
[0291] 일 실시 형태에서, 화학식 (VII)(또는 이의 임의의 하위화학식)의 친유성 단량체가 올리고뉴클레오타이드의 말단 위치(예를 들어, 3'-단부 또는 5'-단부)에 접합된다. 일 실시 형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 하기 구조를 포함한다:



[0292]

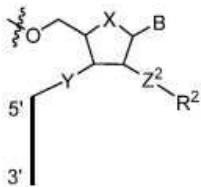
[0293] 상기 식에서,  $\text{5' } \text{---} \text{3'}$  는 5'-3' 배향으로 올리고뉴클레오타이드의 하나 이상의 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0294] 일 실시 형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 하기 구조를 포함한다:



[0295]

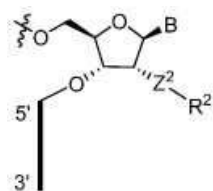
[0296] 일 실시 형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 하기 구조를 포함한다:



[0297]

[0298] 상기 식에서,  $\text{5' } \text{---} \text{3'}$  는 5'-3' 배향으로 올리고뉴클레오타이드의 하나 이상의 뉴클레오타이드를 포함한다.

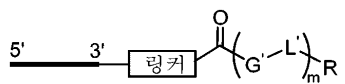
[0299] 일 실시 형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 하기 구조를 포함한다:



[0300]

[0301]

일 실시 형태에서, 화학식 (VIII)(또는 이의 임의의 하위화학식)의 친유성 단량체가 올리고뉴클레오타이드의 말단 위치(예를 들어, 3'-단부 또는 5'-단부)에 접합된다. 일 실시 형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 하기 구조를 포함한다:



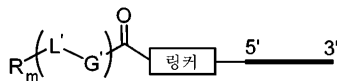
[0302]

[0303]

상기 식에서,  $\text{5'—3'}$ 는 5'-3' 배향으로 올리고뉴클레오타이드의 하나 이상의 뉴클레오타이드를 포함하고, 링커는 링커이다.

[0304]

일 실시 형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 하기 구조를 포함한다:



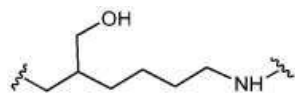
[0305]

[0306]

상기 식에서,  $\text{5'—3'}$ 는 5'-3' 배향으로 올리고뉴클레오타이드의 하나 이상의 뉴클레오타이드를 포함하고, 링커는 링커이다.

[0307]

일 실시 형태에서, 링커는 ("C6NH")이다. 일 실시 형태에서, 링커는



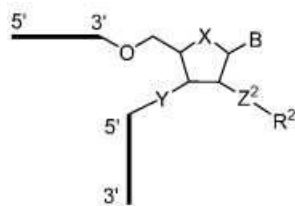
("C7NH")이다. C6NH 또는 C7NH 링커에서의 NH는 지질에 연결된다. 일 실시 형태에서, 링커는 올리고뉴클레오타이드의 5'-단부에 위치되어 있다. 일 실시 형태에서, 링커는 올리고뉴클레오타이드의 3'-단부에 위치되어 있다. 일 실시 형태에서, 링커는 올리고뉴클레오타이드의 내부 위치에 위치되어 있다. 일 실시 형태에서, C6NH 링커는 올리고뉴클레오타이드의 5'-단부에 위치되어 있다. 일 실시 형태에서, C6NH 링커는 올리고뉴클레오타이드의 3'-단부에 위치되어 있다. 일 실시 형태에서, C6NH 링커는 올리고뉴클레오타이드의 내부 위치에 위치되어 있다. 일 실시 형태에서, C7NH 링커는 올리고뉴클레오타이드의 3'-단부에 위치되어 있다.

[0308]

일 실시 형태에서, 친유성 단량체는 올리고뉴클레오타이드의 내부 위치에 위치되어 있다. 일 실시 형태에서, 친유성 단량체는 센스 가닥 또는 안티센스 가닥의 내부 위치에 위치되어 있다. 일 실시 형태에서, 친유성 단량체는 센스 가닥의 내부 위치에 위치되어 있다. 일 실시 형태에서, 친유성 단량체는 안티센스 가닥의 내부 위치에 위치되어 있다.

[0309]

일 실시 형태에서, 화학식 (VII)(또는 이의 임의의 하위화학식)의 친유성 단량체는 올리고뉴클레오타이드의 내부 위치에 위치되어 있다. 일 실시 형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 하기 구조를 포함한다:



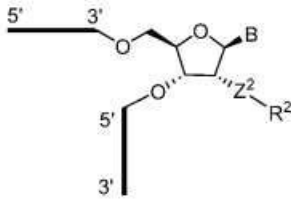
[0310]

[0311]

상기 식에서, 각각의  $\text{5'—3'}$ 는 독립적으로 5'-3' 배향으로 올리고뉴클레오타이드의 하나 이상의 뉴클레오타이드

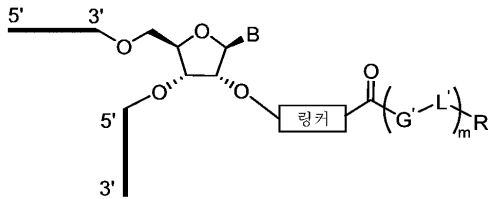
를 포함한다.

[0312] 일 실시 형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 하기 구조를 포함한다:



[0313]

[0314] 일 실시 형태에서, 화학식 (VIII)(또는 이의 임의의 하위화학식)의 친유성 단량체는 올리고뉴클레오타이드의 내부 위치에 위치되어 있다. 일 실시 형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 하기 구조를 포함한다:



[0315]

[0316] 상기 식에서, 각각의  $5' \rightarrow 3'$  는 독립적으로  $5' \rightarrow 3'$  배향으로 올리고뉴클레오타이드의 하나 이상의 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0317] 일 실시 형태에서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥은 각각 15 내지 30개의 뉴클레오타이드 길이이다. 일 실시 형태에서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥은 각각 15 내지 25개의 뉴클레오타이드 길이이다. 일 실시 형태에서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥은 각각 19 내지 25개의 뉴클레오타이드 길이이다. 일 실시 형태에서, 상기 센스 가닥 및 안티센스 가닥은 각각 21 내지 23개의 뉴클레오타이드 길이이다.

[0318] 일 실시 형태에서, 올리고뉴클레오타이드는 표적화 리간드를 추가로 포함한다.

[0319] 일 실시 형태에서, 올리고뉴클레오타이드를 세포에 전달하는 방법이 본 명세서에 제공되며, 상기 방법은 본 명세서에 제공된 올리고뉴클레오타이드를 상기 세포와 접촉시키는 단계를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 세포는 뇌 세포이다. 일부 실시 형태에서, 세포는 대상체, 예컨대 마우스, 비인간 영장류 또는 인간 내에 있다. 일 실시 형태에서, 투여에 의해, 세포에 전달되는 올리고뉴클레오타이드의 양은, 동일하지만 본 명세서에 제공된 지질 접합체(친유성 단량체)를 함유하지 않는 올리고뉴클레오타이드의 전달에 비해 증가된다. 일부 실시 형태에서, 전달되는 올리고뉴클레오타이드의 양의 증가는 올리고뉴클레오타이드의 치료적 활성의 증가에 의해 결정된다.

[0320] 일 실시 형태에서, 세포에서 표적 유전자의 발현을 감소시키는 방법이 본 명세서에 제공되며, 상기 방법은 상기 세포를 본 명세서에 제공된 올리고뉴클레오타이드와 접촉시키는 단계를 포함한다. 일 실시 형태에서, 대상체에서 표적 유전자의 발현을 감소시키는 방법이 본 명세서에 제공되며, 상기 방법은 본 명세서에 제공된 올리고뉴클레오타이드를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0321] 일 실시 형태에서, 특정 이론에 의해 구애됨이 없이, 본 명세서에 제공된 적어도 하나의 친유성 단량체를 포함하는 올리고뉴클레오타이드는 친유성 단량체를 포함하지 않는 상응하는 올리고뉴클레오타이드보다 개선된 약력학적 프로파일을 나타낸다.

[0322] 뉴클레오타이드에 대한 화학적 변형

[0323] 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 dsRNA(예를 들어, siRNA) 작용제는 하나 이상의 뉴클레오타이드 변형을 포함한다. 뉴클레오타이드 변형은, 예를 들어 단부 변형, 예를 들어 5'-단부 변형(예를 들어, 인산화, 접합, 역위 결합체) 또는 3'-단부 변형(예를 들어, 접합, DNA 뉴클레오타이드, 역위 결합체 등); 염기 변형, 예를 들어, 안정화 염기, 불안정화 염기, 또는 파트너의 확장된 레퍼토리와 염기쌍을 형성을 하는 염기로의 대체, 염기(무염기성 뉴클레오타이드)의 제거, 또는 접합된 염기; 당 변형(예를 들어, 2'-위치 또는 4'-위치에 있는 당의 변형) 또는 당의 대체; 또는 골격 변형 - 포스포다이에스테르 결합체의 변형 또는 대체를 포함함 - 을 포함한다. 일부 실시 형태에서, dsRNA 작용제는 변형된 뉴클레오타이드간 결합체, 변형된 핵염기, 변형된 당, 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 변형을 포함한다. 제한 없이, 그러한 변

형은 dsRNA 작용제 내의(예를 들어, 센스 가닥, 안티센스 가닥, 또는 양쪽 가닥 내의) 어디에도 존재할 수 있다.

- [0324] 일부 실시 형태에서, dsRNA 작용제는 하나 이상의 변형된 당 변형, 예컨대 하나 이상의 치환된 당 모이어티를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 dsRNA 작용제는 2'-위치에 다음 중 하나를 포함한다: H; F; 또는  $\text{OCH}_3(\text{OMe})$ .
- [0325] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 dsRNA 작용제는 하나 이상의 글리콜 핵산(GNA)을 포함한다. 전형적으로, GNA는 어사이클릭 핵산 유사체로서, 여기서는 RNA의 리보스 당-포스포다이에스테르 골격 조성과 상이하게, 이의 반복 글리콜 단위들이 포스포다이에스테르 결합에 의해 연결되어 있다.
- [0326] 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 dsRNA 작용제는 하나 이상의 말단 변형, 예를 들어 5'-말단 인산화, 접합, 또는 역위 결합체를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 말단 변형은 dsRNA 작용제의 안티센스 가닥 상에 존재하는 5'-포스페이트, 예를 들어 5'-말단 포스페이트를 포함한다.
- [0327] 일부 실시 형태에서, dsRNA 작용제는 역위 무염기성 뉴클레오티드를 갖는 센스 가닥 및/또는 안티센스 가닥을 포함한다. 일 실시 형태에서, 센스 가닥은 3' 단부에 있는 역위 무염기성 뉴클레오티드를 함유한다. 다른 실시 형태에서, 센스 가닥은 5' 단부에 있는 역위 무염기성 뉴클레오티드를 함유한다. 일부 실시 형태에서, 센스 가닥은 5' 단부 및 3' 단부에 있는 역위 무염기성 뉴클레오티드를 함유한다.
- [0328] 일부 실시 형태에서, dsRNA 작용제는 안티센스 가닥의 5'-단부에 있는 포스페이트 또는 포스페이트 모방체를 포함한다. 일 실시 형태에서, 포스페이트 모방체는 5'-비닐 포스포네이트(VP)이다.
- [0329] 일부 실시 형태에서, dsRNA 작용제는 하나 이상의 변형된 뉴클레오티드를 포함한다. 구체적인 실시 형태에서, 변형된 뉴클레오티드는 2'-O-메틸 변형된 뉴클레오티드, 테옥시-뉴클레오티드, 2'-플루오로 변형된 뉴클레오티드, 2'-O-메틸-우리딘, 역위 무염기성(inverted abasic) 뉴클레오티드, S-글리콜 핵산(GNA)을 포함하는 뉴클레오티드, 잠금해제된(unlocked) 뉴클레오티드, 5'-비닐포스포네이트-2'-O-메틸-우리딘, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0330] 일부 실시 형태에서, dsRNA 작용제는 하나 이상의 변형된 뉴클레오시드간 결합체(즉, 변형된 RNA 골격)를 포함한다. 변형된 뉴클레오시드간 결합체는, 예를 들어 포스포로티오에이트(예를 들어, 포스포모노티오에이트)를 포함한다. 다양한 염, 혼합된 염 및 유리 산 형태가 또한 포함된다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 dsRNA 작용제는 유리 산 형태이다. 다른 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 dsRNA 작용제는 염 형태이다. 일 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 dsRNA 작용제는 나트륨 염 형태이다. 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 dsRNA 작용제가 염 형태일 때, 염의 양이온(예를 들어, 나트륨 양이온)은, 작용제에 존재하는 실질적으로 모든 전기음성기(예를 들어, 포스포다이에스테르 및/또는 포스포로티오에이트 기)에 대한 반대이온으로서 작용제에 존재한다. 일부 실시 형태에서, 반대이온은 응축된 반대이온이다. 구체적인 실시 형태에서, 반대이온은 응축된 나트륨 양이온이다. 일부 실시 형태에서, 응축된 반대이온은 수화된다. 구체적인 실시 형태에서, 응축된 반대이온은 수화된 나트륨 양이온이다. 실질적으로 모든 포스포다이에스테르 및/또는 포스포로티오에이트 결합체가 반대이온을 갖는 작용제는 반대이온 없이 5, 4, 3, 2, 또는 1개 이하의 포스포다이에스테르 및/또는 포스포로티오에이트 결합체를 포함한다. 다시 말하면, dsRNA 작용제의 전기음성 전위는 dsRNA 주위에서 반대이온 응축에 의해 중화되거나 실질적으로 중화된다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 dsRNA 작용제가 나트륨 염 형태일 때, 나트륨 이온은, 작용제에 존재하는 실질적으로 모든 포스포다이에스테르 및/또는 포스포로티오에이트 기에 대한 반대이온으로서 작용제 주위에 존재한다.
- [0331] 뉴클레오시드간 포스포다이에스테르 결합체의 포스페이트 기는 산소 중 하나를 상이한 치환체로 대체함으로써 변형될 수 있다. 이러한 변형의 한 가지 결과는 핵분해적 분해(nucleolytic breakdown)에 대한 올리고뉴클레오티드의 증가된 저항성일 수 있다. 이러한 변형의 다른 결과는 dsRNA 작용제에서 혼성화된 단일 가닥 RNA(ssRNA)의 증가된 안정성일 수 있다. 변형된 포스페이트 기의 한 예에는 포스포로티오에이트(예를 들어, 포스포모노티오에이트)가 포함된다.
- [0332] 일부 실시 형태에서, dsRNA 작용제는 RNA 모방체를 포함하며, 여기서는 뉴클레오티드 단위의 당 및 뉴클레오시드간 결합체, 즉, 골격 둘 모두가 대체기로 대체된다. 구체적인 실시 형태에서, 염기 단위는 적절한 표적 서열과의 혼성화를 위해 유지된다.
- [0333] 본 명세서에 기재된 dsRNA 작용제는 하나 이상의 비대칭 중심을 함유할 수 있으며, 이에 따라, 절대 입체화학

의 관점에서, 이를 테면 당 아노머의 경우 (R) 또는 (S)로서, 또는 이를 테면 아미노산의 경우 (D) 또는 (L)로서 정의될 수 있는 거울상 이성질체, 부분입체 이성질체, 및 다른 입체이성질체 배치를 발생시킬 수 있다. 본 명세서에 제공된 dsRNA 작용제에는 모든 그러한 가능한 이성질체뿐만 아니라, 이들의 라세미 형태 및 광학적으로 순수한 형태가 포함된다.

[0334] 뉴클레오타이드 서열에 연결된 모이어티

[0335] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 dsRNA 작용제는 하나 이상의 비-뉴클레오타이드 기에 접합된다. 비-뉴클레오타이드 기는, 예를 들어 dsRNA 작용제의 표적화, 전달 또는 부착을 향상시킬 수 있다. 비-뉴클레오타이드 기는 dsRNA 작용제의 센스 가닥 또는 안티센스 가닥 중 어느 한쪽 가닥의 3' 단부에, 5' 단부에, 그리고/또는 내부에 공유적으로 연결될 수 있다. 비-뉴클레오타이드 기는 dsRNA 작용제의 센스 가닥 및/또는 안티센스 가닥의 3' 단부에, 5' 단부에, 3' 단부 및 5' 단부 둘 모두에, 내부에, 3' 단부 및 내부 둘 모두에, 5' 단부 및 내부 둘 모두에, 또는 3' 단부, 5' 단부, 및 내부에 공유적으로 연결될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 dsRNA 작용제는 센스 가닥의 3' 단부에, 5' 단부에, 3' 단부 및 5' 단부 둘 모두에, 내부에, 3' 단부 및 내부 둘 모두에, 5' 단부 및 내부 둘 모두에, 또는 3' 단부, 5' 단부, 및 내부에 연결된 비-뉴클레오타이드 기를 함유한다. 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 dsRNA 작용제는 센스 가닥의 5' 단부에 연결된 비-뉴클레오타이드 기를 함유한다. 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 dsRNA 작용제는 센스 가닥의 3' 단부에 연결된 비-뉴클레오타이드 기를 함유한다. 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 dsRNA 작용제는 센스 가닥 내부에 연결된 비-뉴클레오타이드 기를 함유한다. 비-뉴클레오타이드 기는 링커/연결기를 통해 dsRNA 작용제에 직접 또는 간접적으로 연결될 수 있다.

[0336] 일부 실시 형태에서, 연결기가 dsRNA 작용제에 접합된다. 연결기는 표적화 리간드 또는 전달 중합체 또는 전달 비히클에 대한 작용제의 공유적 결합을 촉진시킨다. 연결기는 dsRNA 작용제의 센스 가닥의 3' 단부에, 5' 단부에, 그리고/또는 내부에 연결될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 연결기는 dsRNA 작용제의 센스 가닥에 연결된다. 일부 실시 형태에서, 연결기는 dsRNA 작용제의 센스 가닥의 5' 단부에, 3' 단부에, 그리고/또는 내부에 접합된다. 일부 실시 형태에서, 연결기는 dsRNA 작용제의 센스 가닥의 5' 단부에 접합된다. 일부 실시 형태에서, 연결기는 dsRNA 작용제의 센스 가닥의 3' 단부에 접합된다. 일부 실시 형태에서, 연결기는 dsRNA 작용제의 센스 가닥의 내부에 접합된다.

[0337] 전형적으로, 링커 또는 연결기는 하나 이상의 공유 결합을 통해 하나의 화합기(예컨대, dsRNA 작용제) 또는 관심 세그먼트를 다른 화합기(예컨대, 표적화 기 또는 전달 중합체) 또는 관심 세그먼트에 연결시키는 2개의 원자 사이의 연결체(connection)이다. 불안정한 결합체(labile linkage)는 불안정한 결합(labile bond)을 함유한다. 결합체는 2개의 연결된 원자들 사이의 거리를 증가시키는 스페이서를 선택적으로 포함할 수 있다. 스페이서는 결합체에 가요성 및/또는 길이를 추가로 부가할 수 있다.

[0338] 변형된 것 또는 비변형된 것 어느 것이든 간에 표 3에 열거된 임의의 dsRNA 작용제 뉴클레오타이드 서열은 3' 단부, 5' 단부, 및/또는 내부 표적화 리간드 및/또는 연결기를 함유할 수 있다. 변형된 것 또는 비변형된 것 어느 것이든 간에 표 1, 표 2, 표 3, 표 4, 표 5, 또는 표 9에 열거된 임의의 dsRNA 작용제 이중체는 표적화 리간드 및/또는 연결기를 추가로 포함할 수 있으며, 표적화 리간드 또는 연결기는 dsRNA 작용제 이중체의 센스 가닥 또는 안티센스 가닥 중 어느 한쪽 가닥의 3' 단부에, 5' 단부에, 그리고/또는 내부에 부착될 수 있다.

[0339] 전달 비히클

[0340] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 dsRNA 작용제를 세포 또는 조직에 전달하는 데 전달 비히클이 사용될 수 있다.

[0341] 조성물

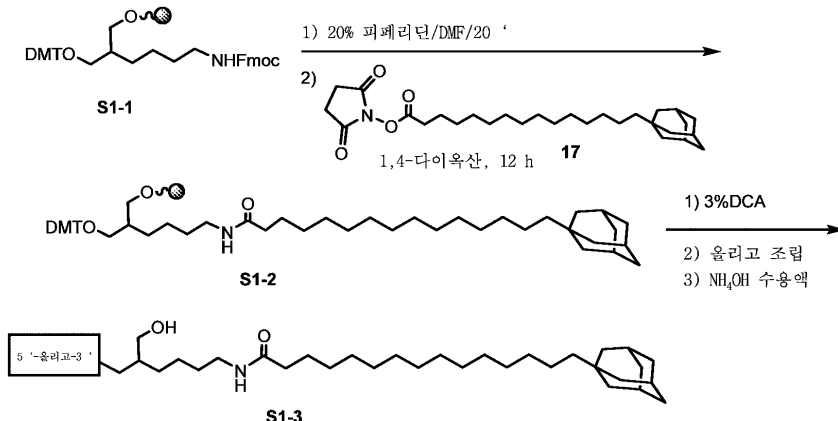
[0342] 일 태양에서, 본 명세서에 기재된 dsRNA 작용제를 포함하는 조성물(예를 들어, 약제학적 조성물)이 본 명세서에 제공된다. 조성물은 약제학적으로 허용되는 담체를 추가로 포함할 수 있다.

[0343] 전문한 상세한 설명 및 첨부된 실시예는 단지 예시적이며, 발명 요지의 범주에 대한 제한으로서 간주되어서는 안 된다는 것이 이해된다. 개시된 실시 형태에 대한 다양한 변경 및 변형이 당업자에게 명백할 것이다. 제한 없이, 본 명세서에 제공된 화학 구조, 치환체, 유도체, 중간체, 합성, 제형 및/또는 사용 방법과 관련된 것들을 포함한 그러한 변경 및 변형은 이들의 사상 및 범주로부터 벗어나지 않고서 이루어질 수 있다. 본 명세서에 언급된 미국 특허 및 간행물은 참고로 포함된다.

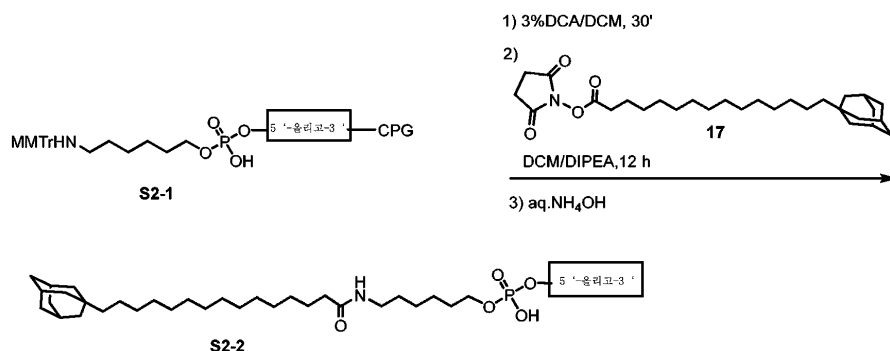
- [0344] 실시예
- [0345] 본 발명의 소정 실시 형태가 하기 비제한적인 실시예에 의해 예시된다.
- [0346] **올리고뉴클레오타이드 지질 접합체의 합성을 위한 실험 절차**
- [0347] 표준 RNA 합성 프로토콜에 따라 고상에서의 포스포르아미다이트 접근법에 의해 합성을 수행하였다. MerMade 12 합성기 상에서 보편적 또는 맞춤형 지지체를 사용하여 10  $\mu\text{mol}$  규모로 모든 올리고뉴클레오타이드를 제조하였다. 전형적인 합성 사이클은 다음 4개의 단계를 포함한다: 1. 탈트라이틸화; 2. 커플링; 3. 캡핑; 및 4. 산화/황화.
- [0348] 표준 보호기를 갖는 RNA 포스포르아미다이트에 대한 단량체, 즉, 5'-O-다이메톡시트라이틸-N<sup>6</sup>-벤조일-2'-O-(tert-부틸다이메틸실릴) - 아데노신 3'-O-(N,N'-다이아이소프로필-시아노에틸포스포르아미다이트), 5'-O-다이메톡시트라이틸-N<sup>4</sup>-아세틸-2'-O-(tert-부틸다이메틸실릴-시티딘-3'-O-(N,N'-다이아이소프로필-2-시아노에틸포스포르아미다이트), 5'-O-다이메톡시트라이틸-N<sup>2</sup>-아이소부틸-2'-O-(tert-부틸다이메틸실릴)구아노신 3'-O-(N,N' - 다이아이소프로필-2-시아노에틸포스포르아미다이트) 및 5'-O-다이메톡시트라이틸-2'-O-(tert-부틸다이메틸실릴)우리딘 3'-O-(N,N' - 다이아이소프로필-2-시아노에틸포스포르아미다이트)를 합성에 사용하였다.
- [0349] 2'-변형된 단량체는 2'-플루오로 포스포르아미다이트 및 2'-OMe 포스포르아미다이트, 5'-O-다이메톡시트라이틸-N<sup>4</sup>-아세틸-2'-플루오로-시티딘 3'-O-(N,N'-다이아이소프로필-2-시아노에틸포스포르아미다이트), 5'-O-다이메톡시트라이틸-2'-플루오로 - 우리딘 3'-O-(N,N'-다이아이소프로필-2-시아노에틸포스포르아미다이트), 5'-O-다이메톡시트라이틸-N<sup>6</sup>-벤조일-2'-플루오로 - 아데노신 3'-O-(N,N'-다이아이소프로필-2-시아노에틸포스포르아미다이트), 5'-O-다이메톡시트라이틸-N<sup>2</sup>-아이소부틸-2'-플루오로-구아노신 3'-O-(N,N' - 다이아이소프로필-2-시아노에틸포스포르아미다이트), 5'-O-다이메톡시트라이틸-N<sup>4</sup>-아세틸-2'-OMe-시티딘 3'-O-(N,N'-다이아이소프로필-2-시아노에틸포스포르아미다이트), 5'-O-다이메톡시트라이틸-2'-OMe - 우리딘-3'-O-(N,N'-다이아이소프로필-2-시아노에틸포스포르아미다이트), 5'-O-다이메톡시트라이틸-N<sup>6</sup>-벤조일-2'-OMe - 아데노신 3'-O-(N,N'-다이아이소프로필-2-시아노에틸포스포르아미다이트) 및 5'-O-다이메톡시트라이틸-N<sup>2</sup>-아이소부틸-2'-OMe-구아노신 3'-O-(N,N' - 다이아이소프로필-2-시아노에틸포스포르아미다이트)로 구성되었다.
- [0350] 구아노신을 제외한 모든 포스포르아미다이트를 아세트니트릴 중 0.1M의 농도로 사용하였으며, 구아노신은 20% DMF/MeCN 중 0.1M 농도로 사용하였다. 다이클로로메탄 중 3% 다이클로로아세트산을 사용하여 3분 동안 탈트라이틸화를 수행하였다. MeCN 중 5-(에틸티오)테트라졸의 0.45M 용액을 사용하여 커플링을 수행하였으며, 커플링 시간은 12분이었다. MeCN/피리딘/물(70:20:10) 중 표준 0.02M 요오드를 사용하여 뉴클레오타이드간 포스파이트의 포스페이트로의 산화를 수행하였다. 피리딘 중 잔탄 하이드라이드의 0.1M 용액을 사용함으로써 포스파이트의 포스포리티오에이트로의 산화에 의해 포스포리티오에이트를 도입하였다. THF/아세트산 무수물/피리딘(80:10:10) 및 1-메틸이미다졸/아세트니트릴(20:80 v/v) 용액을 사용하여 캡핑을 수행하였다. 완전한 합성 사이클은 30분이었다.
- [0351] **지질 생접합**
- [0352] 온-컬럼 및/또는 포스트-컬럼 합성을 통해 센스 가닥에 지질을 도입시켰다. 온-컬럼 합성의 경우, 말단 단부(3' 및 5')에 있는 지질 및 내부 위치에 있는 지질을 고체 지지체 상에 합성하였다. 포스트-컬럼 합성의 경우에는, 지질을 그들의 상응하는 N-하이드록시석신이미드 에스테르 및 뉴클레오타이드의 첨부된 아민 링커와 함께 용액상에서 도입하였다.
- [0353] **온-컬럼 합성**
- [0354] 예를 들어, 센스 가닥의 3' 단부에서의 화합물 17의 온-컬럼 도입을 3'-아미노 개질제, 예컨대 2-다이메톡시트라이틸옥시메틸-6-플루오레닐메톡시카르보닐아미노-헥산-1-석시노일)-장쇄 알킬아미노-CPG(S1-1)를 사용하여 수행하였다(반응도식 1). DMF 중 20% 피페리딘을 사용하여 Fmoc 기를 탈보호한 후에, CPG를 DMF, MeCN, 다이에틸 에테르로 완전히 세척하고, 건조시켰다. 2 ml의 1,4-다이옥산 중 80  $\mu\text{mol}$ 의 화합물 17의 용액을 상기 CPG에 첨가한 후, 30  $\mu\text{l}$ 의 DIPEA를 첨가하고, 12시간 동안 진탕하였다. CPG를 DCM, MeCN, 및 Et<sub>2</sub>O로 세척하였다. 1 ml의 CAP A 및 CAP B의 용액을 첨가하고, 30분 동안 진탕하였다. S1-2를 DCM, MeCN, Et<sub>2</sub>O로 세척하고, 건조시

키고, 올리고 조립에 사용하였다.

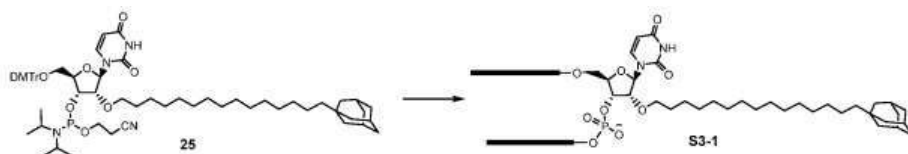
## 반응도식 1



## 반응도식 2



## 반응도식 3



## 절단, 정제 및 탈염

합성의 완료 후에, 55℃에서 7시간 동안 암모니아 용액을 사용하여 핵염기와 포스페이트 기의 동시 탈보호를 수행하면서 지지체로부터 올리고뉴클레오타이드를 절단하였다. CPG를 여과하고, 에탄올/아세트오니트릴(3:1:1 v/v)로 세척하였다. 부피를 감소시킨 후에, 올리고뉴클레오타이드를 역상 또는 이온-교환 크로마토그래피로 정제하였다. 역상을 위한 완충액은 90/10% 물/아세트오니트릴 중 0.1 M 소듐 아세테이트(완충액 A) 및 아세트오니트릴(완충액 B)이었으며, 이온-교환을 위한 완충액은 90/10% 물/아세트오니트릴 중 20 mM 인산나트륨(pH 11)(완충액 A) 및 90/10% 물/아세트오니트릴 중 20 mM 인산나트륨(pH 11), 1.8 M 브롬화나트륨(완충액 B)이다. 전장 올리고뉴클레오타이드를 함유하는 분획들을 풀링하고, 탈염하고, 화합물을 액체 크로마토그래피-질량 분석법(LC-MS)에

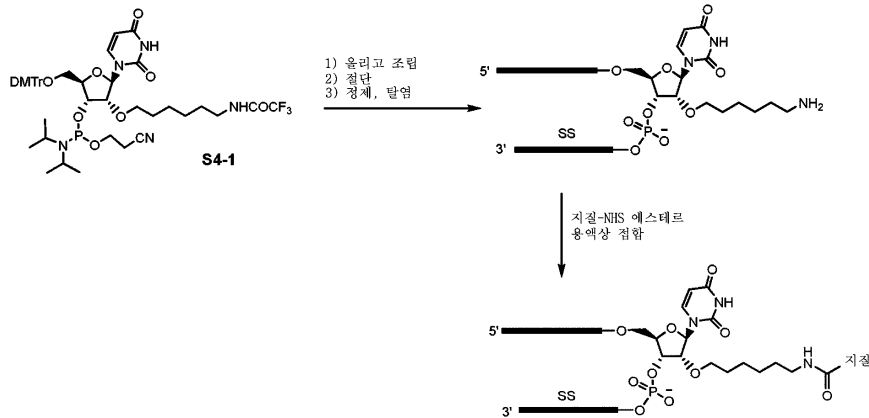
의해 분석하였다.

#### [0365] 포스트-컬럼 합성

[0366] 상응하는 올리고뉴클레오타이드의 정제 및 탈염 후 용액상에서 센스 가닥의 말단 위치(3', 5' 단부)에 그리고 내부 위치에 지질을 바이오접합하였다.

[0367] 예를 들어, 각각의 뉴클레오타이드의 2' 위치에서, 아민 링커로 유도체화된 포스포르아미다이트 단량체를 사용하여 내부 위치에서의 도입을 수행하였다. 반응도식 4는 우리딘 기반 포스포르아미다이트 단량체(S4-1)를 사용하여 이것을 예시한다. 내부 위치에서의 S4-1의 도입, 및 조립, 절단, 정제 및 탈염 공정의 완료 후에, 펜던트 아민을 갖는 유리 올리고뉴클레오타이드를 용액상에서 상응하는 지질-NHS 에스테르와 커플링하였다.

#### [0368] 반응도식 4



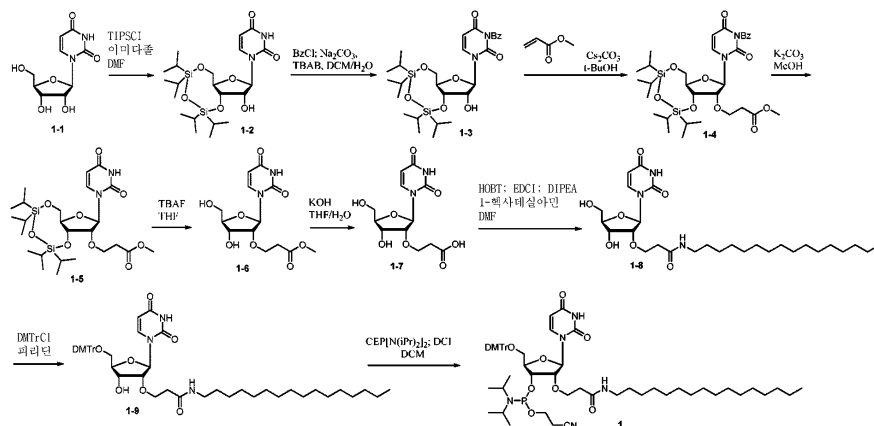
[0369]

[0370] 60℃에서 DMF 중 상응하는 지질-NHS 에스테르의 1.5 mM 용액과 함께,  $\text{NaHCO}_3$ 의 0.1 M 용액(pH 8.4) 중 탈보호 및 탈염된 올리고뉴클레오타이드의 0.15 mM 용액을 사용하여 말단/내부 위치에서의 바이오접합을 수행하였다. 올리고뉴클레오타이드 용액(0.25 mL)에 지질-NHS 에스테르의 DMF 용액(0.6 mL)을 첨가하고, 생성된 혼합물을 63℃에서 가열하였다. RP-HPLC(C-8 컬럼, A: 50 mM TEAA, B: MeCN; 구배: 5 내지 100% B, 30℃에서)에 의해 진행을 모니터링하였다. 반응은 보통 1시간 이내에 90% 초과하여 완료되었다. 반응 혼합물을 물로 희석시키고, RP-HPLC(C-8 Xbridge Waters 컬럼; A: 50 mM NaOAc, B: MeCN; 구배: 5 내지 100% B, 60℃에서)로 정제하였다. 지질 접합된 올리고뉴클레오타이드의 단리된 수율은 60 내지 70%였다.

#### [0371] 이중체 형성

[0372] 이중체 형성을 위해, 등몰량의 센스 가닥과 안티센스 가닥을 혼합하고, 실온에서 30분 동안 유지하였다. 변성 및 비변성 HPLC 분석에 의해 이중체의 완전성이 확인되었다.

#### [0373] 실시예 1.



#### [0375] 1-2의 제조

- [0376] 불활성 질소 분위기 하에서 DMF(720 mL) 중 1-1(72.0 g, 295.0 mmol)의 현탁액에 0℃에서 TIPDSCl<sub>2</sub>(111.0 g, 354.0 mmol)를 첨가하였다. 이어서, 이미다졸(50.1 g, 737.5 mmol)을 첨가하고, 생성된 혼합물을 실온에서 14 시간 동안 교반하였다. 혼합물을 EtOAc(2.5 L)로 희석시키고, H<sub>2</sub>O, 포화 중탄산나트륨 수용액 및 염수로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시켰다. 증발된 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, DCM 중 0 내지 10% MeOH)로 정제하여, 백색 고체로서 1-2(115.0 g, 236 mmol, 80% 수율)를 얻었다. MS: m/z 487 [M+H]<sup>+</sup>.
- [0377] 1-3의 제조
- [0378] 1-2(45 g, 92.5 mmol), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(39 g, 370 mmol), 및 테트라부틸암모늄브로마이드(1.2 g, 3.7 mmol)의 혼합물을 DCM/H<sub>2</sub>O(1.0/2.0 L) 중 2상 용액 중에 용해시키고, 이어서 격렬하게 교반하면서 혼합물에 BzCl(16 mL, 138.7 mmol)을 첨가하였다. 2가 TLC 상에서 소실될 때까지 30℃에서 격렬한 교반을 계속하였다. 이어서, 혼합물을 분액 깔때기 내로 옮겼다. 유기 상을 수집하고, 수성 상을 DCM으로 추출하였다. 합한 유기 추출물을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시키고, 농축시켰다. 증발된 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(PE/EtOAc 3/1)로 정제하였다. 이로써, 백색 고체로서 1-3(29.0 g, 53.0% 수율)을 얻었다. MS: m/z 591 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 8.00 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.86 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.79 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.60 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H), 5.82 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 5.66 (d, *J* = 4.4 Hz, 1H, D<sub>2</sub>O로 교환됨), 5.57 (s, 1H), 4.21-4.15 (m, 3H), 4.03 (m, 1H), 3.96-3.92 (m, 1H), 1.09-0.99 (m, 28H).
- [0379] 1-4의 제조
- [0380] *t*-BuOH(50 mL) 중 1-3(10.5 g, 17.8 mmol), 메틸 메타크릴레이트(30.5 g, 356 mmol)의 용액에 Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(2.9 g, 8.9 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 30℃에서 4시간 동안 교반하고, 이어서 EtOAc로 희석시켰다. 혼합물을 H<sub>2</sub>O로 2회 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시키고, 농축시켰다. 증발된 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, PE/EtOAc 6/1)로 정제하여, 백색 고체로서 1-4(8.7 g, 72% 수율)를 얻었다. MS: m/z 677 [M+H]<sup>+</sup>.
- [0381] 1-5의 제조
- [0382] MeOH(87 mL) 중 1-4(8.7 g, 12.8 mmol)의 용액에 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(3.5 g, 25.6 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 30℃에서 2시간 동안 교반하였다. 이어서, 그것을 EtOAc/물(1/1)로 희석시키고, 유기 층을 물로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시키고, 농축시켰다. 잔류물을 플래시-분취용-HPLC(C<sub>18</sub> 컬럼, 이동상 CH<sub>3</sub>CN 및 H<sub>2</sub>O(0.5% NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>), 구배 50% 내지 100% MeCN)로 정제하여, 백색 고체로서 1-5(6.1 g, 82%)를 얻었다. MS: m/z 573 [M+H]<sup>+</sup>.
- [0383] 1-6의 제조
- [0384] THF(60 mL) 중 1-5(6.1 g, 10.6 mmol)의 용액에 TBAF(12.7 mL, 12.7 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하고, 이어서 농축시키고, 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(SiO<sub>2</sub>, EtOAc 중 0 내지 5% MeOH)로 정제하였다. 이로써, 백색 고체로서 1-6(3.2 g, 90% 수율)을 얻었다. MS: m/z 331 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 11.32 (s, 1H, D<sub>2</sub>O로 교환됨), 7.91 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 5.81 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H), 5.65 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 5.13 (s, 1H, D<sub>2</sub>O로 교환됨), 5.03 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H, D<sub>2</sub>O로 교환됨), 4.10 (m, 1H), 3.92(m, 1H), 3.84-3.70 (m, 3H), 3.65-3.53 (m, 3H), 2.56 (m, 2H).
- [0385] 1-7의 제조
- [0386] THF/H<sub>2</sub>O (30/15 mL) 중 1-6(3.2 g, 9.6 mmol)의 용액에 KOH(1.6 g, 28.8 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 20℃에서 1시간 동안 교반하였다. 용액을 H<sup>+</sup> 교환 수지를 사용하여 pH 7로 중화시키고, 여과하고, 농축시켜, 백색 고체로서 1-7을 얻었다. MS: m/z 317 [M+H]<sup>+</sup>.
- [0387] 1-8의 제조
- [0388] DMF(30 mL) 중 1-7(3.0 g, 9.6 mmol)의 용액에 EDCI(1.8 g, 9.6 mmol), HOBT(1.3 g, 9.6 mmol), 헥사테칸-

1-아민(2.3 g, 9.6 mmol) 및 DIPEA(2.5 g, 19.2 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 20℃에서 24시간 동안 교반하고, 이어서 EtOAc로 희석시켰다. 혼합물을 H<sub>2</sub>O 및 5% 시트르산으로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시키고, 농축시켰다. 잔류물을 EtOAc를 사용하여 침전시킴으로써 정제하여, 백색 고체로서 1-8(4.7 g, 2개의 단계에 걸쳐 78% 수율)을 얻었다. MS: m/z 540 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 11.32 (s, 1H, D<sub>2</sub>O로 교환됨), 7.91 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.88 (t, J = 5.2 Hz, 1H, D<sub>2</sub>O로 교환됨), 5.81 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 5.65-5.62 (dd, J = 8.0, 1.8 Hz, 1H), 5.16 (s, 2H, D<sub>2</sub>O로 교환됨), 4.17 (m, 1H), 3.94-3.54 (m, 6H), 3.00 (m, 2H), 2.34 (m, 2H), 1.37-1.17 (m, 28H), 0.87-0.82 (m, 3H).

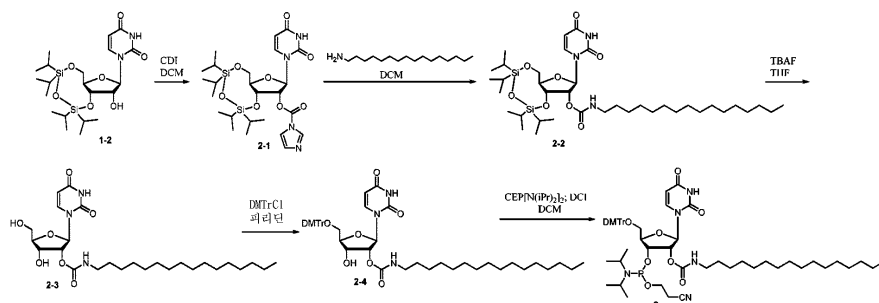
[0389] 1-9의 제조

[0390] 피리딘(30 mL) 중 1-8(3.2 g, 5.9 mmol)의 용액에 N<sub>2</sub> 분위기 하에서 DMTrCl(2.4 g, 7.1 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 이어서, 반응 혼합물을 EtOAc로 희석시키고, H<sub>2</sub>O로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시켰다. 증발된 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(PE/EtOAc 2/1 내지 1/2)로 정제하여, 백색 고체로서 1-9(3.3 g, 62% 수율)를 얻었다. MS: m/z 840 [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 11.38 (s, 1H, D<sub>2</sub>O로 교환됨), 7.87 (t, J = 5.2 Hz, 1H, D<sub>2</sub>O로 교환됨), 7.70 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.39-7.21 (m, 9H), 6.91-6.89 (m, 4H), 5.77 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 5.29 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 5.26 (d, J = 6.3 Hz, 1H, D<sub>2</sub>O로 교환됨), 4.24 (m, 1H), 4.03-3.92 (m, 2H), 3.79 (m, 2H), 3.74 (s, 6H), 3.30-3.20 (m, 2H), 3.01 (m, 2H), 2.37 (m, 2H), 1.38-1.17 (m, 28H), 0.87-0.81 (m, 3H).

[0391] 1의 제조

[0392] DCM(30 mL) 중 1-9(2.9 g, 3.4 mmol)의 용액에 N<sub>2</sub> 분위기 하에서 DCI(418 mg, 2.9 mmol) 및 CN(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OP[N(iPr)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>(1.2 g, 4.1 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 30℃에서 2시간 동안 교반하였다. 이어서, 용액을 DCM으로 희석시키고, H<sub>2</sub>O로 세척하였다. 유기 층을 염수로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시키고, 농축시켰다. 잔류물을 플래시-분취용-HPLC(C<sub>18</sub> 컬럼; 이동상 0.5% NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>를 함유하는 H<sub>2</sub>O, CH<sub>3</sub>CN; 구배 0 내지 100% MeCN)로 정제하여, 백색 고체로서 화합물 1(2.6 g, 71% 수율)을 얻었다. LCMS: m/z 1040[M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 11.38 (s, 1H), 7.79-7.72 (m, 2H), 7.40-7.21 (m, 9H), 6.91-6.86 (m, 4H), 5.80 (m, 1H), 5.30-5.23 (dd, J = 19.6, 8.0 Hz, 1H), 4.44-4.32 (m, 1H), 4.13-4.05 (m, 2H), 3.86-3.46 (m, 12H), 3.36-3.25 (m, 2H), 2.98 (m, 2H), 2.78 (m, 1H), 2.61 (m, 1H), 2.33 (m, 2H), 1.35-1.17 (m, 28H), 1.15-0.95 (m, 12H), 0.86-0.83 (m, 3H); <sup>31</sup>P-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 149.22, 148.69.

[0393] 실시예 2.



[0394]

[0395] 2-1의 제조

[0396] 무수 DCM(100 mL) 중 1-2(9.7 g, 19.9 mmol)의 용액에 CDI(3.5 g, 19.9 mmol)를 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 혼합물을 정제 없이 다음 단계에 사용하였다. ESI-LCMS: m/z 581 [M+H]<sup>+</sup>.

[0397] 2-2의 제조

[0398] 무수 DCM(100 mL) 중 2-1(11.5 g, 19.9 mmol)의 용액에 무수 DCM(100 mL) 중 헥사데칸-1-아민(4.8 g, 19.9

mmol)을 적가하였다. 반응 혼합물을 30℃에서 16시간 동안 교반하고, 이어서 H<sub>2</sub>O로 켄칭하고, DCM으로 희석시켰다. 유기 상을 H<sub>2</sub>O 및 5% 시트르산으로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시켰다. 증발된 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(EtOAc/DCM 1/1 중 0 내지 20% 아세톤)로 정제하여, 백색 고체로서 2-2(11.1 g, 2개의 단계에 걸쳐 70% 수율)를 얻었다. MS: m/z 754 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 11.41 (s, 1H, D<sub>2</sub>O로 교환됨), 7.69 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.33 (t, J = 5.5 Hz, 1H, D<sub>2</sub>O로 교환됨), 5.66 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 5.59 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 5.33-5.31 (m, 1H), 4.51-4.47 (m, 1H), 4.09-4.05 (m, 1H), 3.95-3.82 (m, 2H), 3.05-2.85 (m, 2H), 1.37-1.22 (m, 28H), 1.05-0.96 (m, 24H), 0.87-0.82 (m, 3H).

[0399] 2-3의 제조

[0400] THF(50 mL) 중 2-2(4.7 g, 6.2 mmol)의 용액에 THF 중 1M TBAF(7.4 mL, 7.4 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 이어서, EtOAc를 첨가하고, 혼합물을 H<sub>2</sub>O로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시켰다. 잔류물을 EtOAc로부터 침전시킴으로써 정제하여, 백색 고체로서 2-3(3.1 g, 92% 수율)을 얻었다. MS: m/z 512 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 11.33 (s, 1H, D<sub>2</sub>O로 교환됨), 7.90 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.27 (t, J = 5.5 Hz, 1H, D<sub>2</sub>O로 교환됨), 5.97 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 5.66 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 5.46 (d, J = 4.9 Hz, 1H, D<sub>2</sub>O로 교환됨), 5.19 (m, 1H, D<sub>2</sub>O로 교환됨), 5.01 (t, J = 5.7 Hz, 1H), 4.19 (m, 1H), 3.88 (m, 1H), 3.62-3.57 (m, 2H), 2.91 (m, 2H), 1.37-1.17 (m, 28H), 0.87-0.82 (m, 3H).

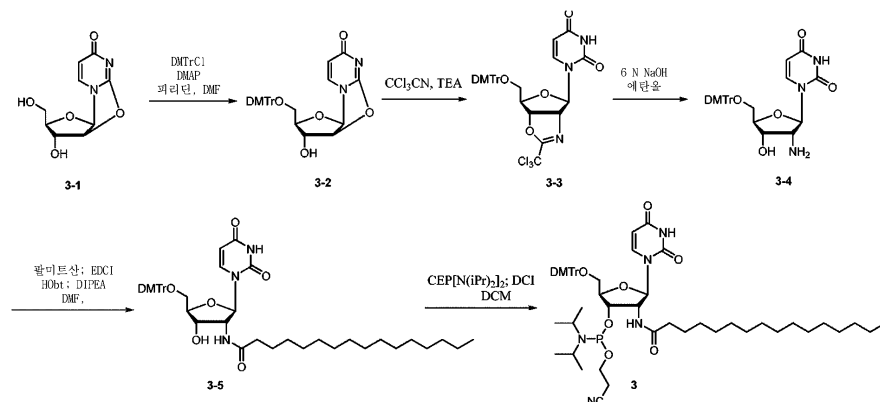
[0401] 2-4의 제조

[0402] 피리딘(30 mL) 중 2-3(3.1 g, 6.0 mmol)의 용액에 N<sub>2</sub> 분위기 하에서 DMTrCl(2.2 g, 6.6 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반하고, 이어서 EtOAc로 희석시키고, H<sub>2</sub>O로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시켰다. 증발된 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(PE/EtOAc 2/1 내지 1/2)로 정제하여, 황색 고체로서 2-4(3.1 g, 60% 수율)를 얻었다. MS: m/z 812 [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 11.39 (s, 1H, D<sub>2</sub>O로 교환됨), 7.71 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.39-7.21 (m, 10H), 6.91-6.89 (m, 4H), 5.91 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 5.52 (d, J = 5.6 Hz, 1H, D<sub>2</sub>O로 교환됨), 5.37 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 5.14 (t, J = 5.1 Hz, 1H), 4.35 (m, 1H), 3.96 (m, 1H), 3.74 (s, 6H), 3.32-3.19 (m, 2H), 2.95 (m, 2H), 1.38-1.15 (m, 28H), 0.86-0.83 (m, 3H).

[0403] 2의 제조

[0404] DCM(20 mL) 중 2-4(1.9 g, 2.3 mmol)의 용액에 N<sub>2</sub> 분위기 하에서 DCI(234 mg, 1.9 mmol) 및 CN(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OP[N(iPr)<sub>2</sub>](843 mg, 2.8 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 30℃에서 2시간 동안 교반하였다. 이어서, 용액을 DCM으로 희석시키고, H<sub>2</sub>O로 세척하였다. 유기 층을 염수로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시키고, 증발시켰다. 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(PE/EtOAc 2/1 내지 1/2)로 정제하여, 백색 고체로서 화합물 2(2.1 g, 86% 수율)를 얻었다. MS: m/z 1012[M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 11.25 (s, 1H), 7.67 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.43-7.21 (m, 10H), 6.90-6.87 (m, 4H), 5.97 (m, 1H), 5.42-5.32 (m, 2H), 4.60 (m, 1H), 4.20-4.14 (m, 2H), 3.81-3.34 (m, 12H), 2.98 (m, 2H), 2.73 (m, 1H), 2.58 (m, 1H), 1.43-1.19 (m, 28H), 1.15-1.00 (m, 12H), 0.86-0.83 (m, 3H); <sup>31</sup>P-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 149.64, 149.60.

## [0405] 실시예 3.



## [0407] 3-3의 제조

[0408] 피리딘(110 mL) 및 DMF(78 mL)의 혼합물 중 3-1(31.0 g, 137.1 mmol), DMTTrCl(51.0 g, 150.8 mmol) 및 DMAP(0.2 g, 촉매량)의 현탁액을 실온에서 15시간 동안 교반하고, 이어서 농축시켰다. 잔류물을 다이클로로메탄과 물 사이에 분배하였다. 유기 층을 중탄산나트륨 수용액 및 염수로 세척하고, MgSO<sub>4</sub>로 건조시켰다. 증발된 잔류물을 톨루엔과 동시증발시켜, 끈적끈적한 오일로서 화합물 3-2를 얻었다. CCl<sub>3</sub>CN(140.0 g) 및 TEA(3 mL)를 첨가하고, 용액을 90℃에서 16시간 동안 가열하였다. 흑색 반응 혼합물을 농축시키고, 잔류 오일을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(DCM: MeOH 100/1 내지 20/1)로 정제하여, 포말로서 화합물 3-3(89.1 g, 97% 수율)을 얻었다. MS: m/z 670 [M-H]<sup>-</sup>.

## [0409] 3-4의 제조

[0410] 에탄올(360 mL) 중 3-3(89.1 g, 132.8 mmol)의 용액에 6 N NaOH 용액(180 mL)을 첨가하고, 반응물을 70℃에서 16시간 동안 환류하고, 이어서 냉각시키고, 농축시켰다. 잔류물을 다이클로로메탄과 포화 염화암모늄 사이에 분배하였다. 수성 상을 다이클로로메탄으로 세척하고, 합한 유기 추출물을 황산마그네슘으로 건조시키고, 여과하고, 증발시켰다. 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(1% TEA를 함유하는 DCM/MeOH 30/1 내지 10/1)로 정제하여, 백색 포말로서 화합물 3-4(42.0 g, 77.1mmol, 3개의 단계에 걸쳐 56.2% 수율)를 얻었다. MS: 544 m/z [M-H]<sup>-</sup>. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.62 (dd, J = 8.3, 4.8 Hz, 1H), 7.43 – 7.19 (m, 9H), 6.97 – 6.83 (m, 4H), 5.79 – 5.61 (m, 2H), 5.39 (dd, J = 8.0, 2.7 Hz, 1H), 3.98 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 3.74 (s, 6H), 3.42 – 3.11 (m, 4H), 2.60 (q, J = 7.2 Hz, 2H).

## [0411] 3-5의 제조

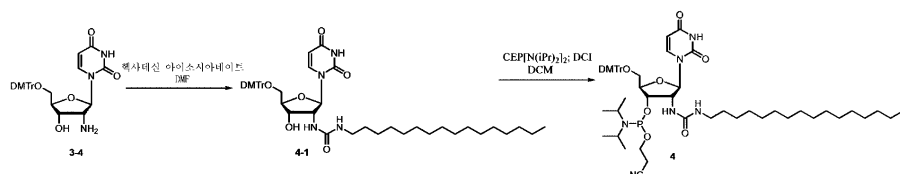
[0412] 건성 DMF(42 mL) 중 3-4(4.2 g, 7.7 mmol)의 용액에 팔미트산(2.0 g, 7.7 mmol), EDCI(1.5 g, 7.7 mmol), HOBT(1.1 g, 7.7 mmol), 및 DIPEA(2.0 g, 15.4 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 15시간 동안 교반하고, 이어서 물로 희석시키고, EtOAc로 추출하였다. 유기 상을 황산마그네슘으로 건조시키고, 여과하고, 증발시켰다. 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(PE/EtOAc, 20% 내지 100%)로 정제하여, 고체로서 3-5(4.8 g, 6.1 mmol, 79% 수율, 98% 순도)를 얻었다. MS: m/z 782 [M-H]<sup>-</sup>. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 11.31 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 7.82 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.63 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.50 – 7.16 (m, 9H), 6.90 (d, J = 8.4 Hz, 4H), 5.88 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 5.69 (d, J = 4.7 Hz, 1H), 5.40 (dd, J = 8.1, 2.0 Hz, 1H), 4.65 (q, J = 7.9 Hz, 1H), 4.01 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 3.74 (s, 6H), 3.22 (m, 1H), 2.14 (td, J = 7.1, 4.0 Hz, 2H), 1.49 – 1.40 (m, 2H), 1.22 (d, J = 7.6 Hz, 26H), 0.85 (t, J = 6.6 Hz, 3H).

## [0413] 3의 제조

[0414] 건성 DCM(30 mL) 중 3-5(2.7 g, 3.4 mmol)의 현탁액에 N<sub>2</sub> 분위기 하에서 CN(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OP[N(iPr)<sub>2</sub>](1.3 g, 4.4 mmol) 및 DCI(341 mg, 2.9 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 2.5시간 동안 교반하였다. 이어서, 용액을 물, 염수로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시켰다. 농축된 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(PE/EtOAc 5/1 내지

1/3)로 정제하여, 백색 고체로서 화합물 3(2.4 g, 2.4 mmol, 70% 수율)을 얻었다. MS:  $m/z$  982  $[M-H]^-$ .  $^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  11.41 (d,  $J = 4.4$  Hz, 1H), 7.99 (t,  $J = 9.5$  Hz, 1H), 7.66 (dd,  $J = 8.2, 1.5$  Hz, 1H), 7.50 – 7.13 (m, 9H), 6.89 (dd,  $J = 9.0, 2.4$  Hz, 4H), 5.98 – 5.91 (m, 1H), 5.42 (dd,  $J = 8.3, 2.6$  Hz, 1H), 4.88 (td,  $J = 8.5, 6.0$  Hz, 1H), 4.52 – 4.09 (m, 2H), 3.74 (s, 7H), 3.63 – 3.44 (m, 2H), 3.28 (d,  $J = 3.4$  Hz, 2H), 2.75 (t,  $J = 6.0$  Hz, 1H), 2.66 (t,  $J = 6.4$  Hz, 1H), 2.13 (ddd,  $J = 17.1, 14.2, 7.0$  Hz, 2H), 1.22 (d,  $J = 9.3$  Hz, 27H), 1.15 – 0.91 (m, 12H), 0.85 (t,  $J = 6.6$  Hz, 3H).  $^{31}P$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  148.88, 147.48.

#### [0415] 실시예 4.



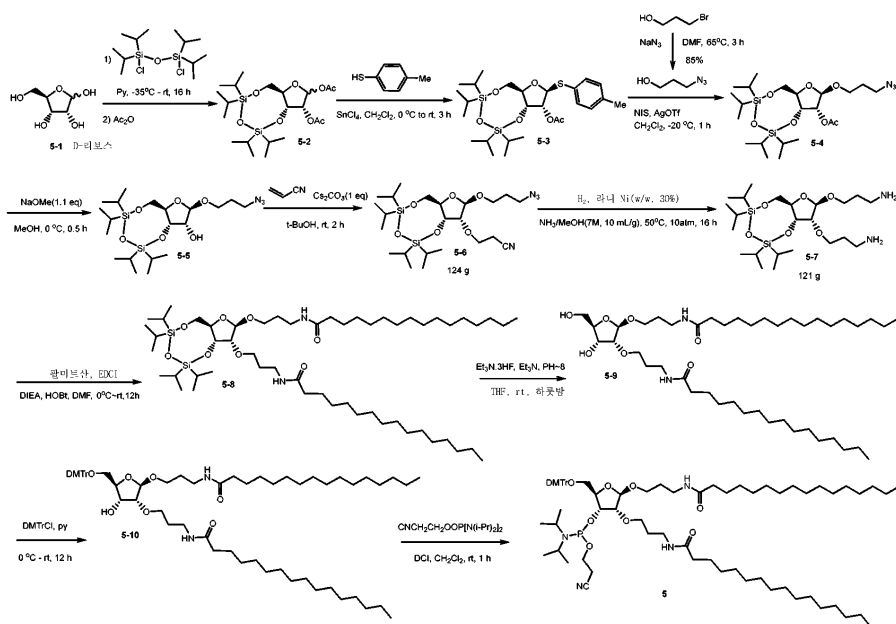
#### [0417] 4-1의 제조

DMF(20 mL) 중 3-4(2.1 g, 3.9 mmol) 및 헥사데실 아이소시아네이트(1.1 g, 3.9 mmol)의 용액을 30℃에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 EtOAc로 희석시키고, H<sub>2</sub>O로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시켰다. 농축된 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(DCM/MeOH 100/1 내지 10/1)로 정제하여, 황색 고체로서 4-1(2.7 g, 3.2 mmol, 82% 수율)을 얻었다. ESI-LCMS:  $m/z$  813  $[M+H]^+$ .  $^1H$ -NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  11.30 (s, 1H, D<sub>2</sub>O로 교환됨), 7.63 (d,  $J = 8$  Hz, 1H), 7.41-7.21 (m, 9H), 6.90 (d,  $J = 8$  Hz, 4H), 6.27 (t,  $J = 5$  Hz, 1H, D<sub>2</sub>O로 교환됨), 5.98 (d,  $J = 8$  Hz, 1H, D<sub>2</sub>O로 교환됨), 5.86 (d,  $J = 5$  Hz, 1H), 5.78 (d,  $J = 8$  Hz, 1H, D<sub>2</sub>O로 교환됨), 5.41-5.39 (m, 1H), 4.45 (dd,  $J = 8$  Hz, 1H), 4.09 (m, 1H), 3.98 (s, 1H), 3.74 (s, 6H), 3.26-3.15 (m, 2H), 2.98-2.88 (m, 2H), 1.37-1.15 (m, 29H), 0.85 (m, 3H).

#### [0419] 4의 제조

DCM(20 mL) 중 4-1(2.1 g, 2.6 mmol)의 용액에 N<sub>2</sub> 분위기 하에서 DCI(313 mg, 2.2 mmol) 및 CN(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OP[N(iPr)<sub>2</sub>](932 mg, 3.1 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 30℃에서 2시간 동안 교반하고, 이어서 DCM으로 희석시키고, H<sub>2</sub>O로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시켰다. 증발된 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(PE/EtOAc 2/1 내지 1/2)로 정제하여, 백색 고체로서 화합물 4(2.3 g, 86% 수율)를 얻었다. MS:  $m/z$  1013  $[M+H]^+$ .  $^1H$ -NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  11.41 (s, 1H), 7.65 (t,  $J = 8$  Hz, 1H), 7.40-7.21 (m, 9H), 6.89 (d,  $J = 8$  Hz, 4H), 6.26 (dt,  $J = 37.9, 5.5$  Hz, 1H), 5.92 (d,  $J = 9$  Hz, 1H), 5.87 – 5.84 (m, 1H), 5.42 (d,  $J = 8$  Hz, 1H), 4.80-4.61 (m, 1H), 4.44-4.13 (m, 2H), 3.90 – 3.47 (m, 10H), 3.31-3.16 (m, 2H), 3.05-2.89 (m, 2H), 2.77-2.68 (m, 2H), 1.34-1.19 (m, 29H), 1.15-0.99 (m, 12H), 0.86-0.83 (m, 3H);  $^{31}P$ -NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  148.94, 147.04.

## [0421] 실시예 5.



[0422]

## [0423] 5-2의 제조

[0424] Ar 하에서 피리딘(1000 mL) 중 (3R,4S,5R)-5-(하이드록시메틸) 테트라하이드로푸란-2,3,4-트라이올(100 g, 666 mmol)의 용액에 -35°C에서 테트라 아이소프로필 1,3-다이클로로다이실록산을 첨가하였다. 반응 혼합물을 가온 되게 하고, 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 이어서, 아세트산 무수물(330 mL)을 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 추가 6시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 0°C에서 물(300 mL)로 채팅하고, 농축시켰다. 수성 잔류물을 EtOAc(1000 mL)로 희석시키고, 물(2 × 500 mL), 2 N 염산(2 × 200 mL), 포화 NaHCO<sub>3</sub> 수용액(2 × 400 mL), 물(2 × 500 mL), 및 포화 염수(2 × 400 mL)로 세척하였다. 유기 층을 건조시키고(무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 여과하고, 감압 하에서 농축시켰다. 조 생성물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(50:1 내지 20:1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 황색 액체로서 160 g(50%)의 5-2를 얻었다. MS: m/z 499.30 [M + Na]<sup>+</sup>.

## [0425] 5-3의 제조

[0426] 아르곤 분위기 하에서 무수 다이클로로메탄(1600 mL) 중 5-2(160 g, 336 mmol), p-티오크레졸(50 g, 403 mmol, 1.2 당량)의 용액에 0°C에서 다이클로로메탄 중 사염화주석의 용액(1M, 74 mL)을 적가하였다. 생성된 용액을 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 반응물을 트라이메틸아민(50 mL)으로 채팅(quenching)하고, 농축시켰다. 조 잔류물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(100:1 내지 80:1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 밝은 황색 오일로서 100 g(55%)의 5-3을 얻었다. MS: m/z 563.20 [M + Na]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 7.45 - 7.39 (m, 2H), 7.13 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 5.38 (dd, J = 5.2, 1.5 Hz, 1H), 5.20 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 4.06 - 3.98 (m, 2H), 3.92 - 3.82 (m, 2H), 2.32 (d, J = 5.1 Hz, 3H), 2.09 (s, 3H), 1.12 - 0.95 (m, 28H).

## [0427] 5-4의 제조

[0428] Ar 하에서 다이클로로메탄(800 mL) 중 5-3(80 g, 148 mmol) 및 3-아지도-1-프로판올(37.4 g, 370.2 mmol, 2.5 당량)의 용액에 -20°C에서 N-요오도석신이미드(36.7 g, 162.9 mmol, 1.1 당량) 및 은 트라이플루오로메탄설포네이트(3.8 g, 14.8 mmol, 0.1 당량)를 첨가하였다. 생성된 용액을 -20°C에서 30분 동안 교반하고, 트라이메틸아민(30 mL)으로 채팅하고, 농축시켰다. 조 생성물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(50:1 내지 20:1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 황색 오일로서 52 g(68% 수율)의 5-4를 얻었다. MS: 540.40 m/z [M + Na]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 5.22 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 4.86 (s, 1H), 4.52 (dd, J = 7.1, 4.8 Hz, 1H), 4.05 - 3.92 (m, 2H), 3.87 - 3.70 (m, 2H), 3.49 - 3.40 (m, 1H), 3.36 (t, J = 6.7 Hz, 2H), 2.11 (s, 3H), 1.87 - 1.76 (m, 2H), 1.12 - 0.96 (m, 28H).

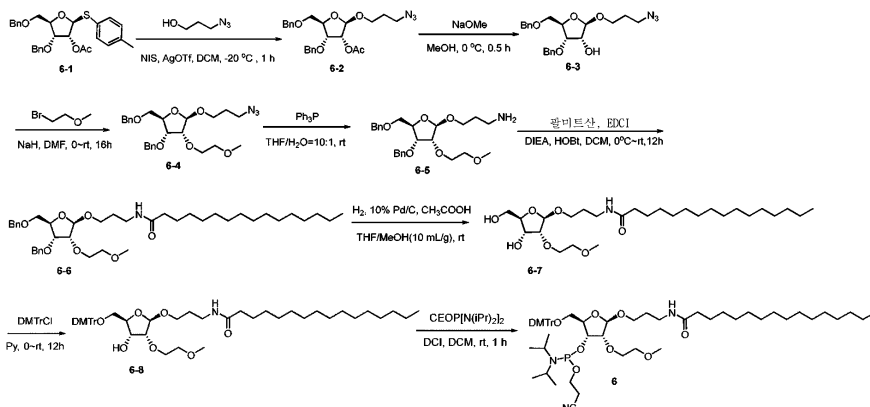
- [0429] 5-5의 제조
- [0430] 0℃에서 Ar 분위기 하에서 메탄올(340 mL) 중 5-4(34 g, 65.8 mmol)의 용액에 MeOH 중 NaOMe(5 M, 19.7 mL)를 첨가하였다. 생성된 용액을 0℃에서 1시간 동안 교반하고, 이어서 빙초산으로 켄칭하고, 농축시켰다. 조 생성물을 실리카 겔 컬럼 상에 적용하고, 석유 에테르/에틸 아세테이트(40:1 내지 10:1)로 용리하여, 황색 오일로서 24.5 g(78% 수율)의 5-5를 얻었다. MS: m/z 498.25 [M + Na]<sup>+</sup>.
- [0431] 5-6의 제조
- [0432] Ar 하에서 tert-부탄올(250 mL) 중 5-5(25 g, 52.6 mmol)의 용액에 아크릴로니트릴(56.4 g, 1052.6 mmol, 20 당량) 및 탄산세슘(17.2 g, 52.6 mmol, 1.0 당량)을 첨가하고, 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 생성된 혼합물을 여과하고, 여과액을 농축시켰다. 조 생성물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(30:1 내지 8:1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 황색 오일로서 20 g(74% 수율)의 5-6을 얻었다. MS: 546.40 m/z [M + NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 4.86 (s, 1H), 4.50 (dd, J = 8.2, 4.0 Hz, 1H), 4.24 - 4.13 (m, 1H), 4.04 - 3.88 (m, 3H), 3.84 - 3.73 (m, 3H), 3.52 - 3.43 (m, 1H), 3.38 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.73 - 2.56 (m, 2H), 1.89 - 1.77 (m, 2H), 1.16 - 1.01 (m, 28H).
- [0433] 5-7의 제조
- [0434] 메탄올 중 7 M NH<sub>3</sub> 100 mL 중 5-6(10 g, 18.9 mmol)의 용액에 라니(Raney) Ni(50%, 5 g)를 첨가하였다. 혼합물을 5 atm의 수소 압력 하에서 50℃에서 24시간 동안 수소화하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 여과하였다. 여과액을 농축시켜, 황색 고체로서 7.6 g(77% 수율)의 5-7을 얻었다. 이것을 추가의 정제 없이 다음 단계에 사용하였다. MS m/z [M + H]<sup>+</sup> (ESI): 507.30.
- [0435] 5-8의 제조
- [0436] Ar 하에서 0℃에서 다이클로로메탄(56 mL) 중 5-7(5.6 g, 11.1 mmol) 및 팔미트산(6.2 g, 24.4 mmol, 2.2 당량)의 용액에 1-(3-다이메틸아미노프로필)-3-에틸카르보다이이미드 하이드로클로라이드(5.3 g, 27.6 mmol, 2.5 당량), N,N-다이아이소프로필에틸아민(7.2 g, 55.3 mmol, 5.0 당량), 및 1-하이드록시벤조트리아아졸(3.73 g, 27.65 mmol, 2.5 당량)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 다이클로로메탄(400 mL)으로 희석시키고, 물로 세척하였다. 유기 층을 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 컬럼 상에 적용하고, 다이클로로메탄/메탄올(100:1 내지 80:1)로 용리하여, 황색 고체로서 6.0 g(55%)의 5-8을 얻었다. MS: m/z 983.90 [M + H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 6.24 (d, J = 24.1 Hz, 2H), 4.83 (s, 1H), 4.45 (dd, J = 8.3, 4.3 Hz, 1H), 3.98 - 3.94 (m, 3H), 3.92 - 3.85 (m, 1H), 3.78 - 3.69 (m, 2H), 3.67 (d, J = 4.3 Hz, 1H), 3.54 - 3.41 (m, 3H), 3.28 (dd, J = 13.0, 6.1 Hz, 1H), 3.21 - 3.07 (m, 1H), 2.20 - 2.09 (m, 4H), 1.85 - 1.69 (m, 4H), 1.65 - 1.57 (m, 4H), 1.26 (s, 48H), 1.09 - 1.02 (m, 28H), 0.90 - 0.85 (m, 6H).
- [0437] 5-9의 제조
- [0438] Ar 하에서 무수 THF(60 mL) 중 트라이에틸아민 트라이하이드로플루오라이드(2.95 g, 18.3 mmol)의 용액에 트라이에틸아민(3.69 g, 36.6 mmol)을 첨가하고, 실온에서 10분 동안 교반하였다. 무수 THF(60 mL) 중 5-8(6 g, 6.1 mmol)의 용액을 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 이어서, 이것을 다이클로로메탄(300 mL)으로 희석시키고, 물 및 포화 염수로 세척하였다. 유기 층을 건조시키고(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 10 mL의 다이클로로메탄으로 용해시키고, 교반하면서 200 mL의 아세트니트릴에 서서히 부었다. 고체를 여과에 의해 수집하였다. 3 g(66% 수율)의 5-9를 백색 고체로서 얻었다. MS: m/z 742.00 [M + H]<sup>+</sup>.
- [0439] 5-10의 제조
- [0440] Ar 하에서 0℃에서 피리딘(60 mL) 중 5-9(2.8 g, 3.78 mmol)의 용액에 4,4'-다이메톡시트라이틸 클로라이드(1.54 g, 1.53 mmol, 1.2 당량)를 첨가하고, 25℃에서 4시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 메탄올(10 mL)로 켄칭하고, 다이클로로메탄(200 mL)으로 희석시키고, 포화 중탄산나트륨 수용액 및 포화 염수로 세척하였다. 유기 층을 건조시키고(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 다이클로로메탄/메탄올(100:1 내지 60:1)을 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 밝은 황색 오일로서 3.1 g(79% 수율)의 5-10을 얻었다. MS: m/z

1041.75 [M - H]<sup>-</sup>. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 7.55 - 7.41 (m, 1H), 7.37 (d, *J* = 1.0 Hz, 1H), 7.34 (d, *J* = 1.0 Hz, 1H), 7.32 - 7.27 (m, 3H), 7.20 - 7.14 (m, 3H), 6.87 - 6.76 (m, 4H), 6.14 - 5.84 (m, 2H), 5.03 - 4.93 (m, 1H), 4.34 - 4.17 (m, 1H), 4.16 - 4.01 (m, 2H), 3.86 - 3.81 (m, 1H), 3.80 (s, 4H), 3.78 (s, 2H), 3.77 - 3.74 (m, 1H), 3.72 - 3.61 (m, 2H), 3.58 - 3.43 (m, 2H), 3.41 - 3.26 (m, 3H), 3.23 - 3.06 (m, 1H), 2.75 (s, 1H), 2.19 - 2.04 (m, 4H), 1.95 - 1.70 (m, 4H), 1.69 - 1.54 (m, 4H), 1.26 (s, 48H), 0.93 - 0.81 (m, 6H).

[0441] 5의 제조

[0442] Ar 하에서 다이클로로메탄(31 mL) 중 5-10(3.1 g, 3 mmol)의 용액에 3-(비스(다이아이소프로필아미노)포스포노옥시)프로판니트릴(1.1 g, 3.6 mmol, 1.2 당량), 4,5-다이시아노이미다졸(386 mg, 3.3 mmol, 1.1 당량)을 첨가하고, 실온에서 40분 동안 교반하였다. 생성된 용액을 다이클로로메탄(500 mL)으로 희석시키고, 포화 중탄산나트륨 수용액 및 포화 염수로 세척하였다. 유기 층을 건조시키고(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 여과하고, 농축시켰다. 조 생성물을 분취용-플래시(C18 컬럼; 이동상, 물 및 테트라하이드로푸란, 구배 30% 내지 100% THF)로 정제하여, 백색 고체로서 2.17 g(60% 수율)의 화합물 5를 얻었다. MS: *m/z* 1265.95 [M + Na]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7.72 - 7.65 (m, 2H), 7.47 - 7.41 (m, 2H), 7.33 - 7.25 (m, 6H), 7.23 - 7.16 (m, 1H), 6.87 (dd, *J* = 8.6, 4.7 Hz, 4H), 4.98 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H), 4.35 - 4.13 (m, 1H), 4.08 - 4.01 (m, 1H), 3.77 - 3.66 (m, 9H), 3.63 - 3.40 (m, 6H), 3.30 - 3.17 (m, 1H), 3.16 - 3.09 (m, 2H), 3.09 - 3.00 (m, 2H), 2.94 (dd, *J* = 10.3, 5.4 Hz, 1H), 2.75 (t, *J* = 6.0 Hz, 1H), 2.57 - 2.53 (m, 1H), 2.06 - 1.98 (m, 4H), 1.69 - 1.55 (m, 4H), 1.52 - 1.42 (m, 4H), 1.23 (s, 48H), 1.12 - 1.04 (m, 9H), 0.91 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 0.85 (t, *J* = 6.6 Hz, 6H). <sup>31</sup>P NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 148.86, 148.57.

[0443] 실시예 6.



[0444]

[0445] 6-2의 제조

[0446] Ar 하에서 -20°C에서 다이클로로메탄(450 mL) 중 6-1(45 g, 94.1 mmol) 및 3-아지도프로판-1-올(23.8 g, 235 mmol, 2.5 당량)의 용액에 NIS(23.3 g, 103.6 mmol, 1.1 당량) 및 은 트라이플루오로메탄설포네이트(2.4 g, 9.4 mmol, 0.1 당량)를 첨가하였다. 생성된 용액을 -20°C에서 1시간 동안 교반하고, 이어서 20 mL의 트라이메틸아민으로 키텅하고, 농축시켰다. 조 생성물을 실리카 겔 컬럼 상에 적용하고, 석유 에테르/에틸 아세테이트(100:1 내지 10:1)로 용리하여, 황색 오일로서 25 g(58% 수율)의 6-2를 얻었다. MS: *m/z* 473.30 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>.

[0447] 6-3의 제조

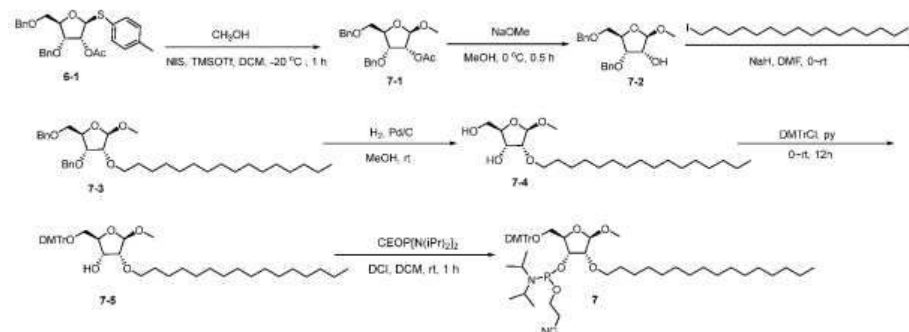
[0448] Ar 하에서 0°C에서 MeOH(250 mL) 중 6-2(25 g, 54.9 mmol)의 용액에 NaOMe의 메탄올성 용액(5 M, 13.2 mL)을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 0°C에서 0.5시간 동안 교반하고, 이어서 빙초산으로 키텅하고, 농축시켰다. 조 생성물을 실리카 겔 컬럼 상에 적용하고, 석유 에테르/에틸 아세테이트(100:1 내지 8:1)로 용리하여, 황색 오일로서 20 g(88% 수율)의 6-3을 얻었다. MS: *m/z* 431.30 [M+Na]<sup>+</sup>.

[0449] 6-4의 제조

- [0450] 0℃에서 DMF(200 mL) 중 6-3(20 g, 48.42 mmol)의 용액에 수소화나트륨(오일 중 60% 분산액, 9.68 g, 242 mmol, 5.0 당량)을 첨가하고, 0℃에서 30분 동안 교반하였다. 1-브로모-2-메톡시에탄(13.3 g, 96.9 mmol, 2.0 당량)을 첨가하고, 생성된 용액을 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 200 mL의 포화 염화암모늄 용액으로 킨칭하고, 이어서 에틸 아세테이트(2 × 200 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 물 및 염수로 세척하고, 건조시키고(무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 여과하고, 농축시켰다. 조 생성물을 실리카 겔 컬럼 상에 적용하고, 다이클로로메탄/메탄올(100:1 내지 80:1)로 용리하여, 황색 오일로서 16 g(70% 수율)의 6-4를 얻었다. MS: m/z 489.30 [M+Na]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.40-7.22 (m, 10H), 4.94 (d, J = 1.1 Hz, 1H), 4.63-4.42 (m, 4H), 4.10-4.01 (m, 1H), 4.00-3.92 (m, 1H), 3.90-3.84 (m, 1H), 3.74-3.51 (m, 4H), 3.49-3.35 (m, 4H), 3.25 (s, 5H), 1.74-1.63 (m, 2H).
- [0451] 6-5의 제조
- [0452] 테트라하이드로푸란과 물(10:1)의 혼합물 320 mL 중 6-4(16 g, 34 mmol)의 용액에 트라이페닐포스핀(17.8 g, 67.9 mmol, 2.0 당량)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 12시간 동안 교반하고, 이어서 농축시켰다. 잔류물을 플래시-분취용-HPLC(C18 컬럼; 이동상, 물(0.05% NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>를 함유함) 및 MeCN, 구배 20% 내지 100% MeCN)로 정제하여, 황색 오일로서 13 g(86% 수율)의 6-5를 얻었다. MS: m/z): 446.25 [M+H]<sup>+</sup>.
- [0453] 6-6의 제조
- [0454] Ar 하에서 0℃에서 다이클로로메탄(130 mL) 중 6-5(13 g, 29.2 mmol) 및 팔미트산(11.2 g, 43.8 mmol, 1.5 당량)의 용액에 1-(3-다이메틸아미노프로필)-3-에틸카르보다이이미드 하이드로클로라이드(8.4 g, 43.8 mmol, 1.5 당량), N,N-다이아이스프로필에틸아민(11.3 g, 87.6 mmol, 3 당량), 및 1-하이드록시벤조트라이아졸(5.91 g, 43.8 mmol, 1.5 당량)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 12시간 동안 교반하고, 이어서 다이클로로메탄(200 mL)으로 희석시키고, 물로 세척하였다. 유기 층을 건조시키고(무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 여과하고, 감압 하에서 농축시켰다. 잔류물을 다이클로로메탄/메탄올(100:1 내지 60:1)을 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 황색 오일로서 11 g(55% 수율)의 6-6을 얻었다. MS m/z 706.45 [M+Na]<sup>+</sup>.
- [0455] 6-7의 제조
- [0456] MeOH/THF(1:1, 110 mL) 중 6-6(11 g, 16.10 mmol)의 용액에 Pd/C(10%, 1.1 g) 및 아세트산(5 mL)을 첨가하고, H<sub>2</sub> 분위기 하에서 8시간 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 여과액을 농축시켰다. 조 생성물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(20:1 내지 4:1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 백색 고체로서 7.5 g(92% 수율)의 6-7을 얻었다. MS: m/z): 526.40 [M+Na]<sup>+</sup>.
- [0457] 6-8의 제조
- [0458] Ar 하에서 0℃에서 피리딘(75 mL) 중 6-7(7.5 g, 14.9 mmol)의 용액에 4,4'-다이메톡시트라이틸 클로라이드(6.04 g, 17.9 mmol, 1.2 당량)를 첨가하였다. 생성된 용액을 실온에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 MeOH(10 mL)로 킨칭하고, 다이클로로메탄(10 mL)으로 희석시키고, 포화 중탄산나트륨 수용액 및 포화 염수로 세척하였다. 유기 층을 건조시키고(무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 컬럼 상에 적용하고, 다이클로로메탄/메탄올(100:1 내지 40:1)로 용리하여, 밝은 황색 오일로서 8 g(66% 수율)의 6-8을 얻었다. MS: m/z 804.45 [M-H]<sup>-</sup>. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.74-7.63 (m, 1H), 7.47-7.40 (m, 2H), 7.34-7.15 (m, 6H), 6.92-6.83 (m, 4H), 4.90 (d, J = 1.1 Hz, 1H), 4.07-3.87 (m, 3H), 3.79-3.58 (m, 9H), 3.53-3.35 (m, 3H), 3.26 (s, 3H), 3.17-2.88 (m, 4H), 1.99 (d, J = 3.1 Hz, 3H), 1.64-1.36 (m, 4H), 1.23 (s, 24H), 0.95-0.80 (m, 3H).
- [0459] 6의 제조
- [0460] Ar 하에서 다이클로로메탄(80 mL) 중 6-8(8 g, 9.9 mmol)의 용액에 3-((비스(다이아이스프로필아미노) 포스파네일)옥시)프로판니트릴(4.2 g, 13.9 mmol, 1.4 당량) 및 4,5-다이시아노이미다졸(1.4 g, 11.9 mmol, 1.2 당량)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하고, 이어서 다이클로로메탄(80 mL)으로 희석시키고, 포화 중탄산나트륨 수용액 및 포화 염수로 세척하였다. 유기 상을 건조시키고(무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 여과하고, 농축시

켰다. 잔류물을 플래시-분취용-HPLC(C18 컬럼; 이동상, 0.05%  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ 를 함유하는 물 및 THF; 구배 20% 내지 100% THF)로 정제하여, 무색 오일로서 5.07 g(49% 수율)의 화합물 6을 얻었다. MS:  $m/z$  1006.85  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  7.66 (t,  $J = 5.6$  Hz, 1H), 7.51-7.40 (m, 2H), 7.35-7.13 (m, 7H), 6.95-6.81 (m, 4H), 5.01-4.90 (m, 1H), 4.38-4.11 (m, 1H), 4.03 (d,  $J = 6.4$  Hz, 1H), 3.81-3.63 (m, 11H), 3.57-3.38 (m, 6H), 3.25 (d,  $J = 3.0$  Hz, 3H), 3.20-3.13 (m, 1H), 3.01 (d,  $J = 3.2$  Hz, 2H), 2.97-2.87 (m, 1H), 2.79-2.70 (m, 1H), 2.60-2.52 (m, 1H), 2.04-1.94 (m, 2H), 1.58 (d,  $J = 6.1$  Hz, 2H), 1.46 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 1.22 (d,  $J = 2.2$  Hz, 24H), 1.13-1.01 (m, 9H), 0.90 (d,  $J = 6.7$  Hz, 3H), 0.87-0.81 (m, 3H).  $^{31}\text{P}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  148.92, 148.41.

[0461] 실시예 7.



[0462]

[0463] 7-1의 제조

[0464]  $\text{N}_2$  하에서  $-20^\circ\text{C}$ 에서 다이클로로메탄(180 mL) 중 6-1(6 g, 12.5 mmol)의 용액에 MeOH(4 g, 125.3 mmol, 10 당량), NIS(3.1 g, 13.8 mmol, 1.1 당량) 및 트라이메틸실릴 트라이플루오로메탄설포네이트(557 mg, 2.5 mmol, 0.2 당량)를 첨가하였다. 생성된 용액을  $-20^\circ\text{C}$ 에서 1시간 동안 교반하고, 이어서 티오황산나트륨 수용액(300 mL)으로 켄칭하였다. 혼합물을 다이클로로메탄( $3 \times 600$  mL)으로 추출하고, 합한 유기 추출물을 건조시키고(무수  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 에틸 아세테이트/석유 에테르(1:50 내지 1:1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 황색 오일로서 4 g(72% 수율)의 7-1을 얻었다.

[0465] 7-2의 제조

[0466] Ar 하에서  $0^\circ\text{C}$ 에서 MeOH(100 mL) 중 7-1(6 g, 15.5 mmol)의 용액에 NaOMe(1 g, 18.6 mmol, 1.2 당량)를 첨가하고,  $0^\circ\text{C}$ 에서 0.5시간 동안 교반하였다. 생성된 용액을 다이클로로메탄(300 mL)으로 희석시키고, 물로 세척하였다. 유기 층을 건조시키고(무수  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 컬럼 상에 적용하고, 에틸 아세테이트/석유 에테르(1:10 내지 5:1)로 용리하여, 황색 오일로서 4.5 g(84%)의 7-2를 얻었다. MS:  $m/z$  386.17  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

[0467] 7-3의 제조

[0468] DMF(90 mL) 중 7-2(4.5 g, 13.1 mmol)의 용액에  $0^\circ\text{C}$ 에서 수소화나트륨(광유 중 60%, 2.6 g)을 첨가하고, 생성된 혼합물을 15분 동안 교반하였다. 1-요오도헥사데칸(9.21 g, 26.1 mmol, 2.0 당량)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 물(200 mL)로 켄칭하고, 다이클로로메탄( $3 \times 500$  mL)으로 추출하였다. 합한 유기 분획을 건조시키고(무수  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 에틸 아세테이트/석유 에테르(1:50 내지 1:1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 황색 오일로서 5.5 g(74% 수율)의 7-3을 얻었다. MS:  $m/z$  568.41  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  7.47-7.20 (m, 10H), 4.83 (d,  $J = 1.1$  Hz, 1H), 4.60 - 4.39 (m, 4H), 4.10-4.01 (m, 1H), 3.96-3.90 (m, 1H), 3.80-3.73 (m, 1H), 3.60-3.36 (m, 4H), 3.22 (s, 3H), 1.60-1.37 (m, 2H), 1.23 (d,  $J = 2.3$  Hz, 27H), 0.95-0.77 (m, 3H).

[0469] 7-4의 제조

[0470] MeOH(550 mL) 중 7-3(5.5 g, 9.7 mmol)의 용액에 10% Pd/C(2.25 g)를 첨가하고, 생성된 혼합물을  $\text{H}_2$  하에서 16시간 동안 교반하였다. 고체를 여과 제거하고, 여과액을 농축시켜, 백색 고체로서 3 g(80% 수율)의 7-4를 얻었다.

다. 이것을 추가의 정제 없이 다음 단계에 사용하였다. MS:  $m/z$  388.32  $[M+H]^+$ .

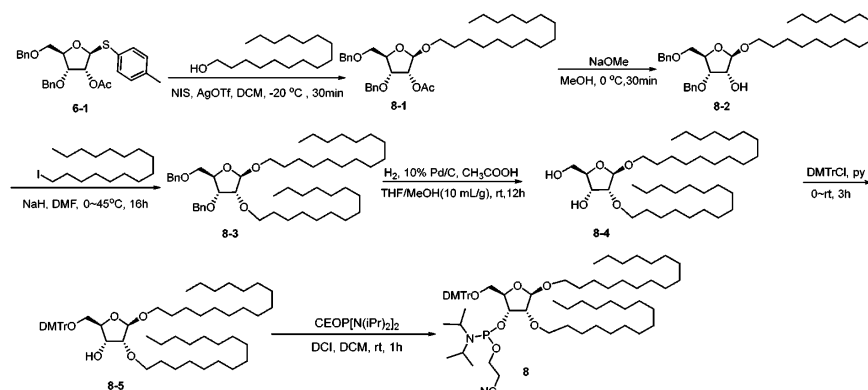
[0471] 7-5의 제조

[0472]  $N_2$  하에서 피리딘(64 mL) 중 7-4(3.2 g, 8.2 mmol)의 용액에 0℃에서 4,4'-(클로로(페닐)메틸렌)비스(메톡시벤젠)(2.93 g, 8.6 mmol, 1.1 당량)을 첨가하였다. 생성된 용액을 실온에서 2시간 동안 교반하고, 이어서 다이클로로메탄(200 mL)으로 희석시키고, 물로 세척하였다. 유기 층을 건조시키고(무수  $Na_2SO_4$ ), 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 에틸 아세테이트/석유 에테르(1:50 내지 1:1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 황색 오일로서 4.1 g(72%)의 7-5를 얻었다. MS:  $m/z$  690.45  $[M+H]^+$ .  $^1H$  NMR ( $DMSO-d_6$ )  $\delta$  7.47-7.38 (m, 2H), 7.33-7.20 (m, 7H), 6.92-6.82 (m, 4H), 4.80 (d,  $J$  = 1.0 Hz, 1H), 4.07-3.86 (m, 2H), 3.74 (s, 6H), 3.63-3.43 (m, 3H), 3.27 (s, 3H), 3.10 (dd,  $J$  = 10.0, 2.6 Hz, 1H), 2.96 (dd,  $J$  = 9.9, 5.5 Hz, 1H), 1.50 (d,  $J$  = 6.9 Hz, 2H), 1.25 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 26H), 0.87-0.84 (m, 3H).

[0473] 7의 제조

[0474] 다이클로로메탄(30 mL) 중 7-5(3 g, 4.3 mmol)의 용액에 3-((비스(다이아이소프로필아미노)포스파네일)옥시)프로판니트릴(1.7 g, 5.6 mmol, 1.3 당량) 및 4,5-다이시아노이미다졸(564 mg, 4.8 mmol, 1.1 당량)을 첨가하고, 생성된 용액을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 이어서, 이것을 다이클로로메탄으로 희석시키고, 중탄산나트륨 수용액으로 세척하였다. 유기 층을 건조시키고(무수  $Na_2SO_4$ ), 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 에틸 아세테이트/석유 에테르(1:50 내지 1:10)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 밝은 황색 오일로서 1.9 g(48%)의 화합물 7을 얻었다. MS:  $m/z$  891.60  $[M+H]^+$ .  $^1H$  NMR ( $DMSO-d_6$ )  $\delta$  7.49-7.37 (m, 2H), 7.37-7.14 (m, 7H), 6.88 (dd,  $J$  = 8.9, 2.9 Hz, 4H), 4.87 (d,  $J$  = 2.3 Hz, 1H), 4.36-4.09 (m, 1H), 4.04 (d,  $J$  = 6.3 Hz, 1H), 3.74 (d,  $J$  = 1.4 Hz, 9H), 3.62-3.44 (m, 5H), 3.25-3.11 (m, 1H), 2.96 (dd,  $J$  = 9.9, 5.3 Hz, 1H), 2.80-2.66 (m, 1H), 2.56 (d,  $J$  = 5.9 Hz, 1H), 1.50 (s, 2H), 1.24 (s, 27H), 1.13-1.03 (m, 8H), 0.95 - 0.82 (m, 7H).  $^{31}P$  NMR ( $DMSO-d_6$ )  $\delta$  148.87, 148.5.

[0475] 실시예 8.



[0476]

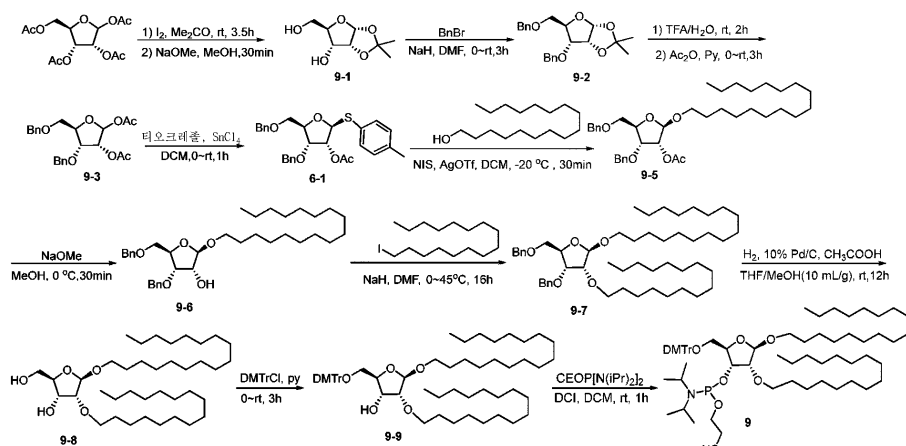
[0477] 8-1의 제조

[0478] 불활성 아르곤 분위기 하에서 다이클로로메탄(720 mL) 중 6-1(72 g, 150.6 mmol) 및 1-헥사데칸올(44 g, 180.58 mmol, 1.2 당량)의 용액에 -20℃에서 N-요오도석신이미드(37 g, 151.1 mmol, 1.1 당량) 및 은 트라이플루오로메탄설포네이트(4 g, 15.06 mmol, 0.1 당량)를 첨가하였다. 생성된 용액을 -20℃에서 30분 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 15 mL의 트라이메틸아민으로 키텅하고, 감압 하에서 농축시켰다. 조 생성물을 실리카 겔 컬럼 상에 적용하고, 석유 에테르/에틸 아세테이트(50:1 내지 20:1)로 용리하여, 밝은 황색 오일로서 70 g(79%)의 8-1을 얻었다. MS:  $m/z$  619.45  $[M+Na]^+$ .  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$  7.46-7.18 (m, 10H), 5.25 (d,  $J$  = 4.4 Hz, 1H), 5.00 (s, 1H), 4.61-4.58 (m, 2H), 4.46 (d,  $J$  = 11.4 Hz, 1H), 4.29-4.22 (m, 1H), 4.17 (dd,  $J$  = 7.5, 4.5 Hz, 1H), 3.76-3.61 (m, 2H), 3.54 (dd,  $J$  = 10.5, 6.0 Hz, 1H), 3.38 (dt,  $J$  = 9.4, 6.6 Hz, 1H), 2.15 (s, 3H), 1.51 (q,  $J$  = 6.7 Hz, 2H), 1.29 (d,  $J$  = 3.8 Hz, 26H), 0.95-0.88 (m, 4H).

- [0479] 8-2의 제조
- [0480] 8-1(70 g, 117.4 mmol, 1.0 당량)을 불활성 아르곤 분위기 하에서 700 mL의 메탄올 중에 용해시키고, 혼합물을 0℃에서 메탄올 중 5 M 소듐 메탄올레이트의 용액 35 mL에 첨가하였다. 생성된 용액을 0℃에서 30분 동안 교반하였다. 생성된 혼합물을 40 mL의 3 M 염산으로 킨칭하고, 감압 하에서 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(80:1 내지 50:1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에 적용하여 정제하여, 밝은 황색 오일로서 51 g(78%)의 8-2를 얻었다. MS: m/z 577.45 [M+Na]<sup>+</sup>.
- [0481] 8-3의 제조
- [0482] 510 mL의 DMF 중 8-2(51 g, 92.1 mmol)의 용액에 0℃에서 수소화나트륨(11 g, 460 mmol, 5.0 당량)을 첨가하였다. 생성된 용액을 0℃에서 30분 동안 교반하였다. 이어서, 1-요오도헥사데칸(47 g, 138 mmol, 1.5 당량)을 0℃에서 첨가하고, 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 200 mL의 포화 염화암모늄 용액으로 킨칭하고, 3000 mL의 에틸 아세테이트로 희석시키고, 2 × 1800 mL의 물, 1 × 1800 mL의 포화 티오황산나트륨 수용액, 포화 중탄산나트륨 수용액, 및 포화 염화나트륨 수용액으로 세척하였다. 조 생성물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(100:1 내지 80:1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 황색 고체로서 49 g(76%)의 8-3을 얻었다. MS: m/z 796.85 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>.
- [0483] 8-4의 제조
- [0484] 수소 분위기 하에서 392 mL의 테트라하이드로푸란 및 98 mL의 메탄올 중 8-3(49 g, 61.8 mmol)의 용액에 실온에서 10% Pd/C(49 g) 및 아세트산(50 mL)을 첨가하고, 12시간 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 여과액을 감압 하에서 농축시켰다. 32 g(86% 수율)의 8-4를 백색 고체로서 얻었다. 이것을 추가의 정제 없이 다음 단계에 사용하였다. MS: m/z 630.65 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>.
- [0485] 8-5의 제조
- [0486] 불활성 아르곤 분위기 하에서 300 mL의 피리딘 중 8-4(30 g, 48.9 mmol)의 용액에 4,4'-다이메톡시트리틸 클로라이드(20 g, 58.8 mmol, 1.2 당량)를 첨가하고, 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 150 mL의 메탄올로 킨칭하고, 2500 mL의 다이클로로메탄으로 희석시키고, 2 × 2000 mL의 포화 중탄산나트륨 수용액 및 2 × 2000 mL의 포화 염화나트륨 수용액으로 세척하였다. 유기 층을 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하고, 감압 하에서 농축시켰다. 조 생성물을 실리카 겔 컬럼 상에 적용하고, 석유 에테르/0.05% TEA를 함유하는 에틸 아세테이트(60:1 내지 30:1)로 용리하였다. 밝은 황색 오일로서 39.1 g(88% 수율)의 8-5를 얻었다. MS: m/z 899.60 [M-H]<sup>-</sup>. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 7.59-7.47 (m, 2H), 7.41 (d, J = 8.7 Hz, 3H), 7.34-7.26 (m, 3H), 6.85 (dd, J = 8.8, 6.4 Hz, 4H), 5.02 (dd, J = 7.2, 1.4 Hz, 1H), 4.24-4.14 (m, 1H), 4.14-4.06 (m, 1H), 3.82 (d, J = 4.7 Hz, 6H), 3.78 - 3.63 (m, 3H), 3.60-3.51 (m, 1H), 3.46-3.35 (m, 1H), 3.30 (dd, J = 9.9, 3.8 Hz, 1H), 3.17 (dd, J = 9.9, 5.6 Hz, 1H), 2.60 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 1.70-1.60 (m, 2H), 1.52 (d, J = 13.7 Hz, 2H), 1.28 (d, J = 8.8 Hz, 52H), 0.91 (t, J = 6.7 Hz, 6H).
- [0487] 8의 제조
- [0488] 불활성 아르곤 분위기 하에서 350 mL의 다이클로로메탄 중 8-5(35 g, 38.9 mmol)의 용액에 실온에서 3-(비스(다이아이소프로필아미노)포스포노옥시)프로판트릴(14 g, 46.7 mmol, 1.2 당량) 4,5-다이시아노이미다졸(5 g, 42.8 mmol, 1.1 당량)을 첨가하였다. 생성된 용액을 1시간 동안 교반하고, 이어서 500 mL의 다이클로로메탄으로 희석시키고, 3 × 2000 mL의 포화 중탄산나트륨 수용액 및 3 × 2000 mL의 포화 염화나트륨 수용액으로 세척하였다. 유기 층을 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하고, 감압 하에서 농축시켰다. 조 생성물을 실리카 겔 컬럼 상에 적용하고, 헥산/0.05% TEA를 함유하는 에틸 아세테이트(80:1 내지 30:1)로 용리하여, 무색 오일로서 21 g(51% 수율)의 화합물 8을 얻었다. MS: m/z 1101.80 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 7.52 (dd, J = 7.9, 4.0 Hz, 2H), 7.40 (dd, J = 8.5, 6.0 Hz, 4H), 7.31 (s, 1H), 7.28-7.18 (m, 2H), 6.83 (dd, J = 8.5, 6.3 Hz, 4H), 5.03 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 4.44-4.18 (m, 2H), 3.81 (d, J = 3.6 Hz, 9H), 3.62-3.57 (m, 5H), 3.45-3.27 (m, 2H), 3.10 (dd, J = 9.9, 5.0 Hz, 1H), 2.63 (q, J = 6.7, 6.1 Hz, 1H), 2.36 (t, J = 6.6 Hz, 1H), 1.62-1.60 (m, 1H), 1.50 (d, J = 6.4 Hz, 3H), 1.26 (d, J = 14.8 Hz, 52H), 1.19-1.13 (m, 8H), 0.99

(d,  $J = 6.7$  Hz, 3H), 0.91 (t,  $J = 6.6$  Hz, 7H).  $^{31}\text{P}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  149.84, 149.38.

# [0489] 실시예 9.



[0490]

## [0491] 9-1의 제조

[0492] 불활성 아르곤 분위기 하에서 1000 mL의 아세톤 중 (3R,4R,5R)-5-(아세톡시메틸) 테트라하이드로푸란-2,3,4-트라이일 트라이아세테이트(100 g, 314.2 mmol)의 용액에 0℃에서 요오드를 첨가하였다. 생성된 용액을 실온에서 3.5시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 2000 mL의 에틸 아세테이트로 희석시키고, 2 × 500 mL의 포화 티오황산나트륨 수용액 및 2 × 500 mL의 포화 중탄산나트륨 수용액으로 각각 세척하였다. 유기 층을 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하고, 감압 하에서 농축시켰다. 잔류물을 700 mL의 메탄올 중에 용해시키고, 0℃로 냉각시켰다. 이어서, 메탄올 중 5 M 소듐 메탄올레이트 54 mL를 첨가하고, 불활성 아르곤 분위기 하에서 0℃에서 30분 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 90 mL의 3 N 염산으로 켄칭하고, 감압 하에서 농축시켰다. 조 생성물을 실리카 겔 컬럼 상에 적용하고, 다이클로로메탄/메탄올(120:1 내지 40:1)로 용리하여, 황색 고체로서 37 g(62%)의 9-1을 얻었다. MS:  $m/z$  189.05  $[\text{M}-\text{H}]^-$ .

## [0493] 9-2의 제조

[0494] 불활성 아르곤 분위기 하에서 무수 DMF(220 mL) 중 9-1(22 g, 115.8 mmol)의 용액에 0℃에서 수소화나트륨(8.34 g, 347.4 mmol, 3.0 당량)을 서서히 첨가한 후, 0℃에서 벤질 브로마이드(49.5 g, 289.5 mmol, 2.5 당량)를 첨가하였다. 생성된 용액을 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 20 mL의 포화 염화암모늄 용액으로 켄칭하고, 500 mL의 에틸 아세테이트로 희석시키고, 2 × 150 mL의 물 및 2 × 150 mL의 포화 염화나트륨 수용액으로 세척하였다. 조 생성물을 실리카 겔 컬럼 상에 적용하고, 석유 에테르/에틸 아세테이트(80:1 내지 20:1)로 용리하여, 황색 오일로서 35.2 g(82% 수율)의 9-2를 얻었다. MS:  $m/z$  393.25  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  7.30-7.05 (m, 10H), 5.62 (d,  $J = 3.7$  Hz, 1H), 4.67-4.47 (m, 2H), 4.38 (dd,  $J = 12.1$ , 6.1 Hz, 3H), 3.94-3.85 (m, 1H), 3.70-3.49 (m, 2H), 3.38 (dd,  $J = 11.2$ , 5.1 Hz, 1H), 1.34 (s, 3H), 1.18 (s, 3H).

## [0495] 9-3의 제조

[0496] 150 mL의 트라이플루오로아세트산 및 150 mL의 물 중 9-2(30 g, 81.1 mmol)의 용액에 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에서 농축시켰다. 잔류물을 300 mL의 피리딘 중에 용해시키고, 0℃로 냉각시켰다. 이어서, 60 mL의 아세트산 무수물을 첨가하고, 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 60 mL의 물로 켄칭하고, 감압 하에서 농축시켰다. 잔류물을 1000 mL의 에틸 아세테이트로 희석시키고, 2 × 500 mL의 물, 1 × 200 mL의 2 N 염산, 1 × 400 mL의 포화 중탄산나트륨 수용액, 2 × 500 mL의 물 및 2 × 400 mL의 포화 염화나트륨 수용액으로 세척하였다. 유기 층을 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하고, 감압 하에서 농축시켰다. 조 생성물을 실리카 겔 컬럼 상에 적용하고, 석유 에테르/에틸 아세테이트(20:1 내지 8:1)로 용리하여, 밝은 황색 오일로서 21.5 g(64%)의 9-3을 얻었다. MS:  $m/z$  437.20  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

## [0497] 6-1의 제조

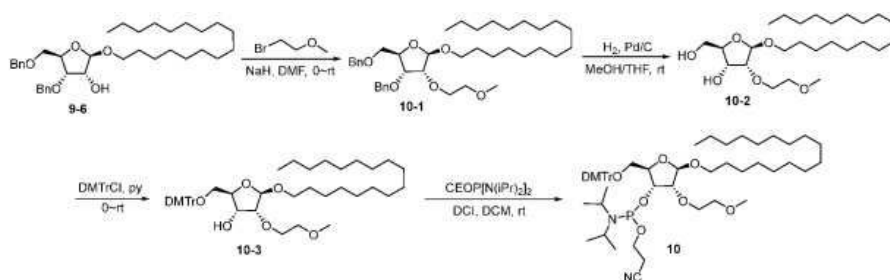
- [0498] 불활성 아르곤 분위기 하에서 다이클로로메탄(215 mL) 중 9-3(21.5 g, 51.9 mmol) 및 (7.7 g, 62.3 mmol, 1.2 당량)의 용액에 0℃에서 다이클로로메탄 중 1 M 염화제2주석 5수화물 10 mL를 첨가하고, 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 50 mL의 트라이메틸아민으로 켄칭하고, 감압 하에서 농축시켰다. 조 생성물을 실리카 겔 컬럼 상에 적용하고, 석유 에테르/에틸 아세테이트(60:1 내지 20:1)로 용리하여, 밝은 황색 오일로서 16 g(64%)의 6-1을 얻었다. MS: m/z 496.20 [M+Na]<sup>+</sup>.
- [0499] 9-5의 제조
- [0500] 불활성 아르곤 분위기 하에서 다이클로로메탄(50 mL) 중 6-1(5 g, 10.5 mmol) 및 1-헵타데칸올(3.2 g, 12.6 mmol, 1.2 당량)의 용액에 -20℃에서 N-요오도석신이미드(2.6 g, 11.5 mmol, 1.1 당량) 및 은 트라이플루오로메탄설폰에이트(270 mg, 1.1 mmol, 0.1 당량)를 첨가하였다. 생성된 용액을 -20℃에서 30분 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 1 mL의 트라이메틸아민으로 켄칭하고, 감압 하에서 농축시켰다. 조 생성물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(50:1 내지 20:1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 밝은 황색 오일로서 4.3 g(67% 수율)의 9-5를 얻었다. MS: m/z 633.45 [M+Na]<sup>+</sup>.
- [0501] 9-6의 제조
- [0502] 0℃에서 Ar 하에서 메탄올(43 mL) 중 9-5(4.30 g, 7.1 mmol)의 용액에 메탄올 중 5 M 소듐 메탄올레이트의 용액 1.4 mL를 첨가하였다. 생성된 용액을 0℃에서 30분 동안 교반하고, 이어서 반응물을 염산(3 M, 2 mL)으로 켄칭하고, 농축시켰다. 조 생성물을 실리카 겔 컬럼 상에 적용하고, 석유 에테르/EtOAc(80/1 내지 50/1)로 용리하여, 밝은 황색 오일로서 3.2 g(80%)의 9-6을 얻었다. MS: m/z 591.45 [M+Na]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 7.36-7.24 (m, 10H), 5.03 (s, 1H), 4.78 (s, 1H), 4.63 (d, J = 11.9 Hz, 1H), 4.56-4.46 (m, 2H), 4.43 (d, J = 11.9 Hz, 1H), 4.11-4.04 (m, 1H), 3.98 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 3.83 (dd, J = 7.3, 4.4 Hz, 1H), 3.58-3.49 (m, 2H), 3.42 (dd, J = 10.6, 6.4 Hz, 1H), 3.31-3.22 (m, 1H), 1.45-1.34 (m, 2H), 1.22 (d, J = 12.3 Hz, 28H), 0.88-0.82 (m, 3H).
- [0503] 9-7의 제조
- [0504] 40 mL의 DMF 중 9-6(4 g, 7.04 mmol)의 용액에 0℃에서 수소화나트륨(850 mg, 35.2 mmol, 5.0 당량)을 첨가하였다. 생성된 용액을 0℃에서 30분 동안 교반하였다. 이어서, 1-요오도헥사데칸(3.7 g, 10.56 mmol, 1.5 당량)을 0℃에서 첨가하고, 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 10 mL의 포화 염화암모늄 용액으로 켄칭하고, 300 mL의 에틸 아세테이트로 희석시키고, 2 × 150 mL의 물, 1 × 150 mL의 포화 티오황산나트륨 수용액 및 포화 중탄산나트륨 수용액, 및 1 × 150 mL의 포화 염화나트륨 수용액으로 세척하였다. 조 생성물을 실리카 겔 컬럼 상에 적용하고, 석유 에테르/에틸 아세테이트(100:1 내지 80:1)로 용리하여, 황색 고체로서 4.1 g(74%)의 9-7을 얻었다. MS: m/z 810.85 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 7.39 - 7.29 (m, 10H), 5.02 (d, J = 1.3 Hz, 1H), 4.68 - 4.53 (m, 4H), 4.36 - 4.28 (m, 1H), 4.04 (dd, J = 6.9, 4.7 Hz, 1H), 3.80 - 3.50 (m, 6H), 3.44 - 3.34 (m, 1H), 1.70 - 1.58 (m, 2H), 1.53 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 1.29 (s, 55H), 0.92 (t, J = 6.8 Hz, 6H).
- [0505] 9-8의 제조
- [0506] 수소 분위기 하에서 32 mL의 테트라하이드로푸란 및 8 mL의 메탄올 중 9-7(4.1 g, 5.2 mmol)의 용액에 실온에서 10% Pd/C(410 mg) 및 아세트산(4 mL)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 12시간 동안 교반하고, 이어서 여과하고, 여과액을 감압 하에서 농축시켜, 백색 고체로서 2.3 g(73%)의 9-8을 얻었다. 이것을 추가의 정제 없이 다음 단계에 사용하였다. MS: m/z 630.65 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>.
- [0507] 9-9의 제조
- [0508] 불활성 아르곤 분위기 하에서 21 mL의 피리딘 중 9-8(2.1 g, 3.4 mmol)의 용액에 실온에서 4,4'-다이메톡시트라이틸 클로라이드(1.58 g, 4.1 mmol, 1.2 당량)를 첨가하였다. 생성된 용액을 25℃에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 10 mL의 메탄올로 켄칭하고, 200 mL의 다이클로로메탄으로 희석시키고, 2 × 150 mL의 포화 중탄산나트륨 수용액 및 2 × 150 mL의 포화 염화나트륨 수용액으로 세척하였다. 유기 층을 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하고, 감압 하에서 농축시켰다. 조 생성물을 실리카 겔 컬럼 상에 적용하고, 석유 에테르/0.05% TEA를 함유하는 에틸 아세테이트(60:1 내지 30:1)로 용리하여, 밝은 황색 오일로서 2.3 g(73% 수율)의

9-9를 얻었다. MS:  $m/z$  913.60  $[M-H]^-$ .  $^1H$  NMR ( $CD_2Cl_2$ ):  $\delta$  7.56 - 7.49 (m, 2H), 7.43 - 7.37 (m, 4H), 7.37 - 7.21 (m, 3H), 6.91 - 6.82 (m, 4H), 5.01 (d,  $J$  = 1.4 Hz, 1H), 4.19 - 4.10 (m, 1H), 4.07 - 3.96 (m, 1H), 3.82 (s, 6H), 3.78 - 3.63 (m, 3H), 3.63 - 3.51 (m, 1H), 3.46 - 3.36 (m, 1H), 3.26 (dd,  $J$  = 9.9, 3.7 Hz, 1H), 3.13 (dd,  $J$  = 9.9, 5.7 Hz, 1H), 2.55 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 1H), 1.70 - 1.61 (m, 2H), 1.56 - 1.49 (m, 2H), 1.30 (d,  $J$  = 10.9 Hz, 55H), 0.95 - 0.90 (m, 6H).

[0509] 9의 제조

[0510] 아르곤 하에서 다이클로로메탄(23 mL) 중 9-9(2.3 g, 2.5 mmol)의 용액에 실온에서 3-(비스(다이아이소프로필아미노)포스포노옥시)프로판니트릴(910 mg, 3.0 mmol, 1.2 당량) 및 4,5-다이시아노이미다졸(330 mg, 2.8 mmol, 1.1 당량)을 첨가하고, 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 생성된 용액을 500 mL의 다이클로로메탄으로 희석시키고,  $3 \times 300$  mL의 포화 중탄산나트륨 수용액 및  $3 \times 300$  mL의 포화 염화나트륨 수용액으로 세척하였다. 유기 층을 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하고, 감압 하에서 농축시켰다. 조 생성물을 헥산/0.05% TEA를 함유하는 에틸 아세테이트(80:1 내지 30:1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 맑은 황색 오일로서 2.04 g(73% 수율)의 화합물 9를 얻었다. MS:  $m/z$  1115.85  $[M+H]^+$ .  $^1H$  NMR ( $CD_2Cl_2$ ):  $\delta$  7.44 - 7.36 (m, 2H), 7.33 - 7.24 (m, 4H), 7.23 - 7.16 (m, 2H), 7.15 - 7.08 (m, 1H), 6.81 - 6.54 (m, 4H), 4.90 - 4.85 (m, 1H), 4.29 - 4.05 (m, 2H), 3.89 - 3.71 (m, 1H), 3.69 (d,  $J$  = 3.1 Hz, 6H), 3.67 - 3.61 (m, 2H), 3.59 - 3.38 (m, 5H), 3.35 - 3.13 (m, 2H), 3.00 - 2.88 (m, 1H), 2.59 - 2.45 (m, 1H), 2.35 - 2.22 (m, 1H), 1.54 - 1.46 (m, 2H), 1.45 - 1.35 (m, 2H), 1.26 - 1.14 (m, 54H), 1.08 - 1.01 (m, 9H), 0.89 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 3H), 0.84-0.76 (m, 6H).  $^{31}P$  NMR ( $CD_2Cl_2$ ):  $\delta$  149.67, 149.39.

[0511] 실시예 10.



[0512]

[0513] 10-1의 제조

[0514] 50 mL의 N,N-다이메틸포름아미드 중 9-6(5 g, 8.8 mmol)의 용액에 0°C에서 수소화나트륨(오일 중 60% 분산액, 1.7 g, 43.9 mmol, 5.0 당량)을 첨가하고, 0°C에서 30분 동안 교반하였다. 이어서, 1-브로모-2-메톡시에탄(2.4 g, 17.4 mmol, 2.0 당량)을 첨가하고, 생성된 용액을 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 100 mL의 포화 염화암모늄 용액으로 키텅하고, 이어서  $2 \times 200$  mL의 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 유기 층을  $2 \times 100$  mL의 물 및 100 mL의 포화 염수로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 증발된 조 잔류물을 다이클로로메탄/메탄올(100/1 내지 80/1)을 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 무색 오일로서 5 g(90% 수율)의 10-1을 얻었다. MS:  $m/z$  649.45  $[M+Na]^+$ .  $^1H$  NMR ( $DMSO-d_6$ ):  $\delta$  7.39 - 7.23 (m, 10H), 4.92 (d,  $J$  = 1.1 Hz, 1H), 4.63 - 4.43 (m, 4H), 4.04 (td,  $J$  = 6.4, 3.5 Hz, 1H), 3.93 (dd,  $J$  = 7.0, 4.6 Hz, 1H), 3.85 (dd,  $J$  = 4.6, 1.1 Hz, 1H), 3.72 - 3.61 (m, 2H), 3.58 - 3.49 (m, 2H), 3.48 - 3.40 (m, 3H), 3.30 (dt,  $J$  = 9.5, 6.4 Hz, 1H), 3.25 (s, 3H), 1.41 (t,  $J$  = 6.5 Hz, 2H), 1.21 (d,  $J$  = 10.0 Hz, 28H), 0.89 - 0.80 (m, 3H).

[0515] 10-2의 제조

[0516] 수소 분위기 하에서 메탄올(50 mL) 및 테트라하이드로푸란(50 mL) 중 10-1(5 g, 7.9 mmol)의 용액에 10% Pd/C(500 mg) 및 아세트산(5 mL, 87.4 mmol)을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 실온에서 8시간 동안 교반하고, 이어서 여과하고, 여과액을 농축시켰다. 조 생성물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(20/1 내지 4/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 백색 고체로서 10-2(2.7 g, 76% 수율)를 얻었다. MS:  $m/z$  469.30  $[M+Na]^+$ .

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  4.81 (d,  $J$  = 1.9 Hz, 1H), 3.92 (dd,  $J$  = 6.1, 4.7 Hz, 1H), 3.76 - 3.67 (m, 2H), 3.66 - 3.56 (m, 3H), 3.50 - 3.47 (m, 1H), 3.47 - 3.45 (m, 2H), 3.44 (dd,  $J$  = 6.7, 1.4 Hz, 1H), 3.36 - 3.27 (m, 3H), 3.26 (s, 3H), 1.45 (d,  $J$  = 6.6 Hz, 2H), 1.24 (s, 28H), 0.91 - 0.78 (m, 3H).

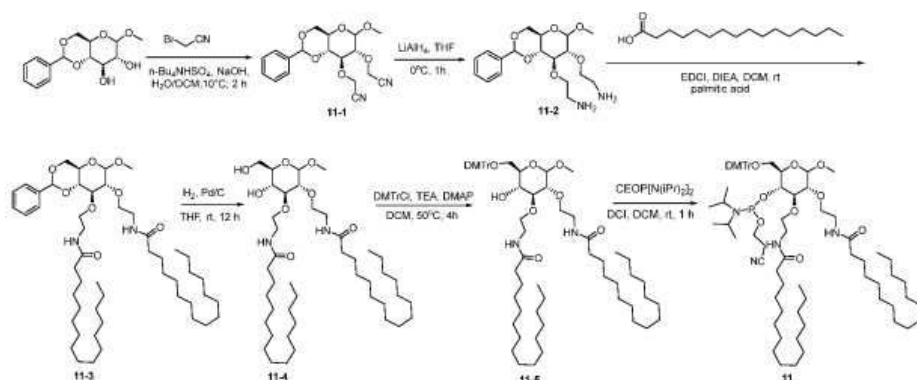
[0517] 10-3의 제조

[0518] 불활성 아르곤 분위기 하에서 피리딘(27 mL) 중 10-2(2.7 g, 6.0 mmol)의 용액에 0°C에서 4,4'-다이메톡시트라이틸 클로라이드(2.4 g, 7.2 mmol, 1.2 당량)를 첨가하였다. 생성된 용액을 25°C에서 6시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 10 mL의 메탄올로 켄칭하고, 100 mL의 다이클로로메탄으로 희석시키고,  $2 \times 100$  mL의 포화 중탄산나트륨 용액 및  $2 \times 100$  mL의 포화 염수로 세척하였다. 유기 층을 건조시키고( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), 여과하고, 농축시켰다. 조 생성물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(40/1 내지 10/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하였다. 무색 오일로서 3.5 g(77% 수율)의 10-3을 얻었다. MS:  $m/z$  747.45  $[\text{M}-\text{H}]^-$ .  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  7.49 - 7.39 (m, 2H), 7.37 - 7.14 (m, 7H), 6.94 - 6.80 (m, 4H), 4.89 (d,  $J$  = 1.1 Hz, 1H), 4.07 - 3.88 (m, 2H), 3.73 (s, 7H), 3.69 (d,  $J$  = 4.2 Hz, 1H), 3.68 - 3.65 (m, 1H), 3.64 - 3.56 (m, 2H), 3.46 (ddd,  $J$  = 5.6, 4.2, 1.5 Hz, 2H), 3.33 (dt,  $J$  = 9.5, 6.5 Hz, 1H), 3.26 (s, 3H), 3.10 (dd,  $J$  = 10.0, 2.6 Hz, 1H), 2.97 (dd,  $J$  = 9.8, 5.6 Hz, 1H), 1.48 - 1.34 (m, 2H), 1.19 (d,  $J$  = 20.9 Hz, 28H), 0.90 - 0.78 (m, 3H).

[0519] 10의 제조

[0520] 24 mL의 다이클로로메탄 중 10-3(2.5 g, 3.3 mmol)의 용액에 실온에서 3-((비스(다이아이소프로필아미노)포스포네일)옥시) 프로판니트릴(1.13 g, 3.96 mmol, 1.2 당량), 4,5-다이시아노 이미다졸(427 mg, 3.63 mmol, 1.1 당량)을 첨가하였다. 용액을 25°C에서 45분 동안 교반하였다. 생성된 혼합물을 100 mL의 다이클로로메탄으로 희석시키고,  $2 \times 100$  mL의 포화 중탄산나트륨 용액 및  $2 \times 100$  mL의 포화 염수로 세척하였다. 유기 층을 건조시키고( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), 여과하고, 농축시켰다. 조 생성물을 헥산/에틸 아세테이트(20/1 내지 6/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하였다. 생성물을 함유하는 분획을 농축시켜, 밝은 황색 오일로서 2.0 g(63% 수율)의 화합물 10을 얻었다. MS:  $m/z$  949.60  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  7.44 (tdd,  $J$  = 5.0, 4.3, 3.4, 2.0 Hz, 2H), 7.35 - 7.24 (m, 6H), 7.24 - 7.17 (m, 1H), 6.92 - 6.80 (m, 4H), 5.03 - 4.92 (m, 1H), 4.35 - 4.00 (m, 2H), 3.81 - 3.60 (m, 11H), 3.60 - 3.34 (m, 6H), 3.26 (d,  $J$  = 3.9 Hz, 3H), 3.15 (dd,  $J$  = 10.0, 2.4 Hz, 1H), 2.96 (dt,  $J$  = 10.5, 5.4 Hz, 1H), 2.79 - 2.71 (m, 1H), 2.56 (td,  $J$  = 5.8, 2.1 Hz, 1H), 1.52 - 1.34 (m, 2H), 1.27 - 1.01 (m, 37H), 0.92 - 0.82 (m, 6H).  $^{31}\text{P}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  148.67, 148.33.

[0521] 실시예 11.



[0522]

[0523] 11-1의 제조

[0524] 0°C에서 다이클로로메탄(480 mL) 중 (4aR,7R,8R,8aS)-6-메톡시-2-페닐헥사하이드로피라노[3,2-d][1,3]다이옥신-7,8-다이올(48 g, 170 mmol)의 용액에 테트라부틸암모늄 하이드로젠 설페이트(11.5 g, 34.0 mmol, 0.2 당량), 1M NaOH(850 mL), 및 브로모아세토니트릴(61.3 g, 510.7 mmol, 3.0 당량)을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하고, 이어서 다이클로로메탄(400 mL)으로 희석시키고, 물 및 포화 염수로 세척하였다.

유기 층을  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(80/1 내지 20/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 백색 고체로서 30.1 g(50% 수율)의 11-1을 얻었다. MS:  $m/z$  361.20  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.53-7.47 (m, 2H), 7.43-7.38 (m, 3H), 5.58 (s, 1H), 4.95 (d,  $J$  = 3.8 Hz, 1H), 4.61-4.45 (m, 4H), 4.33 (dd,  $J$  = 9.7, 4.1 Hz, 1H), 4.04 (t,  $J$  = 9.1 Hz, 1H), 3.92-3.73 (m, 2H), 3.72-3.61 (m, 2H), 3.49 (s, 3H).

[0525] 11-2의 제조

[0526] Ar 하에서  $0^\circ\text{C}$ 에서 THF(200 mL) 중 11-1(20 g, 55.6 mmol)의 용액에  $\text{LiAlH}_4$ (4.2 g, 111.1 mmol, 2.0 당량)를 첨가하였다. 생성된 혼합물을  $0^\circ\text{C}$ 에서 1시간 동안 교반하고, 이어서 EtOAc로 킨칭하였다. 고체를 여과 제거하였다. 여과액을 다이클로로메탄으로 희석시키고, 물, 및 포화 염수로 세척하였다. 유기 층을  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 다이클로로메탄/메탄올(50/1 내지 10/1)을 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 백색 고체로서 16.2 g(79% 수율)의 11-2를 얻었다. MS:  $m/z$  369.20  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

[0527] 11-3의 제조

[0528] Ar 하에서  $0^\circ\text{C}$ 에서 다이클로로메탄(200 mL) 중 11-2(10 g, 27.1 mmol)의 용액에 1-(3-다이메틸아미노프로필)-3-에틸카르보다이이미드 하이드로클로라이드(11.4 g, 59.6 mmol, 2.2 당량), 1H-벤조[d][1,2,3]트리아졸-1-올(18.3 g, 135.5 mmol, 5.0 당량), N,N-다이아이소프로필에틸아민(7.7 g, 59.6 mmol, 2.2 당량), 및 팔미트산(20.8g, 81.3 mmol, 3.0 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반하고, 이어서 다이클로로메탄으로 희석시키고, 물, 및 포화 염수로 세척하였다. 유기 층을  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 다이클로로메탄/메탄올(80/1 내지 20/1)을 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 백색 고체로서 8.2 g(36% 수율)의 11-3을 얻었다. MS:  $m/z$  845.75  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

[0529] 11-4의 제조

[0530]  $\text{H}_2$  하에서 실온에서 테트라하이드로푸란(164 mL) 중 11-3(8.2 g, 9.70 mmol)의 용액에 10% Pd/C(800 mg)를 첨가하였다. 혼합물을  $30^\circ\text{C}$ 에서 12시간 동안 교반하고, 이어서 여과하고, 농축시켰다. 조 생성물을 다이클로로메탄(200 mL)으로 희석시키고, 여과하고, 농축시켰다. 무색 오일로서 11-4를 얻었다(4.5 g, 61% 수율). MS:  $m/z$  757.70  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

[0531] 11-5의 제조

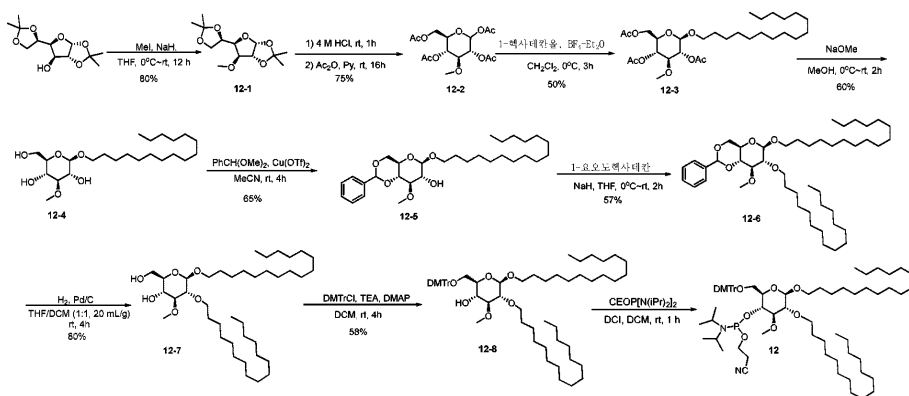
[0532] Ar 하에서 실온에서  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (180 mL) 중 11-4(4.5 g, 5.94 mmol)의 용액에 4,4'-다이메톡시트라이틸 클로라이드(2.2 g, 6.53 mmol, 1.10 당량),  $\text{Et}_3\text{N}$ (1.7 mL, 12 mmol) 및 DMAP(146 mg, 1.2 mmol)를 첨가하였다. 생성된 용액을  $50^\circ\text{C}$ 에서 4시간 동안 교반하고, 메탄올로 킨칭하였다. 이어서, 혼합물을 다이클로로메탄으로 희석시키고, 포화  $\text{NaHCO}_3$  수용액 및 포화 염수로 세척하였다. 유기 층을 무수  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(60/1 내지 30/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 밝은 황색 오일로서 3.2 g(50%)의 11-5를 얻었다. MS:  $m/z$  1081.85  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  7.79 (t,  $J$  = 5.7 Hz, 1H), 7.68 (t,  $J$  = 5.6 Hz, 1H), 7.41 (d,  $J$  = 7.7 Hz, 2H), 7.35-7.21 (m, 7H), 6.88 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 4H), 5.18 (d,  $J$  = 6.0 Hz, 1H), 4.85 (d,  $J$  = 3.3 Hz, 1H), 3.74 (s, 6H), 3.70-3.48 (m, 5H), 3.40 (s, 3H), 3.31-2.97 (m, 9H), 2.09-1.98 (m, 4H), 1.46 (s, 4H), 1.23 (s, 48H), 0.90-0.79 (m, 6H).

[0533] 11의 제조

[0534] Ar 하에서 실온에서 다이클로로메탄(30 mL) 중 11-5(3 g, 2.83 mmol)의 용액에 2-시아노에틸 3-((비스(다이아이소프로필아미노)포스포네일)옥시) 프로판나트릴(1.2 g, 3.96 mmol, 1.4 당량) 및 4, 5-다이시아노이미다졸(401 mg, 3.39 mmol, 1.2 당량)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 1시간 동안 교반하고, 이어서 다이클로로메탄으로 희석시키고, 포화  $\text{NaHCO}_3$  수용액 및 포화 염수로 세척하였다. 유기 층을 무수  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 다음 조건으로 플래시-분취용-HPLC 상에서 정제하였다: 컬럼, C18; 이동상, 물(0.05%  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ 를 함유함) 및 테트라하이드로푸란(20% 테트라하이드로푸란에서 10분만에 100%에 이르게 됨, 그리고 5분간 100% 테트라하이드로푸란 유지). 수성 층을 분리하고, 다이클로로메탄으로 추출하였다. 합한 유기 층을 합

하고, 무수  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 로 건조시키고, 여과하고, 농축시켜, 백색 고체로서 1.9413 g(53%)의 화합물 11을 얻었다. MS:  $m/z$  1259.90  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  7.89-7.77 (m, 1H), 7.71-7.60 (m, 1H), 7.41 (d,  $J$  = 7.7 Hz, 2H), 7.34-7.17 (m, 7H), 6.93-6.81 (m, 4H), 4.92 (t,  $J$  = 3.1 Hz, 1H), 3.81-3.34 (m, 19H), 3.32-3.11 (m, 8H), 3.01 (t,  $J$  = 9.3 Hz, 1H), 2.68 (d,  $J$  = 11.9 Hz, 1H), 2.16-1.99 (m, 4H), 1.56-1.40 (m, 4H), 1.23 (s, 48H), 1.09-0.91 (m, 10H), 0.89-0.76 (m, 8H).  $^{31}\text{P}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  149.17, 148.15.

# [0535] 실시예 12.



[0536]

## [0537] 12-1의 제조

[0538]  $\text{N}_2$  하에서  $0^\circ\text{C}$ 에서 테트라하이드로푸란(800 mL) 중 다이아세톤-D-글루코스(80 g, 307.35 mmol)의 용액에 수소화 나트륨(광유 중 60% 분산액)(18.4 g, 461.53 mmol, 1.5 당량)을 첨가하였다. 생성된 용액을 20분 동안 교반하고, 요오도메탄(65.4 g, 461.53 mmol, 1.5 당량)을  $0^\circ\text{C}$ 에서 첨가하고, 실온에서 하룻밤 교반하였다. 반응물을 포화  $\text{NH}_4\text{Cl}$  용액으로  $0^\circ\text{C}$ 에서 켄칭하고, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 유기 층을 포화 염수로 세척하고, 무수  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(30/1 내지 20/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 황색 오일로서 67.2 g(80% 수율)의 12-1을 얻었다. MS:  $m/z$  275.14  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

## [0539] 12-2의 제조

[0540] 4M HCl(700 mL) 중 12-1(70 g, 255.474 mmol)의 용액을 실온에서 1시간 동안 교반하고, 이어서 농축시켰다. 잔류물을  $\text{N}_2$  하에서  $0^\circ\text{C}$ 에서 피리딘(550 mL) 중에 용해시키고, 아세트산 무수물(270 mL)을 첨가하고, 실온에서 하룻밤 교반하였다. 반응 혼합물을 농축시키고, 석유 에테르/에틸 아세테이트(30/1 내지 5/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 황색 고체로서 69 g(75% 수율)의 12-2를 얻었다. MS:  $m/z$  363.15  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

## [0541] 12-3의 제조

[0542]  $\text{N}_2$  하에서  $0^\circ\text{C}$ 에서 다이클로로메탄(750 mL) 중 12-2(50 g, 138.12 mmol)의 용액에 1-헥사데칸올(50.1 g, 207.18 mmol, 1.5 당량)을 첨가하였다. 생성된 용액을 20분 동안 교반하고, 삼불화붕소 에테레이트(58.8 g, 414.36 mmol, 3 당량)를 적가하고, 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 반응물을 포화  $\text{NH}_4\text{Cl}$ 로 켄칭하고, 다이클로로메탄으로 추출하였다. 합한 유기 층을 포화 염수로 세척하고, 무수  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(30/1 내지 5/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 황색 고체로서 37.5 g(50% 수율)의 12-3을 얻었다. MS:  $m/z$  562.50  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ .  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.13-4.89 (m, 2H), 4.39 (d,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 4.26-4.05 (m, 3H), 3.85 (m, 1H), 3.65-3.31 (m, 6H), 2.11-2.06 (m, 8H), 1.25 (d,  $J$  = 2.0 Hz, 28H), 0.87 (m, 3H).

## [0543] 12-4의 제조

[0544]  $\text{N}_2$  하에서  $0^\circ\text{C}$ 에서 메탄올(350 mL) 중 12-3(35 g, 64.33 mmol)의 용액에 소듐 메톡사이드(12.8 g, 321.69

mmol, 5 당량)를 첨가하고, 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 아세트산을 사용하여 반응 혼합물의 pH를 7로 조정하고, 이어서 농축시켰다. 잔류물을 다이클로로메탄/메탄올(100/1 내지 20/1)을 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 백색 고체로서 16 g(60% 수율)의 12-4를 얻었다. MS  $m/z$   $[M+NH_4]^+$  (ESI): 436.40.

[0545] 12-5의 제조

[0546]  $N_2$  하에서 0℃에서 클로로포름(180 mL) 중 12-4(18 g, 43.06 mmol, 1.0 당량)의 용액에 (다이메톡시메틸) 벤젠 (7.85 g, 51.67 mmol, 1.2 당량) 및 구리(II) 트라이플루오로메탄설포네이트(779 mg, 2.15 mmol, 0.05 당량)를 첨가하고, 실온에서 4시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 농축시키고, 석유 에테르/에틸 아세테이트(30/1 내지 5/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 백색 고체로서 14.1 g(65% 수율)의 12-5를 얻었다. MS:  $m/z$  507.50  $[M+NH_4]^+$ .

[0547] 12-6의 제조

[0548]  $N_2$  하에서 0℃에서 테트라하이드로푸란(200 mL) 중 12-5(13 g, 25.69 mmol)의 용액에 수소화나트륨(광유 중 60% 분산액)(1.5 g, 38.53 mmol, 1.5 당량)을 첨가하였다. 생성된 용액을 0℃에서 30분 동안 교반하고, 1-요오도헥사데칸(18 g, 51.38 mmol, 2.0 당량)을 첨가하고, 반응물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응물을 포화  $NH_4Cl$  용액으로 켄칭하고, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 유기 층을 포화 염수로 세척하고, 무수  $Na_2SO_4$  로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(30/1 내지 5/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 백색 고체로서 10.7 g(57% 수율)의 12-6을 얻었다. MS:  $m/z$  731.60  $[M+H]^+$ .

[0549] 12-7의 제조

[0550] 테트라하이드로푸란(100 mL) 및 다이클로로메탄(100 mL) 중 12-6(11 g, 15.06 mmol, 1.0 당량)의 용액에 실온에서 활성탄 상의 10% 팔라듐(11 g)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 5회 사이클의  $H_2$ 를 사용하여 플러싱한 후에, 생성된 용액을 실온에서 4시간 동안 교반하고, 이어서 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 에틸 아세테이트/석유 에테르(1/5 내지 1/3)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 백색 고체로서 7.7 g(80% 수율)의 12-7을 얻었다. MS:  $m/z$  660.60  $[M+NH_4]^+$ .

[0551] 12-8의 제조

[0552]  $N_2$  하에서 0℃에서 다이클로로메탄(100 mL) 중 12-7(7.7 g, 11.99 mmol, 1 당량)의 용액에 트라이에틸아민(1.8 g, 17.99 mmol, 1.5 당량), 4-다이메틸아미노피리딘(146.3 mg, 1.19 mmol, 0.1 당량), 및 1-[클로로(4-메톡시페닐)벤질]-4-메톡시벤젠(4.8 g, 14.39 mmol, 1.2 당량)을 첨가하였다. 생성된 용액을 실온에서 4시간 동안 교반하고, 이어서 메탄올로 켄칭하고, 다이클로로메탄으로 회석시켰다. 유기 층을 포화 염수로 세척하고, 무수  $Na_2SO_4$  로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(30/1 내지 5/1(0.5% 트라이에틸아민을 함유함))를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여 94% 순도로 12-8을 얻었다. 순도를 추가로 향상시키기 위해, 그것을 다이클로로메탄(1 mL/g)으로 용해시켜 재결정화하고, 아세토니트릴(20 mL/g)에 적가하고, 이어서 여과하여, 백색 고체로서 97% 순도로 6 g(58% 수율)의 12-8을 얻었다. MS:  $m/z$  943.55  $[M-H]^-$ .  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$  7.50-7.42 (m, 1H), 7.37-7.27 (m, 6H), 7.23-7.17 (m, 2H), 6.89-6.78 (m, 4H), 4.33-4.30 (m, 1H), 3.90-3.85 (m, 2H), 3.81-3.75 (d,  $J$  = 6.5 Hz, 6H), 3.66 (d,  $J$  = 3.1 Hz, 3H), 3.64-3.58 (m, 1H), 3.52 (m, 2H), 3.42-3.30 (m, 2H), 3.20-3.07 (m, 2H), 1.68-1.53 (m, 4H), 1.28 (s, 50H), 0.90 (t,  $J$  = 6.7 Hz, 6H).

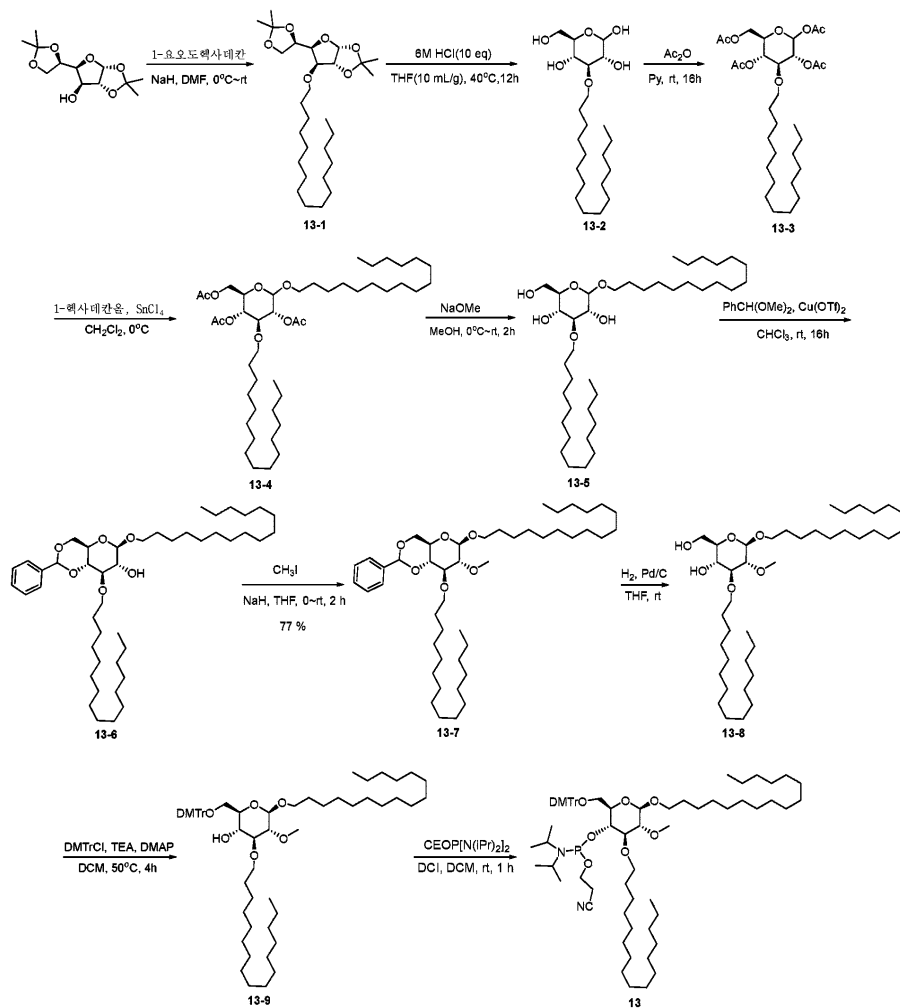
[0553] 12의 제조

[0554]  $N_2$  하에서 실온에서 다이클로로메탄(60 mL) 중 12-8(6 g, 6.15 mmol)의 용액에 비스(다이아이소프로필아미노)(2-시아노에톡시)포스핀(2.2 g, 7.38 mmol, 1.2 당량) 및 4,5-다이시아노이미다졸(800 mg, 6.77 mmol, 1.1 당량)을 첨가하고, 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 다이클로로메탄으로 회석시키고, 포화  $NaHCO_3$  수용액 및 포화 염수로 세척하였다. 유기 층을 무수  $Na_2SO_4$  로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 다음 조건으로 플래시-분취용-HPLC 상에서 정제하였다: C-18 컬럼, 이동상, 물(0.04%  $NH_4HCO_3$ 를 함유함) 및 THF, 구

배 30 내지 100% THF. 분획을 다이클로로메탄으로 희석시키고, 유기 층을 무수  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 헥산/에틸 아세테이트(30/1 내지 5/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 무색 오일로서 2.8291 g(39% 수율)의 화합물 12를 얻었다. MS:  $m/z$  1145.90  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.46-7.37 (m, 2H), 7.36-7.32 (m, 4H), 7.26-7.19 (m, 3H), 6.82-6.77 (m, 4H), 4.34-4.32 (m, 1H), 4.10-3.95 (m, 1H), 3.90-3.80 (m, 1H), 3.77 (s, 6H), 3.62-3.12 (m, 15H), 2.54-2.23 (m, 2H), 1.80-1.70 (mm, 4), 1.69-1.25 (m, 52H), 1.07-10.2 (m, 10H), 0.90-0.81 (m, 8H).  $^{31}\text{P-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  150.60, 149.83.

[0555]

### 실시예 13.



[0556]

[0557]

### 13-1의 제조

[0558]

$\text{N}_2$  하에서  $0^\circ\text{C}$ 에서 DMF(800 mL) 중 (3aR,5S,6S,6aR)-5-((R)-2,2-다이메틸-1,3-다이옥솔란-4-일)-2,2-다이메틸 테트라하이드로프로[2,3-d][1,3]다이옥솔-6-올(80 g, 307.6 mmol)의 용액에 수소화나트륨(60%, 24.6 g, 615.4 mmol, 2.0 당량)을 첨가하고, 15분 동안 교반하였다. 1-요오도헥사데칸(162 g, 461.4 mmol, 1.5 당량)을 실온에서 반응 혼합물에 첨가하고, 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 포화  $\text{NH}_4\text{Cl}$ 로 킨칭하고, 다이클로로메탄으로 추출하였다. 합한 유기 층을 물 및 포화 염수로 세척하고, 이어서 유기 층을 무수  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 에틸 아세테이트/헥산 에테르(1/70 내지 1/20)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 백색 고체로서 110 g(75% 수율)의 13-1을 얻었다. MS:  $m/z$  485.30  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

[0559]

### 13-2의 제조

[0560]

$0^\circ\text{C}$ 에서 테트라하이드로푸란(1100 mL) 중 13-1(110 g, 227.2 mmol)의 용액에 6 M HCl(378 mL, 2.27 mol, 10 당량)을 첨가하였다. 생성된 용액을  $40^\circ\text{C}$ 에서 12시간 동안 교반하고, 이어서 피리딘(201 mL, 2.5 mol, 11 당량)

으로 켄칭하였다. 생성된 용액을 농축시키고, 건성 피리딘과 동시증발시켜, 황색 오일로서 110 g(조 상태(crude))의 13-2를 얻었다. 이것을 추가의 정제 없이 다음 단계에 사용하였다. MS:  $m/z$  422.35  $[M+NH_4]^+$ .

[0561] 13-3의 제조

[0562]  $N_2$  하에서 0℃에서 피리딘(1100 mL) 중 13-2(110 g, 조 상태)의 용액에 아세트산 무수물(550 mL)을 첨가하고, 16시간 동안 교반하였다. 이어서, 반응 혼합물을 물로 켄칭하고, 농축시켰다. 이어서, 이것을 에틸 아세테이트로 희석시키고, 물 및 포화 염수로 세척하였다. 유기 층을 무수  $Na_2SO_4$ 로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(20/1 내지 8/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 황색 오일로서 100 g(2개의 단계에 걸쳐 70% 수율)의 13-3을 얻었다. MS:  $m/z$  590.45  $[M+NH_4]^+$ .

[0563] 13-4의 제조

[0564] Ar 하에서 0℃에서 다이클로로메탄(215 mL) 중 13-3(100 g, 104.8 mmol) 및 1-헥사데칸올(55.3 g, 157.2 mmol, 1.5 당량)의 용액에 다이클로로메탄 중 1 M 염화주석(IV)(314 mL)을 첨가하고, 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 트라이메틸아민으로 켄칭하고, 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(60/1 내지 20/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 밝은 황색 오일로서 51 g(64% 수율)의 13-4를 얻었다. MS:  $m/z$  772.65  $[M+NH_4]^+$ .  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$  5.08-4.98 (m, 2H), 4.78 (dd,  $J$  = 10.0, 3.7 Hz, 1H), 4.22 (dd,  $J$  = 12.3, 4.9 Hz, 1H), 4.08 (dd,  $J$  = 12.2, 2.3 Hz, 1H), 3.93-3.91 (m,  $J$  = 10.3, 5.0, 2.3 Hz, 1H), 3.79 (t,  $J$  = 9.6 Hz, 1H), 3.72-3.62 (m, 2H), 3.56-3.52 (m, 1H), 3.44 (dt,  $J$  = 10.0, 6.6 Hz, 1H), 2.11 (d,  $J$  = 7.5 Hz, 9H), 1.61 (t,  $J$  = 6.9 Hz, 2H), 1.48 (d,  $J$  = 6.5 Hz, 2H), 1.27 (d,  $J$  = 5.2 Hz, 52H), 0.90 (t,  $J$  = 6.7 Hz, 6H).

[0565] 13-5의 제조

[0566] Ar 하에서 0℃에서 메탄올(500 mL) 중 13-4(50 g, 66.26 mmol)의 용액에 0℃에서 메탄올 중 5 M 소듐 메탄올레이트(20 mL)를 첨가하고, 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 생성된 혼합물을 3 M 염산(20 mL)으로 켄칭하고, 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(50/1 내지 1/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 밝은 황색 오일로서 25 g(80% 수율)의 13-5를 얻었다. MS:  $m/z$  646.60  $[M+NH_4]^+$ .

[0567] 13-6의 제조

[0568]  $N_2$  하에서 0℃에서 클로로포름(250 mL) 중 13-5(25 g, 39.80 mmol)의 용액에 벤즈알데하이드 다이메틸 아세탈(9 g, 59.71 mmol, 1.5 당량) 및 구리(II) 트라이플루오로메탄설포네이트(2.8 g, 7.96 mmol, 0.2 당량)를 첨가하고, 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 트라이메틸아민으로 켄칭하고, 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(20/1 내지 10/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 황색 오일로서 17 g(65%)의 13-6을 얻었다. MS:  $m/z$  717.65  $[M+H]^+$ .  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$  7.52-7.50 (m, 2H), 7.43-7.35 (m, 3H), 5.57 (s, 1H), 4.91 (d,  $J$  = 2.7 Hz, 1H), 4.29 (dd,  $J$  = 10.0, 4.6 Hz, 1H), 3.93-3.81 (m, 2H), 3.79-3.70 (m, 3H), 3.68-3.62 (m, 2H), 3.59-3.46 (m, 2H), 2.36 (s, 1H), 2.32-2.09 (m, 1H), 1.64 (dt,  $J$  = 15.4, 7.4 Hz, 4H), 1.27 (d,  $J$  = 8.9 Hz, 52H), 0.93-0.88 (m, 6H).

[0569] 13-7의 제조

[0570]  $N_2$  하에서 0℃에서 DMF(170 mL) 중 13-6(17 g, 23.74 mmol)의 용액에 수소화나트륨(60%, 1.9 g, 47.48 mmol, 2.0 당량)을 첨가하고, 15분 동안 교반하였다. 요오도메탄(5 g, 35.61 mmol, 1.5 당량)을 반응 혼합물에 첨가하고, 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 포화  $NH_4Cl$ 로 켄칭하고, 다이클로로메탄으로 추출하였다. 합한 유기 층을 물 및 포화 염수로 세척하였다. 유기 층을 무수  $Na_2SO_4$ 로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(20/1 내지 8/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 황색 오일로서 12 g(77% 수율)의 13-7을 얻었다. MS:  $m/z$  731.55  $[M+H]^+$ .

[0571] 13-8의 제조

[0572] 하에서 실온에서 테트라하이드로푸란(120 mL) 중 13-7(12 g, 23.28 mmol)의 용액에 10% Pd/C(12 g)를

첨가하고, 5회 사이클의 H<sub>2</sub>로 플래싱하였다. 생성된 용액을 실온에서 16시간 동안 교반하고, 이어서 여과하고, 농축시켜, 백색 고체로서 9 g(80% 수율)의 13-8을 얻었다. MS: m/z 660.65 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>.

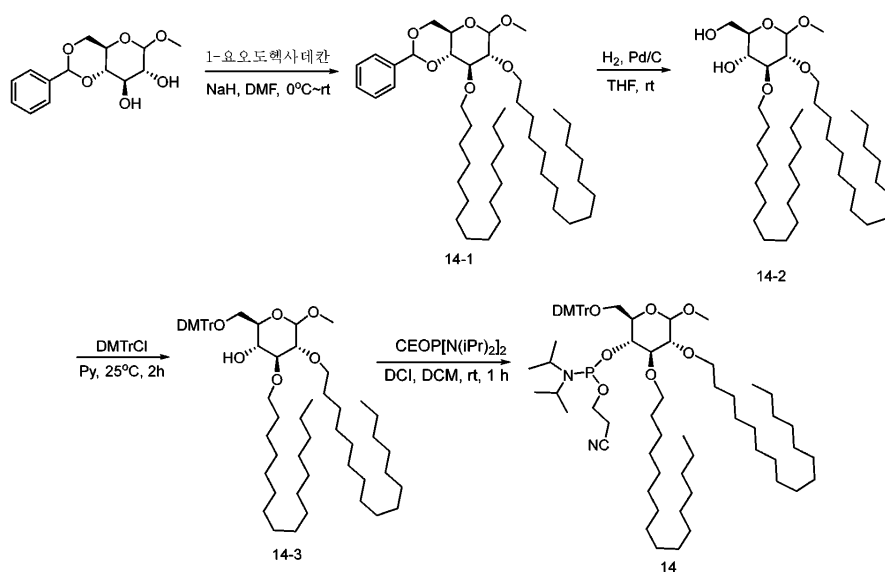
[0573] 13-9의 제조

[0574] Ar 하에서 0℃에서 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(500 mL) 중 13-8(9 g, 13.99 mmol)의 용액에 4,4'-다이메톡시트라이틸 클로라이드(5.6 g, 16.8 mmol, 1.2 당량), Et<sub>3</sub>N(3.9 mL, 28 mmol), 및 DMAP(340 mg, 2.8 mmol)를 첨가하고, 실온에서 4시간 동안 50℃에서 교반하였다. 반응 혼합물을 메탄올로 켄칭하고, 다이클로로메탄으로 희석시키고, 포화 NaHCO<sub>3</sub> 수용액 및 포화 염수로 세척하였다. 유기 층을 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(40/1 내지 2/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 무색 오일로서 6 g(75% 수율)의 13-9를 얻었다. MS: m/z 943.65 [M-H]<sup>-</sup>. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 7.49-7.43 (m, 2H), 7.40-7.32 (m, 4H), 7.32-7.27 (m, 2H), 7.24-7.17 (m, 1H), 6.88-6.77 (m, 4H), 4.97 (d, J = 3.6 Hz, 1H), 3.92-3.62 (m, 10H), 3.57-3.46 (m, 6H), 3.38-3.20 (m, 3H), 2.47 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 1.68-1.60 (m, 4H), 1.26 (d, J = 2.6 Hz, 52H), 0.90 (d, J = 6.4 Hz, 6H).

[0575] 13의 제조

[0576] Ar 하에서 실온에서 다이클로로메탄(60 mL) 중 13-9(6 g, 6.35 mmol)의 용액에 3-(비스(다이아이소프로필아미노)포스포노옥시)프로판니트릴(2.3 g, 7.62 mmol, 1.2 당량) 및 4,5-다이시아노이미다졸(824 mg, 6.98 mmol, 1.1 당량)을 첨가하고, 1시간 동안 교반하였다. 생성된 용액을 다이클로로메탄으로 희석시키고, 포화 NaHCO<sub>3</sub> 수용액 및 포화 염수로 세척하였다. 유기 층을 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 다음 조건으로 분취용-플래시 상에서 정제하였다: C-18 컬럼, 이동상, 물 및 테트라하이드로푸란, 구배 30% 내지 100% THF. 생성물을 함유하는 분획들을 등부피의 다이클로로메탄으로 희석시키고, 수성 층을 분리하고, 다이클로로메탄으로 추출하였다. 합한 유기 층을 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 헥산/에틸 아세테이트(10/1 내지 2/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 무색 오일로서 2.0 g(30% 수율)의 화합물 13을 얻었다. MS: m/z 1145.90 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 7.46 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.37-7.33 (m, 4H), 7.29 (s, 1H), 7.25-7.15 (m, 2H), 6.80 (dd, J = 8.9, 3.8 Hz, 4H), 5.01 (d, J = 3.6 Hz, 1H), 3.92 (t, J = 9.1 Hz, 2H), 3.78 (s, 6H), 3.76-3.53 (m, 6H), 3.50 (s, 4H), 3.39 - 3.18 (m, 4H), 3.08 (q, J = 10.1, 9.0 Hz, 1H), 2.58-2.20 (m, 2H), 1.76 (q, J = 7.5 Hz, 2H), 1.42 (d, J = 6.7 Hz, 4H), 1.33-1.17 (m, 50H), 1.03 (dd, J = 8.9, 6.6 Hz, 10H), 0.87 (q, J = 5.9 Hz, 8H). <sup>31</sup>P NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 150.69, 149.57.

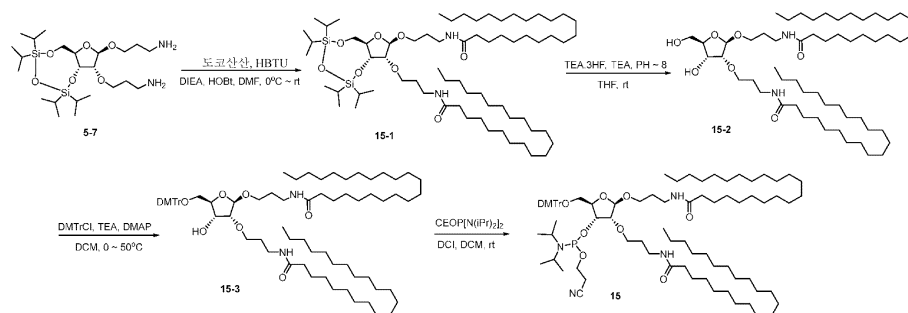
[0577] 실시예 14.



[0578]

- [0579] 14-1의 제조
- [0580] N<sub>2</sub> 하에서 0℃에서 DMF(50 mL) 중 (4aR,7R,8R,8aS)-6-메톡시-2-페닐헥사하이드로피라노[3,2-d][1,3]다이옥신-7,8-다이올(5 g, 17.73 mmol)의 용액에 수소화나트륨(60%, 3 g, 70.92 mmol, 4.0 당량)을 첨가하고, 15분 동안 교반하였다. 1-요오도헥사데칸(12 g, 35.46 mmol, 2.0 당량)을 반응 혼합물에 첨가하고, 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 포화 NH<sub>4</sub>Cl로 킨칭하고, 다이클로로메탄으로 추출하였다. 합한 유기 층을 물 및 포화 염수로 세척하고, 이어서 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 에틸 아세테이트/석유 에테르(1/50 내지 1/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 백색 고체로서 5 g(50% 수율)의 14-1을 얻었다. MS: m/z 731.60 [M+H]<sup>+</sup>.
- [0581] 14-2의 제조
- [0582] 실온에서 테트라하이드로푸란(50 mL) 중 14-1(5 g, 6.84 mmol, 1.0 당량)의 용액에 활성탄 상의 10% 팔라듐 (w<sub>t</sub>/w<sub>t</sub> = 100%, 5 g)을 첨가하고, 5회 사이클의 H<sub>2</sub>로 플라싱하였다. 생성된 용액을 실온에서 16시간 동안 교반하고, 이어서 여과하고, 농축시켜, 백색 고체로서 3.5 g(80% 수율)의 14-2를 얻었다. MS: m/z 643.6 [M+H]<sup>+</sup>.
- [0583] 14-3의 제조
- [0584] N<sub>2</sub> 하에서 0℃에서 피리딘(40 mL) 중 14-2(3.5 g, 5.45 mmol, 1 당량)의 용액에 4,4'-(클로로(페닐)메틸렌)비스(메톡시벤젠)(2.3 g, 7.08 mmol, 1.3 당량)을 첨가하고, 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 다이클로로메탄으로 희석시키고, 포화 NaHCO<sub>3</sub> 수용액 및 포화 염수로 세척하였다. 유기 층을 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 에틸 아세테이트/석유 에테르(1/50 내지 2/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 백색 고체로서 4 g(78% 수율)의 14-3을 얻었다. MS: m/z 943.70 [M-H]<sup>-</sup>. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 7.39-7.32 (m, 2H), 7.29-7.22 (m, 3H), 7.22-7.11 (m, 3H), 7.10-7.04 (m, 1H), 6.73 (dd, J = 9.0, 2.6 Hz, 4H), 4.70 (t, J = 3.7 Hz, 1H), 3.86-3.71 (m, 1H), 3.69 (d, J = 4.1 Hz, 6H), 3.63-3.37 (m, 6H), 3.33 (d, J = 3.3 Hz, 3H), 3.30 - 3.17 (m, 3H), 2.36 (dd, J = 6.8, 1.8 Hz, 1H), 1.49 (q, J = 7.5, 6.4 Hz, 4H), 1.15 (d, J = 2.9 Hz, 52H), 0.86 - 0.71 (m, 6H).
- [0585] 14의 제조
- [0586] Ar 하에서 0℃에서 다이클로로메탄(40 mL) 중 14-3(4 g, 4.23 mmol, 1.0 당량)의 용액에 3-(비스(다이아이소프로필아미노)포스포노옥시)프로판니트릴(1.5 g, 5.07 mmol, 1.2 당량) 및 4,5-다이시아노이미다졸(549 mg, 4.65 mmol, 1.1 당량)을 첨가하고, 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 다이클로로메탄으로 희석시키고, 포화 NaHCO<sub>3</sub> 수용액 및 포화 염수로 세척하였다. 유기 층을 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 다음 조건으로 분취용-플래시 상에서 정제하였다: 컬럼, C18 실리카 겔; 이동상, 물 및 테트라하이드로푸란(30% 테트라하이드로푸란에서 15분만에 100%에 이르게 되고, 5분 동안 100%로 유지함); 검출기, UV 254 nm. 분획을 등부피의 다이클로로메탄으로 희석시켰다. 유기 층을 분리하고, 수성 층을 다이클로로메탄으로 추출하였다. 합한 유기 층을 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 헥산/에틸 아세테이트(10/1 내지 2/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 무색 오일로서 2.2169 g(50% 수율)의 화합물 14를 얻었다. MS: m/z 1145.85 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 7.52-7.46 (m, 2H), 7.40-7.36 (m, 4H), 7.32-7.29 (m, 1H), 7.27 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 7.26-7.19 (m, 1H), 6.88-6.80 (m, 4H), 4.89 (d, J = 3.6 Hz, 1H), 3.91-3.87 (m, 1H), 3.92-3.87 (d, J = 1.5 Hz, 7H), 3.73-3.50 (m, 10H), 3.43-3.09 (m, 5H), 2.58-2.20 (m, 2H), 1.63 (d, J = 6.7 Hz, 2H), 1.52 (d, J = 6.5 Hz, 2H), 1.28-1.26 (m, 52H), 1.10-1.01 (m, 10H), 0.95-0.83 (m, 8H). <sup>31</sup>P NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 150.61, 149.21.

## [0587] 실시예 15.



## [0588] 15-1의 제조

[0589] 0°C에서 N,N-다이메틸 포름아미드(25 mL) 중 5-7(2.5 g, 5.1 mmol), 도코산산(4.3 g, 12.7 mmol, 2.5 당량), 및 N,N-다이아이소프로필에틸아민(3.9 g, 30.4 mmol, 6 당량)의 용액에 O-벤조트라이아졸-N,N,N',N'-테트라메틸-우로늄-헥사플루오로포스페이트(5.8 g, 15.2 mmol, 3 당량) 및 1-하이드록시벤조트라이아졸(1.7 g, 12.7 mmol, 2.5 당량)을 첨가하였다. 용액을 실온에서 12시간 동안 교반하고, 이어서 다이클로로메탄으로 희석시켰다. 유기 층을 물 및 포화 염수로 세척하고, 이어서 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 다이클로로메탄/메탄올(100/1 내지 40/1)을 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 백색 고체로서 3 g(52% 수율)의 15-1을 얻었다. MS: m/z 1192.05 [M+Na+H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>.

## [0591] 15-2의 제조

[0592] 실온에서 테트라하이드로푸란(52 mL) 중 트라이에틸아민 트라이하이드로플루오라이드(3.6 g, 22.6 mmol, 10 당량)의 용액에 트라이에틸아민(4.6 g, 45.1 mmol, 20 당량) 및 15-1(2.6 g, 2.3 mmol, 1 당량)을 첨가하였다. 용액을 실온에서 12시간 동안 교반하고, 이어서 메탄올/물(10:1)을 사용하여 침전시키고, 여과하였다. 고체를 아세토니트릴로 세척하여, 백색 고체로서 1.6 g(78% 수율)의 15-2를 얻었다. MS: m/z 909.82 [M+H]<sup>+</sup>.

## [0593] 15-3의 제조

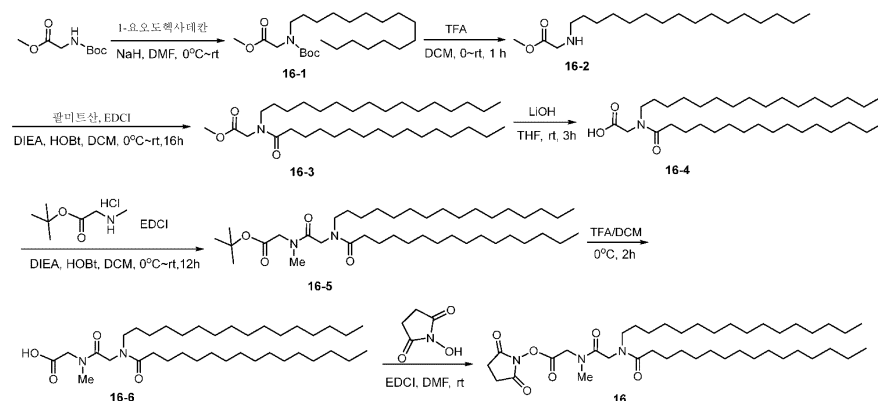
[0594] N<sub>2</sub> 하에서 0°C에서 다이클로로메탄(100 mL) 중 15-2(1 g, 1.1 mmol)의 용액에 4,4'-(클로로(페닐)메틸렌)비스(메톡시벤젠)(447 mg, 1.3 mmol, 1.2 당량), 트라이에틸아민(222 mg, 2.2 mmol, 2 당량), 및 4-다이메틸아미노피리딘(13 mg, 0.1 mmol, 0.1 당량)을 첨가하고, 50°C에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 아세토니트릴에 의해 침전시키고, 여과하였다. 잔류물을 다이클로로메탄/메탄올(100/1 내지 20/1)을 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 백색 고체로서 692 mg(52% 수율)의 15-3을 얻었다. MS: m/z 1209.85 [M-H]<sup>-</sup>.

## [0595] 15의 제조

[0596] 다이클로로메탄(56 mL) 중 15-3(2.8 g, 2.3 mmol)의 용액에 3-((비스(다이아이소프로필아미노)포스파네일)옥시)프로판니트릴(0.9 g, 3.0 mmol, 1.3 당량) 및 4,5- 4,5-다이시아노이미다졸(300 mg, 2.5 mmol, 1.1 당량)을 첨가하고, 실온에서 45분 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 다이클로로메탄으로 희석시키고, 포화 NaHCO<sub>3</sub> 수용액 및 포화 염수로 세척하였다. 유기 층을 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 C18 플래시 크로마토그래피(이동상, 물(0.05% 탄산수소암모늄) 중 THF, 구배: 20%에서 25분만에 100%까지)로 정제하였다. 분획을 등부피의 다이클로로메탄으로 희석시켰다. 유기 상을 분리하고, 수성 층을 다이클로로메탄으로 추출하였다. 합한 유기 층을 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 헥산/에틸 아세테이트(100/1 내지 1/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 백색 고체로서 2.09 g(61% 수율)의 화합물 15를 얻었다. MS: m/z 1412.05 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 7.49 - 7.47 (m, 2H), 7.38 - 7.34 (m, 4H), 7.26 - 7.21 (m, 4H), 6.81 (t, J = 6 Hz, 4H), 5.66 - 5.49 (m, 1H), 5.00 (s, 1H), 4.41 - 4.19 (m, 1H), 4.09 (s, 1H), 3.78 (s, 9H), 3.71 - 3.66 (m, 1H), 3.69 - 3.34 (m, 8H), 3.19 - 3.03 (m, 2H), 2.62 (t, J = 6 Hz, 1H), 2.35 (t, J = 6 Hz, 1H), 2.17 - 1.90 (m, 4H), 1.82 - 1.68 (m, 4H), 1.63 - 1.45 (m, 4H), 1.25 (s, 72H), 1.14 (t, J = 7.5 Hz, 9H), 0.98 (d, J = 6 Hz, 3H), 0.88 (t, J = 7.5 Hz, 6H); <sup>31</sup>P-NMR

(CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): δ 149.81, 149.51.

[0597] 실시예 16.



[0598]

[0599] 16-1의 제조

[0600] 220 mL의 N,N-다이메틸포름아미드 중 메틸(tert-부톡시카르보닐)글리시네이트(22 g, 116.40 mmol)의 용액에 0°C에서 수소화나트륨(5 g, 127.5 mmol, 1.1 당량)을 첨가하였다. 생성된 용액을 0°C에서 30분 동안 교반하였다. 이어서, 1-요오도헥사데칸(49 g, 139.58 mmol, 1.2 당량)을 0°C에서 첨가하고, 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 50 mL의 포화 염화암모늄 용액으로 킨칭하고, 1500 mL의 에틸 아세테이트로 희석시키고, 2 × 300 mL의 물, 1 × 300 mL의 포화 티오황산나트륨 수용액 및 포화 중탄산나트륨 수용액, 및 1 × 300 mL의 포화 염수로 세척하였다. 조 생성물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(70/1 내지 20/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 황색 고체로서 22 g(52% 수율)의 16-1을 얻었다. MS: m/z 436.35 [M+Na]<sup>+</sup>.

[0601] 16-2의 제조

[0602] 110 mL의 다이클로로메탄 중 16-1(22 g, 53.14 mmol)의 용액에 0°C에서 110 mL의 트라이플루오로아세트산을 첨가하였다. 생성된 용액을 0°C에서 1시간 동안 교반하였다. 용매를 감압 하에서 제거하고, 조 생성물을 헥산/에틸 아세테이트(70/1 내지 1/2)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 백색 고체로서 13 g(77% 수율)의 16-2를 얻었다. MS: m/z 314.30 [M+H]<sup>+</sup>.

[0603] 16-3의 제조

[0604] 불활성 아르곤 분위기 하에서 130 mL의 다이클로로메탄 중 16-2(13 g, 42.17 mmol) 및 N,N-다이아이소프로필에틸아민(16 g, 122.40 mmol, 3.0 당량)의 용액에 0°C에서 팔미트산(13 g, 48.86 mmol, 1.2 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 10분 동안 교반하고, 이어서 0°C에서 N-(3-다이메틸아미노프로필)-N'-에틸카르보다이이미드 하이드로클로라이드(12 g, 61.15 mmol, 1.5 당량) 및 1-하이드록시벤조트라이아졸(9 g, 60.79 mmol, 1.5 당량)을 첨가하였다. 생성된 용액을 실온에서 16시간 동안 교반하고, 이어서 1000 mL의 다이클로로메탄으로 희석시키고, 2 × 300 mL의 물 및 2 × 300 mL의 포화 염수로 세척하였다. 유기 층을 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 감압 하에서 농축시켰다. 조 생성물을 헥산/에틸 아세테이트(70/1 내지 2/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 백색 고체로서 13 g(58% 수율)의 16-3을 얻었다. MS: m/z 552.60 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 4.05 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 3.76 (d, J = 18.8 Hz, 3H), 3.40-3.29 (m, 2H), 2.40-2.34 (m, 2H), 1.71-1.53 (m, 4H), 1.35-1.25 (m, 50H), 0.89 (d, J = 7.0 Hz, 6H).

[0605] 16-4의 제조

[0606] 불활성 아르곤 분위기 하에서 130 mL의 테트라하이드로푸란 중 16-3(13 g, 23.91 mmol)의 용액에 0°C에서 5M 수산화리튬(24 mL, 119.55 mmol, 5.0 당량)을 첨가하였다. 생성된 용액을 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 혼합물을 1000 mL의 다이클로로메탄으로 희석시키고, 2M 염산을 사용하여 pH를 6으로 조정하고, 이어서 2 × 300 mL의 물 및 2 × 300 mL의 포화 염수로 세척하였다. 유기 층을 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 감압 하에서 농축시켰다. 조 생성물을 실리카 겔 컬럼 상에 적용하고, 헥산/에틸 아세테이트(70/1 내지 1/2)로 정제하여, 백색 고체로서 11 g(83% 수율)의 16-4를 얻었다. MS: m/z 538.55 [M+H]<sup>+</sup>.

[0607] 16-5의 제조

[0608] 불활성 아르곤 분위기 하에서 100 mL의 다이클로로메탄 중 16-4(11 g, 19.89 mmol) 및 N,N-다이아이소프로필에틸아민(10 g, 79.6 mmol, 4.0 당량)의 용액에 0℃에서 tert-부틸 메틸글리시네이트(4 g, 23.6 mmol, 1.2 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 10분 동안 교반하고, 이어서 0℃에서 N-(3-다이메틸아미노프로필)-N'-에틸카르보다이이미드 하이드로클로라이드(6 g, 29.7 mmol, 1.5 당량) 및 1-하이드록시벤조트라이아졸(4 g, 29.5 mmol, 1.5 당량)을 첨가하였다. 생성된 용액을 실온에서 12시간 동안 교반하고, 이어서 1000 mL의 다이클로로메탄으로 희석시키고, 2 × 300 mL의 물 및 2 × 300 mL의 포화 염수로 세척하였다. 유기 층을 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 감압 하에서 농축시켰다. 조 생성물을 실리카 겔 컬럼 상에 적용하고, 헥산/에틸 아세테이트(70/1 내지 2/1)로 정제하여, 백색 고체로서 8 g(57% 수율)의 16-5를 얻었다. MS: m/z 665.65 [M+H]<sup>+</sup>.

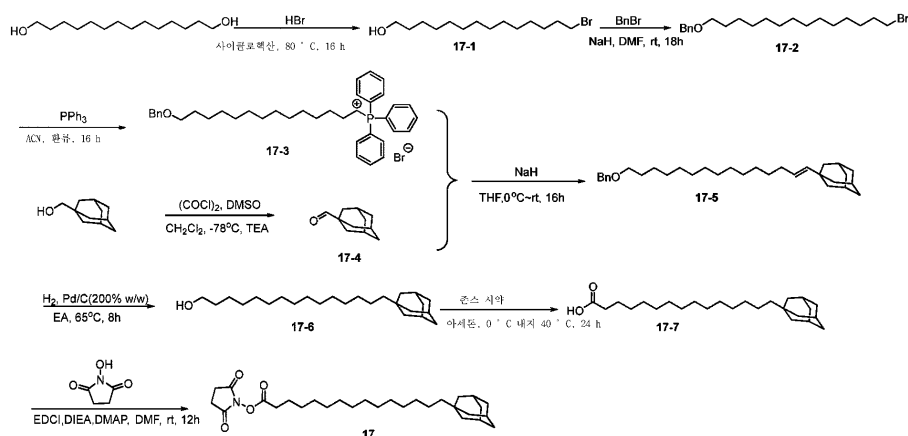
[0609] 16-6의 제조

[0610] 50 mL의 다이클로로메탄 중 16-5(8 g, 7.04 mmol)의 용액에 0℃에서 25 mL의 트라이플루오로아세트산을 첨가하였다. 생성된 용액을 0℃에서 2시간 동안 교반하였다. 용매를 감압 하에서 제거하고, 조 생성물을 헥산/에틸 아세테이트(70/1 내지 1/2)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 백색 고체로서 5 g(70% 수율)의 16-6을 얻었다. MS: m/z 609.55 [M+H]<sup>+</sup>.

[0611] 16의 제조

[0612] 불활성 아르곤 분위기 하에서 38 mL의 DMF 중 16-6(4 g, 6.25 mmol, 1.0 당량)의 용액에 0℃에서 1-하이드록시피롤리딘-2,5-다이온(2 g, 18.72 mmol, 3.0 당량) 및 1-에틸-3-(3-다이메틸아미노프로필)카르보다이이미드 하이드로클로라이드(2 g, 9.36 mmol, 1.5 당량)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 25℃에서 16시간 동안 교반하고, 이어서 0℃로 냉각시켰다. 생성된 용액을 여과하고, 여과 케이크를 차가운 DMF 및 차가운 아세트니트릴로 세척하였다. 고체를 다이클로로메탄 중에 용해시키고, 이어서 농축시켜, 백색 고체로서 1.9 g(43% 수율)의 화합물 16을 얻었다. MS: m/z 706.70 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 4.56 (d, J = 35.8 Hz, 2H), 4.15 (d, J = 42.3 Hz, 2H), 3.36 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 3.14 (s, 2H), 3.04 (s, 1H), 2.85 (d, J = 9.7 Hz, 4H), 2.36 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 1.64 (d, J = 6.8 Hz, 6H), 1.26 (s, 48H), 0.88 (t, J = 6.7 Hz, 6H).

[0613] 실시예 17.



[0614]

[0615] 17-1의 제조

[0616] 540 mL의 사이클로헥산 중 테트라데칸-1,14-다이올(54 g, 234.388 mmol)의 용액에 실온에서 브롬화수소(20.9 g, 257.827 mmol, 1.1 당량)를 첨가하고, 이어서 용액을 80℃에서 16시간 동안 교반하였다. 반응물을 포화 중탄산나트륨 용액(500 mL)을 첨가하여 채칭하고, 생성된 용액을 3 × 800 mL의 다이클로로메탄으로 추출하였다. 합한 유기 층을 2 × 500 mL의 물 및 500 mL의 염수로 세척하였다. 유기 층을 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하고, 감압 하에서 농축시켰다. 조 생성물을 실리카 겔 컬럼 상에 적용하고, 석유 에테르/에틸 아세테이트(100/1 내지 4/1)로 용리하여, 백색 고체로서 42 g(61% 수율)의 17-1을 얻었다.

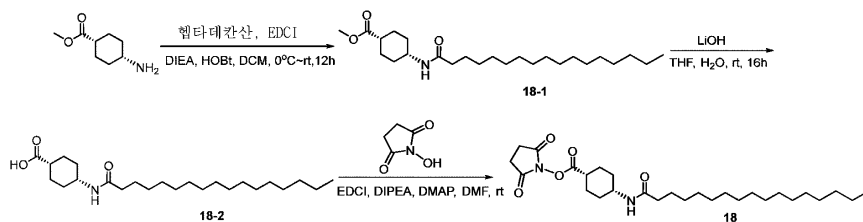
[0617] 17-2의 제조

- [0618] 440 mL의 다이메틸 포름아미드 중 17-1(22 g, 75.0 mmol)의 용액에 0℃에서 수소화나트륨(3.6 g, 150.02 mmol, 2.0 당량)을 첨가하고, 용액을 0℃에서 30분 동안 교반하고, 이어서 0℃에서 (브로모메틸)벤젠(19.2 g, 112.5 mmol, 1.5 당량)을 첨가하였다. 이어서, 용액을 실온에서 18시간 동안 교반하였다. 반응물을 포화 염화암모늄 용액(500 mL)을 첨가하여 켄칭하고, 생성된 용액을  $3 \times 500$  mL의 다이클로로메탄으로 추출하였다. 합한 유기 층을  $2 \times 300$  mL의 물 및 300 mL의 포화 염수로 세척하였다. 유기 층을 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하고, 감압 하에서 농축시켰다. 조 생성물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(100/1 내지 4/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 황색 오일로서 21.0 g(73% 수율)의 17-2를 얻었다.
- [0619] 17-3의 제조
- [0620] 400 mL의 아세토니트릴 중 17-2(50 g, 130.4 mmol)의 용액에 실온에서 트라이페닐포스판(68.4 g, 260.8 mmol, 2.0 당량)을 첨가하고, 생성된 혼합물을 환류 온도에서 16시간 동안 교반하였다. 생성물을 n-헥산을 사용하여 침전시키고, 여과하였다. 백색 고체로서의 17-3의 수율은 64.0 g(76%)이었다. MS:  $m/z$  565  $[M+H]^+$ .
- [0621] 17-4의 제조
- [0622] 불활성 분위기 하에서 건성 테트라하이드로푸란(5 mL) 중 염화옥살릴(572 mg, 4.51 mmol, 1.5 당량)의 용액에, -80℃에서 교반하면서, 테트라하이드로푸란(3 mL) 중 다이메틸설폭사이드(704 mg, 9.02 mmol, 3.0 당량)의 용액을 적가하였다. 30분 후에, 테트라하이드로푸란(3 mL) 중에 용해된 ((3r,5r,7r)-아다만탄-1-일) 메탄올(500.0 mg, 3.007 mmol, 1.0 당량)을 -80℃에서 교반하면서 적가하였다. 2시간 후에, 트라이에틸아민(1.9 mL, 13.5 mmol, 4.5 당량)을 첨가하고, -80℃에서의 교반을 30분 동안 계속하였다. 혼합물을 실온으로 가온되게 하고, 다이클로로메탄(20 mL)으로 희석시켰다. 유기 층을  $2 \times 20$  mL의 포화 염화암모늄 용액 및 20 mL의 염수로 연속적으로 세척하였다. 유기 층을 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 조 생성물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(100/1 내지 50/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 백색 고체로서 450 mg(88% 수율)의 17-4를 얻었다.
- [0623] 17-5의 제조
- [0624] 500 mL의 테트라하이드로푸란 중 17-3(50.0 g, 77.43 mmol)의 용액에 0℃에서 수소화나트륨(7.4 g, 309.7 mmol, 4.0 당량)을 첨가하고, 생성된 혼합물을 0℃에서 30분 동안 교반하였다. 이어서, 17-4(10.2 g, 61.9 mmol, 0.8 당량)를 0℃에서 첨가하고, 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 반응물을 포화 염화암모늄 용액(1000 mL)을 첨가하여 켄칭하고,  $3 \times 1500$  mL의 다이클로로메탄으로 추출하였다. 합한 유기 층을  $2 \times 1000$  mL의 물 및 1000 mL의 염수로 세척하였다. 유기 층을 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 조 생성물을 실리카 겔 컬럼 상에 적용하고, 석유 에테르/에틸 아세테이트(100/1 내지 3/1)로 용리하여, 황색 오일로서 31.0 g(88% 수율)의 17-5를 얻었다.  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.30-7.12 (m, 5H), 5.11-4.89 (m, 2H), 4.41 (s, 2H), 3.37 (t,  $J = 6.6$  Hz, 2H), 2.09 (q,  $J = 6.8$  Hz, 2H), 1.85 (dd,  $J = 6.1, 3.1$  Hz, 3H), 1.71-1.56 (m, 11H), 1.50 (dt,  $J = 13.5, 6.8$  Hz, 2H), 1.19 (d,  $J = 12.7$  Hz, 21H).
- [0625] 17-6의 제조
- [0626] 250 mL의 에틸 아세테이트 중 17-5(12.5 g, 27.7 mmol)의 용액에 탄소 상의 팔라듐(25 g)을 첨가하고, 생성된 혼합물을 20 atm 압력에서 그리고 65℃에서 8시간 동안 수소 하에서 교반하였다. 이어서, 혼합물을 여과하고, 여과액을 농축시키고, 잔류물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(100/1 내지 3/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하였다. 백색 고체로서 17-6(5.25 g, 52% 수율)을 얻었다.  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  4.21 - 4.13 (m, 1H), 3.24 (td,  $J = 6.4, 5.0$  Hz, 2H), 1.79 (s, 3H), 1.51 (dt,  $J = 15.1, 10.8$  Hz, 7H), 1.30 (d,  $J = 2.9$  Hz, 9H), 1.12 (s, 24H), 0.89 (d,  $J = 7.3$  Hz, 2H).
- [0627] 17-7의 제조
- [0628] 70 mL의 아세톤 중 17-6(3.5 g, 9.7 mmol)의 용액에 0℃에서 존스 시약(11.2 mL)을 첨가하고, 생성된 혼합물을 40℃에서 24시간 동안 교반하였다. 이어서, 혼합물을 여과하고, 여과액을 아세토니트릴을 사용하여 침전시켜, 백색 고체로서 2.7 g(74% 수율)의 17-7을 얻었다.  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  11.95 (s, 1H), 2.18 (t,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 1.91 (s, 3H), 1.62 (q,  $J = 12.3$  Hz, 6H), 1.52-1.33 (m, 8H), 1.24 (s, 18H), 1.18 (d,  $J = 9.2$  Hz, 4H), 1.01 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2H).

[0629] 17의 제조

[0630] 0℃에서 DMF(60 mL) 중 17-7(3 g, 8 mmol)의 용액에 1-하이드록시피롤리딘-2, 5-다이온(1.8 g, 15.9 mmol, 2.0 당량), 4-다이메틸아미노피리딘(194 mg, 1.6 mmol, 0.2 당량), N,N-다이아이소프로필에틸아민(3.1 g, 23.9 mmol, 3.0 당량), 및 3-((에틸이미노)메틸렌)아미노)-N,N-다이메틸프로판-1-아민 하이드로클로라이드(2.3 g, 11.94 mmol, 1.5 당량)를 첨가하였다. 생성된 혼합물을 실온에서 12시간 동안 교반하고, 이어서 3 × 500 mL의 다이클로로메탄으로 추출하였다. 합한 유기 층을 2 × 500 mL의 물 및 500 mL의 포화 염수로 세척하였다. 유기 층을 건조시키고( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), 여과하고, 농축시켰다. 조 잔류물을 실리카 겔 컬럼 상에 적용하고, n-헥산/에틸 아세테이트(100/1 내지 3/1)로 용리하여, 백색 고체로서 2.1 g(53.3% 수율)의 화합물 17을 얻었다. MS:  $m/z$  491  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ .  $^1\text{H-NMR}$ : ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.83 (s, 4H), 2.62 - 2.57 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 2H), 1.92 (s, 3H), 1.79-1.59 (m, 8H), 1.45 - 1.35 (m, 8H), 1.33-1.24 (m, 16H), 1.23 - 1.18 (m, 4H), 1.04 - 0.96 (m, 2H).

[0631] 실시예 18.



[0632]

[0633] 18-1의 제조

[0634] 불활성 아르곤 분위기 하에서 90 mL의 다이클로로메탄 중 메틸 트랜스-4-아미노사이클로헥산카르복실레이트 하이드로클로라이드(5 g, 25.9 mmol, 1.2 당량) 및 N,N-다이아이소프로필에틸아민(6.68 g, 51.8 mmol, 2.4 당량)의 용액에 0℃에서 헵타데칸산(5.8 g, 21.6 mmol, 1.0 당량)을 첨가하고, 혼합물을 10분 동안 교반하였다. 이어서, N-(3-다이메틸아미노프로필)-N'-에틸카르보다이이미드 하이드로클로라이드(4.97 g, 25.9 mmol, 1.2 당량) 및 1-하이드록시벤조트리아졸(3.5 g, 25.9 mmol, 1.2 당량)을 0℃에서 첨가하였다. 생성된 용액을 실온에서 12시간 동안 교반하고, 이어서 200 mL의 다이클로로메탄으로 희석시켰다. 유기 층을 2 × 100 mL의 물 및 2 × 100 mL의 포화 염수로 세척하였다. 유기 층을 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 농축시켰다. 잔류물을 헥산/에틸 아세테이트(70/1 내지 2/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 백색 고체로서 7.1 g(79% 수율)의 18-1을 얻었다. MS:  $m/z$  410.50  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.35 (s, 1H), 3.92 - 3.78 (m, 1H), 3.59 (s, 3H), 2.41 (s, 1H), 2.11-2.03 (m, 2H), 1.86-1.69 (m, 2H), 1.69-1.39 (m, 8H), 1.15 (s, 26H), 0.81-0.74 (m, 3H).

[0635] 18-2의 제조

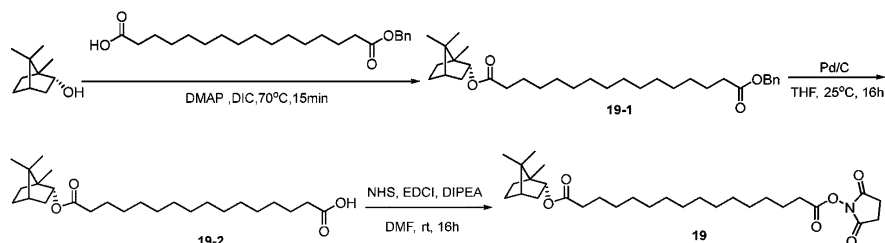
[0636] 불활성 아르곤 분위기 하에서 71 mL의 테트라하이드로푸란 중 18-1(7.1 g, 17.4 mmol)의 용액에 0℃에서 수산화 리튬(5M, 43.4 mL, 87 mmol, 5.0 당량)을 첨가하였다. 생성된 용액을 실온에서 16시간 동안 교반하고, 이어서 염산(2 M)을 사용하여 pH 6으로 중화시켰다. 혼합물을 200 mL의 다이클로로메탄으로 희석시키고, 이어서 2 × 100 mL의 물 및 2 × 100 mL의 포화 염수로 세척하였다. 유기 층을 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 농축시켰다. 조 잔류물을 헥산/에틸 아세테이트(70/1 내지 1/2)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 백색 고체로서 5 g(72% 수율)의 18-2를 얻었다. MS:  $m/z$  396.40  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .  $^1\text{HNMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  5.29 (s, 1H), 3.85 (s, 1H), 2.48 (s, 1H), 2.05 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 2H), 1.82 (d,  $J$  = 7.3 Hz, 2H), 1.66 (d,  $J$  = 10.2 Hz, 4H), 1.43 (s, 4H), 1.15 (s, 26H), 0.81 - 0.74 (m, 3H).

[0637] 18의 제조

[0638] 불활성 질소 분위기 하에서 DMF(50 mL) 중 18-2(5 g, 12.6 mmol) 및 N-하이드록시석신이미드(2.9 g, 25.2 mmol, 2.0 당량) 및 4-다이메틸아미노피리딘(310 mg, 2.5 mmol, 0.2 당량)의 용액에 0℃에서 N-(3-다이메틸아미노프로필)-N'-에틸카르보다이이미드 하이드로클로라이드(3.63 g, 18.9 mmol, 1.5 당량)를 첨가하였다. 생성된 용액을 실온에서 16시간 동안 교반하고, 이어서 100 mL의 다이클로로메탄으로 희석시켰다. 유기 층을 2 × 100 mL의 물 및 2 × 100 mL의 포화 염수로 세척하였다. 유기 층을 무수 황산나트륨으로 건조시키고,

여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 헥산/에틸 아세테이트(70/1 내지 1/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하였다. 생성물을 함유하는 분획들을 농축시키고, 잔류물을 다이클로로메탄/다이에틸 에테르(30/1)로부터 결정화하여, 백색 고체로서 2.41 g(38% 수율)의 화합물 18을 얻었다. MS:  $m/z$  493.20  $[M+H]^+$ .  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ ):  $\delta$  5.44 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 1H), 4.00-3.90 (m, 1H), 2.98-2.91 (m, 1H), 2.87 (d,  $J$  = 2.4 Hz, 4H), 2.20-2.07 (m, 4H), 1.91-1.78 (m, 4H), 1.68-1.52 (m, 4H), 1.27 (s, 26H), 0.90 (t,  $J$  = 6.8 Hz, 3H).

[0639] 실시예 19.



[0640]

[0641] 19-1의 제조

[0642]  $N_2$  하에서 다이클로로메탄(30 mL) 중 (-)-보르네올(2 g, 12.7 mmol)의 용액에 16-(벤질옥시)-16-옥소헥사데칸산(7.3 g, 19.44 mmol, 1.5 당량), 4-다이메틸아미노피리딘(0.48 g, 3.89 mmol, 0.3 당량), 및 다이사이클로헥실 카르보다이이미드(13.3 g, 64.83 mmol, 5.0 당량)를 첨가하고, 하룻밤 교반하였다. 이어서, 반응 혼합물을 물로 희석시키고, 다이클로로메탄으로 추출하였다. 합한 유기 층을 무수  $Na_2SO_4$ 로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(100/0 내지 50/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 황색 고체로서 6.5 g(97% 수율)의 19-1을 얻었다. MS:  $m/z$  535.20  $[M+Na]^+$ .

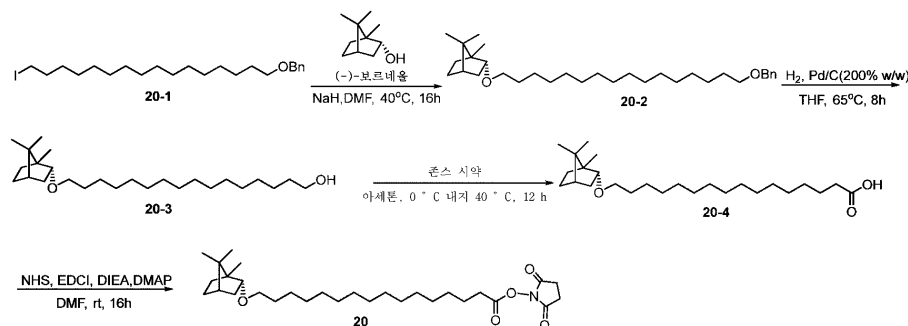
[0643] 19-2의 제조

[0644] 테트라하이드로푸란(67 mL) 중 19-1(6.7 g, 13.06 mmol)의 용액에 활성탄 상의 10% 팔라듐(1.4 g)을 첨가하고, 5회 사이클의  $H_2$ 로 플러싱하였다. 생성된 혼합물을 16시간 동안 교반하고, 이어서 여과하고, 고체를 테트라하이드로푸란으로 세척하고, 합한 여과액을 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(50/1 내지 10/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 백색 고체로서 4 g(75% 수율)의 19-2를 얻었다. MS:  $m/z$  445.40  $[M+Na]^+$ .

[0645] 19의 제조

[0646] N,N-다이메틸포름아미드(55 mL) 중 19-2(5.5 g, 13.0 mmol)의 용액에 1-에틸-3-(3-다이메틸아미노프로필)카르보다이이미드(2.42 g, 15.6 mmol, 1.2 당량), N-하이드록시석신이미드(1.80 g, 16.6 mmol, 1.2 당량), 및 N,N-다이아이소프로필에틸아민(5.04 g, 39.1 mmol, 3 당량)을 첨가하고, 16시간 동안 교반하였다. 혼합물을 에틸 아세테이트로 희석시켰다. 유기 층을 물 및 염수로 세척하고, 무수  $Na_2SO_4$ 로 건조시켰다. 증발된 잔류물을 헥산/에틸 아세테이트(100/0 내지 15/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 황백색(off-white) 고체로서 2.1 g(40% 수율)의 화합물 19를 얻었다. MS:  $m/z$  542.20  $[M+Na]^+$ .  $^1H$ -NMR ( $DMSO-d_6$ ):  $\delta$  4.81 (t,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 2.81 (s, 4H), 2.65 (t,  $J$  = 7.2 Hz, 2H), 2.72-2.31 (m, 3H), 1.88-1.84 (m, 1H), 1.72-1.51 (m, 6H), 1.34-1.14 (m, 23H), 0.92-0.78 (m, 9H).

[0647] 실시예 20.



[0648]

[0649] 20-2의 제조

[0650] 0°C에서 N,N-다이메틸포름아미드(250 mL) 중 (1S,2R,4S)-1,7,7-트라이메틸바이사이클로 [2.2.1] 헵탄-2-올 (16.8 g, 109.06 mmol, 2.0 당량)의 용액에 수소화나트륨(2.6 g, 109.1 mmol, 2.0 당량)을 첨가하고, 30분 동안 교반하였다. 이어서, 20-1(25 g, 54.5 mmol, 1.0 당량)을 0°C에서 첨가하고, 용액을 40°C에서 16시간 동안 교반하였다. 반응물을 포화 NH<sub>4</sub>Cl로 켄칭하고, 다이클로로메탄으로 추출하였다. 합한 유기 층을 물 및 염수로 세척하였다. 유기 층을 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(100/1 내지 10/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 황색 오일로서 4.5 g(17% 수율)의 20-2를 얻었다.

[0651] 20-3의 제조

[0652] THF(46 mL) 중 20-2(2.3 g, 4.74 mmol)의 용액에 탄소 상의 팔라듐(4.6 g)을 첨가하고, 혼합물을 65°C에서 8시간 동안 H<sub>2</sub>(20 atm 압력) 하에서 교반하였다. 생성된 혼합물을 여과하고, 여과액을 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(100/1 내지 6/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 백색 고체로서 1.8 g(96% 수율)의 20-3을 얻었다. <sup>1</sup>HNMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 3.63 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 3.53 (ddd, J = 9.5, 3.4, 1.9 Hz, 1H), 3.46-3.27 (m, 2H), 2.16 - 1.91 (m, 2H), 1.63-1.47 (m, 7H), 1.27 (d, J = 8.2 Hz, 25H), 0.99 (dd, J = 13.0, 3.4 Hz, 1H), 0.85 (d, J = 7.5 Hz, 9H).

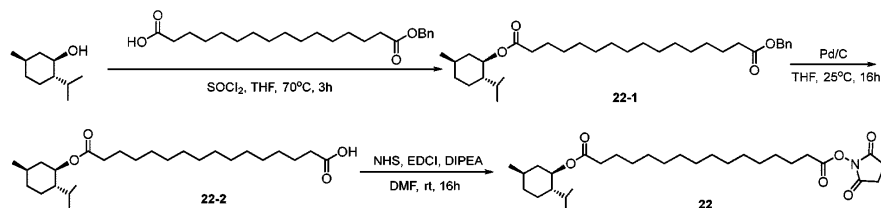
[0653] 20-4의 제조

[0654] 0°C에서 아세톤(121 mL) 중 20-3(3.46 g, 8.8 mmol)의 용액에 존스 시약(10.5 mL)을 첨가하고, 40°C에서 12시간 동안 교반하였다. 이어서, 반응 혼합물을 여과하고, 농축시키고, 석유 에테르/에틸 아세테이트(100/1 내지 6/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 백색 고체로서 2.87 g(80% 수율)의 20-4를 얻었다. <sup>1</sup>HNMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 12.29-11.36 (m, 1H), 3.56-3.13 (m, 3H), 2.15 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.10-1.90 (m, 2H), 1.68-1.54 (m, 2H), 1.47 (h, J = 6.6 Hz, 4H), 1.24 (d, J = 11.0 Hz, 22H), 1.11 (ddt, J = 17.3, 11.8, 4.9 Hz, 2H), 0.97-0.88 (m, 1H), 0.79 (d, J = 2.5 Hz, 9H).

[0655] 20의 제조

[0656] 0°C에서 N,N-다이메틸포름아미드(70 mL) 중 20-4(3.5 g, 8.6 mmol)의 용액에 1-하이드록시피롤리딘-2,5-다이온 (1.9 g, 17.1 mmol, 2.0 당량), 4-다이메틸아미노피롤리딘(0.21 g, 1.7 mmol, 0.2 당량), N,N-다이아이소프로필 에틸아민(3.3 g, 25.7 mmol, 3.0 당량), 및 3-(((에틸아민)메틸렌) 아미노)-N,N-다이메틸프로판-1-아민 하이드로클로라이드(2.4 g, 12.8 mmol, 1.5 당량)를 첨가하고, 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 생성된 혼합물을 다이클로로메탄으로 추출하였다. 유기 층을 물 및 염수로 세척하고, 건조시키고(무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 n-헥산/에틸 아세테이트(100/1 내지 6/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 황백색 고체로서 2.0 g(44% 수율)의 화합물 20을 얻었다. MS: m/z 528.4 [M+Na]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>HNMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 3.58-3.48 (m, 1H), 3.46-3.26 (m, 2H), 2.84 (d, J = 2.3 Hz, 4H), 2.66-2.54 (m, 2H), 2.16-1.91 (m, 2H), 1.79 - 1.50 (m, 7H), 1.39 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 1.27 (d, J = 7.5 Hz, 20H), 1.20-1.12 (m, 1H), 1.02-0.95 (m, 1H), 0.86 (s, 3H), 0.83 (d, J = 1.1 Hz, 6H).

## [0657] 실시예 21.



## [0658] 22-1의 제조

[0659] 실푸릴 다이클로라이드(40 mL) 중 16-(벤질옥시)-16-옥소헥사데칸산(4.8 g, 12.8 mmol)의 용액을 70°C에서 1시간 동안 교반하였다. 이어서, 이것을 실온으로 냉각시키고, 농축시켰다. 조 물질을 실온에서 테트라하이드로푸란(10 mL) 중 (1R,2S,5R)-2-아이소프로필-5-메틸사이클로헥산-1-올(2 g, 12.79 mmol, 1.0 당량)의 용액에 첨가하고, 2시간 동안 교반하였다. 1 M NaOH 용액을 사용하여 pH를 7로 조정하고, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기 층을 염수로 세척하고, 무수  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 컬럼(석유 에테르/에틸 아세테이트, 100/0 내지 80/1) 상에서 정제하여, 무색 오일로서 5 g(78% 수율)의 22-1을 얻었다. MS:  $m/z$  537.50  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

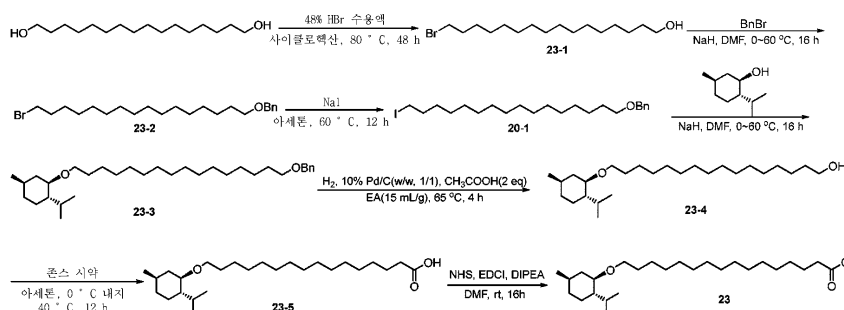
## [0661] 22-2의 제조

[0662] 테트라하이드로푸란(50 mL) 중 22-1(5 g, 7.41 mmol)의 용액에  $\text{N}_2$  하에서 활성탄 상의 10% 팔라듐(1 g)을 첨가하였다. 플라스크를 5회 사이클의  $\text{H}_2$ 로 플라싱하고,  $\text{H}_2$  하에서 16시간 동안 교반하였다. 이어서, 반응 혼합물을 여과하고, 농축시키고, 잔류물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(100/0 내지 40/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 백색 고체로서 3.5 g(74% 수율)의 22-2를 얻었다. MS:  $m/z$  447.40  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

## [0663] 22의 제조

[0664] N,N-다이메틸포름아미드(55 mL) 중 22-2(5.5 g, 11.656 mmol)의 용액에 1-하이드록시피롤리딘-2,5-다이온(2 g, 17.48 mmol, 1.5 당량), 1-에틸-3-(3-다이메틸아미노프로필)-카르보다이이미드(3.3 g, 17.48 mmol, 1.5 당량), 및 N,N-다이아이소프로필에틸아민(4.5 g, 34.96 mmol, 3 당량)을 첨가하고, 16시간 동안 교반하였다. 이어서, 반응 혼합물을 에틸 아세테이트로 희석시키고, 유기 층을 물 및 염수로 세척하였다. 이어서, 생성된 용액을 무수  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 헥산/에틸 아세테이트(100/0 내지 15/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 백색 고체로서 2.7 g의 화합물 22를 얻었다. MS:  $m/z$  544.40  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  4.61-4.54 (m, 1H), 2.81 (s, 4H), 2.65 (t,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 2.25 (t,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 1.88-1.80 (m, 2H), 1.66-1.49(m, 6H) 1.44-1.24 (m, 22H), 1.11-0.83(m, 9H), 0.71 (d,  $J = 6.9$  Hz, 3H).

## [0665] 실시예 22.



## [0667] 23-1의 제조

[0668] 사이클로헥산(600 mL) 중 1,16-헥사데칸다이올(60 g, 232.56 mmol)의 용액에 브롬화수소(43.2 mL, 255.8 mmol, 1.1 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 환류까지 가온하고, 48시간 동안 교반하였다. 생성된 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(60/1 내지 30/1)를 사용하는 실리

카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 백색 고체로서 35 g(47% 수율)의 23-1을 얻었다.

[0669] 23-2의 제조

[0670] Ar 하에서 0℃에서 무수 N,N-다이메틸포름아미드(700 mL) 중 23-1(35 g, 109.4 mmol)의 용액에 수소화나트륨(오일 중 60% 분산액, 8.75 g, 218.8 mmol, 2.0 당량)을 첨가하고, 30분 동안 교반하였다. 벤질 브로마이드(28.06 g, 164.1 mmol, 1.5 당량)를 0℃에서 반응 혼합물에 첨가하고, 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 포화 NH<sub>4</sub>Cl로 키텅하고, 에틸 아세테이트로 희석시키고, 물 및 염수로 세척하였다. 유기 층을 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(500/1 내지 200/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 백색 고체로서 30 g(67% 수율)의 23-2를 얻었다. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 7.42 - 7.23 (m, 5H), 4.48 (d, *J* = 39.7 Hz, 2H), 3.58 - 3.36 (m, 4H), 1.78 (p, *J* = 6.8 Hz, 2H), 1.52 (p, *J* = 6.7 Hz, 2H), 1.23 (s, 24H).

[0671] 20-1의 제조

[0672] 아세톤(600 mL) 중 23-2(30 g, 93.75 mmol, 1.0 당량)의 혼합물에 요오드화나트륨(28.125 g, 187.5 mmol, 2.0 당량)을 첨가하고, 격렬하게 교반하면서 2시간 동안 환류하였다. 반응 혼합물을 냉각시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(100/1 내지 60/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 백색 고체로서 30 g(89.5% 수율)의 20-1을 얻었다. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 7.35 - 7.21 (m, 5H), 4.50 (d, *J* = 2.1 Hz, 2H), 3.46 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 3.18 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 1.82 (p, *J* = 7.1 Hz, 2H), 1.61 (p, *J* = 6.8 Hz, 2H), 1.26 (s, 24H).

[0673] 23-3의 제조

[0674] Ar 하에서 0℃에서 무수 N,N-다이메틸포름아미드(409 mL) 중 L(-)-멘톨(20.44 g, 131.0 mmol, 2.0 당량)의 용액에 수소화나트륨(오일 중 60% 분산액, 5.24 g, 131.0 mmol, 2.0 당량)을 첨가하고, 30분 동안 교반하였다. 이어서, 20-1(30 g, 65.50 mmol, 1.0 당량)을 0℃에서 반응 혼합물에 첨가하고, 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 포화 NH<sub>4</sub>Cl로 키텅하고, 에틸 아세테이트로 희석시키고, 물 및 염수로 세척하였다. 유기 층을 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(200/1 내지 100/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 무색 오일로서 9.8 g(30% 수율)의 23-3을 얻었다. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 7.39 - 7.22 (m, 5H), 4.50 (s, 2H), 3.60 (dt, *J* = 9.1, 6.4 Hz, 1H), 3.46 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 3.38 (t, *J* = 6.7 Hz, 1H), 3.25 (dt, *J* = 9.2, 6.9 Hz, 1H), 2.98 (td, *J* = 10.5, 4.1 Hz, 1H), 2.23 (dq, *J* = 14.1, 7.2, 2.7 Hz, 1H), 2.14 - 2.00 (m, 1H), 1.69 - 1.51 (m, 6H), 1.35 - 1.23 (m, 27H), 0.94 - 0.75 (m, 10H).

[0675] 23-4의 제조

[0676] H<sub>2</sub> 하에서 에틸 아세테이트(144 mL) 중 23-3(7.2 g, 14.81 mmol, 1.0 당량)의 용액에 활성탄 상의 팔라듐(10%, 14.4 g) 및 아세트산(0.89 g, 14.8 mmol, 1.0 당량)을 첨가하고, 65℃에서 8시간 동안 교반하였다. 용액을 여과하고, 농축시키고, 잔류물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(100/1 내지 50/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 백색 고체로서 5.2 g(88.6% 수율)의 23-4를 얻었다. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 3.62 (dt, *J* = 15.5, 6.5 Hz, 3H), 3.25 (dt, *J* = 9.2, 6.9 Hz, 1H), 2.99 (td, *J* = 10.6, 4.1 Hz, 1H), 2.21 (pt, *J* = 9.6, 4.8 Hz, 1H), 2.14 - 2.04 (m, 1H), 1.70 - 1.47 (m, 6H), 1.38 - 1.14 (m, 27H), 1.04 - 0.74 (m, 12H).

[0677] 23-5의 제조

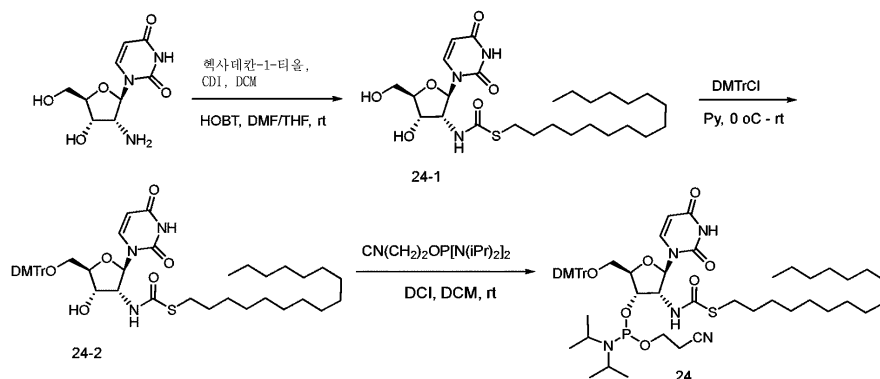
[0678] Ar 하에서 0℃에서 아세톤(182 mL) 중 23-4(5.2 g, 13.13 mmol, 1.0 당량)의 용액에 존스 시약(2.67 M, 15.74 mL, 42.02 mmol, 3.2 당량)을 첨가하고, 40℃에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고, 농축시키고, 잔류물을 다이클로로메탄으로 희석시키고, 이어서 물 및 염수로 세척하였다. 유기 층을 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(40/1 내지 8/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 물 고체로서 3.5 g(65% 수율)의 23-5를 얻었다. MS: *m/z* 409.30 [M-H]<sup>-</sup>. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 3.62 - 2.82 (m, 3H), 2.27 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 2.21 - 1.96 (m, 2H), 1.65 - 1.39 (m, 6H),

1.21 (d,  $J = 13.8$  Hz, 25H), 0.94 - 0.66 (m, 11H).

[0679] 23의 제조

[0680] Ar 하에서 0℃에서 N,N-다이메틸포름아미드(70 mL) 중 23-5(3.5 g, 8.54 mmol, 1.0 당량) 및 N-하이드록시석신 이미드(1.96 g, 17.07 mmol, 2.0 당량)의 용액에 4-다이메틸아미노피리딘(0.21 g, 1.71 mmol, 0.2 당량) 및 N,N-다이아이소프로필에틸아민(3.3 g, 25.61 mmol, 3.0 당량)을 첨가하고, 30분 동안 교반하였다. 이어서, N-(3-다이메틸아미노프로필)-N'-에틸카르보다이어미드 하이드로클로라이드(2.46 g, 12.81 mmol, 1.5 당량)를 첨가하고, 실온에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 에틸 아세테이트로 희석시키고, 물 및 염수로 세척하였다. 유기 층을 무수  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 잔류물을 헥산/에틸 아세테이트(50/1 내지 6/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 백색 고체로서 2.0 g(46.9% 수율)의 화합물 23을 얻었다. MS:  $m/z$  508.45  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  3.60 (dt,  $J = 9.1, 6.3$  Hz, 1H), 3.24 (dt,  $J = 9.1, 6.8$  Hz, 1H), 2.98 (td,  $J = 10.5, 4.1$  Hz, 1H), 2.83 (d,  $J = 2.5$  Hz, 4H), 2.60 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 2.22 (pd,  $J = 6.9, 2.7$  Hz, 1H), 2.14 - 2.02 (m, 1H), 1.74 (p,  $J = 7.4$  Hz, 2H), 1.67 - 1.47 (m, 4H), 1.26 (d,  $J = 5.7$  Hz, 24H), 1.04 - 0.83 (m, 8H), 0.82 - 0.73 (m, 4H).

[0681] 실시예 23.



[0682]

[0683] 24-1의 제조

[0684] 불활성 아르곤 분위기 하에서 50 mL의 다이클로로메탄 중 1,1'-카르보닐다이이미다졸(4.8 g, 19.6 mmol, 1.8 당량)의 용액에 실온에서 헥사데칸-1-티올(6.38 g, 24.69 mmol, 1.5 당량)을 첨가하였다. 생성된 용액을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에서 농축시켰다. 조 생성물을 다이클로로메탄(10 mL)으로 용해시키고, 이어서 아세트니트릴(100 mL)에 적가하였다. 고체를 여과에 의해 수집하였다. 케이크를 20 mL의 N,N-다이메틸포름아미드 및 20 mL의 테트라하이드로푸란 중에 용해시켰다. 이어서, 2'-아미노-D-우리딘(4 g, 16.5 mmol, 1.0 당량) 및 1-하이드록시벤조트리아졸(3.33 g, 24.7 mmol, 1.5 당량)을 실온에서 첨가하였다. 생성된 용액을 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 감압 하에서 농축시켰다. 조 생성물을 하기 조건으로 분취용-플래시로 정제하였다: C18-컬럼, 이동상, 물 및 테트라하이드로푸란(구배 30% 내지 100% THF). 생성물을 함유하는 분획을 농축시켜, 백색 고체로서 6.9 g(80% 수율)의 24-1을 얻었다. MS:  $m/z$  528.15  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  11.30 (d,  $J = 2.3$  Hz, 1H), 8.05 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 7.87 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 5.90 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H), 5.75-5.59 (m, 2H), 5.16 (t,  $J = 5.0$  Hz, 1H), 4.55-4.40 (m, 1H), 4.08 (t,  $J = 5.7$  Hz, 1H), 3.90 (q,  $J = 2.8$  Hz, 1H), 3.66-3.49 (m, 2H), 2.84-2.63 (m, 2H), 1.45 (d,  $J = 7.0$  Hz, 2H), 1.23 (d,  $J = 2.8$  Hz, 26H), 0.92-0.79 (m, 3H).

[0685] 24-2의 제조

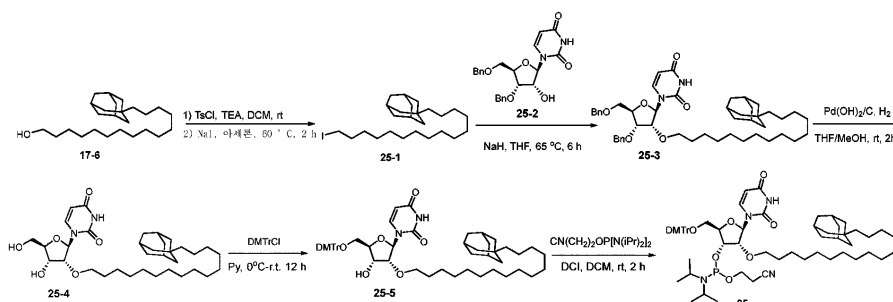
[0686] 불활성 아르곤 분위기 하에서 40 mL의 피리딘 중 24-1(4 g, 3.4 mmol)의 용액에 0℃에서 4,4'-다이메톡시트라이틸 클로라이드(3.1 g, 9.1 mmol, 1.2 당량)를 첨가하였다. 생성된 용액을 25℃에서 3시간 동안 교반하였다. 반응물을 300 mL의 다이클로로메탄으로 희석시키고, 포화 중탄산나트륨 수용액으로 켄칭하였다. 혼합물을  $2 \times 150$  mL의 포화 중탄산나트륨 수용액 및  $2 \times 150$  mL의 포화 염수로 세척하였다. 유기 층을  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 로 건조시키고, 여과하고, 감압 하에서 농축시켰다. 조 생성물을 하기 조건으로 분취용-플래시로 정제하였다: C18-컬럼, 이동상, 물 및 THF, 구배 30% 내지 100% THF. 생성물을 함유하는 분획들을 합하고, 등부피의 다이클

로로메탄으로 희석시켰다. 유기 층을 분리하였다. 수성 층을  $3 \times 200$  mL의 다이클로로메탄으로 추출하였다. 합한 유기 추출물을 건조시키고(무수  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), 여과하고, 농축시켜, 백색 고체로서 3.9 g(62% 수율)의 24-2를 얻었다. MS:  $m/z$  852.45  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  11.36 (s, 1H), 8.18 (d,  $J = 8.3$  Hz, 1H), 7.65 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 7.45-7.17 (m, 9H), 6.96-6.84 (m, 4H), 5.89 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 5.68 (d,  $J = 4.9$  Hz, 1H), 5.41 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 4.64 (d,  $J = 6.4$  Hz, 1H), 4.19 (d,  $J = 7.1$  Hz, 1H), 4.00 (d,  $J = 3.5$  Hz, 1H), 3.75 (s, 6H), 3.31-3.15 (m, 2H), 2.84-2.70 (m, 2H), 1.58-1.40 (m, 2H), 1.24 (s, 26H), 0.91-0.75 (m, 3H).

[0687] 24의 제조

[0688] 불활성 아르곤 분위기 하에서 다이클로로메탄(31 mL) 중 24-2(3.1 g, 3.74 mmol)의 용액에 3-(비스(다이아이스프로필아미노)포스포노옥시)프로판니트릴(1.35 g, 4.48 mmol, 1.2 당량), 4,5-다이시아노이미다졸(485 mg, 4.1 mmol, 1.1 당량)을 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 생성된 용액을 500 mL의 다이클로로메탄으로 희석시키고, 300 mL의 포화 중탄산나트륨 수용액 및 300 mL의 포화 염수로 세척하였다. 유기 층을 건조시키고(무수  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), 여과하고, 농축시켰다. 조 생성물을 하기 조건으로 분취용-플래시로 정제하였다: C18-컬럼, 이동상, 물 및 THF, 구배 30% 내지 100% THF. 생성물을 함유하는 분획들을 합하고, 등부피의 다이클로로메탄으로 희석시켰다. 유기 층을 분리하였다. 수성 상을  $3 \times 200$  mL의 다이클로로메탄으로 추출하였다. 합한 유기 추출물을 건조시키고(무수  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), 여과하고, 농축시켰다. 조 잔류물을 헥산/에틸 아세테이트(5/1 내지 2/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 백색 고체로서 2.624 g(69% 수율)의 화합물 24를 얻었다. MS  $m/z$  1030.55  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  11.43 (s, 1H), 8.44 (dd,  $J = 33.8, 8.3$  Hz, 1H), 7.69 (dd,  $J = 8.2, 5.0$  Hz, 1H), 7.40 (dd,  $J = 7.7, 2.5$  Hz, 2H), 7.35-7.21 (m, 7H), 6.89 (dd,  $J = 9.0, 3.0$  Hz, 4H), 5.94 (t,  $J = 7.0$  Hz, 1H), 5.45 (d,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 4.90-4.70 (m, 1H), 4.47-4.28 (m, 1H), 4.26-4.11 (m, 1H), 3.93-3.77 (m, 1H), 3.74 (s, 6H), 3.72-3.61 (m, 1H), 3.60-3.43 (m, 2H), 3.30-3.18 (m, 2H), 2.92-2.79 (m, 1H), 2.78-2.68 (m, 2H), 2.63 (t,  $J = 6.0$  Hz, 1H), 1.58-1.46 (m, 2H), 1.23 (s, 26H), 1.15-1.05 (m, 9H), 0.96 (d,  $J = 6.7$  Hz, 3H), 0.88-0.82 (m, 3H).  $^{31}\text{P}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  149.13, 147.57.

[0689] 실시예 24.



[0690]

[0691] 25-1의 제조

[0692] 140 mL의 다이클로로메탄 중 17-6(14 g, 38.60 mmol), 트라이에틸아민(11.7 g, 115.8 mmol, 3.0 당량) 및 다이메틸아미노피리딘(2.4 g, 19.30 mmol, 0.5 당량)의 용액에  $^\circ\text{C}$ 에서 4-메틸벤젠설폰일 클로라이드(8.1 g, 42.5 mmol, 1.1 당량)를 첨가하였다. 생성된 용액을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응물을 500 mL의 포화 중탄산나트륨 용액을 첨가하여 켄칭하고, 생성된 혼합물을  $3 \times 800$  mL의 다이클로로메탄으로 추출하였다. 합한 유기 층을  $2 \times 500$  mL의 물 및 500 mL의 염수로 세척하고, 무수  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 150 mL의 아세톤 중 조 생성물 및 요오드화나트륨(28.9 g, 193.0 mmol, 5.0 당량)의 혼합물을 격렬하게 교반하면서 2시간 동안 환류하고, 이어서 실온으로 냉각시키고,  $3 \times 800$  mL의 다이클로로메탄으로 추출하였다. 합한 유기 층을  $2 \times 500$  mL의 물 및 500 mL의 포화 염수로 세척하고, 무수  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 조 생성물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(100/1 내지 10/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 무색 오일로서 14.2 g(78% 수율)의 25-1을 얻었다.  $^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.09 (t,  $J = 7.0$  Hz, 2H), 1.83

(t,  $J = 3.2$  Hz, 3H), 1.71 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 1.63 – 1.40 (m, 6H), 1.38 – 1.05 (m, 30H), 0.93 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2H).

[0693] 25-3의 제조

[0694] 0℃에서 70 mL의 테트라하이드로푸란 중 25-2(3.1 g, 7.4 mmol)의 용액에 수소화나트륨(0.71 g, 29.6 mmol, 4.0 당량)을 첨가하고, 생성된 혼합물을 0℃에서 30분 동안 교반하였다. 이어서, 25-1(13.9 g, 29.6 mmol, 4.0 당량)을 0℃에서 첨가하고, 반응 혼합물을 65℃에서 6시간 동안 교반하였다. 반응물을 포화 염화암모늄 용액(500 mL)을 첨가하여 키텅하고, 다이클로로메탄( $3 \times 800$  mL)으로 추출하였다. 합한 유기 층을 물 및 염수로 세척하고, 무수  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 조 생성물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(100/1 내지 1/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 백색 고체로서 2.40 g(42% 수율)의 25-3을 얻었다. MS  $m/z$  791.50  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

[0695] 25-4의 제조

[0696] 메탄올(37 mL) 및 테트라하이드로푸란(37 mL) 중 25-3(3.7 g, 4.811 mmol, 1.0 당량)의 용액에 수산화팔라듐(3.7 g)을 첨가하고,  $\text{H}_2$  분위기 하에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 여과액을 농축시켰다. 조 생성물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(100/1 내지 3/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 백색 고체로서 2.1 g(74% 수율)의 25-4를 얻었다.  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  11.32 (s, 1H), 7.94 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 5.84 (d,  $J = 5.1$  Hz, 1H), 5.63 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 5.12 (t,  $J = 5.0$  Hz, 1H), 5.02 (d,  $J = 5.8$  Hz, 1H), 4.12–4.02 (m, 1H), 3.90–3.80 (m, 2H), 3.69 – 3.51 (m, 3H), 3.44 (dddd,  $J = 11.9, 6.9, 5.0, 1.7$  Hz, 1H), 3.17 (d,  $J = 5.2$  Hz, 1H), 1.90 (p,  $J = 2.9, 2.3$  Hz, 3H), 1.70–1.53 (m, 6H), 1.53–1.38 (m, 8H), 1.22 (d,  $J = 1.8$  Hz, 23H), 1.00 (dt,  $J = 12.8, 4.2$  Hz, 2H).

[0697] 25-5의 제조

[0698] 피리딘(10 mL) 중 25-4(1.0 g, 1.698 mmol)의 용액에 0℃에서 다이메톡시트라이틸 클로라이드(748 mg, 2.21 mmol, 1.3 당량)를 첨가하고, 이어서 실온에서 12시간 동안 교반하였다. 생성된 용액을  $3 \times 100$  mL의 다이클로로메탄으로 추출하였다. 합한 추출물을  $2 \times 100$  mL의 물 및 100 mL의 포화 염수로 세척하고, 무수  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 조 생성물을 석유 에테르/에틸 아세테이트(100/1 내지 1/2)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 백색 고체로서 1.3 g(85% 수율)의 25-5를 얻었다.  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  11.38 (d,  $J = 1.9$  Hz, 1H), 7.73 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 7.47–7.10 (m, 9H), 6.95 – 6.78 (m, 4H), 5.80 (d,  $J = 3.7$  Hz, 1H), 5.28 (dd,  $J = 8.1, 1.8$  Hz, 1H), 5.11 (d,  $J = 6.5$  Hz, 1H), 4.22 – 3.84 (m, 4H), 3.74 (s, 6H), 3.57 (qt,  $J = 9.2, 6.3$  Hz, 2H), 3.26 (td,  $J = 12.3, 10.7, 3.5$  Hz, 2H), 1.88 (q,  $J = 3.1$  Hz, 3H), 1.70 – 1.45 (m, 8H), 1.41 (d,  $J = 2.8$  Hz, 6H), 1.20 (d,  $J = 12.8$  Hz, 23H), 1.00 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2H).

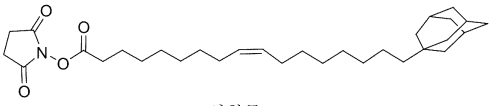
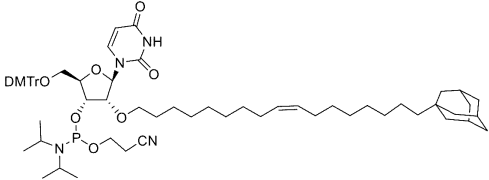
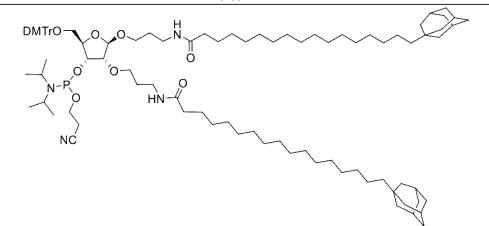
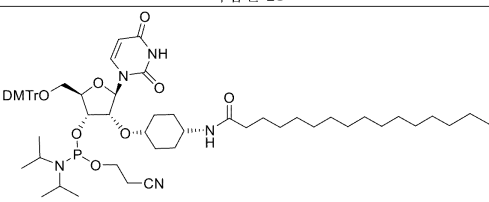
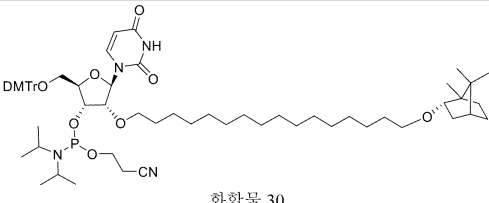
[0699] 25의 제조

[0700] 다이클로로메탄(33 mL) 중 25-5(3.3 g, 3.7 mmol)의 용액에 2-시아노에틸 N, N, N', N'-테트라아이소프로필포스포다리아미다이트(1.9 g, 6.3 mmol, 1.7 당량), 및 4,5-다이시아노이미다졸(0.5 g, 4.1 mmol, 1.1 당량)을 첨가하였다. 생성된 용액을 실온에서 2시간 동안 교반하고, 이어서  $3 \times 500$  mL의 다이클로로메탄으로 추출하였다. 합한 유기 추출물을  $2 \times 500$  mL의 포화 염수로 세척하고, 무수  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 로 건조시키고, 여과하고, 농축시켰다. 조 생성물을 n-헥산/에틸 아세테이트(100/1 내지 1/1)를 사용하는 실리카 겔 컬럼 상에서 정제하여, 백색 고체로서 2.38 g(57% 수율)의 화합물 25를 얻었다. MS:  $m/z$  1091.55  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  11.39 (s, 1H), 7.86 – 7.73 (m, 1H), 7.45–7.17 (m, 9H), 6.95–6.81 (m, 4H), 5.80 (t,  $J = 3.1$  Hz, 1H), 5.24 (t,  $J = 8.9$  Hz, 1H), 4.47–4.26 (m, 1H), 4.18–3.97 (m, 2H), 3.83–3.43 (m, 12H), 3.23–3.15 (m, 2H), 2.82–2.56 (m, 2H), 1.88 (s, 3H), 1.71–1.35 (m, 14H), 1.29–1.04 (m, 33H), 0.98 (d,  $J = 6.8$  Hz, 5H).  $^{31}\text{P-NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  149.13, 148.53.

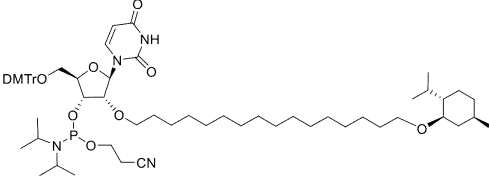
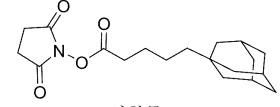
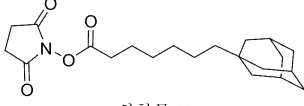
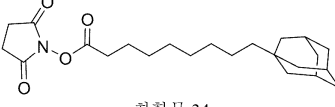
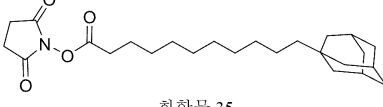
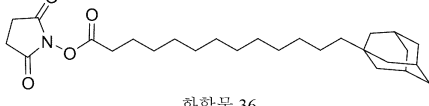
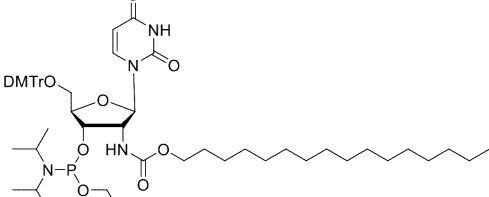
[0701] 실시예 25.

[0702] 상응하는 출발 물질을 사용하여, 앞선 실시예에서 제공된 화합물들과 유사한 방식으로 하기 화합물들을 제조하

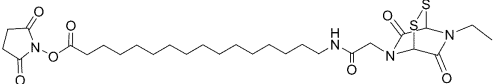
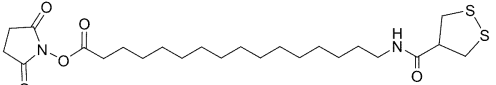
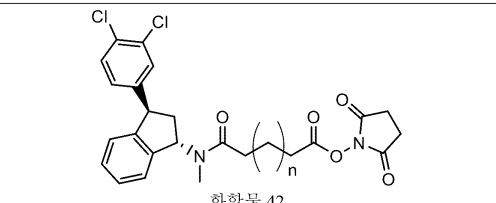
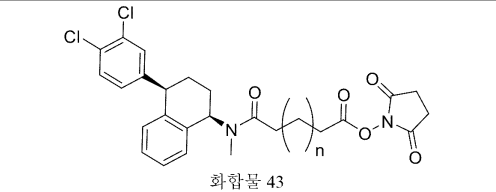
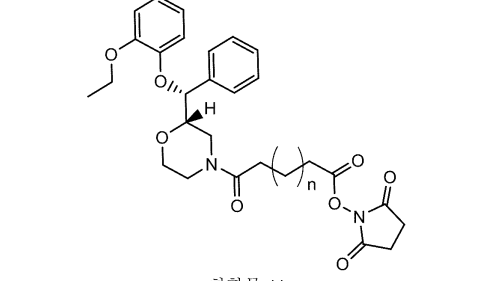
였다.

| 화합물                                                                                           | 특성화                                                                                                                                                                                                                     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <br>화합물 26   | $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ ): $\delta$ 22.39, 24.58, 25.60, 27.17, 27.24, 28.78, 28.82, 28.92, 29.01, 29.35, 29.64, 29.65, 29.80, 30.67, 30.95, 32.24, 37.35, 42.57, 44.83, 129.70, 130.06, 168.68, 169.17. |
| <br>화합물 27   | MS: $m/z$ 1119 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; $^{31}\text{P}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ ): $\delta$ 149.16, 148.63.                                                                                                             |
| <br>화합물 28   | $^{31}\text{P}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ ): $\delta$ 149.80, 149.61.                                                                                                                                                      |
| <br>화합물 29  | MS: $m/z$ 1082 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; $^{31}\text{P}$ -NMR ( $\text{DMSO-d}_6$ ): $\delta$ 149.17, 148.08.                                                                                                           |
| <br>화합물 30 | MS: $m/z$ 1124 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; $^{31}\text{P}$ -NMR ( $\text{DMSO-d}_6$ ): $\delta$ 149.12, 148.45.                                                                                                           |

[0703]

|                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                             |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  <p>화합물 31</p>   | <p>MS: m/z 1126 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>31</sup>P-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 149.15, 148.65.</p>                                                                                                                                           |
|  <p>화합물 32</p>   | <p><sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 21.80, 25.58, 25.60, 28.74, 31.00, 32.20, 37.24, 42.41, 44.11, 77.04, 77.25, 168.72, 169.21.</p>                                                                                                |
|  <p>화합물 33</p>   | <p>MS: m/z 361 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 22.14, 24.59, 25.60, 28.79, 28.88, 30.08, 30.96, 32.21, 37.31, 42.53, 44.64, 76.82, 77.03, 77.24, 168.71, 169.19.</p>                                            |
|  <p>화합물 34</p>   | <p>MS: m/z 316 [M (산)+Na]<sup>+</sup>; <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 22.32, 24.58, 25.59, 28.81, 29.10, 29.40, 30.53, 30.95, 32.22, 37.33, 42.55, 44.76, 76.83, 77.04, 77.26, 168.71, 169.21.</p>                                |
|  <p>화합물 35</p>   | <p>MS: m/z 430 [M+Na]<sup>+</sup>; <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 22.38, 24.58, 25.60, 28.80, 28.82, 29.09, 29.38, 29.57, 29.68, 30.66, 30.95, 32.23, 37.35, 42.56, 44.81, 76.83, 77.04, 77.26, 168.70, 169.19.</p>               |
|  <p>화합물 36</p>  | <p>MS: m/z 468 [M+Na]<sup>+</sup>; <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 22.39, 24.58, 25.59, 28.80, 28.82, 29.10, 29.36, 29.56, 29.65, 29.68, 29.75, 30.69, 30.95, 32.23, 37.35, 42.57, 44.83, 76.84, 77.05, 77.26, 168.70, 169.20.</p> |
|  <p>화합물 39</p> | <p>MS: m/z 1012 [M-H]<sup>-</sup>; <sup>31</sup>P-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>): δ 149.69, 149.0.</p>                                                                                                                                             |

[0704]

|                                                                                              |                                                                                     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| <br>화합물 40  | MS: m/z 611 [M-H] <sup>-</sup> .                                                    |
| <br>화합물 41  | MS: m/z 501 [M+H] <sup>+</sup> .                                                    |
| <br>화합물 42  | n = 1; MS: m/z 503 [M+H] <sup>+</sup> .<br>n = 12; MS: m/z 658 [M+H] <sup>+</sup> . |
| <br>화합물 43  | n = 1; MS: m/z 517 [M+H] <sup>+</sup> .<br>n = 12; MS: m/z 671 [M+H] <sup>+</sup> . |
| <br>화합물 44 | n = 1; MS: m/z 525 [M+H] <sup>+</sup> .<br>n = 12; MS: m/z 679 [M+H] <sup>+</sup> . |

실시예 26. 인간 iPSC-뉴런에서의 MAPT siRNA의 녹다운 효율.

본 명세서에 제공된 소정 친유성 단량체와 접합된 MAPT siRNA 작용제를 합성하였으며, 서열은 표 3에 열거되어 있다.

[0708] [ 표 3 ]

상이한 지질과 접합된 **MAPT siRNA** 의 변형된 센스 및 안티센스 가닥 서열(5'에서 3'으로)  
 변형: mN = 2'OMe; fN = 2'F; ps = 포스포로티오에이트; VP = 비닐 포스포네이트; invAb = 역위 무염기성  
 Chol4 = 콜레스테롤-트라이에틸렌 글리콜

| 명칭            | 센스 가닥                                                                      | 서열<br>번호 | 안티센스 가닥                                                         | 서열<br>번호 |
|---------------|----------------------------------------------------------------------------|----------|-----------------------------------------------------------------|----------|
| M28_Va<br>r29 | (L2)mApsmApsfGmUmGmUfGfGfCmUmCfAmUmUmAmGfGpsmCpsmA                         | 179      | (VPmU)psfGpsmCmCmUfAmAmUmGmA<br>mGmCmCfAmCfAmCmUmUpsmGpsmG      | 180      |
| M28_Va<br>r30 | mApsmApsfGmUmGmUfGfGfCmUmCfAmUmUmAmGfGpsmCpsmA(TdL2)                       | 181      | (VPmU)psfGpsmCmCmUfAmAmUmGmA<br>mGmCmCfAmCfAmCmUmUpsmGpsmG      | 182      |
| M28_Va<br>r33 | (L2)mApsmApsfGmUmGmUfGfGfCmUmCfAmUmUmAmGfGpsmCpsmA                         | 187      | (VPmU)psfGpsmCmCmUfA(GNA-<br>A)mUmGmAmGmCmCfAmCfAmCmUmUpsmGpsmG | 188      |
| M28_Va<br>r34 | mApsmApsfGmUmGmUfGfGfCmUmCfAmUmUmAmGfGpsmCpsmA(TdL2)                       | 189      | (VPmU)psfGpsmCmCmUfA(GNA-<br>A)mUmGmAmGmCmCfAmCfAmCmUmUpsmGpsmG | 190      |
| M28_Va<br>r35 | mApsmApsfGmUmGmUfGfGfCmUmCfAmUmUmAmGfGpsmCpsmA(TdL2)(Chol4)                | 191      | (VPmU)psfGpsmCmCmUfAmAmUmGmA<br>mGmCmCfAmCfAmCmUmUpsmGpsmG      | 192      |
| M28_Va<br>r36 | (Chol4)mApsmApsfGmUmGmUfGfGfCmUmCfAmUmUmAmGfGpsmCpsmA                      | 193      | (VPmU)psfGpsmCmCmUfAmAmUmGmA<br>mGmCmCfAmCfAmCmUmUpsmGpsmG      | 194      |
| M28_Va<br>r37 | mApsmApsfGmUmG(L1)fGfGfCmUmCfAmUmUmAmGfGpsmCpsmA                           | 195      | (VPmU)psfGpsmCmCmUfAmAmUmGmA<br>mGmCmCfAmCfAmCmUmUpsmGpsmG      | 196      |
| M28_Va<br>r38 | mApsmApsfGmUmG(L3)fGfGfCmUmCfAmUmUmAmGfGpsmCpsmA                           | 197      | (VPmU)psfGpsmCmCmUfAmAmUmGmA<br>mGmCmCfAmCfAmCmUmUpsmGpsmG      | 198      |
| M28_Va<br>r39 | mApsmApsfGmUmG(L4)fGfGfCmUmCfAmUmUmAmGfGpsmCpsmA                           | 199      | (VPmU)psfGpsmCmCmUfAmAmUmGmA<br>mGmCmCfAmCfAmCmUmUpsmGpsmG      | 200      |
| M28_Va<br>r40 | mApsmApsfGmUmG(L7)fGfGfCmUmCfAmUmUmAmGfGpsmCpsmA                           | 201      | (VPmU)psfGpsmCmCmUfAmAmUmGmA<br>mGmCmCfAmCfAmCmUmUpsmGpsmG      | 202      |
| M28_Va<br>r41 | mApsmApsfGmUmG(L5)fGfGfCmUmCfAmUmUmAmGfGpsmCpsmA                           | 203      | (VPmU)psfGpsmCmCmUfAmAmUmGmA<br>mGmCmCfAmCfAmCmUmUpsmGpsmG      | 204      |
| M28_Va<br>r42 | mApsmApsfGmUmG(L6)fGfGfCmUmCfAmUmUmAmGfGpsmCpsmA                           | 205      | (VPmU)psfGpsmCmCmUfAmAmUmGmA<br>mGmCmCfAmCfAmCmUmUpsmGpsmG      | 206      |
| M28_Va<br>r43 | mApsmApsfGmUmGmUfGfGfCmUmCfAmUmUmAmGfGpsmCpsmA(TdL10)                      | 207      | (VPmU)psfGpsmCmCmUfAmAmUmGmA<br>mGmCmCfAmCfAmCmUmUpsmGpsmG      | 208      |
| M28_Va<br>r44 | mApsmApsfGmUmGmUfGfGfCmUmCfAmUmUmAmGfGpsmCpsmA(L9)                         | 209      | (VPmU)psfGpsmCmCmUfAmAmUmGmA<br>mGmCmCfAmCfAmCmUmUpsmGpsmG      | 210      |
| M28_Va<br>r45 | (L9)mApsmApsfGmUmGmUfGfGfCmUmCfAmUmUmAmGfGpsmCpsmA                         | 211      | (VPmU)psfGpsmCmCmUfAmAmUmGmA<br>mGmCmCfAmCfAmCmUmUpsmGpsmG      | 212      |
| M28_Va<br>r46 | mApsmApsfGmUmGmUfGfGfCmUmCfAmUmUmAmGfGpsmCpsmA(L8)                         | 213      | (VPmU)psfGpsmCmCmUfAmAmUmGmA<br>mGmCmCfAmCfAmCmUmUpsmGpsmG      | 214      |
| M28_Va<br>r47 | (L9)mApsmApsfGmUmGmUfGfGfCmUmCfAmUmUmAmGfGpsmCpsmA(L9)                     | 215      | (VPmU)psfGpsmCmCmUfAmAmUmGmA<br>mGmCmCfAmCfAmCmUmUpsmGpsmG      | 216      |
| M28_Va<br>r48 | (L8)mApsmApsfGmUmGmUfGfGfCmUmCfAmUmUmAmGfGpsmCpsmA(L8)                     | 217      | (VPmU)psfGpsmCmCmUfAmAmUmGmA<br>mGmCmCfAmCfAmCmUmUpsmGpsmG      | 218      |
| M28_Va<br>r49 | mApsmApsfGmUmGmUfGfGfCmUmCfAmUmUmAmGfGpsmCpsmA(C7NH-L17)                   | 219      | (VPmU)psfGpsmCmCmUfAmAmUmGmA<br>mGmCmCfAmCfAmCmUmUpsmGpsmG      | 220      |
| M25_Va<br>r46 | (InvAb)psmApsmUmAmGmUmCmUmAfCfAfAmAmCmCmAmGmUmUmGmApsmAps(InvAb)(C7NH-L20) | 221      | (VPmU)psfUpsmCpsmA(AfCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU        | 222      |
| M25_Va<br>r47 | (InvAb)psmApsmUmAmGmUmCmUmAfCfAfAmAmCmCmAmGmUmUmGmApsmAps(InvAb)(C7NH-L18) | 223      | (VPmU)psfUpsmCpsmA(AfCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU        | 224      |

[0709]

| 명칭            | 센스 가닥                                                                      | 서열<br>번호 | 안티센스 가닥                                                  | 서열<br>번호 |
|---------------|----------------------------------------------------------------------------|----------|----------------------------------------------------------|----------|
| M25_Va<br>r48 | (InvAb)psmApsmUmAmGmUmCmUmAfCfAfAmAmCmCmAmGmUmUmGmApsmAps(InvAb)(C7NH-L16) | 225      | (VPmU)psfUpsmCpsmAmAfCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU | 226      |
| M25_Va<br>r49 | (InvAb)psmApsmUmAmGmUmCmUmAfCfAfAmAmCmCmAmGmUmUmGmApsmAps(InvAb)(C7NH-L17) | 227      | (VPmU)psfUpsmCpsmAmAfCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU | 228      |
| M25_Va<br>r50 | (InvAb)psmApsmUmAmGmUmCmUmAfCfAfAmAmCmCmAmGmUmUmGmApsmAps(InvAb)(L12)      | 229      | (VPmU)psfUpsmCpsmAmAfCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU | 230      |
| M25_Va<br>r51 | (InvAb)psmApsmUmAmGmUmCmUmAfCfAfAmAmCmCmAmGmUmUmGmApsmAps(InvAb)(L11)      | 231      | (VPmU)psfUpsmCpsmAmAfCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU | 232      |
| M25_Va<br>r52 | (InvAb)psmApsmUmAmGmUmCmUmAfCfAfAmAmCmCmAmGmUmUmGmApsmAps(InvAb)(L24)      | 233      | (VPmU)psfUpsmCpsmAmAfCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU | 234      |
| M25_Va<br>r53 | (InvAb)psmApsmUmAmGmUmC(C6NH-L15U)mAfCfAfAmAmCmCmAmGmUmUmGmApsmAps(InvAb)  | 235      | (VPmU)psfUpsmCpsmAmAfCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU | 236      |
| M25_Va<br>r54 | (InvAb)psmApsmUmAmGmUmC(C6NH-L18U)mAfCfAfAmAmCmCmAmGmUmUmGmApsmAps(InvAb)  | 237      | (VPmU)psfUpsmCpsmAmAfCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU | 238      |
| M25_Va<br>r55 | (InvAb)psmApsmUmAmGmUmC(C6NH-L19U)mAfCfAfAmAmCmCmAmGmUmUmGmApsmAps(InvAb)  | 239      | (VPmU)psfUpsmCpsmAmAfCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU | 240      |
| M25_Va<br>r56 | (InvAb)psmApsmUmAmGmUmC(C6NH-L17U)mAfCfAfAmAmCmCmAmGmUmUmGmApsmAps(InvAb)  | 241      | (VPmU)psfUpsmCpsmAmAfCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU | 242      |
| M25_Va<br>r57 | (InvAb)psmApsmUmAmGmUmC(C6NH-L4U)mAfCfAfAmAmCmCmAmGmUmUmGmApsmAps(InvAb)   | 243      | (VPmU)psfUpsmCpsmAmAfCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU | 244      |
| M25_Va<br>r59 | (InvAb)psmApsmUmAmGmUmC(C6NH-L16U)mAfCfAfAmAmCmCmAmGmUmUmGmApsmAps(InvAb)  | 247      | (VPmU)psfUpsmCpsmAmAfCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU | 248      |
| M25_Va<br>r60 | (InvAb)psmApsmUmAmGmUmC(C6NH-L20U)mAfCfAfAmAmCmCmAmGmUmUmGmApsmAps(InvAb)  | 249      | (VPmU)psfUpsmCpsmAmAfCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU | 250      |
| M25_Va<br>r62 | (InvAb)psmApsmUmAmGmUmCmUmAfCfAfAmAmCmCmAmGmUmUmGmApsmAps(InvAb)(C7NH-L14) | 253      | (VPmU)psfUpsmCpsmAmAfCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU | 254      |
| M25_Va<br>r63 | (InvAb)psmApsmUmAmGmUmCmUmAfCfAfAmAmCmCmAmGmUmUmGmApsmAps(InvAb)(C7NH-L15) | 255      | (VPmU)psfUpsmCpsmAmAfCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU | 256      |
| M25_Va<br>r64 | (InvAb)psmApsmUmAmGmUmCmUmAfCfAfAmAmCmCmAmGmUmUmGmApsmAps(InvAb)(C7NH-L19) | 257      | (VPmU)psfUpsmCpsmAmAfCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU | 258      |
| M25_Va<br>r66 | (InvAb)psmApsmUmAmGmUmC(L13)mAfCfAfAmAmCmCmAmGmUmUmGmApsmAps(InvAb)        | 261      | (VPmU)psfUpsmCmAmAfCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU   | 262      |
| M25_Va<br>r68 | (InvAb)psmApsmUmAmGmUmC(L4)mAfCfAfAmAmCmCmAmGmUmUmGmApsmAps(InvAb)         | 263      | (VPmU)psfUpsmCpsmAmAfCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU | 264      |

[0710]

| 명칭            | 센스 가닥                                                                  | 서열<br>번호 | 안티센스 가닥                                                  | 서열<br>번호 |
|---------------|------------------------------------------------------------------------|----------|----------------------------------------------------------|----------|
| M25_Va<br>r73 | (InvAb)psmAps(L5)mAmGmUmCmUmAfCfAfAmAmCmCmAmGmUmUmGmApsmAps(InvAb)     | 265      | (VPmU)psfUpsmCpsmAmafCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU | 266      |
| M25_Va<br>r74 | (InvAb)psmApsmUmAmG(L5)mCmUmAfCfAfAmAmCmCmAmGmUmUmGmApsmAps(InvAb)     | 267      | (VPmU)psfUpsmCpsmAmafCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU | 268      |
| M25_Va<br>r75 | (InvAb)psmApsmUmAmGmUmC(L5)mAfCfAfAmAmCmCmAmGmUmUmGmApsmAps(InvAb)     | 269      | (VPmU)psfUpsmCpsmAmafCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU | 270      |
| M25_Va<br>r76 | (InvAb)psmApsmUmAmGmUmCmUmAfCfAfAmAmCmCmAmG(L5)mUmGmApsmAps(InvAb)     | 271      | (VPmU)psfUpsmCpsmAmafCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU | 272      |
| M25_Va<br>r77 | (InvAb)psmApsmUmAmGmUmCmUmAfCfAfAmAmCmCmAmGmU(L5)mGmApsmAps(InvAb)     | 273      | (VPmU)psfUpsmCpsmAmafCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU | 274      |
| M25_Va<br>r78 | (InvAb)psmAps(L4)mAmGmUmCmUmAfCfAfAmAmCmCmAmGmUmUmGmApsmAps(InvAb)     | 275      | (VPmU)psfUpsmCpsmAmafCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU | 276      |
| M25_Va<br>r79 | (InvAb)psmApsmUmAmG(L4)mCmUmAfCfAfAmAmCmCmAmGmUmUmGmApsmAps(InvAb)     | 277      | (VPmU)psfUpsmCpsmAmafCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU | 278      |
| M25_Va<br>r80 | (InvAb)psmApsmUmAmGmUmC(L4)mAfCfAfAmAmCmCmAmGmUmUmGmApsmAps(InvAb)     | 279      | (VPmU)psfUpsmCpsmAmafCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU | 280      |
| M25_Va<br>r81 | (InvAb)psmApsmUmAmGmUmCmUmAfCfAfAmAmCmCmAmG(L4)mUmGmApsmAps(InvAb)     | 281      | (VPmU)psfUpsmCpsmAmafCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU | 282      |
| M25_Va<br>r82 | (InvAb)psmApsmUmAmGmUmCmUmAfCfAfAmAmCmCmAmGmU(L4)mGmApsmAps(InvAb)     | 283      | (VPmU)psfUpsmCpsmAmafCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU | 284      |
| M25_Va<br>r83 | (InvAb)psmAps(L13)mAmGmUmCmUmAfCfAfAmAmCmCmAmGmUmUmGmApsmAps(InvAb)    | 285      | (VPmU)psfUpsmCpsmAmafCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU | 286      |
| M25_Va<br>r84 | (InvAb)psmApsmUmAmG(L13)mAfCfAfAmAmCmCmAmGmUmUmGmApsmAps(InvAb)        | 287      | (VPmU)psfUpsmCpsmAmafCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU | 288      |
| M25_Va<br>r85 | (InvAb)psmApsmUmAmGmUmC(L13)mAfCfAfAmAmCmCmAmG(L13)mUmGmApsmAps(InvAb) | 289      | (VPmU)psfUpsmCpsmAmafCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU | 290      |
| M25_Va<br>r86 | (InvAb)psmApsmUmAmGmUmCmUmAfCfAfAmAmCmCmAmGmU(L13)mGmApsmAps(InvAb)    | 291      | (VPmU)psfUpsmCpsmAmafCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU | 292      |
| M28_Va<br>r1  | mApsmApsfGmUmGmUfGfGfCmUmCfAmUmUmAmGfGmCmA(Chol4)                      | 317      | (VPmU)psfGpsmCmCmUfAmAmUmGmAmaGmCmCfAmCfAmCmUmUpsmGpsmG  | 318      |
| M28_Va<br>r39 | mApsmApsfGmUmG(L4)fGfGfCmUmCfAmUmUmAmGfGpsmCpsmA                       | 319      | (VPmU)psfGpsmCmCmUfAmAmUmGmAmaGmCmCfAmCfAmCmUmUpsmGpsmG  | 320      |
| M28_Va<br>r40 | mApsmApsfGmUmG(L7)fGfGfCmUmCfAmUmUmAmGfGpsmCpsmA                       | 321      | (VPmU)psfGpsmCmCmUfAmAmUmGmAmaGmCmCfAmCfAmCmUmUpsmGpsmG  | 322      |
| M28_Va<br>r41 | mApsmApsfGmUmG(L5)fGfGfCmUmCfAmUmUmAmGfGpsmCpsmA                       | 323      | (VPmU)psfGpsmCmCmUfAmAmUmGmAmaGmCmCfAmCfAmCmUmUpsmGpsmG  | 324      |

[0711]

| 명칭             | 센스 가닥                                                                | 서열<br>번호 | 안티센스 가닥                                                     | 서열<br>번호 |
|----------------|----------------------------------------------------------------------|----------|-------------------------------------------------------------|----------|
| M28_Va<br>r42  | mApsmApsfGmUmG(L6)fGfGfCmUmCfAmUmUmAmGfGpsmCpsmA                     | 325      | (VPmU)psfGpsmCmCmUfAmAmUmGmA<br>mGmCmCfAmCfAmCmUmUpsmGpsmG  | 326      |
| M28_Va<br>r50  | mApsmApsfGmUmG(L13)fGfGfCmUmCfAmUmUmAmGfGpsmCpsmA                    | 327      | (VPmU)psfGpsmCmCmUfAmAmUmGmA<br>mGmCmCfAmCfAmCmUmUpsmGpsmG  | 328      |
| M96_Va<br>r1   | (InvAb)psmGpsmAmAmGmA(L4)fCmAfCfGfCmUmGmGmAmCmGmUpsmApsmA            | 329      | (VPmU)psfUpsmAcmGfUmCfCfCmAmGmCmGfUmGfAmUmCmUmUpsmApsmA     | 330      |
| M96_Va<br>r5   | (InvAb)psmGpsmAmAmGmUm(L22)mAfCfGfCmUmGmGmAmCmGmUpsmAps(InvAb)       | 331      | (VPmU)psfUpsmAcmGmUdCmCmAmGmCmGfUmGfAmUmCmUpsmApsC          | 332      |
| M165_Va<br>r5  | (InvAb)psmCpsmAmAmGmUmC(L22)mAfAfGfAmUmCmGmGmUmCmCmApsmAps(InvAb)    | 333      | (VPmU)psfUpsmAcmGmAmGdCmCmAmUmCmUfUmGfGmAmCmUpsmApsG        | 334      |
| M177_Va<br>r1  | (InvAb)psmUpsmGmCmAmA(L21)fUmAfGfUfCmUmAmCmAmAmCmCpsmApsmA           | 335      | (VPmU)psfUpsmAcmGmUfUmUfGfUmAmGmAmCfUmAfUmUmUmGmCmApsmApsmA | 336      |
| M177_Va<br>r2  | (InvAb)psmUpsmGmCmAmAmA(L4)mAfGfUfCmUmAmCmAmAmCmCmApsmAps(InvAb)     | 337      | (VPmU)psfUpsmApsfGmUfUmUfGfUmAfGfAmCfUmAfUmUmUmGmCpsmA      | 338      |
| M177_Va<br>r3  | (InvAb)psmUpsmGmCmAmAmA(L4)mAfGfUfCmUmAmCmAmAmCmCmApsmAps(InvAb)     | 339      | (VPmU)psfUpsmAcmGmUfUmUfGfUmAmGmAmCfUmAfUmUmUmGpsmApsmA     | 340      |
| M177_Va<br>r5  | (InvAb)psmUpsmGmCmAmAmA(L4)mAfGfUfCmUmAmCmAmAmCmCmApsmAps(InvAb)     | 341      | (VPmU)psfUpsmAcmGmUmUdUmGmUmAmGmAmCfUmAfUmUmUmGpsmApsmA     | 342      |
| M177_Va<br>r6  | (InvAb)psmUpsmGmCmAmAmA(L4)mAfGfUfCmUmAmCmAmAmCmCmApsmAps(InvAb)     | 343      | (VPmU)psfUpsmAcmGmUfUmUfGfUmAmGmAmCfUdUmUmUmGpsmApsmA       | 344      |
| M25_Va<br>r3   | (InvAb)psmApsmUmAmGm(L4)mCmUmAfCfAfAmAmCmCmAmGmUmUmGmApsmAps(InvAb)  | 345      | (VPmU)psfUpsmAcmAmAfCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU     | 346      |
| M25_Va<br>r4   | (InvAb)psmApsmUmAmGmUm(L22)mUmAfCfAfAmAmCmCmAmGmUmUmGmApsmAps(InvAb) | 347      | (VPmU)psfUpsmAcmAmAfCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU     | 348      |
| M25_Va<br>r5   | (InvAb)psmApsmUmAmGmUmC(L4)mAfCfAfAmAmCmCmAmGmUmUmGmApsmAps(InvAb)   | 349      | (VPmU)psfUpsmAcmAmAfCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU     | 350      |
| M25_Va<br>r8   | (InvAb)psmApsmUmAmGmUmCmUmAfCfAfAmA(L22)mCmAmGmUmUmGmApsmAps(InvAb)  | 351      | (VPmU)psfUpsmAcmAmAfCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU     | 352      |
| M25_Va<br>r9   | (InvAb)psmApsmUmAmGmUmCmUmAfCfAfAmAmC(L22)mAmGmUmUmGmApsmAps(InvAb)  | 353      | (VPmU)psfUpsmAcmAmAfCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU     | 354      |
| M25_Va<br>r101 | (InvAb)psmApsmUmAmGmUmCmUmAfCfAfAmAmCmCmA(L23)mUmUmGmApsmAps(InvAb)  | 355      | (VPmU)psfUpsmAcmAmAfCmUfGfGmUmUmUmGfUmAfGmAmCmUpsmApsmU     | 356      |

[0712]

[0713]

지질-siRNA 접합체의 시험관내 녹다운 효율을 하기와 같이 기재된 절차에 따라 인간 iPSC-유래 피질 뉴런에서 평가하였다.

[0714]

#### 피질 뉴런으로의 인간 iPSC의 분화

[0715]

24세 백인 여성 공여자로부터의 상피 세포의 OSKM 레트로바이러스 재프로그래밍을 사용하여 인간 iPSC 세포주 (Sigma #iPSC0028)를 파생시켰다. iPSC를 먼저 약간의 변형을 가한 이중 SMAD 억제제 프로토콜(문헌[Shi et al., 2012, 2012, Nat. Proc. 7(10):1836-46])에 따라 피질 신경 줄기 세포(NSC)로 분화시켰다. 간략하게 말하면, iPSC를 10  $\mu$ M ROCK 억제제(Sigma-Aldrich Y0503)가 보충된 mTeSR 배지(StemCell Technologies 5850) 중 Matrigel(Corning 354230)로 코팅된 웰 상에 500,000개의 세포/cm<sup>2</sup>로 플레이팅하고, 5% O<sub>2</sub> 하에서 37°C에서 배양하였다. 배지를 다음날(일수 -1)에 mTeSR로 대체하였다. 일부 0부터 일수 12까지, 세포 배지를 유지 배지(Maintenance Medium)(1:1 DMEM: F12 Glutamax(ThermoFisher Scientific 10565108), Neurobasal(ThermoFisher Scientific 21103049), 2.5  $\mu$ g/mL의 인슐린(Sigma-Aldrich I9278-5ML), 50 uM 2-메르캅토에탄올(ThermoFisher Scientific, 31350010), 0.5% 비필수 아미노산(ThermoFisher Scientific 11140035), 0.5% GlutaMAX 보충제(ThermoFisher Scientific, 10565018), 0.5 mM 소듐 피루베이트(ThermoFisher Scientific 11360070), 1% 페니실린-스트렙토마이신(Sigma P4333), 0.5% N2 보충제(ThermoFisher Scientific 17502048), 1% B27 보충제(ThermoFisher Scientific 17504044)가 보충된 1  $\mu$ M 도르소모르핀(Dorsomorphin)(Tocris 3093) 및 10  $\mu$ M SB43142(Tocris 1614)의 피질 신경 유도 배지(Neural Induction Medium)로 매일 교체하였다. 일수 12에서, 신경상피 시트를 바늘 및 리프터를 사용하여 300 내지 500개의 세포의 대형 응집체로 온화하게 탈착시키고, 덩어리를 2분 동안 160 g로 원심분리하여 15 mL 팔콘 내에 수집하였다. 세포 펠릿을 6웰 플레이트의 웰당 총 부피 2 mL의 신경 유도 배지 중 10  $\mu$ g/mL의 라미닌(Sigma-Aldrich L2020)으로 코팅된 웰 내로 1/2 또는 1/3 계대 동안 신경 유도 배지 중에 온화하게 재현탁하였다. 배지를 일수 13 및 일수 15에서 20 ng/mL의 FGF2(Stemcell Technologies 2634)가 보충된 신경 유지 배지로 교체하였다. 일수 17에서, 신경 로제트를 1/3 계대 동안 디스파제(ThermoFisher Scientific 17105041)를 사용하여 탈착하고, 라미닌-코팅된 웰 내로 플레이팅하였다. 추가 1주 동안 1회 또는 2회의 추가 디스파제 단계를 수행한다. 약 일수 25 내지 30에서, 신경 줄기 세포를 Accutase(ThermoFisher Scientific A1110501)를 사용하여 단일-세포 현탁액 중으로 해리시키고, 10% (V/V)

DMSO 및 20 ng/mL의 FGF2가 보충된 신경 유지 배지를 함유하는 새로 제조된 신경 동결 배지 중에서 동결보존하였다. 신경 줄기 세포의 냉동된 바이알을 사용 시까지 액체 질소에 저장하였다.

[0716] iPSC-뉴런을 생성하기 위해, 신경 줄기 세포(NSC)의 냉동된 바이알을 해동시키고, 10  $\mu$ M ROCK 억제제 및 20 ng/mL의 FGF2가 보충된 신경 유지 배지 중에 70,000개의 세포/cm<sup>2</sup>로 라미닌-코팅된 웰 상에 플레이팅하였다. 그 후 2일 동안, 배지를 신경 유지 배지로 매일 교체되었다. 해동 후 약 일수 4에서, 세포를 Accutase를 사용하여 해리시키고, 10  $\mu$ M ROCK 억제제가 보충된 신경 유지 배지 중에 폴리-L-오르니틴 및 라미닌으로 사전-코팅된 96웰 플레이트 내에 웰당 28,000개의 세포로 넣었다. 재-플레이팅 후 다음날, 배양 배지를 20 ng/mL의 BDNF(R&D Systems 212-BD-050/CF), 20 ng/mL의 GDNF(R&D Systems 212-GD-050/CF), 500  $\mu$ M DB-cAMP(Sigma D0627) 및 20 mM 아스코르브산(Sigma A4403)이 보충된 신경 유지 배지로 구성된 신경 분화 배지로 대체하였다. 배양물을 신경 분화 배지 중에서 주당 2회 50% 배지 교환으로 분화시켰다. 신경 줄기 세포(NSC)로부터 분화 후 2 내지 3주 시점에서, 역전사 및 실시간 PCR에 의한 RNA 분석 및 MSD 면역검정에 의한 단백질 분석을 위해 7일 또는 14일 동안 siRNA로 뉴런을 처리하였다.

[0717] **MSD 면역검정**

[0718] 96웰 플레이트 상에서 분화된 인간 iPSC-뉴런을 4°C에서 30분 동안 저속 회전 진탕하면서, cOmplete™ 프로테아제 억제제 각테일(Roche) 및 PhosSTOP™ (Roche)이 보충된 100  $\mu$ L의 빙랭 RIPA 완충액(Sigma) 중에 용해시켰다. 플레이트를 1,000  $\times$  g로 5분 동안 원심분리하고, 세포 용해물을 수집하고, 표준화된 절차에 따라 MSD 면역검정을 사용하여 단백질 측정을 위해 상이한(20, 50 또는 100) 배수로 희석시켰다. 간략하게 말하면, MSD 플레이트를 4°C에서 하룻밤 1  $\mu$ g/mL로 PBS 중에 희석된 코팅 항체를 사용하여 웰당 30  $\mu$ L로 코팅하였다. 다음날, 플레이트를 흡수성 티슈 상에 뒤집어 놓아서 건조시키고, 이후에 실온에서 2시간 동안 300 rpm으로 회전 진탕하면서, 웰당 150  $\mu$ L의 차단 완충액(0.1% 카제인)과 함께 인큐베이션하였다. 차단 후, 플레이트를 4°C에서 저속 회전 진탕하면서 cOmplete™ 프로테아제 억제제 각테일(Roche)이 보충된 RIPA 완충액 중에 희석된 세포 용해물과 함께 하룻밤 인큐베이션하였다. 플레이트를 Titertek Aquamax 4000을 사용하여 5회 세척하고, 흡수성 티슈 상에 뒤집어 놓아서 건조시켰다. 이후에, 0.1% 카제인 중에 희석된 2차 또는 검출 항체를 웰당 25  $\mu$ L로 MSD 플레이트에 첨가하고, 실온에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 항체 인큐베이션 후, 플레이트를 5회 세척하고, milliQ H<sub>2</sub>O 중에 희석된 150  $\mu$ L/웰의 2x MSD 판독 완충액(Meso Scale Discovery)으로 현상하였다. MSD 기기를 사용하여 플레이트를 즉시 판독하였다. 타우 단백질의 측정을 위해, hTau43 항체(Janssen)를 96웰 MSD 플레이트 코팅에 사용하고, SULFO-TAG™ 표지된 hTau60 항체(Janssen)를 검출에 사용하였다. 히스톤 H3 단백질의 측정을 위해, 재조합 토끼 단일클론 항체 17H2L9(ThermoFisher)를 플레이트 코팅에 사용하고, 마우스 mAb 14221BF(Cell Signaling Technology)를 1차 검출 항체로서 사용하고, SULFO-TAG 표지된 항-마우스 항체(Meso Scale Discovery)를 2차 검출 항체로서 사용하였다.

[0719] 표 4 내지 표 6은 7일 동안 인큐베이션 후 인간 iPSC-뉴런에서 MAPT mRNA를 녹다운하는 데 있어서의 상이한 지질과 접합된 MAPT siRNA의 효율을 요약한다. 1  $\mu$ M, 200 nM 및 40 nM의 siRNA 접합체의 3개의 농도를 시험하였다. 데이터는 대조군 대비 남아 있는 MAPT mRNA로서 제시되어 있다. 평균  $\pm$  S.D., n=3.

[0720] [표 4]

인간 iPSC 뉴런에서 MAPT siRNA M28 지질 집합체의 MAPT mRNA 녹다운 효율

| 명칭            | 남아 있는 MAPT mRNA/대조군 |       |        |       |       |       |
|---------------|---------------------|-------|--------|-------|-------|-------|
|               | 1000 nM             |       | 200 nM |       | 40 nM |       |
|               | 평균                  | SD    | 평균     | SD    | 평균    | SD    |
| M28-Chol      | 0.024               | 0.003 | 0.038  | 0.005 | 0.121 | 0.018 |
| M28_Var1-Chol | 0.025               | 0.002 | 0.032  | 0.004 | 0.067 | 0.011 |
| M28_Var2-Chol | 0.026               | 0.002 | 0.053  | 0.006 | 0.146 | 0.009 |
| M28_Var29     | 0.042               | 0.004 | 0.127  | 0.016 | 0.568 | 0.015 |
| M28_Var30     | 0.030               | 0.001 | 0.065  | 0.009 | 0.300 | 0.061 |
| M28_Var33     | 0.109               | 0.008 | 0.429  | 0.015 | /     | /     |
| M28_Var34     | 0.037               | 0.001 | 0.164  | 0.046 | 0.568 | 0.024 |
| M28_Var35     | 0.029               | 0.003 | 0.042  | 0.007 | 0.124 | 0.019 |
| M28_Var36     | 0.034               | 0.004 | 0.080  | 0.006 | 0.255 | 0.003 |
| M28_Var37     | 0.322               | 0.025 | 0.645  | 0.051 | 0.884 | 0.049 |
| M28_Var38     | 0.347               | 0.041 | 0.648  | 0.016 | 0.913 | 0.085 |
| M28_Var39     | 0.305               | 0.053 | 0.562  | 0.059 | 0.916 | 0.135 |
| M28_Var40     | 0.353               | 0.022 | 0.651  | 0.040 | 0.787 | 0.025 |
| M28_Var41     | 0.416               | 0.053 | 0.751  | 0.062 | 0.887 | 0.076 |
| M28_Var42     | 0.428               | 0.057 | 0.683  | 0.111 | 0.850 | 0.052 |
| M28_Var43     | 0.038               | 0.004 | 0.168  | 0.053 | 0.681 | 0.144 |
| M28_Var44     | 0.188               | 0.011 | 0.605  | 0.047 | 0.884 | 0.124 |
| M28_Var45     | 0.403               | 0.020 | 0.814  | 0.166 | 0.922 | 0.075 |
| M28_Var46     | 0.286               | 0.018 | 0.723  | 0.029 | 0.882 | 0.057 |
| M28_Var47     | 0.390               | 0.022 | 0.831  | 0.087 | 1.002 | 0.056 |
| M28_Var48     | 0.450               | 0.026 | 0.791  | 0.050 | 0.927 | 0.087 |
| M28_Var49     | 0.027               | 0.003 | 0.072  | 0.016 | 0.340 | 0.018 |

[0721]

[0722] [표 5]

인간 iPSC 뉴런에서 MAPT siRNA M25 지질 집합체의 MAPT mRNA 녹다운 효율

| 명칭        | 남아 있는 MAPT mRNA/대조군 |       |        |       |       |       |
|-----------|---------------------|-------|--------|-------|-------|-------|
|           | 1000 nM             |       | 200 nM |       | 40 nM |       |
|           | 평균                  | SD    | 평균     | SD    | 평균    | SD    |
| M25_Var46 | 0.187               | 0.064 | 0.649  | 0.040 | 0.968 | 0.193 |
| M25_Var47 | 0.034               | 0.007 | 0.039  | 0.006 | 0.220 | 0.067 |
| M25_Var48 | 0.182               | 0.015 | 0.682  | 0.080 | 0.708 | 0.047 |
| M25_Var49 | 0.679               | 0.053 | 0.954  | 0.095 | 0.864 | 0.120 |
| M25_Var50 | 0.041               | 0.009 | 0.218  | 0.032 | 0.662 | 0.062 |
| M25_Var51 | 0.038               | 0.004 | 0.240  | 0.056 | 0.728 | 0.075 |
| M25_Var52 | 0.068               | 0.018 | 0.390  | 0.054 | 0.889 | 0.213 |
| M25_Var53 | 0.641               | 0.041 | 0.841  | 0.066 | 1.034 | 0.052 |
| M25_Var54 | 0.149               | 0.036 | 0.529  | 0.063 | 0.882 | 0.028 |
| M25_Var55 | 0.718               | 0.060 | 0.979  | 0.084 | 0.948 | 0.052 |
| M25_Var56 | 0.503               | 0.028 | 0.878  | 0.006 | 1.077 | 0.034 |
| M25_Var57 | 0.548               | 0.056 | 0.868  | 0.060 | 0.929 | 0.043 |
| M25_Var59 | 0.626               | 0.055 | 0.884  | 0.118 | 0.984 | 0.077 |
| M25_Var60 | 0.621               | 0.031 | 0.897  | 0.109 | 1.051 | 0.180 |
| M25_Var62 | 0.300               | 0.034 | 0.706  | 0.058 | 0.910 | 0.103 |
| M25_Var63 | 0.331               | 0.040 | 0.701  | 0.031 | 1.001 | 0.065 |
| M25_Var64 | 0.202               | 0.030 | 0.718  | 0.086 | 0.882 | 0.106 |
| M25_Var66 | 0.381               | 0.032 | 0.755  | 0.058 | 0.925 | 0.066 |
| M25_Var68 | 0.590               | 0.103 | 0.778  | 0.087 | 0.935 | 0.126 |

[0723]

[0724] [표 6]

인간 iPSC 뉴런에서 MAPT siRNA M25 지질 접합체(지질 탐색(lipid walk))의 MAPT mRNA 녹다운 효율

| 명칭        | 남아 있는 MAPT mRNA/대조군 |       |        |       |       |       |
|-----------|---------------------|-------|--------|-------|-------|-------|
|           | 1000 nM             |       | 200 nM |       | 40 nM |       |
|           | 평균                  | SD    | 평균     | SD    | 평균    | SD    |
| M25_Var73 | 0.566               | 0.051 | 0.801  | 0.061 | 0.928 | 0.046 |
| M25_Var74 | 0.706               | 0.017 | 0.774  | 0.085 | 1.003 | 0.061 |
| M25_Var75 | 0.532               | 0.080 | 0.757  | 0.025 | 1.021 | 0.076 |
| M25_Var76 | 0.536               | 0.056 | 0.819  | 0.152 | 1.037 | 0.160 |
| M25_Var77 | 0.572               | 0.073 | 0.759  | 0.090 | 0.841 | 0.160 |
| M25_Var78 | 0.608               | 0.014 | 0.919  | 0.159 | 0.944 | 0.082 |
| M25_Var79 | 0.556               | 0.055 | 0.763  | 0.096 | 0.826 | 0.063 |
| M25_Var68 | 0.553               | 0.044 | 0.870  | 0.070 | 0.986 | 0.050 |
| M25_Var80 | 0.502               | 0.116 | 0.717  | 0.059 | 0.986 | 0.068 |
| M25_Var81 | 0.551               | 0.059 | 0.749  | 0.145 | 0.822 | 0.091 |
| M25_Var82 | 0.572               | 0.060 | 0.841  | 0.060 | 0.911 | 0.150 |
| M25_Var83 | 0.662               | 0.030 | 0.962  | 0.064 | 1.090 | 0.153 |
| M25_Var84 | 0.507               | 0.046 | 0.721  | 0.127 | 0.830 | 0.081 |
| M25_Var85 | 0.432               | 0.026 | 0.831  | 0.087 | 0.891 | 0.173 |
| M25_Var86 | 0.577               | 0.059 | 0.777  | 0.147 | 1.053 | 0.071 |

[0725]

[0726] 실시예 27. 안정성 연구

[0727] siRNA 접합체의 시험관내 안정성을 하기와 같이 기재된 방법을 사용하여 마우스 뇌 균질액, 인간 간 리소솜 및 래트 간 트리토솜을 포함한 다양한 매트릭스에서 평가하였다. 분석물의 결과가 표 7 및 표 8에 제공되어 있다.

[0728] 표 7 및 표 8은 450 rpm으로 진탕하면서 24시간 인큐베이션 후에 37℃에서 마우스 뇌 균질액(표 7 및 표 10), 및 인간 간 리소솜(표 8 및 표 11) 및 래트 간 트리토솜(표 12) 중에서의 siRNA 접합체의 안티센스 가닥 및 센스 가닥 안정성의 LC-MS 측정을 요약한다. 참조 화합물 MSC-2-V를 검정 조건의 엄격성을 벤치마킹하기 위한 검정에 추가하였다.

[0729] [표 7]

마우스 뇌 균질액에서 MAPT siRNA 안정성의 LC-MS 측정

| 명칭             | % 안정성   |     |   |       |      |   |
|----------------|---------|-----|---|-------|------|---|
|                | 안티센스 가닥 |     |   | 센스 가닥 |      |   |
|                | 평균      | SD  | N | 평균    | SD   | N |
| M25_Var15-Chol | 88.8    | 7.7 | 9 | 64.2  | 12.7 | 9 |
| M25_Var49      | 57.3    | 2.6 | 3 | 55.5  | 3.2  | 3 |
| M25_Var84      | 78.6    | 5.1 | 3 | 98.7  | 4.7  | 3 |
| M25_Var68      | 78.0    | 4.4 | 3 | 86.5  | 1.0  | 3 |

[0730]

[0731] [표 8]

인간 간 트리토솜에서 MAPT siRNA 안정성의 LC-MS 측정

| 명칭        | % 안정성   |      |   |       |     |   |
|-----------|---------|------|---|-------|-----|---|
|           | 안티센스 가닥 |      |   | 센스 가닥 |     |   |
|           | 평균      | SD   | N | 평균    | SD  | N |
| M25_Var66 | 97.4    | 13.1 | 3 | 90.8  | 7.4 | 3 |

[0732]

[0733] [표 9]

hTAU K1 마우스에서 지질-M28Var 접합체의 ICV 주사(15 nmol siRNA 접합체) 후 7일 시점에서의 생체내  
높다운 효율. 데이터는 남아 있는 MAPT mRNA(%) 수준으로서 제시됨; 처리군당 마우스 마리수 N=6.

| 명칭            | 남아 있는 MAPT mRNA(%) |      |       |      |       |      |       |      |
|---------------|--------------------|------|-------|------|-------|------|-------|------|
|               | 피질                 |      | 해마    |      | 소뇌    |      | 척수    |      |
|               | 평균                 | SD   | 평균    | SD   | 평균    | SD   | 평균    | SD   |
| 비히클           | 100.0              | 4.6  | 100.0 | 10.6 | 100.0 | 6.0  | 100.0 | 10.6 |
| M28_Var1-Chol | 58.6               | 4.8  | 35.5  | 4.8  | 53.3  | 6.3  | 30.8  | 1.8  |
| M28_Var39     | 41.0               | 10.8 | 28.8  | 5.9  | 38.2  | 6.7  | 21.4  | 2.7  |
| M28_Var41     | 36.7               | 7.0  | 25.4  | 3.6  | 36.5  | 7.2  | 19.9  | 0.8  |
| M28_Var40     | 33.2               | 8.1  | 23.5  | 6.1  | 37.1  | 7.4  | 21.3  | 2.1  |
| M28_Var42     | 40.2               | 5.3  | 26.3  | 2.3  | 35.6  | 1.3  | 22.8  | 4.4  |
| M28_Var50     | 34.9               | 9.3  | 26.8  | 6.4  | 38.7  | 14.2 | 21.0  | 1.3  |

| 명칭            | 남아 있는 MAPT mRNA(%) |     |       |     |       |     |
|---------------|--------------------|-----|-------|-----|-------|-----|
|               | 선조체                |     | 중간뇌   |     | 뇌간    |     |
|               | 평균                 | SD  | 평균    | SD  | 평균    | SD  |
| 비히클           | 100.0              | 5.7 | 100.0 | 7.6 | 100.0 | 6.7 |
| M28_Var1-Chol | 60.6               | 9.4 | 42.0  | 3.2 | 41.6  | 5.2 |
| M28_Var39     | 39.6               | 4.1 | 31.2  | 3.9 | 29.7  | 2.1 |
| M28_Var41     | 36.4               | 3.1 | 27.4  | 2.2 | 26.1  | 2.4 |
| M28_Var40     | 36.0               | 7.8 | 26.3  | 3.2 | 29.5  | 2.7 |
| M28_Var42     | 40.4               | 5.6 | 28.4  | 3.1 | 26.2  | 2.2 |
| M28_Var50     | 38.2               | 9.9 | 29.9  | 5.9 | 27.8  | 5.4 |

[0734]

[0735] [표 10]

마우스 뇌 균질액에서 MAPT siRNA 안정성의 LC-MS 측정.

| 명칭        | % 안정성   |      |   |       |      |   |
|-----------|---------|------|---|-------|------|---|
|           | 안티센스 가닥 |      |   | 센스 가닥 |      |   |
|           | 평균      | SD   | N | 평균    | SD   | N |
| M96_Var1  | 53.9    | 6.2  | 6 | 73.2  | 10.2 | 6 |
| M96_Var5  | 89.2    | 17.7 | 6 | 90.0  | 20.5 | 6 |
| M165_Var5 | 87.6    | 13.1 | 6 | 91.6  | 6.9  | 6 |
| M177_Var1 | 74.2    | 4.3  | 6 | 76.3  | 13.7 | 6 |
| M177_Var2 | 89.5    | 7.4  | 6 | 75.4  | 12.6 | 6 |
| M177_Var3 | 88.7    | 4.5  | 6 | 85.7  | 10.9 | 6 |
| M177_Var5 | 90.4    | 6.6  | 6 | 82.7  | 5.4  | 6 |
| MSC-2-V   | 74.1    | 5.0  | 6 | 46.8  | 8.3  | 6 |

[0736]

[0737] [표 11]

인간 간 트리트솜에서 MAPT siRNA 안정성의 LC-MS 측정.

| 명칭        | % 안정성   |      |   |       |      |   |
|-----------|---------|------|---|-------|------|---|
|           | 안티센스 가닥 |      |   | 센스 가닥 |      |   |
|           | 평균      | SD   | N | 평균    | SD   | N |
| M96_Var1  | 100.7   | 7.9  | 3 | 99.1  | 8.0  | 3 |
| M96_Var5  | 95.8    | 5.7  | 3 | 90.1  | 3.0  | 3 |
| M165_Var5 | 94.4    | 7.5  | 3 | 84.3  | 7.0  | 3 |
| M177_Var1 | 103.3   | 16.2 | 3 | 95.8  | 25.9 | 3 |
| M177_Var2 | 101.7   | 5.9  | 3 | 100.1 | 9.9  | 3 |
| M177_Var3 | 104.7   | 4.6  | 3 | 94.8  | 4.2  | 3 |
| M177_Var5 | 87.7    | 7.2  | 3 | 82.7  | 8.7  | 3 |
| MSC-2-V   | 94.6    | 4.4  | 3 | 0.7   | 0.2  | 3 |

[0738]

[0739] [표 12]

래트 간 트리토솜에서 MAPT siRNA 안정성의 LC-MS 측정.

| 명칭        | % 안정성   |      |   |       |      |   |
|-----------|---------|------|---|-------|------|---|
|           | 안티센스 가닥 |      |   | 센스 가닥 |      |   |
|           | 평균      | SD   | N | 평균    | SD   | N |
| M96_Var1  | 116.3   | 7.8  | 3 | 116.5 | 8.9  | 3 |
| M96_Var5  | 105.9   | 10.0 | 3 | 100.2 | 5.4  | 3 |
| M165_Var5 | 109.0   | 9.5  | 3 | 104.2 | 12.8 | 3 |
| M177_Var1 | 111.3   | 7.6  | 3 | 103.8 | 8.4  | 3 |
| M177_Var2 | 110.3   | 3.1  | 3 | 111.0 | 8.0  | 3 |
| M177_Var3 | 99.4    | 2.0  | 3 | 112.1 | 25.0 | 3 |
| M177_Var5 | 118.3   | 7.8  | 3 | 116.0 | 11.3 | 3 |
| MSC-2-V   | 119.3   | 5.0  | 3 | 1.2   | 0.4  | 3 |

[0740]

[0741] 실시예 28: 마우스 모델에서 siRNA 접합체의 생체내 녹다운 효율 평가

[0742]

지질-siRNA 접합체의 생체내 녹다운 효율을 하기와 같이 기재된 절차에 따라 뇌실내(ICV) 주사를 사용하여 마우스 모델에서 평가하였다.

[0743]

15 nmol의 M28\_Var1, M28\_Var39, M28\_Var40, M28\_Var41, M28\_Var42, M28\_Var50의 단회 ICV 주사 후 7일 시점에서 hTAU KI 마우스로부터의 7개의 뇌 영역(피질, 해마, 뇌간, 소뇌, 선조체, 중간뇌, 및 경부 척수)에서의 MAPT mRNA를 평가한다. 결과가 표 9에 있다. 데이터는 남아 있는 MAPT mRNA(%)로서 제시된다. 평균  $\pm$  S.D., 처리 군당 마우스 마리수 n=6.

[0744]

마우스 및 뇌실내 주사

[0745]

2 내지 3주령된 수컷 및 암컷 PS19 마우스(C57BL6; Prnp-MAPT\*P301S) 또는 hTau KI(C57BL6; hMAPT: 녹인) 마우스를 상이한 처리군에 무작위 배정한다. 마우스를 아이소플루란으로 마취시킨다(유도: 4 내지 5%; 유지: 1.8 내지 2.5%). 이어서, 이들에게 전동 드릴 및 현미주사 로봇(Neurostar, 독일 소재, Sterodrive Software v 2019)을 사용하여, 다음 좌표에서 양측 뇌실 내로 정위적으로(stereotactically) 주사한다: AP: -0.62 mm, ML:  $\pm$  1.05 mm; 및 DV: 2.2 mm. 매 주사마다 5분에 걸쳐 5  $\mu$ L의 부피로 수행하고, 주사 후에 바늘을 3개의 단계(1. 60초만에 1 mm, 그리고 5분 동안 그대로 유지하는 단계; 2. 30초만에 추가 0.5 mm, 5분 동안 대기하는 단계; 3. 매우 느린 속도로 뇌로부터 회수하는 단계)로 회수하여, 바늘 경로(needle tract)를 따른 화합물 역류를 피한다. 각각의 모든 단계 후에, 역류량을 점검한다. 주사 후 선택된 날에, 동물을 희생시키고, 피질, 해마, 뇌간, 소뇌, 선조체, 중간뇌, 및 경부 척수를 포함한 상이한 뇌 영역들을 해부하고, 급속 냉동시키고, 추가 분석 시까지 -80°C에서 저장한다.

[0746]

조직으로부터의 RNA 추출

[0747]

1.4 mm 세라믹 구체가 담긴 Lysing Matrix D(MP Biomedicals 6913-500) 2 mL 튜브에 조직을 수집하고, 분석 시까지 -80°C 냉동기에 저장한다. 조직을 층류 하에서 얼음 상에 놓고서, 튜브당 750  $\mu$ L의 Trizol(ThermoFisher 15596026/15596018)을 즉시 첨가한다. 5 m/초의 속도로 30초의 3회 사이클로 FastPrep-24™ 5G 그라인더를 사용하여 조직을 파괴하고 균질화한다. 사이클들 사이에, 샘플을 얼음 상에서 2분 동안 냉각시킨다. 균질화 후에, 튜브를 짧게 회전시키고, 20% 부피의 클로로포름(750  $\mu$ L의 Trizol을 사용하였을 때, 150  $\mu$ L의 클로로포름)을 첨가한다. 15초 동안 와동시키고, 4°C에서 15분 동안 14,000  $\times$  g로 원심분리한다. 상부 수성상을 덤 96웰 플레이트에 옮기고, 1 부피의 70% 에탄올을 첨가하고, 충분히 혼합한다. 제조자의 프로토콜에 따라 RNeasy 96 키트(Qiagen)를 사용하여 다음 단계들을 수행한다. RNeasy 96 플레이트를 사각-웰 블록 홀더(Square-Well Block holder)의 상부 상에 놓고서, 샘플(Trizol/클로로포름 추출)을 RNeasy 96 플레이트의 웰 내로 적용하고, 오염을 방지하기 위해 AirPore 커버로 플레이트를 밀봉한다. 실온에서 3분 동안 5600  $\times$  g로 원심분리하고 용액을 폐기한다. 1회의 800  $\mu$ L RW1 완충액, 2회의 800  $\mu$ L RPE 완충액을 포함하는 일련의 세척 단계를 RNeasy 96 플레이트에 적용하고, 각 단계에 대해 3분 동안 5600  $\times$  g로 원심분리에 의해 세척 완충액을 제거한다. 마지막 세척 후, RNeasy 96 플레이트를 3분 동안 5600  $\times$  g로 원심분리하여 잔류 액체를 제거한다. 실온에서 3분 동안 5600  $\times$  g로 원심분리에 의해 60  $\mu$ L의 RNase-무함유 물을 사용하여 RNA를 용리한다. Nanodrop 8000(ThermoFisher)에 의해 RNA 농도를 측정한다. 용리된 RNA를 분석 시까지 -80°C에서 저장한다.

[0748]

RT-qPCR

[0749]

역전사를 위한 주형으로서 RNA를 사용하고, 제조자의 프로토콜에 따라 High-Capacity cDNA 역전사 키트(Applied

Biosystems)를 사용하여 역전사한다. 간략하게 말하면, 20  $\mu$ L의 혼합물의 최종 반응물을 25°C에서 10분 동안 인큐베이션한 후, 37°C에서 2시간 동안 역전사를 수행하고, 85°C에서 5분 동안 효소 불활성화를 수행한다. qPCR 반응을 위해, 역전사된 cDNA를 10배로 희석시키고, 2X PowerUp™ SYBR™ Green Mater Mix(ThermoFisher A25743) 및 500 nM qPCR 프라이머와 혼합하여 최종 부피 10  $\mu$ L의 반응물을 얻는다. 표준 열 사이클링 프로토콜을 사용하여 QuantStudio™ 12K 기기(Applied Biosystems™)로 qPCR 실행을 수행한다. 다수의 프라이머를 사용하여 MAPT mRNA를 검출하고, 마우스 하우스키핑 유전자 AP3D1 및 PAK1IP1을 표적화하는 참조 프라이머를 유전자 발현의 정규화에 포함시킨다.

[0750] 전술된 실시 형태는 단순히 예시적인 것으로 의도되며, 당업자는 특정 화합물, 재료, 및 절차에 대한 다수의 등가물을 인식하거나, 일상적인 것에 불과한 실험을 사용하여 확인할 수 있을 것이다. 모든 그러한 등가물은 본 발명의 범주 내에 있는 것으로 간주되며, 첨부된 청구범위에 의해 포함된다.