I861820

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 **(11)證書號數：TW I861820 B**

(45)公告日： 中華民國 113 (2024) 年 11 月 11 日

(21)申請案號：112114344 (22)申請日： 中華民國 108 (2019) 年 09 月 06 日

(51)Int. Cl.： *A61K47/68 (2017.01)* *A61K47/65 (2017.01)*
A61K31/7084 (2006.01) *C07H21/02 (2006.01)*
A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2018/09/06 日本 2018-167369

(71)申請人：日商第一三共股份有限公司 (日本) DAIICHI SANKYO COMPANY, LIMITED (JP)
日本

(72)發明人：津田敏史 TSUDA, TOSHIFUMI (JP) ；田淵俊樹 TABUCHI, TOSHIKI (JP) ；渡邊秀昭 WATANABE, HIDEAKI (JP) ；小林宏行 KOBAYASHI, HIROYUKI (JP) ；石崎雅之 ISHIZAKI, MASAYUKI (JP) ；原香生子 HARA, KYOKO (JP) ；和田悌司 WADA, TEIJI (JP) ；荒井雅巳 ARAI, MASAMI (JP)

(74)代理人：王彥評；賴碧宏

(56)參考文獻：

TW I825170B US 2018/0147292A1

WO 2018/066626A1

審查人員：方冠岳

申請專利範圍項數：76 項 圖式數：22 共 761 頁

(54)名稱

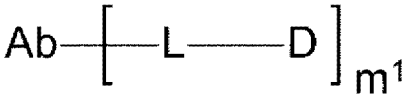
抗體藥物結合物及其應用及用途

(57)摘要

本發明之課題係冀望開發：具有 STING 促效劑活性的新穎 CDN 衍生物、及使用了該新穎 CDN 衍生物之與 STING 促效劑活性有關的疾病之治療劑及/或治療法。又，冀望開發：可將該新穎 CDN 衍生物特異性地送達至目的之細胞或臟器之與 STING 促效劑活性有關的疾病之治療劑及/或治療法。

本發明之解決手段係藉由本發明，提供具有強的 STING 促效劑活性的新穎 CDN 衍生物、含有新穎 CDN 衍生物的抗體 CDN 衍生物結合物。

特徵化學式：



(II)

專利案號：112114344
原申請案號：108132368
公告本
I861820

【發明摘要】

【中文發明名稱】

抗體藥物結合物及其應用及用途

【中文】

本發明之課題係冀望開發：具有 STING 促效劑活性的新穎 CDN 衍生物、及使用了該新穎 CDN 衍生物之與 STING 促效劑活性有關的疾病之治療劑及/或治療法。又，冀望開發：可將該新穎 CDN 衍生物特異性地送達至目的之細胞或臟器之與 STING 促效劑活性有關的疾病之治療劑及/或治療法。

本發明之解決手段係藉由本發明，提供具有強的 STING 促效劑活性的新穎CDN衍生物、含有新穎CDN衍生物的抗體CDN衍生物結合物。

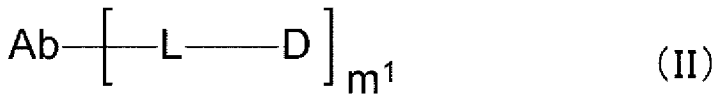
【指定代表圖】

無。

【代表圖之符號簡單說明】

無。

【特徵化學式】



(II)

【發明說明書】

【中文發明名稱】

抗體藥物結合物及其應用及用途

【技術領域】

【0001】本發明係關於具有 STING 促效劑活性之具有新穎結構的環狀二核苷酸衍生物、使該新穎環狀二核苷酸衍生物與抗標的細胞的抗體藉由連接子(linker)結合的抗體藥物結合物、含有該抗體藥物結合物的醫藥組成物等。

【先前技術】

【0002】STING(干擾素基因刺激蛋白(Stimulator of Interferon Genes))為位於內質網(endoplasmic reticulum)的跨膜型之轉接蛋白(adaptor Protein)(非專利文獻 1)。STING 之功能係作為哺乳動物中的自然免疫活性化之中樞分子，擔當對抗如細菌或病毒的病原體之進入的防禦最前線。已知 STING 之活性化係由複數之細胞質 DNA 感應器感知到外因性及內因性之 DNA 時之訊號所引起。一般認為於細胞質 DNA 感應器之中，cGAS(環狀 GMP-AMP 合成酶(Cyclic GMP-AMP Synthase))為重要的 DNA 感應器。cGAS 感知 DNA 時，產生環狀二核苷酸(2',3'-cGAMP)，此 2',3'-cGAMP 與 STING 直接結合，而使 STING 活性化(非專利文獻 2)。經活性化的 STING 向高基氏體移動，於是會促進 TBK1(Tank 結合激酶 1(Tank-binding kinase 1))的自體磷酸化。進行自體磷酸化而經活性化的 TBK-1 將 IRF3(干擾素調節因子 3(Interferon regulatory factor 3))轉錄路徑(非專利文獻 3)及 NFκB 轉錄路徑(非專利文獻 4)兩者活性化，使被稱為干擾素或細胞介素(I 型 IFN(干擾素)、IL-6(介

白素-6(Interleukin-6))、TNF-α(腫瘤壞死因子-α(Tumor Necrosis Factor-α)))的炎性蛋白質的產生增加。此等之蛋白質通過複雜的串級而使包含會破壞病原體或癌細胞的 T 細胞之後天性免疫系統啟動。

【0003】由最近之研究顯示了：STING 不僅促進對抗微生物的宿主防禦，亦促進抗腫瘤免疫。例如，相較於野生型小鼠或 TRIF(Toll/介白素-1(IL-1)受體域含有轉接蛋白誘導干擾素-β(Toll/Interleukin-1(IL-1)receptor domain containing adaptor-inducing interferon-β))缺損小鼠，對 STING 缺損小鼠移植了免疫原性腫瘤的情形，腫瘤會更急速地增殖。又，於 STING 缺損小鼠，與 TLR(類鐸受體(Toll-like receptor))、MyD88(骨髓分化原初反應 88(Myeloid differentiation primary response 88))、MAVS(線粒體抗病毒信號蛋白(Mitochondrial antiviral-signaling protein))缺損小鼠不同，對腫瘤的自發性 $CD8^+$T 細胞的啟動亦消失了。這暗示著：藉由細胞質 DNA 感知而啟動的 STING 路徑參與腫瘤增殖的控制(非專利文獻 5)。於其他研究中亦顯示：STING 於放射線治療(非專利文獻 6)或抗 CD47 抗體療法(非專利文獻 7)之抗腫瘤效果上為必要的。以放射線或抗 CD47 抗體處置後之來自已死亡的腫瘤細的 DNA，係向樹狀細胞之細胞質移動而活化了 cGAS-STING 路徑之後，誘導 IFN 產生而進行先天性免疫與後天性免疫的仲介。此研究暗示著：有因 STING 路徑而被活化的樹狀細胞介入的交叉致敏(cross-priming)，係於為了引起對於腫瘤的後天性免疫上為重要的。

【0004】作為血管破壞劑而已廣為人知的類黃酮(flavonoid)系低分子化合物 DMXAA，係因誘導巨噬細胞之 I 型 IFN，而於小鼠腫瘤模型顯示了具有強力的抗腫瘤活性(非專利文獻 8)。DMXAA 因於前臨床的優異抗腫瘤效果，而被期待作為非小細胞肺癌之免疫療法藥，但於人類的臨床試驗中失敗了(非專利文獻 9)。由最近之研究顯示了：DMXAA 為對小鼠之 STING 的特異性促效劑，於人類之 STING 因無物種交差性而無法結合(非專利文獻 10)。DMXAA 就結果而言，於人類為無效，但藉由在小鼠模型的研究，而暗示了：低分子藥介入 STING，而有效地啟動 $CD8^+$T 細胞，可增強抗腫瘤免疫。

【0005】作為另一種低分子化合物，環狀二核苷酸(Cyclic dinucleotide、CDN)顯示了：對荷癌小鼠投予時，藉由 STING 介入所致的抗腫瘤免疫反應係增強而腫瘤增殖被顯著地抑制，會改善小鼠的生存率(非專利文獻 11)。CDN 被分類為具有來自細菌之標準的二個 3'-5'磷酸鍵的 CDN(cyclic-di-GMP,cyclic-di-AMP,3',3'-cGAMP)、及具有哺乳動物的 cGAS 所產生之非標準的 2'-5'磷酸鍵的混合結合型之 CDN(2',3'-cGAMP)。由最近之研究顯示：比起標準的 CDN，混合結合型之 CDN 更能普遍地活化多樣的 STING(非專利文獻 12)。

【0006】天然型之 CDN，因會如許多核酸分子般地被血液中的核酸分解酵素快速地分解，而無法以原本的形態投予。因此，已開發於活體內具有 STING 促效劑活性的合成低分子化合物(例如，專利文獻 1~26)。

【0007】現在，作為抗腫瘤劑而進行臨床試驗中的 STING 促效劑之 MIW-815(亦有時稱為 ADU-S100、ML RR-S2 CDA

或 ML-RR-CDA·2Na^+)，係被直接投予至腫瘤內。於將 STING 促效劑直接投予至腫瘤的方法，因只能對腫瘤內的限定範圍投予藥劑，而且對複數之遠端轉移腫瘤全部直接投予為困難，所以有所謂能治療的腫瘤被限定之問題。非專利文獻 13 中有記載藉由 ML RR-S2 CDA 投予而顯示了抗腫瘤效果，但僅為腫瘤內投予，並未顯示藉由全身投予(例如，靜脈內投予)所致的抗腫瘤效果。非專利文獻 14 中有記載將 STING 促效劑之 SB11285 對小鼠腫瘤模型進行靜脈內投予時顯示了抗腫瘤效果，但不清楚 SB11285 具體地為具有何種結構的化合物。專利文獻 14 中記載著含有免疫刺激化合物、抗體構築物及連接子的結合物，但並未記載作為免疫刺激化合物而使用了 STING 促效劑的結合物之具體例。專利文獻 26 中記載著使具有特定結構的 CDN 與抗體藉由連接子而結合的結合物，但無於活體內投予結合物的實施例之記載，且結合物的抗腫瘤效果未被確認。

[先前技術文獻]

[專利文獻]

【0008】

專利文獻 1　WO2014/099824

專利文獻 2　WO2014/179335

專利文獻 3　WO2014/189805

專利文獻 4　WO2014/189806

專利文獻 5　WO2015/074145

專利文獻 6　WO2015/185565

專利文獻 7　WO2016/096714

專利文獻 8　WO2016/012305

專利文獻 9　WO2016/145102

專利文獻 10　WO2017/027646

專利文獻 11　WO2017/027645

專利文獻 12　WO2017/075477

專利文獻 13　WO2017/093933

專利文獻 14　WO2017/100305

專利文獻 15　WO2017/123669

專利文獻 16　WO2017/161349

專利文獻 17　WO2017/175147

專利文獻 18　WO2017/175156

專利文獻 19　WO2018/009466

專利文獻 20　WO2018/045204

專利文獻 21　WO2018/060323

專利文獻 22　WO2018/067423

專利文獻 23　WO2018/065360

專利文獻 24　WO2014/093936

專利文獻 25　WO2018/009648

專利文獻 26　WO2018/100558

[非專利文獻]

【0009】

非專利文獻 1　Nature 2008,455,674-678

非專利文獻 2　Mol.Cell,2013,51,226-235

非專利文獻 3　Science 2015a,347,aaa2630

非專利文獻 4　J.Virol.2014,88,5328-5341

非專利文獻 5　Immunity 2014,41,830-842

非專利文獻 6　Immunity 2014,41,843-852

非專利文獻 7　Nat.Med.2015,21,1209-1215

非專利文獻 8　J.Immunol.1994,153,4684-4693

非專利文獻 9　J.Clin.Oncol.2011,29,2965-2971

非專利文獻 10　J.Immunol.2013,190,5216-5225

非專利文獻 11　Sci.Rep.2016,6,19049

非專利文獻 12　Mol.Cell,2015,59,891-903

非專利文獻 13　Cell Rep.2015,11,1018-1030

非專利文獻 14　AACR Tumor Immunology and Immunotherapy、2017、Poster#A25

【發明內容】

[發明所欲解決的課題]

【0010】冀望開發：具有 STING 促效劑活性，且使干擾素或細胞介素等之炎性蛋白質之產生增加而賦活免疫細胞之具有新穎骨架的 CDN 衍生物；及使用了該新穎 CDN 衍生物之 STING 促效劑活性之關聯疾病，例如能夠利用藉由免疫賦活化之治療的疾病(例如，癌症)之治療劑及/或治療法。又，冀望開發：使該新穎 CDN 衍生物與抗標的細胞的抗體藉由連接子結合而成的抗體藥物結合物，其能全身投予且可特異性地將 STING 促效劑送達至為目的之細胞或臟器(例如，腫瘤部位)；及使用了該抗體藥物結合物的 STING 促效劑活性之關聯疾病，能夠利用藉由免疫賦活化之治療的疾病(例如，癌症)之治療劑及/或治療法。

[用以解決課題之手段]

【0011】本發明人等，為了解決上述課題，發現特徵為具有稠合三環性取代基的新穎 CDN 衍生物，且發現了該新穎 CDN 衍

生物具有強的 STING 促效劑活性，且顯示強的抗腫瘍活性。本發明人等還發現使本發明之新穎 CDN 衍生物與抗體藉由連接子結合而成的抗體藥物結合物，且發現將該抗體藥物結合物全身投予時，會於表現抗原的腫瘤中顯示抗腫瘤效果，而完成本發明。

【0012】即本案發明係關於以下。

[1]一種抗體藥物結合物，其係下式(II)所表示的抗體藥物結合物，

【0013】

(II)

(式中，m^1 為 1 至 10 之範圍，

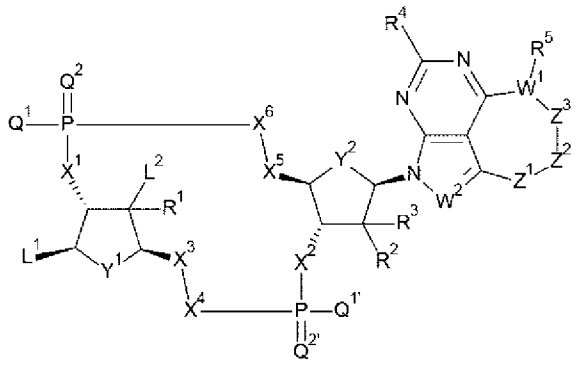
Ab 表示抗體或該抗體之功能性片段，且該抗體之糖鏈可被重塑(remodeling)，

L 表示連結 Ab 與 D 的連接子，

Ab 可直接自其胺基酸殘基與 L 結合、或可自 Ab 之糖鏈或被重塑的糖鏈與 L 結合，

D 為下式(I)所表示的化合物，

【0014】



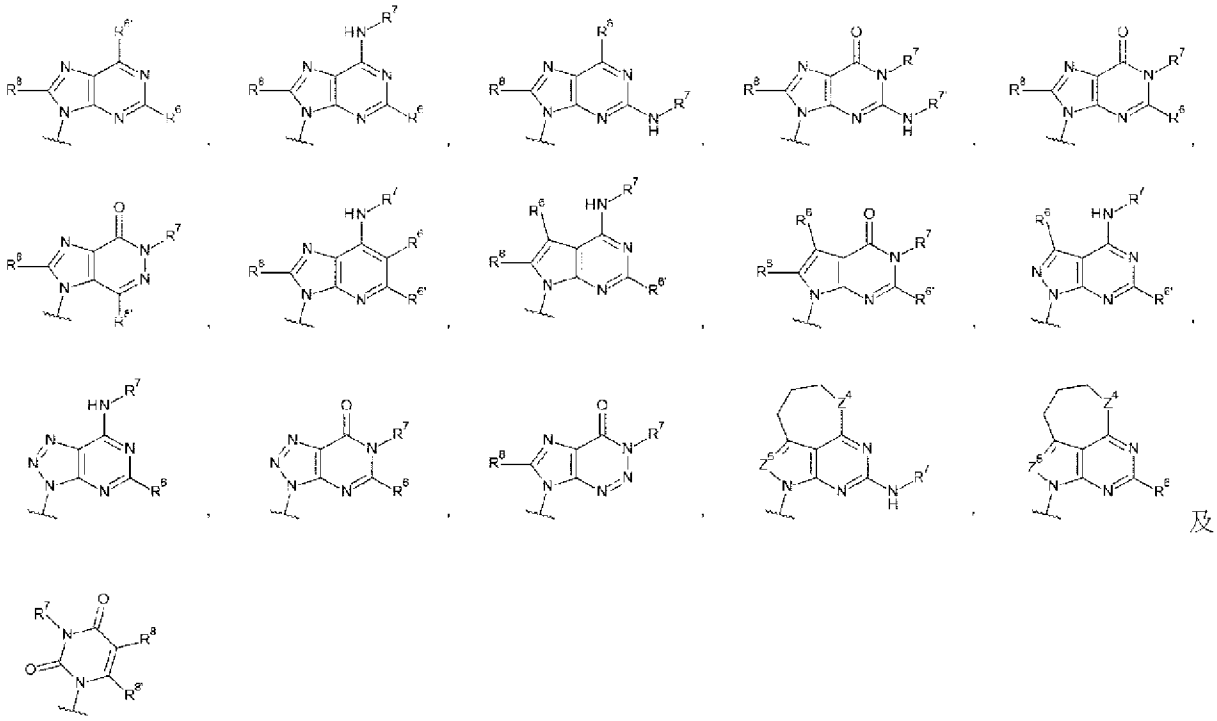
(I)

(其中，

L 與 L^1 或 L^2 所含的任意之-NH_2 或羥基結合，

L^1表示選自由下式所組成的群組的基，其可於任意之位置經選自由羥基、-NH_2、2-羥基乙醯基胺基甲基及 2-[(2-羥基乙醯基)胺基]乙基所組成的群組的 1 至 3 個之基取代：

【0015】



(其中，

R^6及$R^{6'}$各自獨立表示氫原子、鹵素原子、羥基、-NH_2、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基或 C2-C6 炔基，

R^7及$R^{7'}$各自獨立表示氫原子或 C1-C6 烷基，該 C1-C6 烷基可經選自由鹵素原子及側氧基組成的群組的 1 或 2 個之取代基取代，

R^8及$R^{8'}$各自獨立表示氫原子或鹵素原子，

Z^4表示-CH_2-、-NH-或氧原子，

Z^5表示氮原子或-CH=)，

L^2表示選自下述(i)或(ii)的基：

(i)與 L 結合時，L^2 表示-NHR’、羥基 C1-C6 烷基或胺基 C1-C6 烷基，其中，R’表示氫原子、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基或 C3-C6 環烷基，該 C1-C6 烷基、C2-C6 烯基或 C2-C6 炔基可經 1 至 6 個之鹵素原子取代；或

(ii)未與 L 結合時，L^2 表示氫原子或鹵素原子，

Q^1 及 $Q^{1'}$ 各自獨立表示羥基、硫醇基或硼烷基(BH_3^-)，

Q^2 及 $Q^{2'}$ 各自獨立表示氧原子或硫原子，

X^1 及 X^2 各自獨立表示氧原子、硫原子或-CH_2-，

Y^1 及 Y^2 表示氧原子或-CH_2-，

X^3 及 X^4 表示選自下述(iii)或(iv)的基：

(iii)Y^1 為氧原子時，X^3-X^4 表示-CH_2-O-、-CH_2-S-、-CH_2-CH_2-或-CH_2-CF_2-；或

(iv)Y^1 為-CH_2-時，X^3-X^4 表示-O-CH_2-，

X^5 及 X^6 表示選自下述(v)或(vi)的基：

(v)Y^2 為氧原子時，X^5-X^6 表示-CH_2-O-、-CH_2-S-、-CH_2-CH_2-或-CH_2-CF_2-；或

(vi)Y^2 為-CH_2-時，X^5-X^6 表示-O-CH_2-，

R^1、R^2 及 R^3 各自獨立表示氫原子、鹵素原子、-OR’、-OC(=O)R’、-N_3、-NHR’、-NR’R’’或-NHC(=O)R’(其中，R’為如前述定義，R’’表示 C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基或 C3-C6 環烷基)，

W^1 表示氮原子、氧原子、硫原子或-CH-，

W^2 表示氮原子或-CH=，

R^4 表示氫原子、鹵素原子或-NH_2，

R^5 表示選自下述(vii)至(x)的基：

(vii)W^1為氮原子時，R^5表示氫原子、C1-C6烷基、羥基C1-C6烷基或胺基C1-C6烷基；

(viii)W^1為氧原子時，R^5不存在；

(ix)W^1為硫原子時，R^5不存在；或

(x)W^1為-CH-時，R^5表示氫原子、鹵素原子、羥基、$-NH_2$或C1-C6烷基，

Z^1-Z^2-Z^3係一起而表示選自以下之基：$-CH_2-CH_2-CH_2-$、$-CH_2-CH_2-R'''-$、$-CH=CH-CH_2-$、$-CH=CX-CH_2-$、$-CX=CH-CH_2-$、$-CX=CX-CH_2-$、$-C(=O)-CH_2-CH_2-$、$-CH_2-CH_2-C(=O)-$、$-CH_2-CH(CH_3)-CH_2-$或$-CH_2-CH_2-CH(CH_3)-$(其中，R'''表示-O-或$-CH_2-CH_2-$，X表示鹵素原子)或下述式之任一者所表示的基：

【0016】

(其中，星號表示與W^1結合者，波浪線表示與=C-之碳原子結合者)))；

[2]如[1]記載之抗體藥物結合物，其中W^1為氮原子；

[3]如[2]記載之抗體藥物結合物，其中W^1為氮原子，R^5為氫原子；

[4]如[1]記載之抗體藥物結合物，其中W^1為氧原子；

[5]如[1]記載之抗體藥物結合物，其中W^1為硫原子；

[6]如[1]記載之抗體藥物結合物，其中W^1為-CH-；

[7]如[6]記載之抗體藥物結合物，其中 W^1 為-CH-，R^5 為氫原子；

[8]如[1]至[7]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中 Z^1、Z^2 及 Z^3 係一起而為-CH_2-CH_2-CH_2-或-CH=CH-CH_2-；

[9]如[1]至[7]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中 Z^1、Z^2 及 Z^3 係一起而為-CH_2-CH(CH_3)-CH_2-或-CH_2-CH_2-CH(CH_3)-；

[10]如[1]至[7]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中 Z^1、Z^2 及 Z^3 係一起而為-CH_2-CH_2-R'''-(其中，R'''表示-O-或-CH_2-CH_2-)；

[11]如[1]至[10]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中 W^2 為-CH=；

[12]如[1]至[10]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中 W^2 為氮原子；

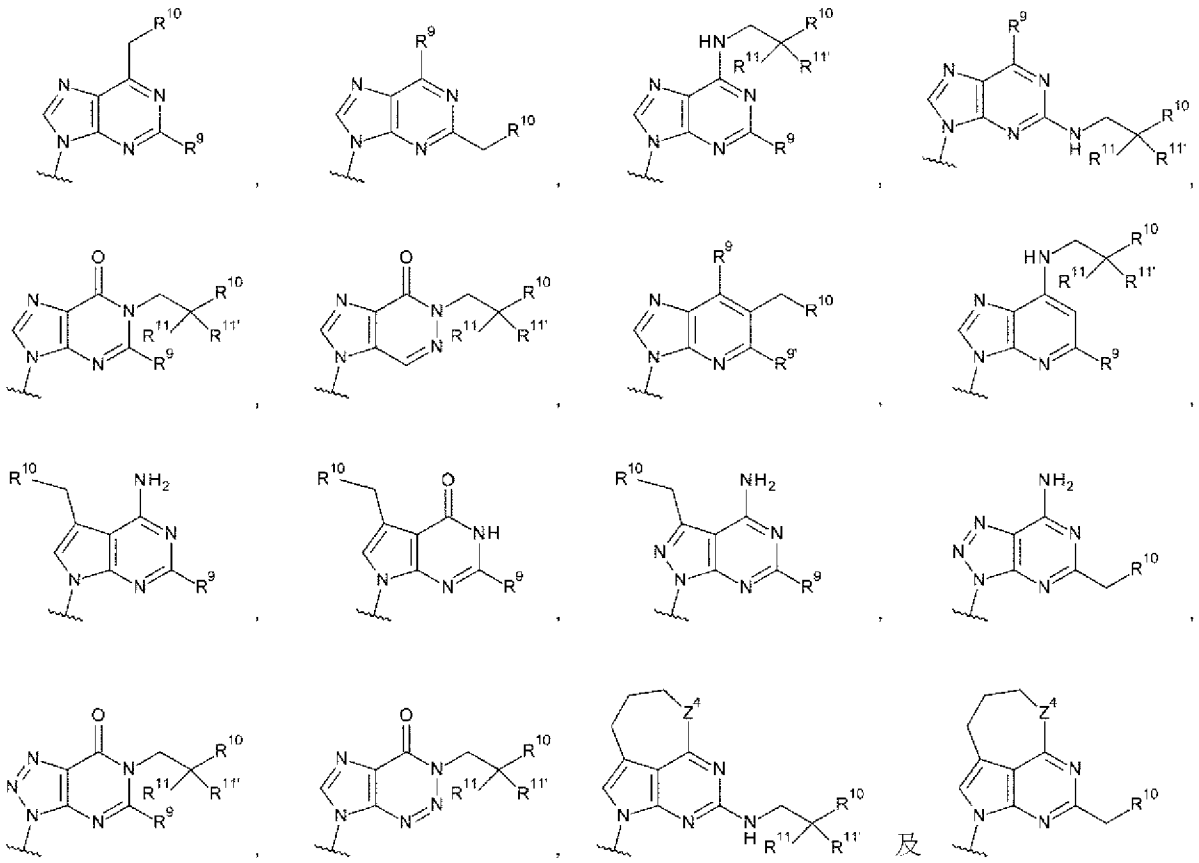
[13]如[1]至[12]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中 R^4 表示氫原子；

[14]如[1]至[12]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中 R^4 表示氟原子；

[15]如[1]至[14]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中 L^1 中之 R^8 及 $R^{8'}$ 各自獨立為氫原子；

[16]如[1]至[15]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中 L^1 為選自由下式所組成的群組的基：

【0017】



(其中，R^9及$R^{9'}$表示氫原子、鹵素原子、羥基或$-NH_2$，

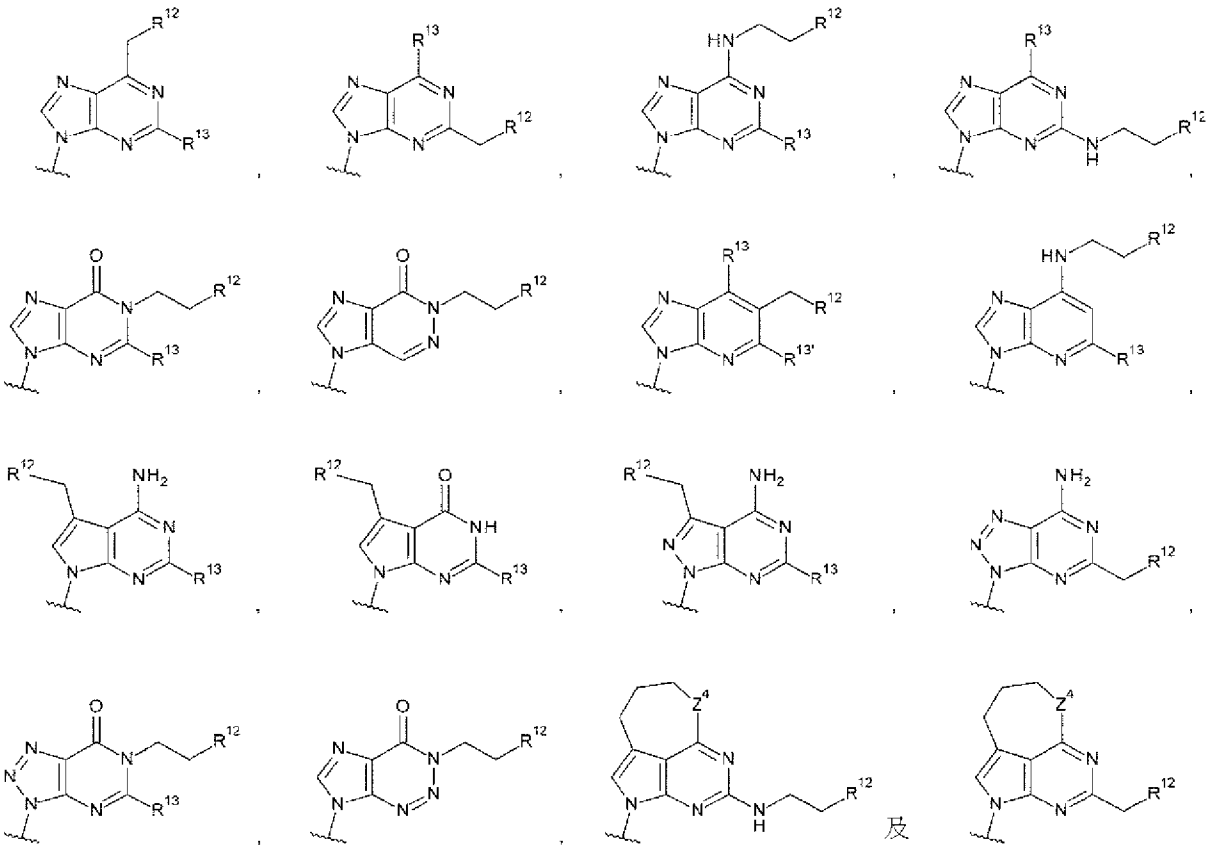
R^{10}表示羥基、$-NH_2$、$-NHC(=O)CH_2OH$、$-CH_2NHC(=O)CH_2OH$、$-CH_2CH_2NHC(=O)CH_2OH$、羥基C1-C3烷基或胺基C1-C3烷基，

R^{11}及$R^{11'}$各自獨立表示氫原子、氟原子或者甲基，或R^{11}及$R^{11'}$結合而表示環丙烷，

Z^4表示$-CH_2-$、-NH-或氧原子)；

[17]如[1]至[15]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中L^1為選自由下式所組成的群組的基：

【0018】



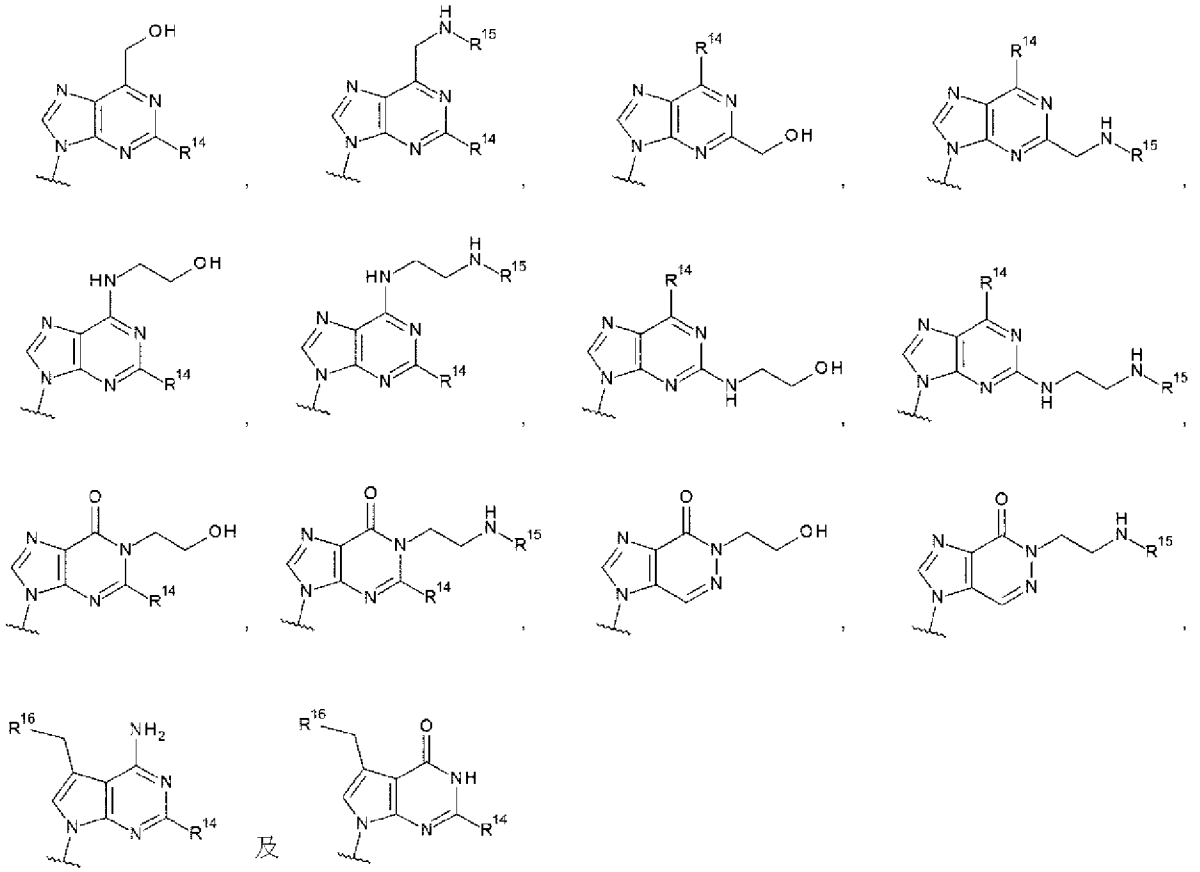
(其中，R^{13}及$R^{13'}$各自獨立表示氫原子、羥基或-NH_2，

R^{12}表示羥基、-NH_2、-CH_2OH、-$NHC(=O)CH_2OH$、-$CH_2NHC(=O)CH_2OH$或-$CH_2CH_2NHC(=O)CH_2OH$，

Z^4為如前述定義)；

[18]如[1]至[15]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中L^1為選自由下式所組成的群組的基：

【0019】



(其中，R^{14}表示氫原子或-NH_2，

R^{15}表示氫原子或-C(=O)CH_2OH，

R^{16}表示羥基、-NH_2、-CH_2OH、-CH_2CH_2OH、-CH_2NH_2或-$CH_2CH_2NH_2$)；

[19]如[1]至[18]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中L^2與L結合，表示-NH_2、-CH_2NH_2或-CH_2OH；

[20]如[1]至[18]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中L^2未與L結合，表示氫原子或氟原子；

[21]如[1]至[20]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中Q^1及$Q^{1'}$各自獨立表示羥基或硫醇基；

[22]如[1]至[21]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中X^1及X^2表示氧原子；

[23]如[1]至[22]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中 Y^1 及 Y^2 表示氧原子；

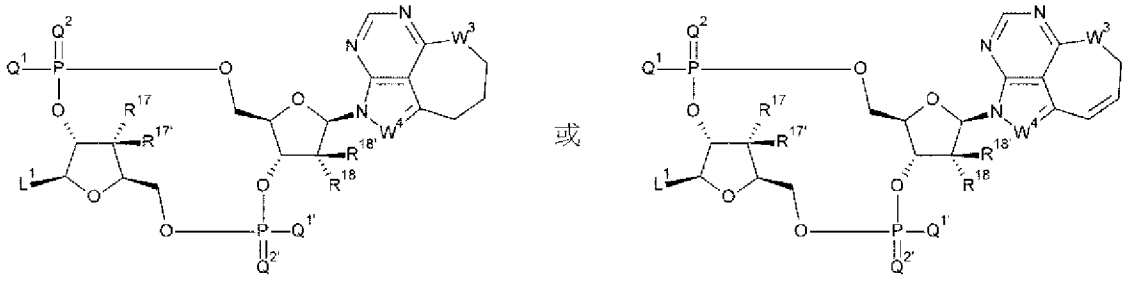
[24]如[1]至[23]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中 X^3 及 X^4 表示-CH_2-O-；

[25]如[1]至[24]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中 X^5 及 X^6 表示-CH_2-O-；

[26]如[1]至[25]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中 R^1、R^2 及 R^3 各自獨立為氫原子、羥基或氟原子；

[27]如[1]至[26]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中 D 為以下列之 2 式的任一者所表示者：

【0020】



(其中，L^1、Q^1、$Q^{1'}$、Q^2 及 $Q^{2'}$ 為如前述定義，

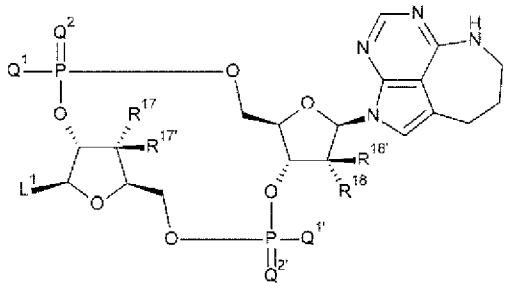
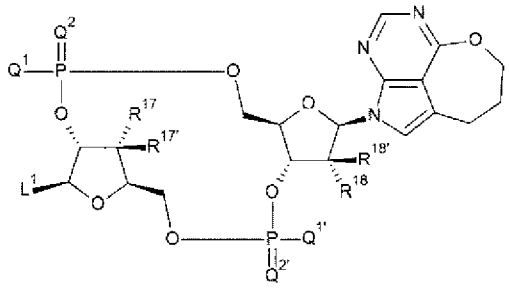
R^{17}、$R^{17'}$、R^{18} 及 $R^{18'}$ 各自獨立表示氫原子、鹵素原子、羥基或-NH_2，

W^3 表示-NH-、氧原子、硫原子或-CH_2-，

W^4 表示-CH=或氮原子)；

[28]如[27]記載之抗體藥物結合物，其中 D 為以下列之 2 式的任一者所表示者：

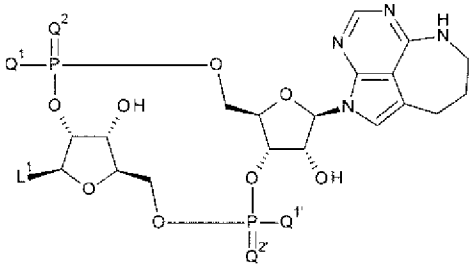
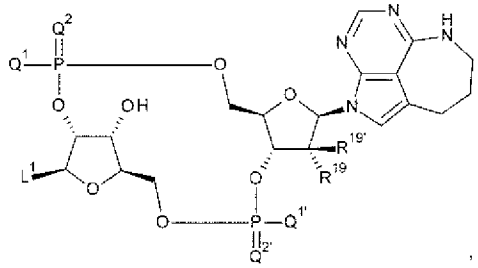
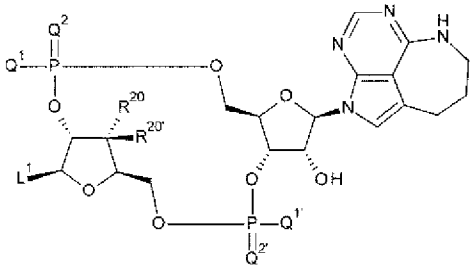
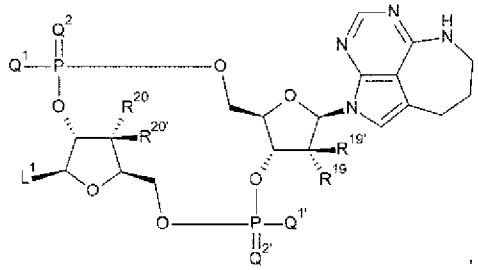
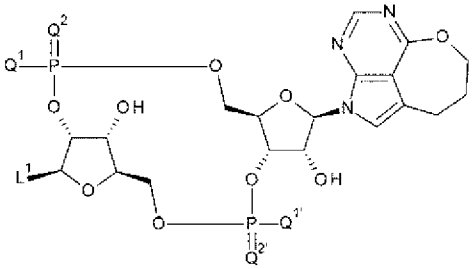
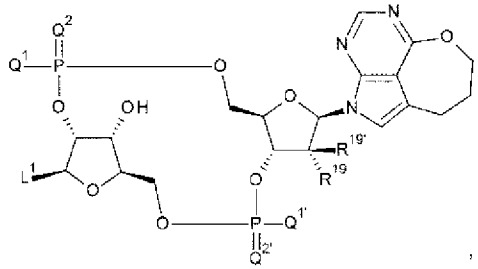
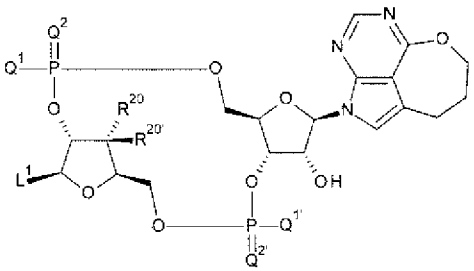
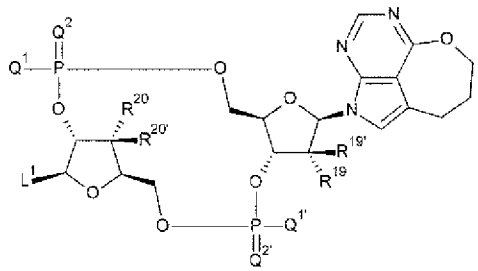
【0021】


或


(其中，L^1、Q^1、$Q^{1'}$、Q^2、$Q^{2'}$、R^{17}、$R^{17'}$、R^{18}及$R^{18'}$為如前述定義)；

[29]如[27]或[28]記載之抗體藥物結合物，其中 D 為以下列之 8 式的任一者所表示者：

【0022】

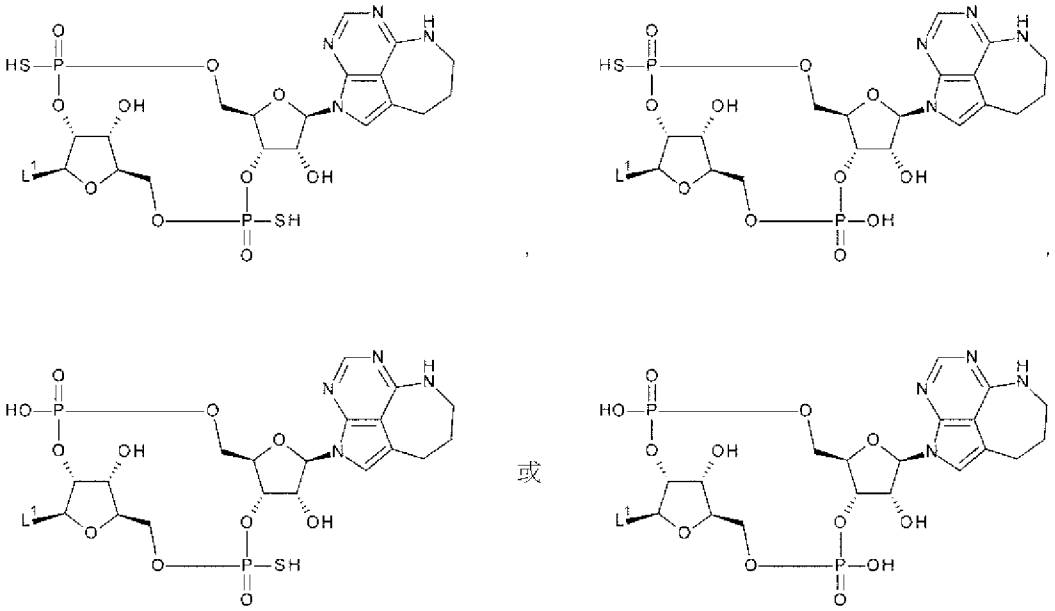

、

、

、

、

、

、

或


(其中，L^1、Q^1、$Q^{1'}$、Q^2及$Q^{2'}$為如前述定義，

R^{19}、$R^{19'}$、R^{20}及$R^{20'}$各自獨立表示氫原子或氟原子)；

[30]如[27]至[29]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中D為以下列之4式的任一者所表示者：

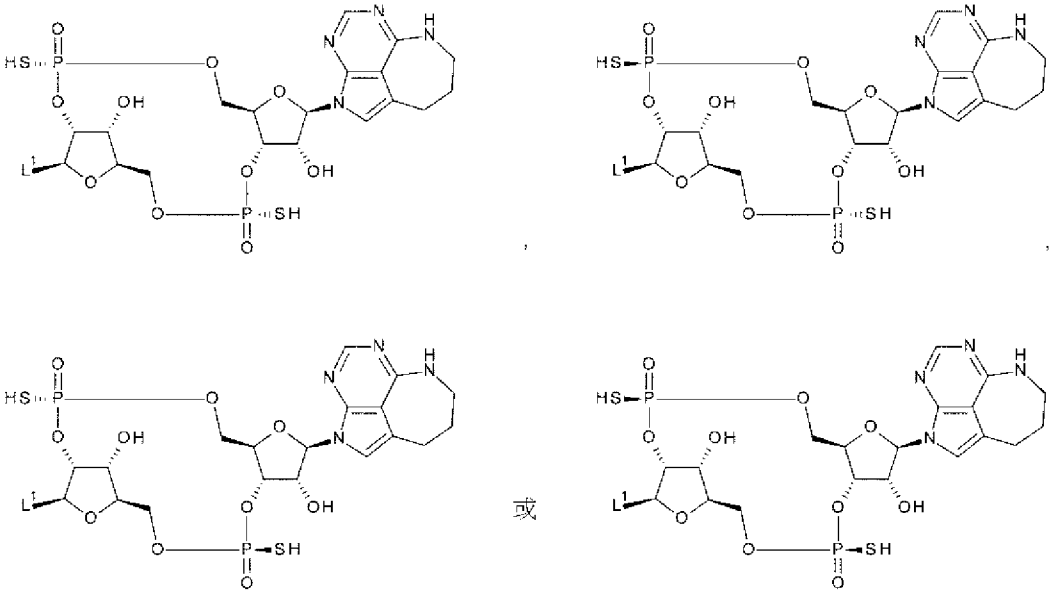
【0023】



(其中，L^1為如前述定義)；

[31]如[27]至[30]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中D為以下列之4式的任一者所表示者：

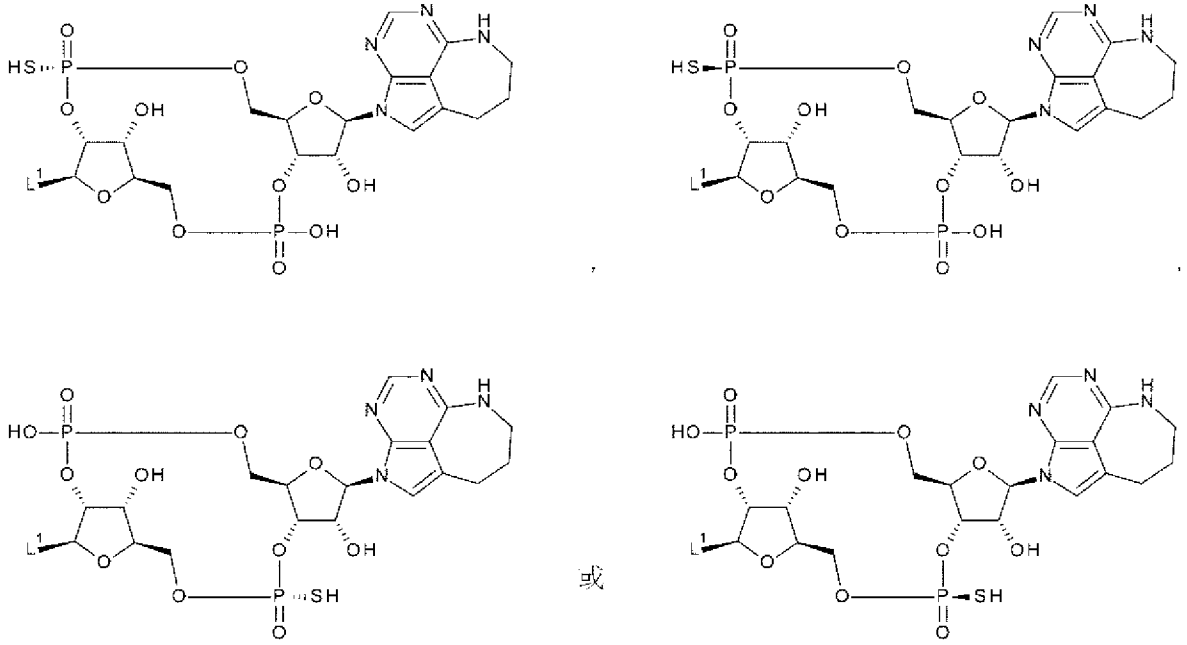
【0024】



(其中，L^1 為如前述定義)；

[32]如[27]至[30]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中 D 為以下列之 4 式的任一者所表示者：

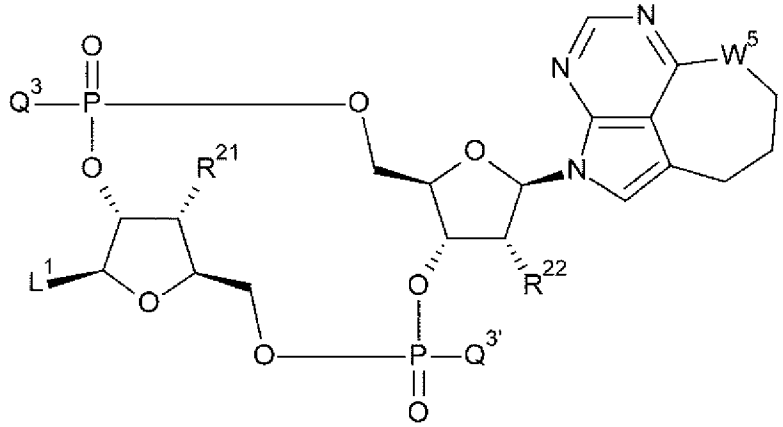
【0025】



(其中，L^1 為如前述定義)；

[33]如[1]至[26]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中 D 為下式所表示者：

【0026】



(其中，L^1 為如前述定義，

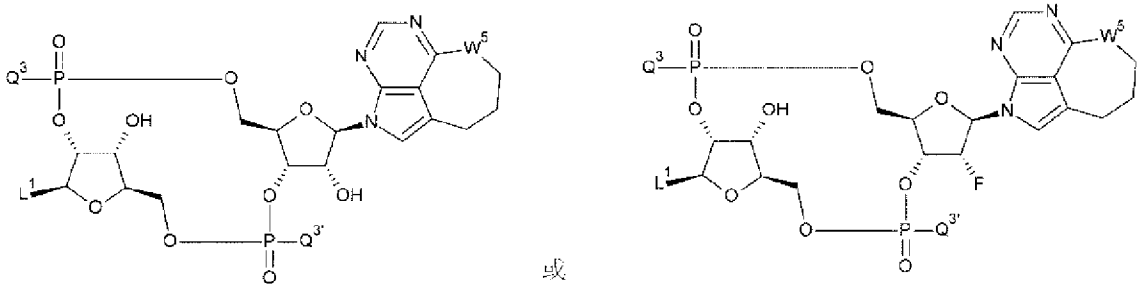
Q^3 及 $Q^{3'}$ 各自獨立表示羥基或硫醇基，

R^{21}及R^{22}各自獨立表示羥基或氟原子，

W^5表示-NH-或硫原子)；

[34]如[33]記載之抗體藥物結合物，其中D為以下列之2式的任一者所表示者：

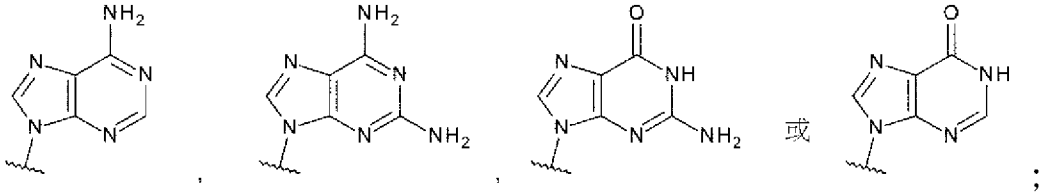
【0027】



(其中，L^1、Q^3及$Q^{3'}$、W^5為如前述定義)；

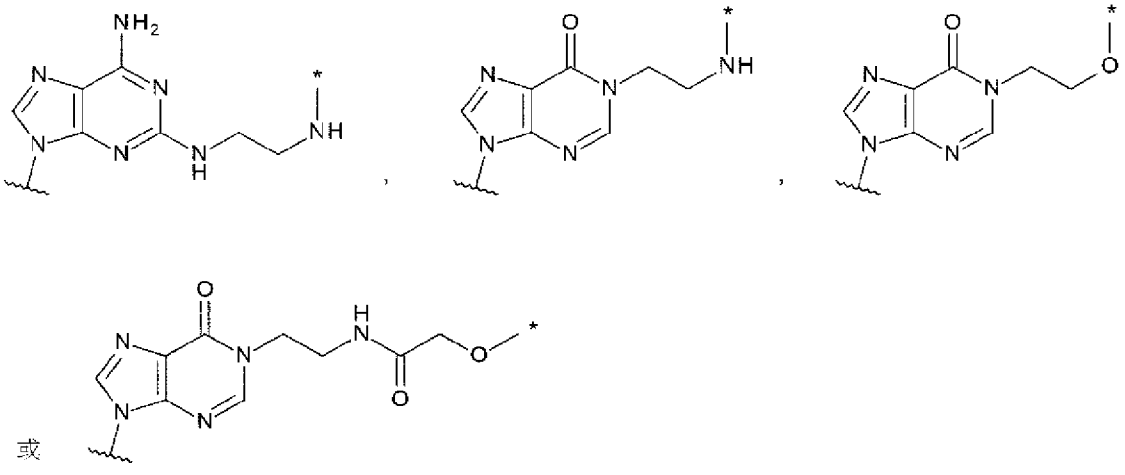
[35]如[1]至[34]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中L^1為以下列之4式的任一者所表示者：

【0028】



[36]如[1]至[34]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中L^1為以下列之4式的任一者所表示者：

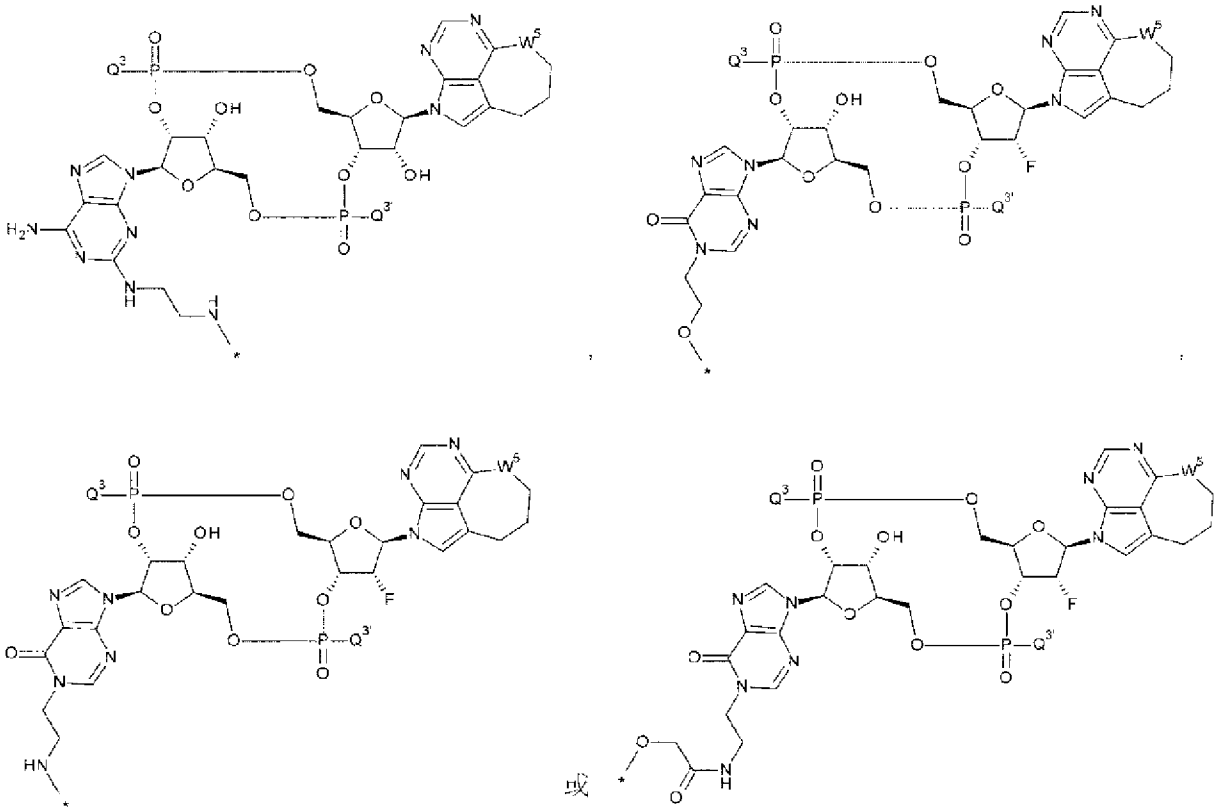
【0029】



(式中，星號表示與 L 結合者)；

[37]如[33]、[34]或[36]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中 D 為以下列之 4 式的任一者所表示者：

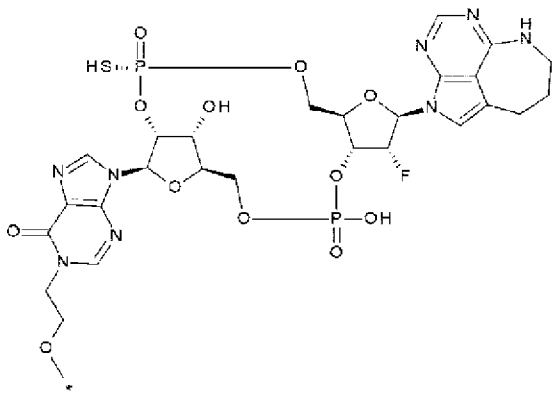
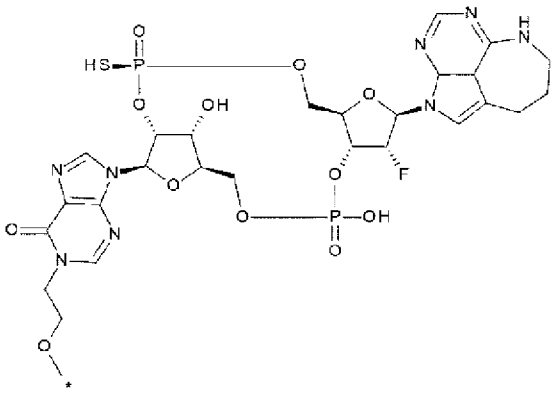
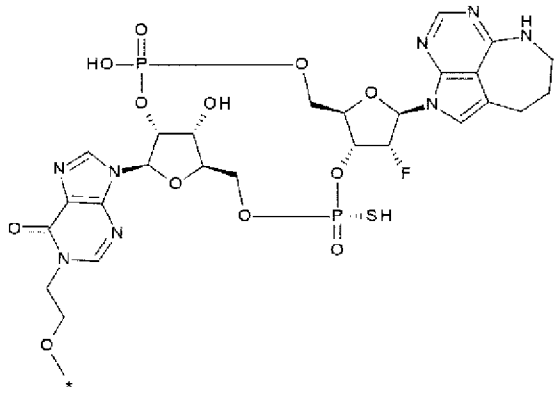
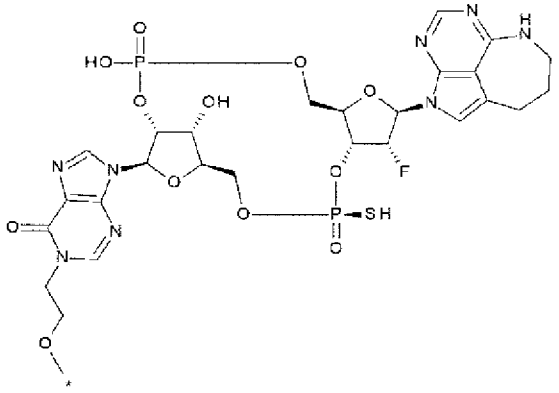
【0030】



(其中，星號表示與 L 結合者，Q^3、$Q^{3'}$及 W^5 為如前述定義)；

[38]如[33]、[34]、[36]或[37]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中 D 為以下列之 4 式的任一者所表示者：

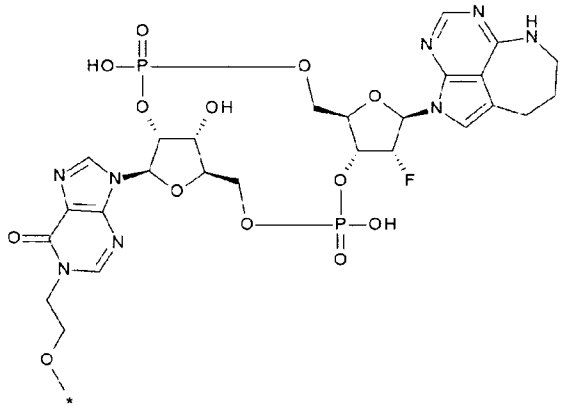
【0031】




或


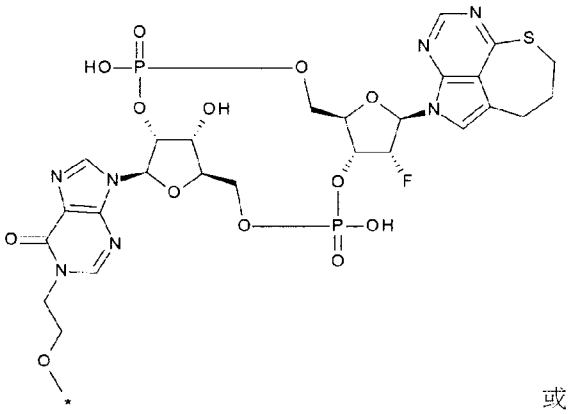
(其中，星號表示與 L 結合者)；

[39]如[33]、[34]、[36]或[37]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中 D 為以下列之 3 式的任一者所表示者：

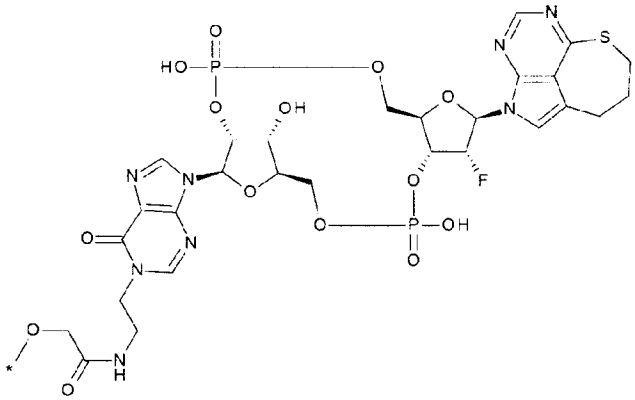
【0032】



，



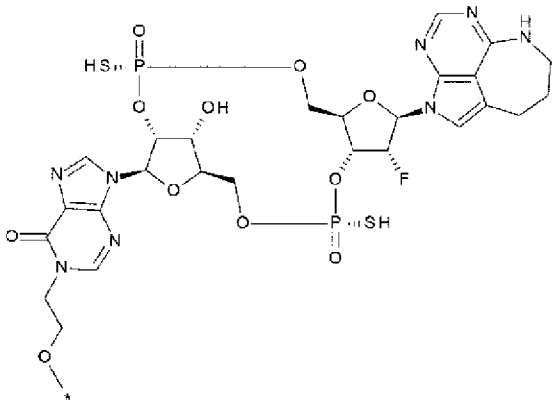
或

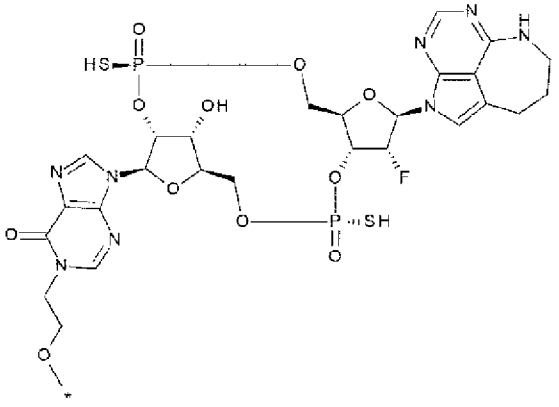


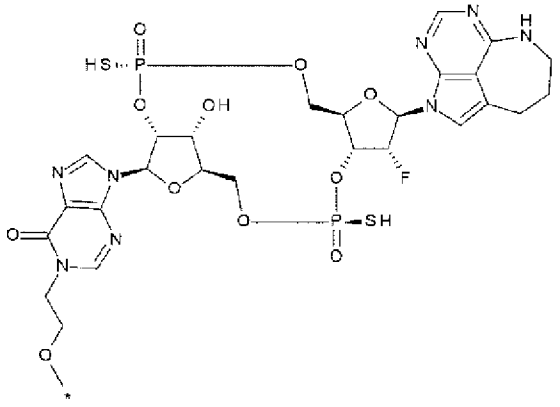
(其中，星號表示與 L 結合者)；

[40]如[33]、[34]、[36]或[37]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中 D 為以下列之 4 式的任一者所表示者：

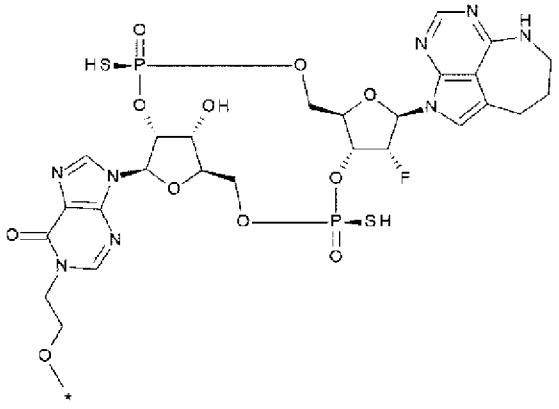
【0033】







或



(其中，星號表示與 L 結合者)；

[41]如[1]至[40]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中連接子 L 以-Lb-La-Lp-Lc-*表示，

式中，星號表示與藥物 D 結合者，

Lp 表示由在標的細胞中可切斷的胺基酸序列所構成的連接子或不存在，

La 表示選自以下之群組的任一者，

$-C(=O)-(CH_2CH_2)n^2-C(=O)-$、

$-C(=O)-(CH_2CH_2)n^2-CH_2-C(=O)-$、

$-C(=O)-(CH_2CH_2)n^2-C(=O)-NH-(CH_2CH_2)n^3-C(=O)-$、

$-C(=O)-(CH_2CH_2)n^2-C(=O)-NH-(CH_2CH_2)n^3-CH_2-C(=O)-$、

-C(=O)-(CH_2CH_2)n^2-C(=O)-NH-(CH_2CH_2O)n^3-CH_2-C(=O)-、

-(CH_2)n^4-O-C(=O)-、及

-(CH_2)n^9-C(=O)-

(其中，n^2表示1至3之整數，n^3表示1至5之整數，n^4表示0至2之整數，n^9表示2至7之整數)，

Lb表示將La與Ab之糖鏈或被重塑的糖鏈結合的間隔子(spacer)或將La與Ab之半胱胺酸殘基結合的間隔子，以及

Lc表示-NH-CH_2-、-NH-苯基-CH_2-O(C=O)-或-NH-雜芳基-CH_2-O(C=O)-或不存在；

[42]如[41]記載之抗體藥物結合物，其中Lc不存在；

[43]如[41]記載之抗體藥物結合物，其中Lc為-NH-CH_2-；

[44]如[41]至[43]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中Lp表示選自由以下組成的群組的任一者：

-GGVA-、-VA-、-GGFG-、-FG-、-GGPI-、-PI-、-GGVCit-、-VCit-、-GGVK-、-VK-、-GGFCit-、-FCit-、-GGFM-、-FM-、-GGLM-、-LM-、-GGICit-及-ICit-；

[45]如[44]記載之抗體藥物結合物，其中Lp為-GGVA-、-VA-、-GGFG-、-FG-、-GGVCit-、-VCit-、-GGFCit-或-FCit-之任一者；

[46]如[41]至[43]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中Lp為-GGFG-、-GGPI-、-GGVA-、-GGFM-、-GGVCit-、-GGFCit-、-GGICit-、-GGPL-、-GGAQ-或-GGPP-之任一者；

[47]如[46]記載之抗體藥物結合物，其中Lp為-GGFG-或-GGPI-；

[48]如[41]至[47]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中La表示選自由以下組成的群組的任一者：

-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-、

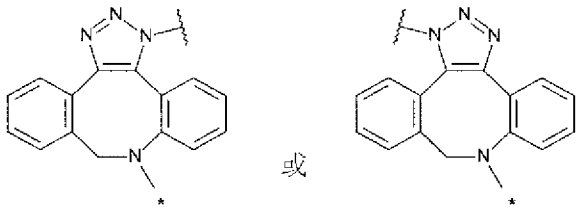
-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-NH-$(CH_2CH_2O)_3$-CH_2-C(=O)-、

-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-NH-$(CH_2CH_2O)_4$-CH_2-C(=O)-、及

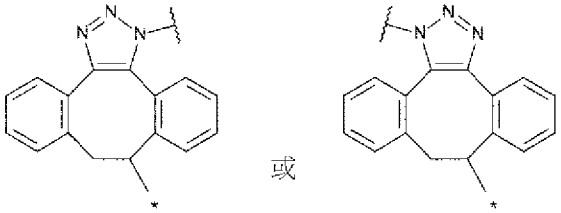
-$(CH_2)_5$-C(=O)-；

[49]如[41]至[48]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中Lb為下式之任一者所表示者：

【0034】

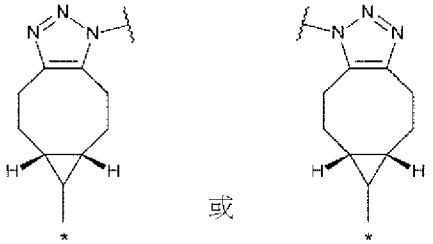


【0035】



、或

【0036】

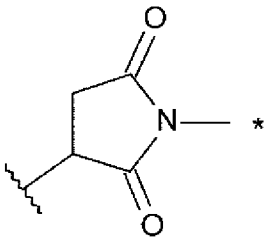


(於上述所示的 Lb 之結構式，星號表示與 La 結合者，波浪線表示與 Ab 之糖鏈或被重塑的糖鏈結合者)；

[50]如[41]至[48]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中 Lb 為-(琥珀醯亞胺-3-基-N)-，

其中，-(琥珀醯亞胺-3-基-N)-表示以下之結構式：

【0037】



，其中，星號表示與 La 結合者，波浪線表示與抗體之半胱胺酸殘基的側鏈形成硫醚而結合者；

[51]如[41]、[46]至[49]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中連接子 L 以-Lb-La-Lp-Lc-＊所表示，

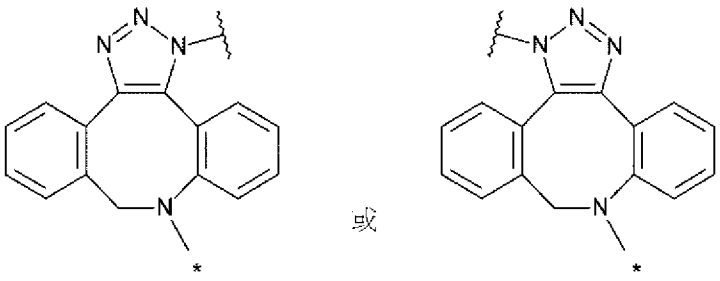
式中，星號表示與藥物 D 結合者，

Lp 為-GGFG-、或-GGPI-，

La 表示-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-，

Lb 表示下式：

【0038】



(於上述所示的 Lb 之結構式，星號表示與 La 結合者，波浪線表示與 Ab 之糖鏈或被重塑的糖鏈結合者)，

Lc 表示-NH-CH_2-；

[52]如[1]至[51]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中抗體藥物結合物中的每 1 分子抗體的平均藥物結合數為 1 至 10 個之範圍；

[53]如[52]記載之抗體藥物結合物，其中抗體藥物結合物中的每 1 分子抗體的平均藥物結合數為 1 至 5 個之範圍；

[54]如[1]至[53]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中抗體自與抗體之 Asn297 結合的糖鏈(N297 糖鏈)與 L 結合；

[55]如[54]記載之抗體藥物結合物，其中 N297 糖鏈為被重塑的糖鏈；

[56]如[54]或[55]記載之抗體藥物結合物，其中 N297 糖鏈為 N297-(Fuc)MSG1 或 N297-(Fuc)SG；

[57]如[1]至[56]中任一項記載之抗體藥物結合物，其中抗體為抗 HER2 抗體、抗 HER3 抗體、抗 DLL3 抗體、抗 FAP 抗體、抗 CDH11 抗體、抗 CDH6 抗體、抗 A33 抗體、抗 CanAg 抗體、抗 CD19 抗體、抗 CD20 抗體、抗 CD22 抗體、抗 CD30 抗體、抗 CD33 抗體、抗 CD56 抗體、抗 CD70 抗體、抗 CD98 抗體、抗 TROP2 抗體、抗 CEA 抗體、抗 Cripto 抗體、抗 EphA2 抗體、抗 G250 抗體、抗 MUC1 抗體、抗 GPNMB 抗體、抗整合素(Integrin)抗體、抗 PSMA 抗體、抗肌腱蛋白-C(Tenascin-C)抗體、抗 SLC44A4 抗體、抗間皮素(Mesothelin)抗體、抗 ENPP3 抗體、抗 CD47 抗體、抗 EGFR 抗體、抗 GPR20 抗體或抗 DR5 抗體；

[58]如[57]記載之抗體藥物結合物，其中抗體為抗 HER2 抗體；

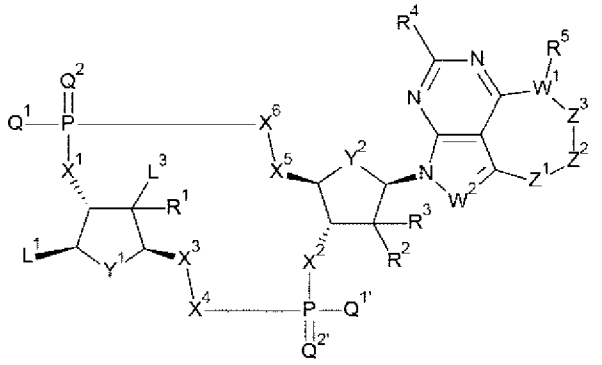
[59]如[58]記載之抗體藥物結合物，其中抗體為包含由序列識別號 1 記載之胺基酸序列所構成的輕鏈及由序列識別號 2 記載之胺基酸序列所構成的重鏈的抗體、或包含由序列識別號 1 記載之胺基酸序列所構成的輕鏈及由序列識別號 3 記載之胺基酸序列所構成的重鏈的抗體；

[60]如[58]記載之抗體藥物結合物，其中抗體為包含由序列識別號 28 記載之胺基酸序列所構成的輕鏈及由序列識別號 29 記載之胺基酸序列所構成的重鏈的抗體、或包含由序列識別號 28 記載之胺基酸序列所構成的輕鏈及由序列識別號 30 記載之胺基酸序列所構成的重鏈的抗體；

[61]如[57]記載之抗體藥物結合物，其中抗體為包含由序列識別號 31 記載之胺基酸序列所構成的輕鏈及由序列識別號 32 記載之胺基酸序列所構成的重鏈的抗體、包含由序列識別號 33 記載之胺基酸序列所構成的輕鏈及由序列識別號 34 記載之胺基酸序列所構成的重鏈的抗體、或包含由序列識別號 35 記載之胺基酸序列所構成的輕鏈及由序列識別號 36 記載之胺基酸序列所構成的重鏈的抗體；

[62]一種下式(Ia)所表示的化合物或其藥理上可容許的鹽，

【0039】

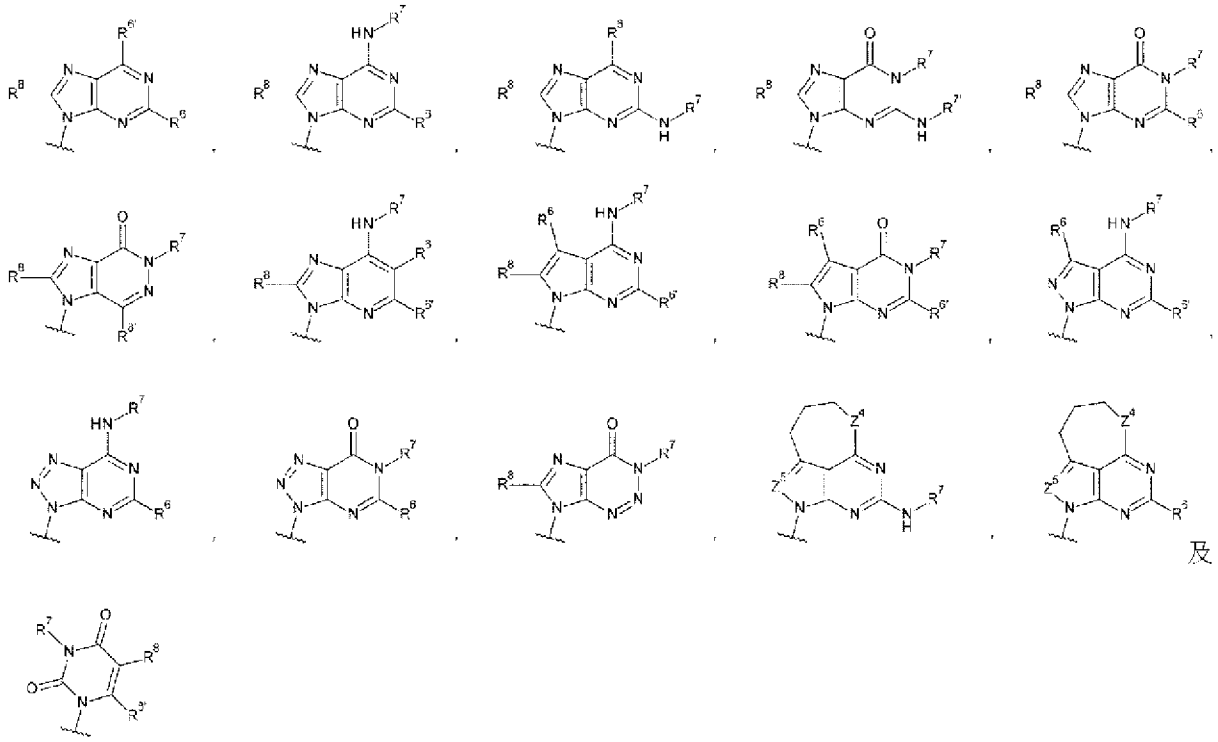


(Ia)

(其中，

L^1表示選自由下式所組成的群組的基，其可於任意之位置經選自由羥基、-NH_2、2-羥基乙醯基胺基甲基及 2-[(2-羥基乙醯基)胺基]乙基所組成的群組的 1 至 3 個之基取代：

【0040】



(其中，

R^6及$R^{6'}$各自獨立表示氫原子、鹵素原子、羥基、-NH_2、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基或 C2-C6 炔基，

R^7及$R^{7'}$各自獨立表示氫原子或 C1-C6 烷基，該 C1-C6 烷基可經選自由鹵素原子及側氧基組成的群組的 1 或 2 個之取代基取代，

R^8及$R^{8'}$各自獨立表示氫原子或鹵素原子，

Z^4表示-CH_2-、-NH-或氧原子，

Z^5表示氮原子或-CH=)，

L^3表示氫原子、鹵素原子、-NH_2、羥基C1-C3烷基或胺基C1-C3烷基，

Q^1及$Q^{1'}$各自獨立表示羥基、硫醇基或硼烷基(BH_3^-)，

Q^2及$Q^{2'}$各自獨立表示氧原子或硫原子，

X^1及X^2各自獨立表示氧原子、硫原子或-CH_2-，

Y^1及Y^2表示氧原子或-CH_2-，

X^3及X^4表示選自下述(iii)或(iv)的基：

(iii)Y^1為氧原子時，X^3-X^4表示-CH_2-O-、-CH_2-S-、-CH_2-CH_2-或-CH_2-CF_2-；或

(iv)Y^1為-CH_2-時，X^3-X^4表示-O-CH_2-，

X^5及X^6表示選自下述(v)或(vi)的基：

(v)Y^2為氧原子時，X^5-X^6表示-CH_2-O-、-CH_2-S-、-CH_2-CH_2-或-CH_2-CF_2-；或

(vi)Y^2為-CH_2-時，X^5-X^6表示-O-CH_2-，

R^1、R^2及R^3各自獨立表示氫原子、鹵素原子、-OR'、-OC(=O)R'、-N_3、-NHR'、-NR'R''或-NHC(=O)R'(其中，R'表示氫原子、C1-C6烷基、C2-C6烯基、C2-C6炔基或C3-C6環烷基，該C1-C6烷基、C2-C6烯基或C2-C6炔基可經1至6個之鹵素原子取代，R''表示C1-6烷基、C2-6烯基、C2-6炔基或C3-C6環烷基)，

W^1表示氮原子、氧原子、硫原子或-CH-，

W^2表示氮原子或-CH=，

R^4表示氫原子、鹵素原子或-NH_2，

R^5表示選自下述(vii)至(x)的基：

(vii)W^1為氮原子時，R^5表示氫原子、C1-C6烷基、羥基C1-C6烷基或胺基C1-C6烷基；

(viii)W^1為氧原子時，R^5不存在；

(ix)W^1為硫原子時，R^5不存在；或

(x)W^1為-CH-時，R^5表示氫原子、鹵素原子、羥基、$-NH_2$或C1-C6烷基，

Z^1-Z^2-Z^3係一起而表示選自以下之基：$-CH_2-CH_2-CH_2-$、$-CH_2-CH_2-R'''-$、$-CH=CH-CH_2-$、$-CH=CX-CH_2-$、$-CX=CH-CH_2-$、$-CX=CX-CH_2-$、$-C(=O)-CH_2-CH_2-$、$-CH_2-CH_2-C(=O)-$、$-CH_2-CH(CH_3)-CH_2-$或$-CH_2-CH_2-CH(CH_3)-$(其中，R'''表示-O-或$-CH_2-CH_2-$，X表示鹵素原子)或下述式之任一者所表示的基：

【0041】

(其中，星號表示與W^1結合者，波浪線表示與=C-之碳原子結合者))；

[63]如[62]記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其中W^1為氮原子；

[64]如[63]記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其中W^1為氮原子，R^5為氫原子；

[65]如[62]記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其中W^1為氧原子；

[66]如[62]記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其中W^1為硫原子；

[67]如[62]記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其中 W^1 為-CH-；

[68]如[67]記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其中 W^1 為-CH-，R^5 為氫原子；

[69]如[62]至[68]中任一項記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其中 Z^1、Z^2 及 Z^3 係一起而為-CH_2-CH_2-CH_2-或-CH=CH-CH_2-；

[70]如[62]至[68]中任一項記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其中 Z^1、Z^2 及 Z^3 係一起而為-CH_2-CH(CH_3)-CH_2-或-CH_2-CH_2-CH(CH_3)-；

[71]如[62]至[68]中任一項記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其中 Z^1、Z^2 及 Z^3 係一起而為-CH_2-CH_2-R'''-(其中，R'''表示-O-或-CH_2-CH_2-)；

[72]如[62]至[71]中任一項記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其中 W^2 為-CH=；

[73]如[62]至[71]中任一項記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其中 W^2 為氮原子；

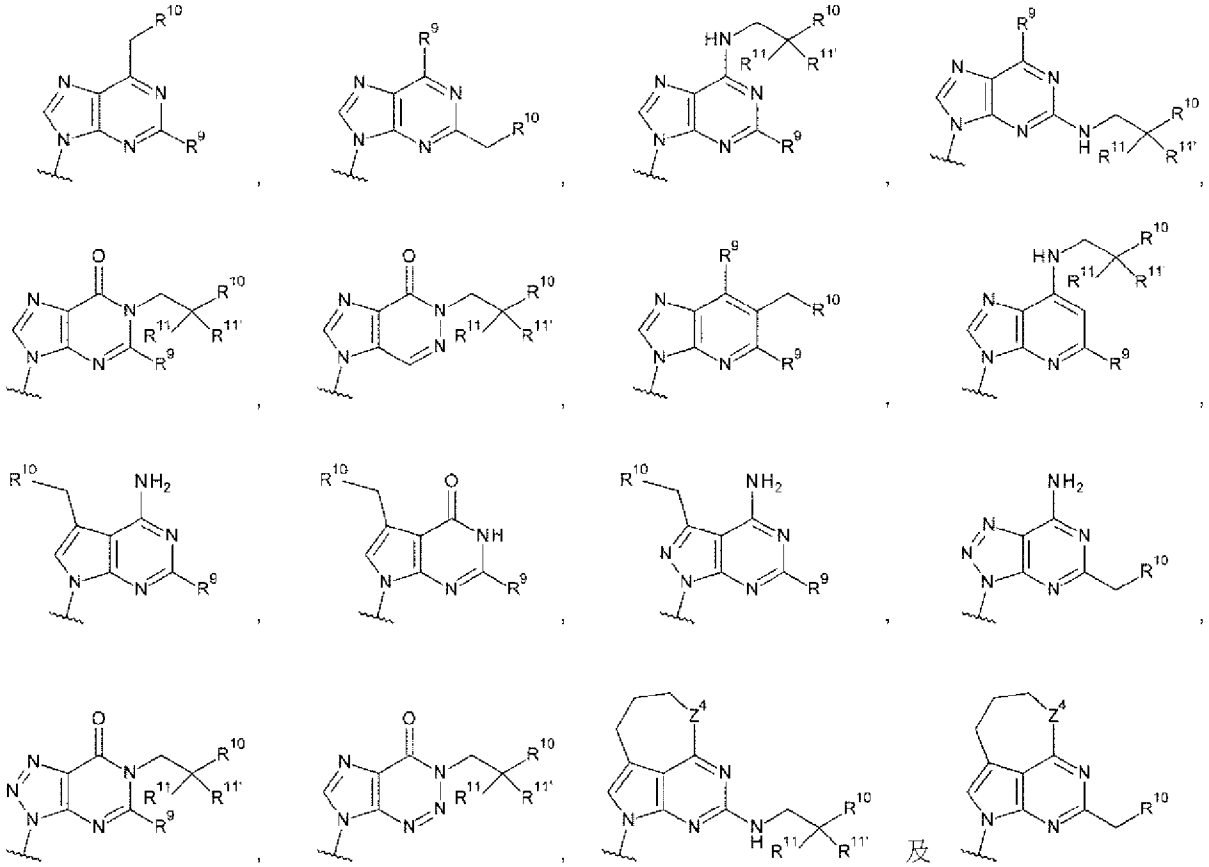
[74]如[62]至[73]中任一項記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其中 R^4 表示氫原子；

[75]如[62]至[73]中任一項記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其中 R^4 表示氟原子；

[76]如[62]至[75]中任一項記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其中 L^1 中之 R^8 及 $R^{8'}$ 各自獨立為氫原子；

[77]如[62]至[76]中任一項記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其中 L^1 為選自由下式所組成的群組的基：

【0042】



(其中，R^9及$R^{9'}$表示氫原子、鹵素原子、羥基或-NH_2，

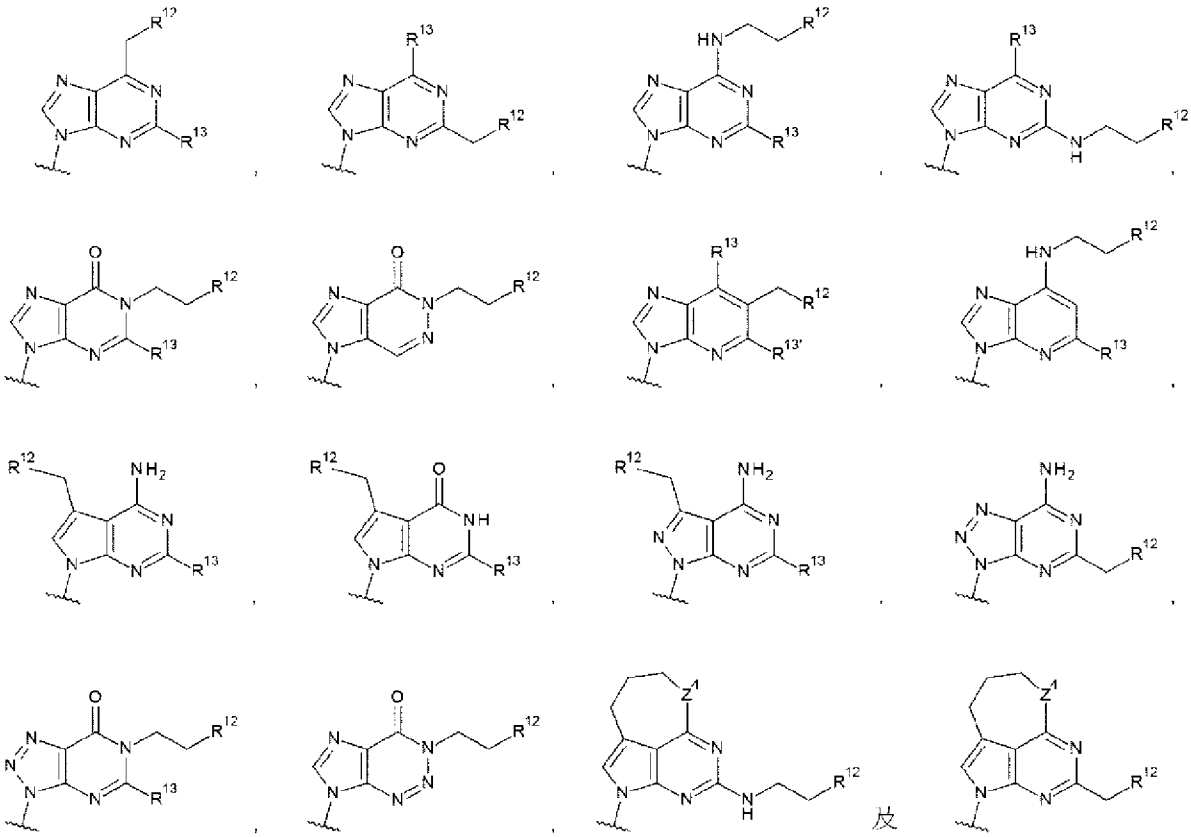
R^{10}表示羥基、-NH_2、-NHC(=O)CH_2OH、-CH_2NHC(=O)CH_2OH、-CH_2CH_2NHC(=O)CH_2OH、羥基C1-C3烷基或胺基C1-C3烷基，

R^{11}及$R^{11'}$各自獨立表示氫原子、氟原子或者甲基，或R^{11}及$R^{11'}$結合而表示環丙烷，

Z^4表示-CH_2-、-NH-或氧原子)；

[78]如[62]至[76]中任一項記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其中L^1為選自由下式所組成的群組的基：

【0043】



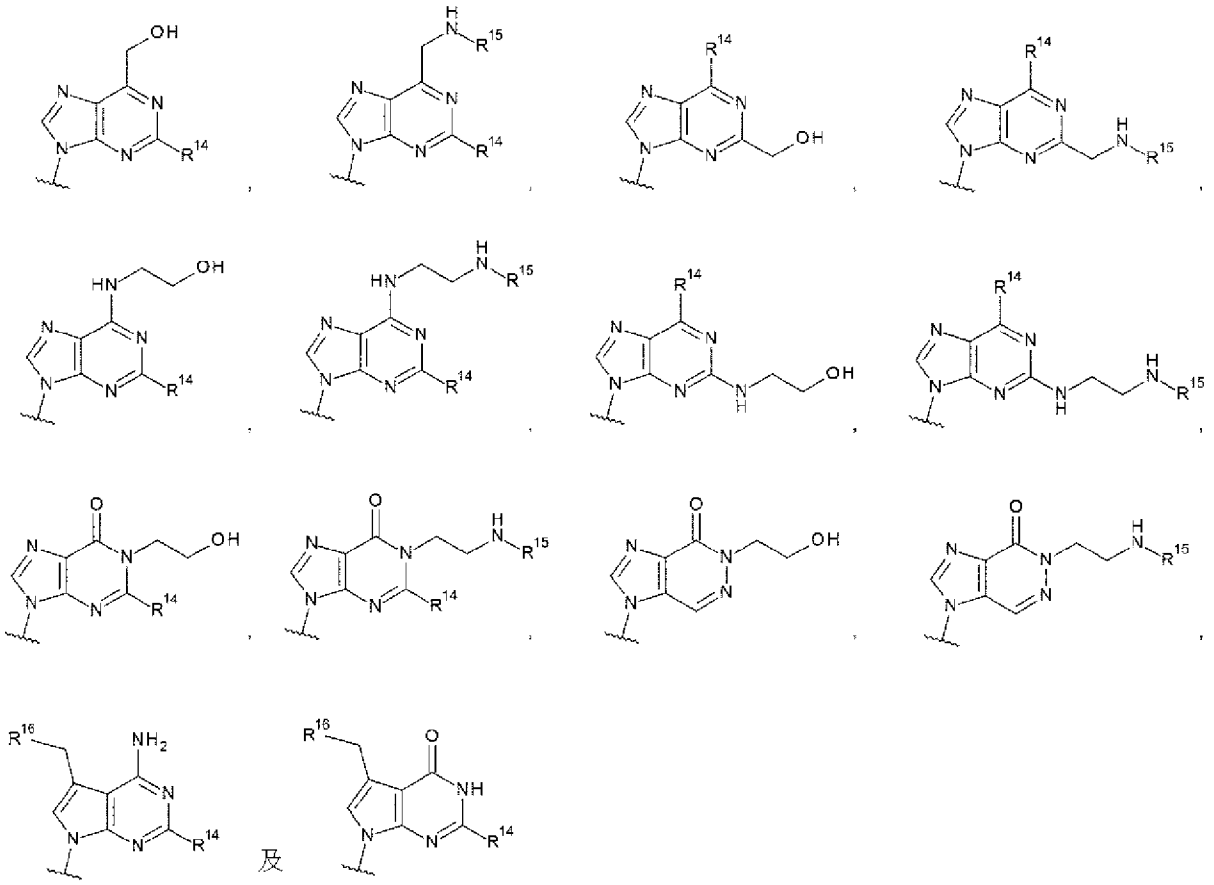
(其中，R^{13}及$R^{13'}$各自獨立表示氫原子、羥基或-NH_2，

R^{12}表示羥基、-NH_2、-CH_2OH、-$NHC(=O)CH_2OH$、-$CH_2NHC(=O)CH_2OH$或-$CH_2CH_2NHC(=O)CH_2OH$，

Z^4為如前述定義)；

[79]如[62]至[76]中任一項記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其中L^1為選自由下式所組成的群組的基：

【0044】



(其中，R^{14}表示氫原子或-NH_2，

R^{15}表示氫原子或-C(=O)CH_2OH，

R^{16}表示羥基、-NH_2、-CH_2OH、-CH_2CH_2OH、-CH_2NH_2或-$CH_2CH_2NH_2$)；

[80]如[62]至[79]中任一項記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其中 L^3 表示氫原子、氟原子、-NH_2、-CH_2OH 或-CH_2NH_2；

[81]如[62]至[80]中任一項記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其中 Q^1 及 $Q^{1'}$ 各自獨立表示羥基或硫醇基；

[82]如[62]至[81]中任一項記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其中 X^1 及 X^2 表示氧原子；

[83]如[62]至[82]中任一項記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其中 Y^1 及 Y^2 表示氧原子；

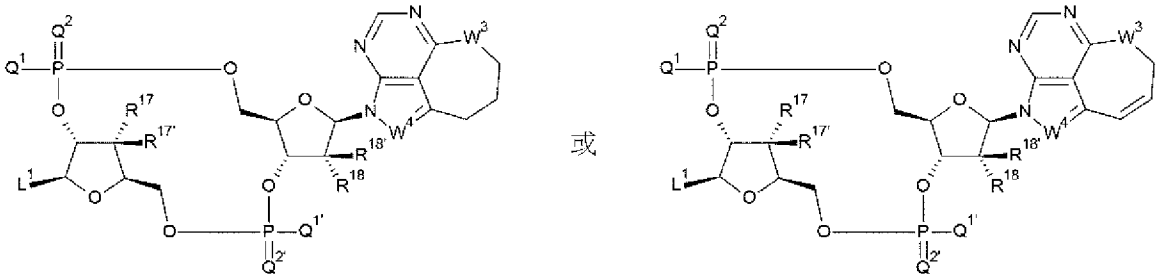
[84]如[62]至[83]中任一項記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其中 X^3 及 X^4 表示-CH_2-O-；

[85]如[62]至[84]中任一項記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其中 X^5 及 X^6 表示-CH_2-O-；

[86]如[62]至[85]中任一項記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其中 R^1、R^2 及 R^3 各自獨立為氫原子、羥基或氟原子；

[87]如[62]至[86]中任一項記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其以下列之 2 式的任一者表示：

【0045】



(其中，L^1、Q^1、$Q^{1'}$、Q^2 及 $Q^{2'}$ 為如前述定義，

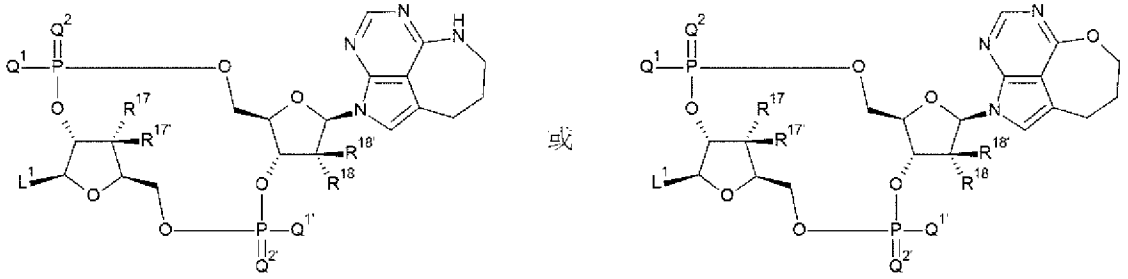
R^{17}、$R^{17'}$、R^{18} 及 $R^{18'}$ 各自獨立表示氫原子、鹵素原子、羥基或-NH_2，

W^3 表示-NH-、氧原子、硫原子或-CH_2-，

W^4 表示-CH=或氮原子)；

[88]如[87]記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其以下列之 2 式的任一者表示：

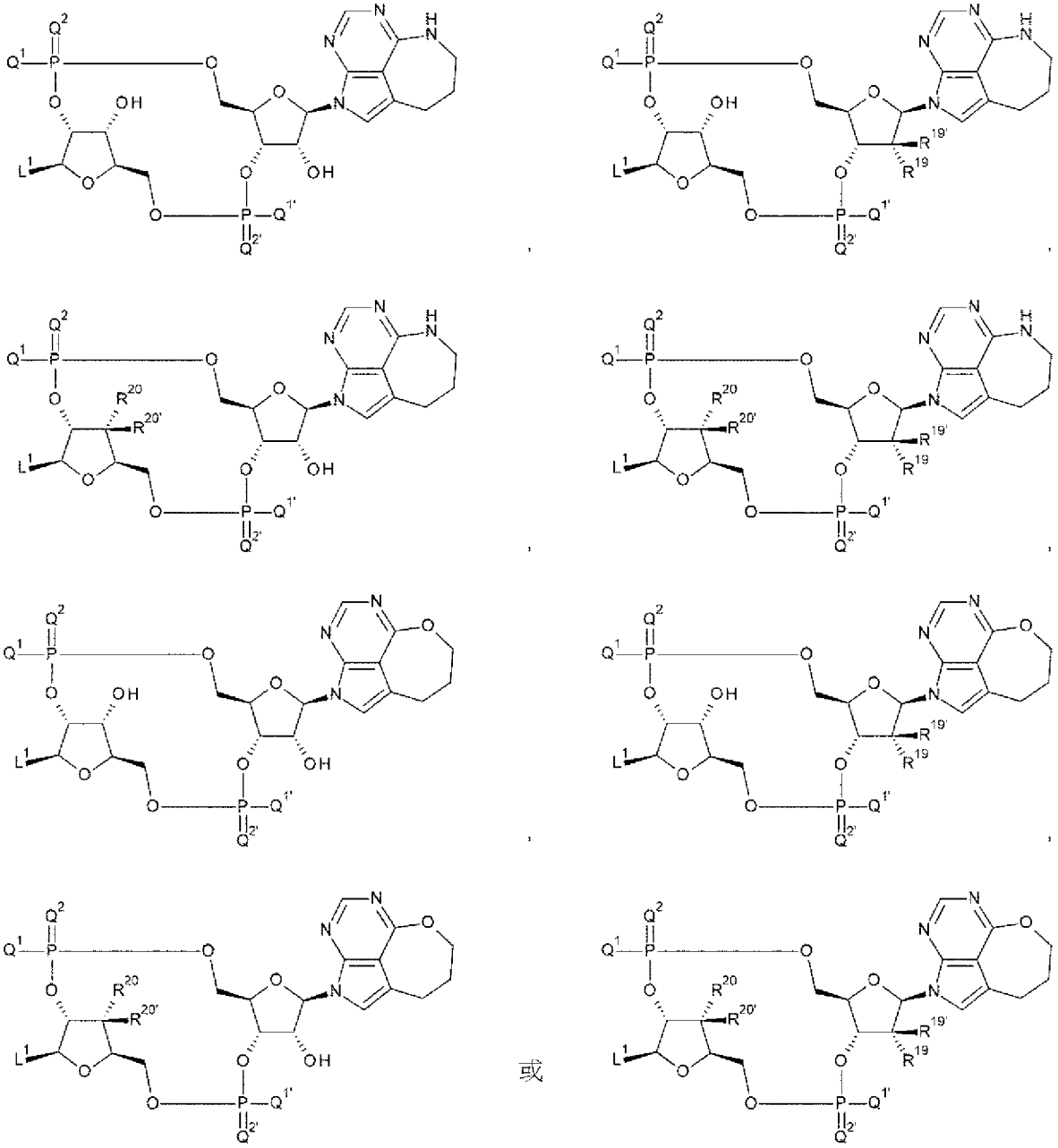
【0046】



其中，L^1、Q^1、$Q^{1'}$、Q^2、$Q^{2'}$、R^{17}、$R^{17'}$、R^{18}及$R^{18'}$為如前述定義)；

[89]如[87]或[88]記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其以下列之 8 式的任一者表示：

【0047】



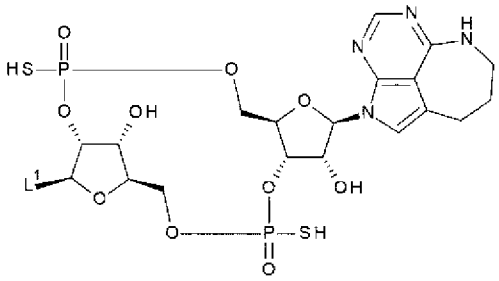
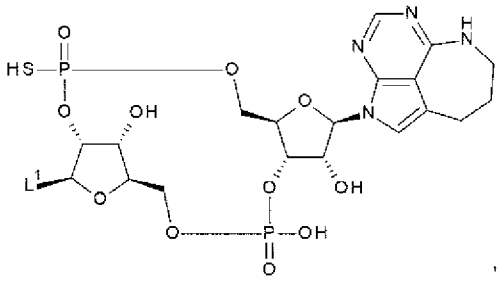
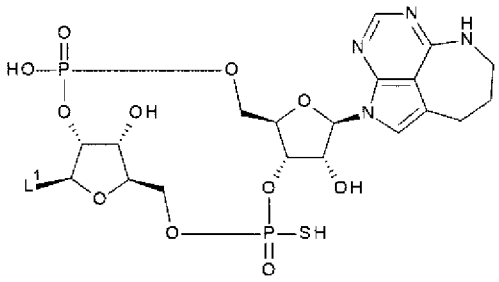
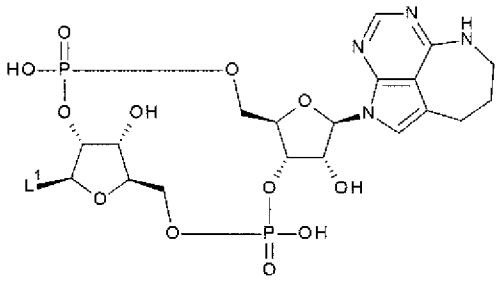
或

(其中，L^1、Q^1、$Q^{1'}$、Q^2及$Q^{2'}$為如前述定義，

R^{19}、$R^{19'}$、R^{20}及$R^{20'}$各自獨立表示氫原子或氟原子)；

[90]如[87]至[89]中任一項記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其以下列之4式的任一者表示：

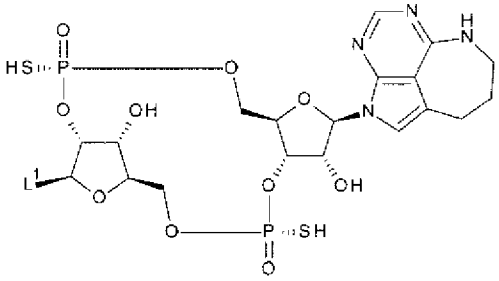
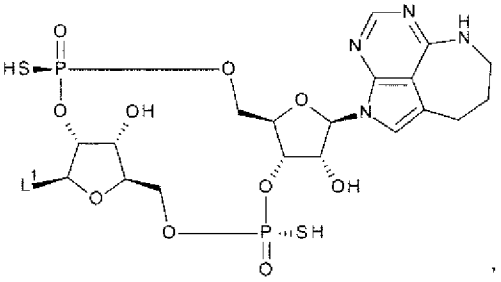
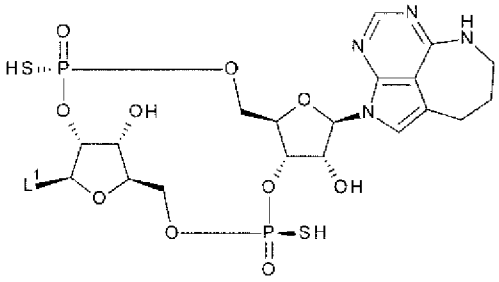
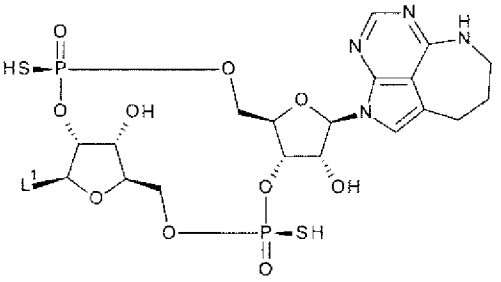
【0048】


、

、

或


(其中，L^1為如前述定義)；

[91]如[87]至[90]中任一項記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其以下列之4式的任一者表示：

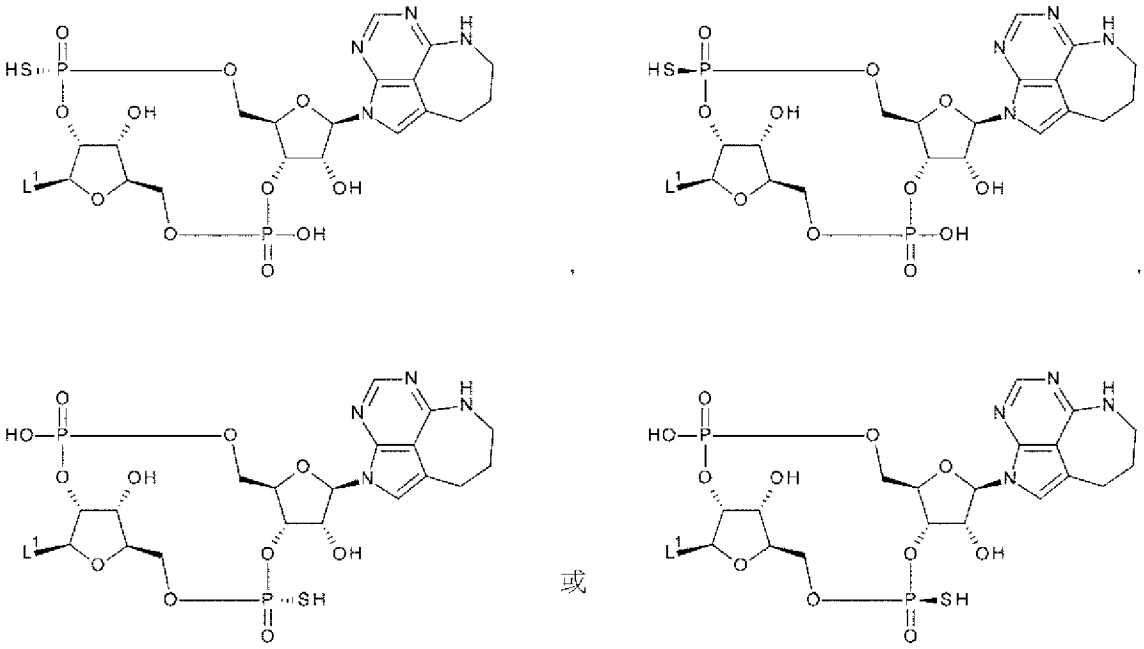
【0049】


、

、

或


(其中，L^1為如前述定義)；

[92]如[87]至[90]中任一項記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其以下列之4式的任一者表示：

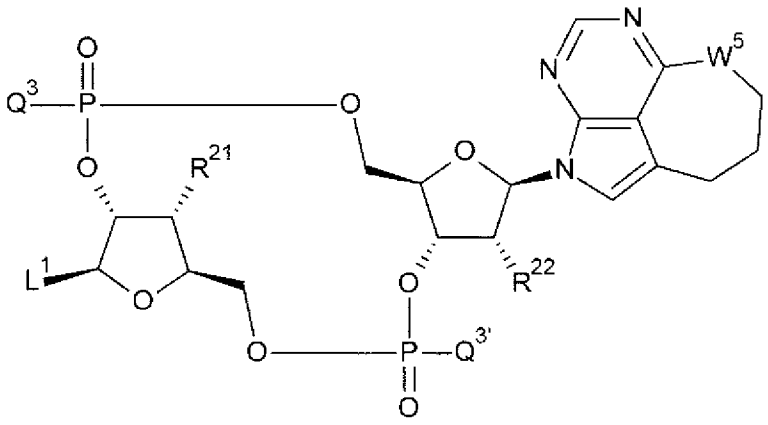
【0050】



(其中，L^1為如前述定義)；

[93]如[62]至[86]中任一項記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其以下式所示：

【0051】



(其中，L^1為如前述定義，

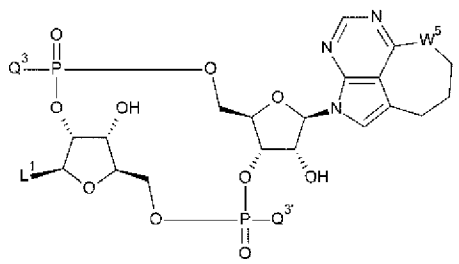
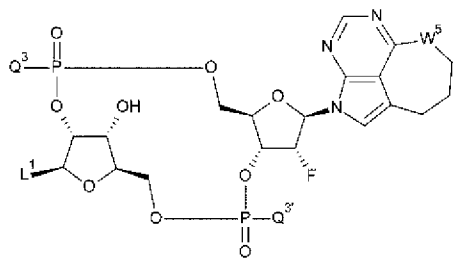
Q^3及$Q^{3'}$各自獨立表示羥基或硫醇基，

R^{21}及R^{22}各自獨立表示羥基或氟原子，

W^5表示-NH-或硫原子)；

[94]如[93]記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其以下列之2式的任一者表示：

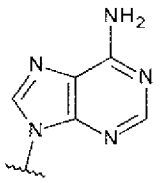
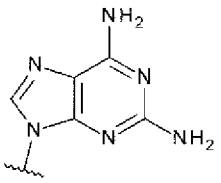
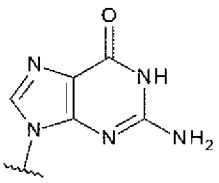
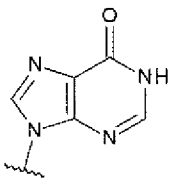
【0052】


或


(其中，L^1、Q^3及$Q^{3'}$、W^5為如前述定義)；

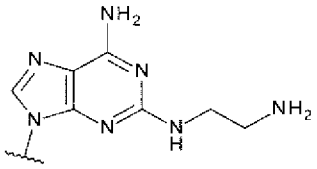
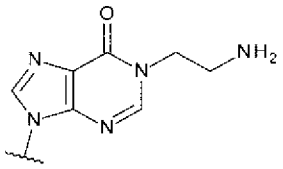
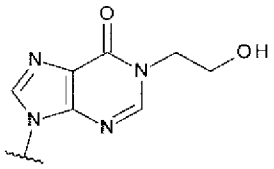
[95]如[62]至[94]中任一項記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其中L^1為以下列之任一者所表示者：

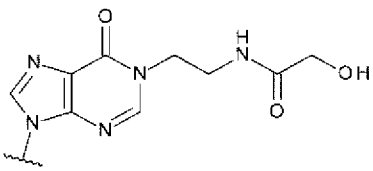
【0053】


、

、

或

；

[96]如[62]至[94]中任一項記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其中L^1為以下列之4式的任一者所表示者：

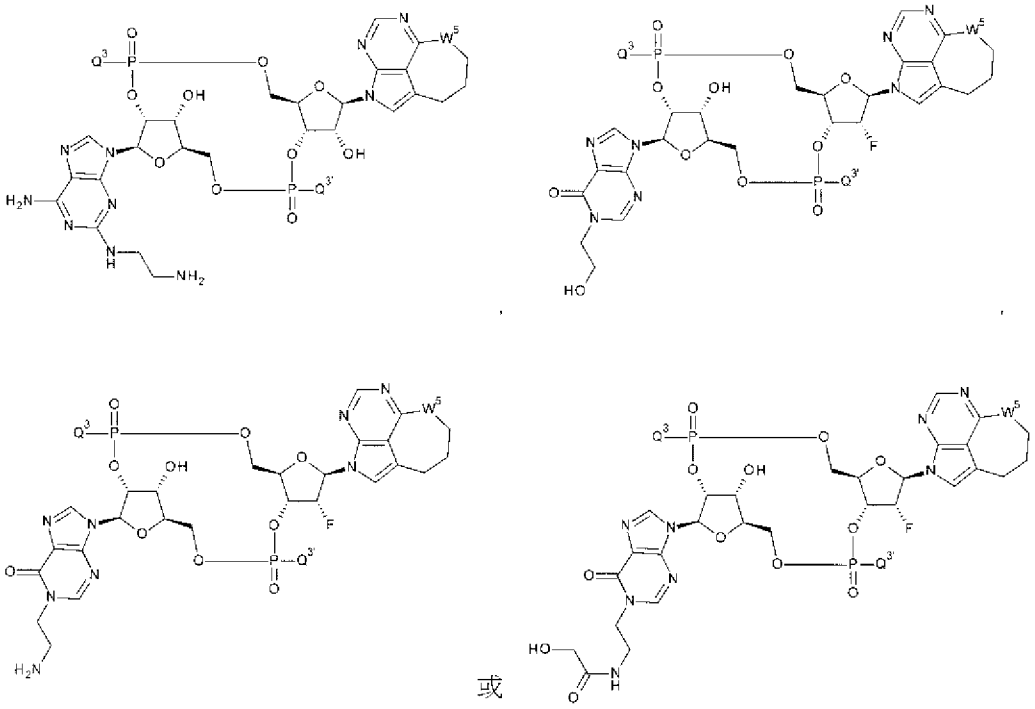
【0054】


、

、



或
；

[97]如[93]、[94]或[96]中任一項記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其中 D 為以下列之 4 式的任一者所表示者：

【0055】

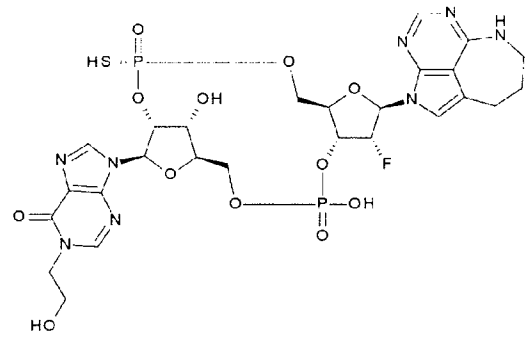


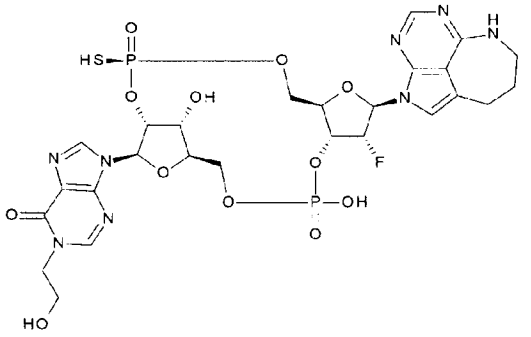
或

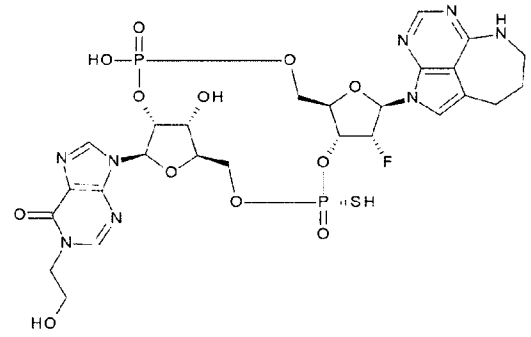
(其中，Q^3、$Q^{3'}$及 W^5 為如前述定義)；

[98]如[93]、[94]、[96]或[97]中任一項記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其中 D 為以下列之 4 式的任一者所表示者：

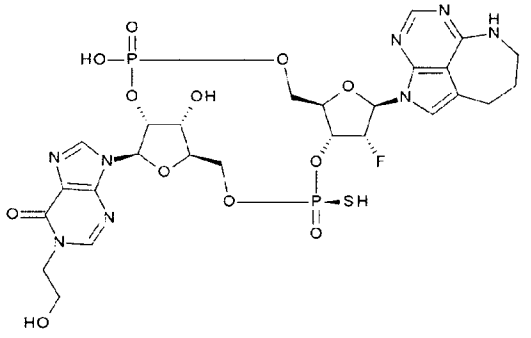
【0056】







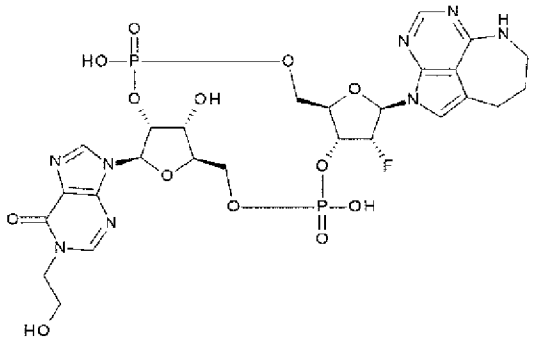
或

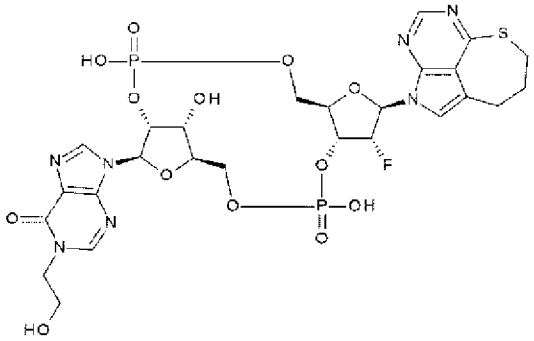


；

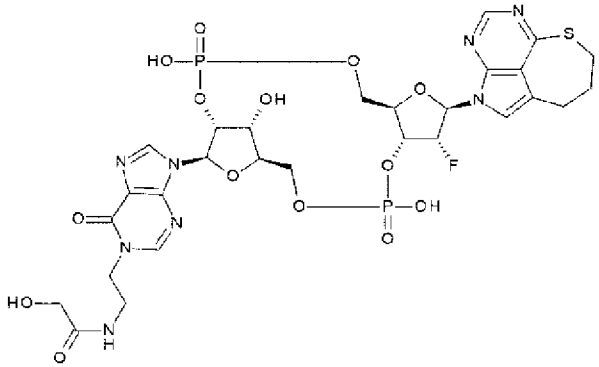
[99]如[93]、[94]、[96]或[97]中任一項記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其中 D 為以下列之 3 式的任一者所表示者：

【0057】





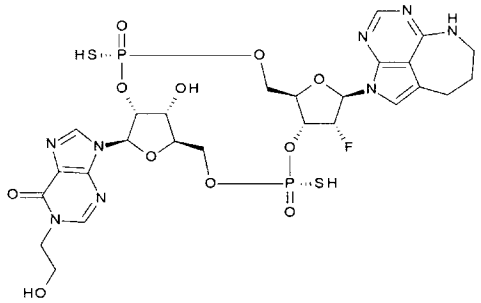
或

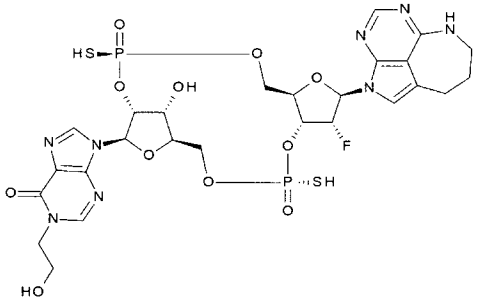


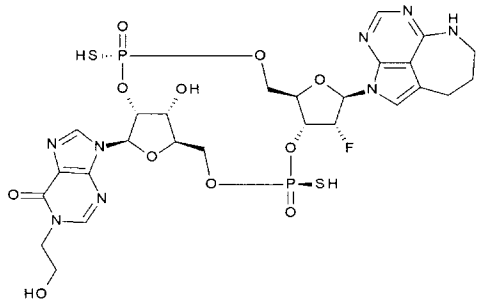
；

[100]如[93]、[94]、[96]或[97]中任一項記載之化合物或其藥理上可容許的鹽，其中 D 為以下列之 4 式的任一者所表示者：

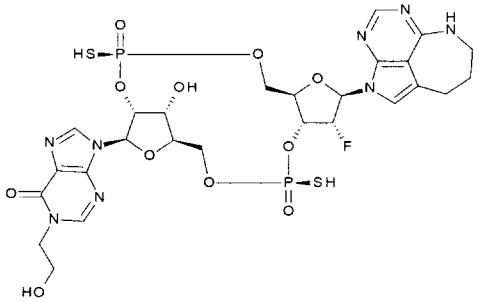
【0058】







或



；

[101]一種 STING 促效劑，其含有選自包含如[1]至[61]記載之抗體藥物結合物及如[62]至[100]記載之化合物或其藥理上可容許的鹽的群組之任一者；

[102]一種醫藥組成物，其含有選自包含如[1]至[61]記載之抗體藥物結合物及如[62]至[100]記載之化合物或其藥理上可容許的鹽的群組之任一者；

[103]一種抗腫瘤劑，其含有選自包含如[1]至[61]記載之抗體藥物結合物及如[62]至[100]記載之化合物或其藥理上可容許的鹽的群組之任一者；

[104]如[103]記載之抗腫瘤劑，其中腫瘤為肺癌、腎癌、尿道上皮癌、大腸癌、前列腺癌、多形性神經膠質母細胞瘤(glioblastoma multiforme)、卵巢癌、胰癌、乳癌、黑色素瘤、

肝癌、膀胱癌、胃癌、食道癌、子宮體癌、睪丸癌、子宮頸癌、胎盤絨毛癌、腦腫瘤、頭頸部癌、甲狀腺癌、間皮瘤(mesothelioma)、消化道間質腫瘤(GIST)、膽囊癌、膽管癌、腎上腺癌、鱗狀細胞癌(squamous cell carcinoma)、白血病、惡性淋巴瘤、漿細胞瘤(plasmacytoma)、骨髓瘤或肉瘤；

[105]一種癌症之治療方法，其包含投予選自包含如[1]至[61]記載之抗體藥物結合物、如[62]至[100]記載之化合物或其藥理上可容許的鹽、如[101]記載之 STING 促效劑、如[102]記載之醫藥組成物、及如[103]或[104]記載之抗腫瘤劑的群組之任一者；

[106]如[105]記載之方法，其中癌症為肺癌、腎癌、尿道上皮癌、大腸癌、前列腺癌、多形性神經膠質母細胞瘤、卵巢癌、胰癌、乳癌、黑色素瘤、肝癌、膀胱癌、胃癌、食道癌、子宮體癌、睪丸癌、子宮頸癌、胎盤絨毛癌、多形性神經膠質母細胞瘤、腦腫瘤、頭頸部癌、甲狀腺癌、間皮瘤、消化道間質腫瘤(GIST)、膽囊癌、膽管癌、腎上腺癌、鱗狀細胞癌、白血病、惡性淋巴瘤、漿細胞瘤、骨髓瘤或肉瘤。

[發明之效果]

【0059】依據本發明，而可提供新穎 CDN 衍生物。本發明之新穎 CDN 衍生物具有強的 STING 促效劑活性，且顯示高的抗腫瘤活性。又，依據本發明，而可提供可全身投予，且於表現抗原的腫瘤顯示抗腫瘤效果之新穎抗體 CDN 衍生物結合物。

【圖式簡單說明】

【0060】

圖 1 為示意地表示了為本發明之藥物結合體((II)之分子)之

自 SG 型糖鏈重塑抗體獲得的藥物結合體(圖 1 之 A 的(II)之分子)及自 MSG 型糖鏈重塑抗體獲得的藥物結合體(圖 1 之 B 的(II)之分子)者。各自(a)表示藥物 D、(b)表示連接子 L、(c)表示 PEG 連接子(L(PEG))、(d)表示 N297 糖鏈(其中，白色的圓形為 NeuAc(Sia)、白色的六角形為 Man、黑色的六角形為 GlcNAc、白色的菱形為 Gal、及白色的倒三角形為 Fuc)。白色的五角形表示源自連接子 L 的炔烴與源自 PEG 連接子的疊氮基反應而生成的三唑環。Y 字型表示抗體 Ab。PEG 連接子係與位於非還原末端的唾液酸之第 2 位的羧基介隔醯胺鍵而連結。只要未特別提起，此種表示方法於本說明書全部皆適用。

圖 2 呈示為本發明之藥物結合體之製造中間體的(Fucα1，6)GlcNAc-抗體(圖 2 之 A 的(III)之分子)、SG 型糖鏈重塑抗體(圖 2 之 B 的(IV)之分子)、及 MSG 型糖鏈重塑抗體(圖 2 之 C 的(IV)之分子)之結構的示意圖。於全部之圖，Y 字型與圖 1 同樣地表示抗體 Ab。於圖 2 之 A，(e)表示於 Fuc 之第 1 位與 GlcNAc 之第 6 位由 α 醣苷鍵結的雙糖所構成的 N297 糖鏈。於圖 2 之 B 及 C，(d)表示與圖 1 相同的 N297 糖鏈，(f)為具有疊氮基的 PEG 連接子，表示於末端提供給與連接子 L 之結合的疊氮基。具有疊氮基的 PEG 連接子之結合樣式係與圖 1 之 PEG 連接子相同。

圖 3 為自於動物細胞產生的抗體製造 SG 型糖鏈重塑抗體及 MSG 型糖鏈重塑抗體的步驟的模式圖。圖中之分子(III)及(IV)與圖 2 同樣地，各自表示(Fucα1，6)GlcNAc-抗體及 SG 型糖鏈重塑抗體或 MSG 型糖鏈重塑抗體。(V)之分子係於動物細胞中產生的抗體，為 N297 糖鏈不均一分子的混合物。圖 3A 表示將

(V)之不均一 N297 糖鏈以如 EndoS 的水解酵素處理，而製作均一的(Fucα1，6)GlcNAc-抗體(III)的步驟。圖 3B 表示對於抗體(III)之 N297 糖鏈之 GlcNAc，使用如 EndoS D233Q/Q303L 變異體的醣基轉移酵素(glycosyltransferase)，藉由使 SG 型糖鏈供體分子糖鏈轉移，而製作(IV)之 SG 型糖鏈重塑抗體的步驟。圖 3C 與圖 3B 同樣地，表示對於抗體(III)，藉由將 MSG 型糖鏈供體分子作糖鏈轉移，而製作(IV)之 MSG 型糖鏈重塑抗體的步驟。其中所使用的 SG 型糖鏈供體分子及 MSG 型糖鏈供體分子為各自之非還原末端的唾液酸經具有疊氮基的 PEG 連接子修飾者，於製作的 SG 型 N297 糖鏈重塑抗體及 MSG 型 N297 糖鏈重塑抗體，亦如圖 2 之 B 及 C 所示，為非還原末端的唾液酸受到相同修飾者。

圖 4 呈示曲妥珠單抗(trastuzumab)之輕鏈之胺基酸序列(序列識別號 1)及重鏈之胺基酸序列(序列識別號 2)。

圖 5 呈示改造(engineered)抗 HER2 抗體之輕鏈之胺基酸序列(序列識別號 1)及重鏈之胺基酸序列(序列識別號 3)。

圖 6(a)呈示人類 STING 野生型之胺基酸序列、(b)呈示人類 STING REF 變異型(R232H)之胺基酸序列、及(c)呈示人類 STING HAQ 變異體(R71H，G230A，R293Q)之胺基酸序列。

圖 7 顯示藉由 CDN 衍生物之腫瘤內投予的抗腫瘤效果。圖中之黑方形線表示載劑組，白方形線表示化合物編號 6a 投予組，白倒三角線表示化合物編號 8b 投予組，白圓形線表示化合物編號 9b 投予組。縱軸表示腫瘤體積(mm^3)，橫軸表示腫瘤移植後之日數。

圖 8 顯示藉由抗 HER2 抗體-CDN 結合物(1)及抗 LPS 抗體

-CDN 結合物(1)之靜脈內投予的抗腫瘤效果。圖中之黑方形線表示載劑組，白三角線表示使於參考例 1 所製作的改造抗 HER2 抗體與實施例 8b 之化合物結合而成的抗 HER2 抗體-CDN 結合物(1)投予組，黑三角線表示於參考例 2 製作的改造抗 LPS 抗體，相同地與實施例 8b 之化合物結合而成的抗 LPS 抗體-CDN 結合物(1)投予組。縱軸表示腫瘤體積(mm^3)，橫軸表示腫瘤移植後之日數。

圖 9 顯示藉由抗 HER2 抗體-CDN 結合物(2)及(3)之靜脈內投予的抗腫瘤效果。圖中之黑方形線表示載劑組，白方形線表示抗 HER2 抗體-CDN 結合物(2)投予組，白三角線表示抗 HER2 抗體-CDN 結合物(3)投予組。縱軸表示腫瘤體積(mm^3)，橫軸表示腫瘤移植後之日數。

圖 10 顯示藉由抗 HER2 抗體-CDN 結合物(19)之靜脈內投予的抗腫瘤效果。圖中之黑方形線表示載劑組，白三角線表示抗 HER2 抗體-CDN 結合物(19)投予組。抗 HER2 抗體-CDN 結合物(19)為藥物連接子以半胱胺酸結合(conjugation)與抗體結合。縱軸表示腫瘤體積(mm^3)，橫軸表示腫瘤移植後之日數。

圖 11 顯示藉由抗 HER2 抗體-CDN 結合物(1)及(9)～(12)之靜脈內投予的抗腫瘤效果。圖中之黑方形線表示載劑組，白三角線表示抗 HER2 抗體-CDN 結合物(9)投予組，白倒三角線表示抗 HER2 抗體-CDN 結合物(10)投予組，白菱形線表示抗 HER2 抗體-CDN 結合物(11)投予組，白圓形線表示抗 HER2 抗體-CDN 結合物(12)投予組，白方形線表示抗 HER2 抗體-CDN 結合物(1)投予組。抗 HER2 抗體-CDN 結合物(9)、(10)、(11)、(12)、(1)各自以不同連接子結合實施例 8b 之化合物。縱軸表示

腫瘤體積(mm^3)，橫軸表示腫瘤移植後之日數。

圖 12 顯示藉由抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物(1)、抗 HER2 抗體 2 及化合物編號 8b 之靜脈內投予的抗腫瘤效果。圖中之黑方形線表示載劑組，白三角線表示抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物(1)之 60μg 投予組，黑倒三角線表示抗 HER2 抗體 2 之 59μg 投予組，黑圓形線表示化合物編號 8b 之 1.2μg 投予組。抗 HER2 抗體 2 及化合物編號 8b 之投予量為構成抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物(1)的各成分之當量。縱軸表示腫瘤體積(mm^3)，橫軸表示腫瘤移植後之日數。

圖 13(a)顯示藉由抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物(2)及(3)之靜脈內投予的抗腫瘤效果。(b)顯示藉由抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物(4)、(5)、(7)及(8)之靜脈內投予的抗腫瘤效果。(c)顯示藉由抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物(6)之靜脈內投予的抗腫瘤效果。圖中之黑方形線表示載劑組，各白符號線表示經評價的各抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物(2)～(8)投予組。縱軸表示腫瘤體積(mm^3)，橫軸表示腫瘤移植後之日數。

圖 14 顯示藉由抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物(9)及(10)之靜脈內投予的抗腫瘤效果。圖中之黑方形線表示載劑組，白三角線表示抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物(9)投予組，白圓形線表示抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物(10)投予組。抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物(9)、(10)係使用了藥物平均結合數為約 2 之 MSG 型糖鏈重塑抗體的抗體-CDN 結合物。縱軸表示腫瘤體積(mm^3)，橫軸表示腫瘤移植後之日數。

圖 15 顯示藉由抗 EphA2 抗體及抗 EphA2 抗體-CDN 結合

物(1)之靜脈內投予的抗腫瘤效果。圖中之黑方形線表示載劑組，白圓形線表示抗 EphA2 抗體投予組，白三角線表示抗 EphA2 抗體-CDN 結合物(1)投予組。縱軸表示腫瘤體積(mm^3)，橫軸表示腫瘤移植後之日數。

圖 16 顯示藉由抗 CD33 抗體及抗 CD33 抗體-CDN 結合物(1)之靜脈內投予的抗腫瘤效果。圖中之黑方形線表示載劑組，白圓形線表示抗 CD33 抗體投予組，白三角線表示抗 CD33 抗體-CDN 結合物(1)投予組。縱軸表示腫瘤體積(mm^3)，橫軸表示腫瘤移植後之日數。

圖 17 呈示帕妥珠單抗(pertuzumab)之輕鏈之胺基酸序列(序列識別號 28)及重鏈之胺基酸序列(序列識別號 29)。

圖 18 呈示改造抗 HER2 抗體 2 之輕鏈之胺基酸序列(序列識別號 28)及重鏈之胺基酸序列(序列識別號 30)。

圖 19 呈示抗 CD33 抗體之輕鏈之胺基酸序列(序列識別號 31)及重鏈之胺基酸序列(序列識別號 32)。

圖 20 呈示抗 EphA2 抗體之輕鏈之胺基酸序列(序列識別號 33)及重鏈之胺基酸序列(序列識別號 34)。

圖 21 呈示抗 CDH6 抗體之輕鏈之胺基酸序列(序列識別號 35)及重鏈之胺基酸序列(序列識別號 36)。

圖 22 顯示藉由抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物(11)及(12)之靜脈內投予的抗腫瘤效果。圖中之黑方形線表示載劑組，白三角線表示抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物(11)投予組，白圓形線表示抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物(12)投予組。

【實施方式】

[用以實施發明之形態]

【0061】本發明係關於具有 STING 促效劑活性的新穎 CDN 衍生物及其抗體藥物結合物、以及此等之用途。本發明之新穎 CDN 衍生物具有 STING 促效劑活性，使免疫細胞賦活化而誘導干擾素或細胞介素之產生。又，本發明之新穎 CDN 衍生物係藉由該免疫細胞的賦活化而發揮抗腫瘤效果。新穎 CDN 衍生物可被直接投予至欲使免疫功能賦活化之目的的組織，或者，可介隔任意之連接子而與辨識且可結合標的細胞(例如，腫瘤細胞或免疫細胞)的抗體連結，而被全身投予。

【0062】STING(干擾素基因刺激蛋白(Stimulator of Interferon Genes))係指位於內質網的跨膜型之轉接蛋白。已知於 STING，高頻率存有先天的多型(PLoS One、2013 Oct、21、8(10)、e77846)。就 STING 變異型而言，已知例如，第 232 號之胺基酸由精胺酸(R)變異成組胺酸(H)的 R232H 變異、第 71 號之精胺酸(R)變異成組胺酸(H)、第 230 號之甘胺酸(G)變異成丙胺酸(A)、第 293 號之精胺酸(R)變異成麩醯胺酸(Q)的 HAQ 變異。已知於此種 STING 之多型，係於藉由 STING 促效劑刺激而被誘導的細胞介素產生量等之反應的強度上有差異(Genes and Immunity、2011、12、263-269)。因此，為了於人類安定地 STING 促效劑發揮作用，而期望對各 STING 的型具有活性者。

【0063】於本說明書，「癌症」、「癌」及「腫瘤」以相同意義使用。

【0064】於本發明，「免疫賦活化活性」係指以任何形態而引

起單核球、巨噬細胞、樹狀細胞、T 細胞、B 細胞、NK 細胞、嗜中性球等之參與抗腫瘤免疫的免疫細胞的活性化，係指引起例如細胞介素及趨化介素的產生、免疫活性化標記的表現上升、免疫抑制性標記的表現降低、細胞內訊息傳導系統的磷酸化等之變化、基因表現的變化等所有的免疫細胞的結構或功能上的變化。又，亦包含引起腫瘤細胞誘導抗腫瘤免疫的變化，例如指使免疫細胞賦活化或誘導游走之細胞介素及趨化介素之產生、誘導對免疫細胞的感受性亢進等。

【0065】於本發明，「抗腫瘤效果」係指藉由利用藥物來對腫瘤細胞直接或間接地影響，而誘導腫瘤的減少或退縮。係將藉由例如，藥物直接對腫瘤細胞給予傷害、腫瘤細胞因藥物的刺激而賦活化抗腫瘤免疫、被送達至腫瘤細胞的藥物往細胞外被釋放等而腫瘤細胞周邊的抗腫瘤免疫賦活化等，而引起腫瘤細胞數的減少及傷害、或腫瘤的退縮，稱為抗腫瘤效果。

【0066】於本發明，「細胞毒性活性」係指以任何形性而於細胞引起病理的變化，不僅是指直接的外傷，亦指引起 DNA 的切斷或鹼基的二聚體形成、染色體的切斷、細胞分裂裝置的損傷、各種酵素活性的降低下等所有的細胞的結構或功能上的損傷。

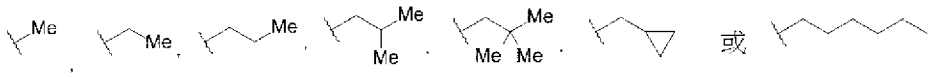
【0067】於本發明，「細胞」亦包含動物個體內之細胞、培養細胞。

【0068】於本說明書，「鹵素原子」係意指氟原子、氯原子、溴原子、碘原子。

【0069】於本說明書，「C1-C6 烷基」係意指碳數 1~6 之直鏈或分支鏈之烷基。「C1-C6 烷基」係總碳數不超過 6 即可，於烷基上可具有環丙烷。就「C1-C6 烷基」而言，可列舉例如，以

下之結構：

【0070】



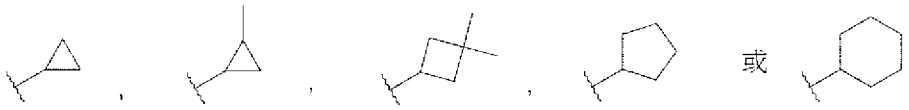
(波浪線表示取代位置)，但未被限定於此等例。

【0071】於本說明書，「C2-C6 烯基」係意指碳數 2~6 之直鏈或分支鏈之烯基。

【0072】於本說明書，「C2-C6 炔基」係意指碳數 2~6 之直鏈、分支鏈之炔基。

【0073】於本說明書，「C3-C6 環烷基」係意指碳數 3~6 之飽和環狀烴基。「C3-C6 環烷基」係總碳數不超過 6 即可，可經複數之烷基取代。就「C3-C6 環烷基」而言，可列舉例如，以下之結構：

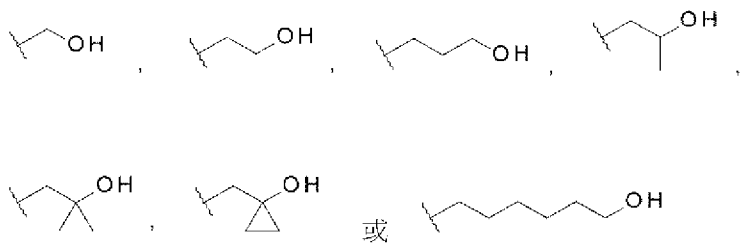
【0074】



(波浪線表示取代位置)，但未被限定於此等例。

【0075】於本說明書，「羥基 C1-C6 烷基」係意指碳數 1~6 之直鏈、分支鏈之烷基的任意位置上有 1 或 2 個之羥基取代的烷基。「羥基 C1-C6 烷基」係只要總碳數不超過 6 即可，於烷基上可具有環丙烷。就「羥基 C1-C6 烷基」而言，可列舉例如，以下之結構：

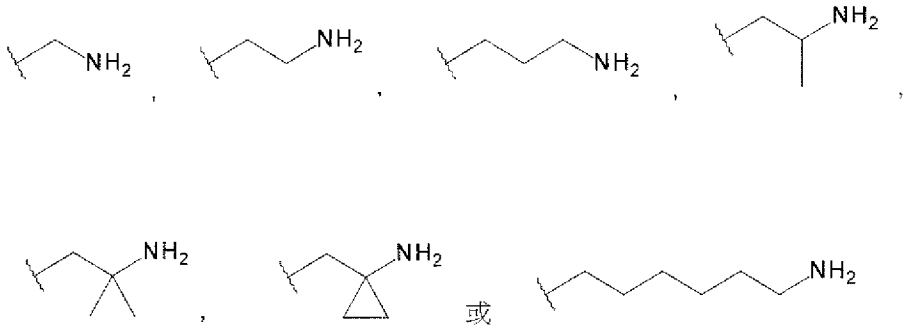
【0076】



(波浪線表示取代位置)，但未被限定於此等例。

【0077】於本發明，「胺基 C1-C6 烷基」係意指於碳數 1~6 之直鏈或分支鏈之烷基之任意位置上有 1 或 2 個之胺基取代的烷基。「胺基 C1-C6 烷基」係只要總碳數不超過 6 即可，於烷基上可具有環丙烷。作為「胺基 C1-C6 烷基」，可列舉例如，以下之結構：

【0078】



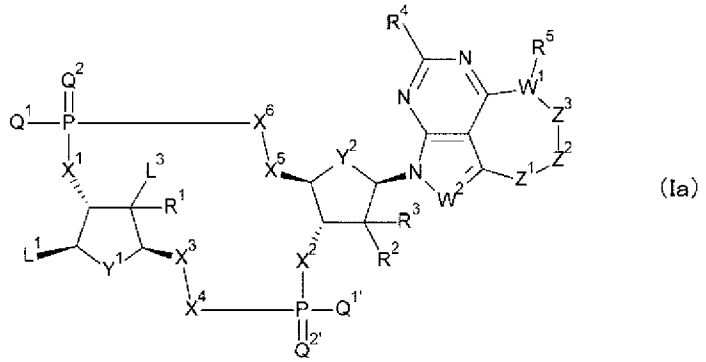
(波浪線表示取代位置)，但未被限定於此等例。

【0079】

＜1.新穎 CDN 衍生物＞

本發明之新穎 CDN 衍生物係具有下式(Ia)所示的結構：

【0080】

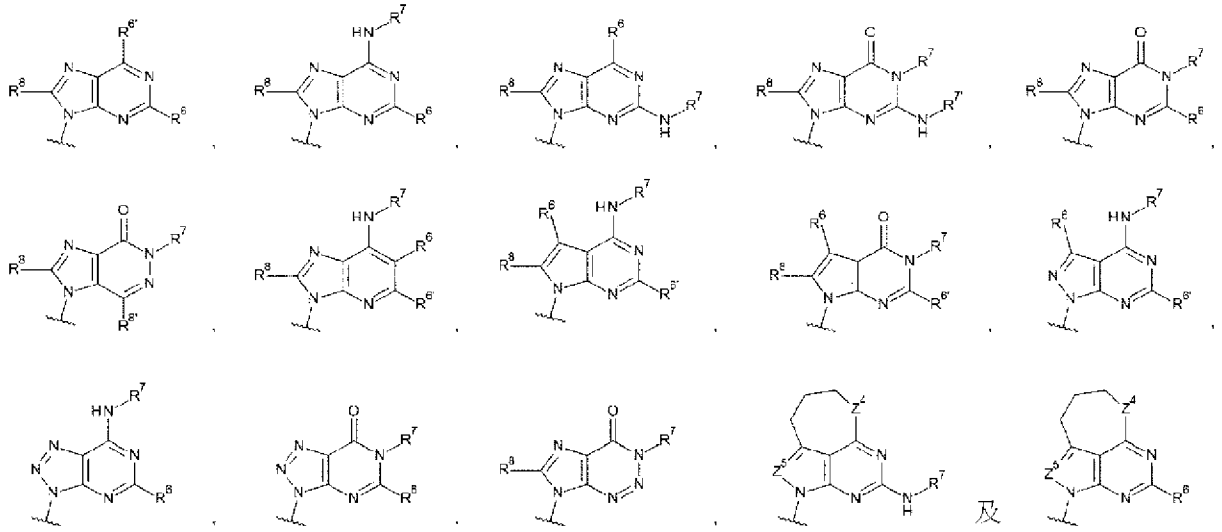


(Ia)

。

【0081】L^1係表示選自由下式所組成的群組的基，其可於任意之位置經選自由羥基、-NH_2、2-羥基乙醯基胺基甲基及 2-[(2-羥基乙醯基)胺基]乙基所組成的群組的 1~3 個之基取代：

【0082】



(其中，

R^6及$R^{6'}$各自獨立表示氫原子、鹵素原子、羥基、-NH_2、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基或 C2-C6 炔基，

R^7及$R^{7'}$各自獨立表示氫原子或 C1-C6 烷基，該 C1-C6 烷基可經選自由鹵素原子及側氧基所組成的群組的 1 或 2 個之取代基取代，

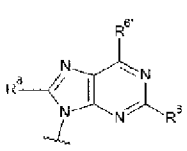
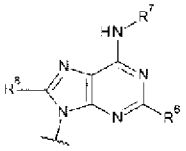
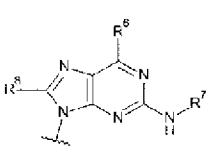
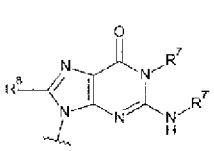
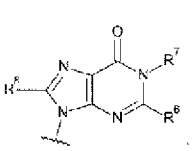
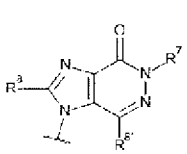
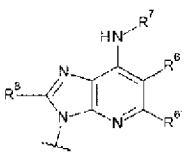
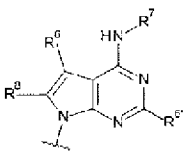
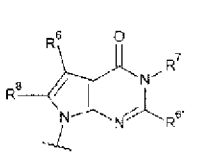
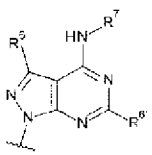
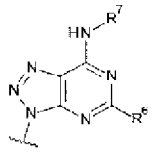
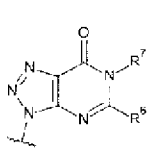
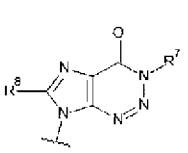
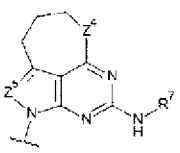
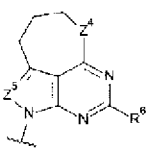
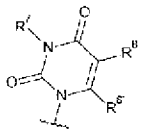
R^8及$R^{8'}$各自獨立表示氫原子或鹵素原子，

Z^4表示-CH_2-、-NH-或氧原子，

Z^5表示氮原子或-CH=)。

【0083】又，L^1係表示選自由下式所組成的群組的基，其可於任意之位置經選自由羥基、-NH_2、2-羥基乙醯基胺基甲基及 2-[(2-羥基乙醯基)胺基]乙基所組成的群組之 1~3 個的基取代：

【0084】
















及


(其中，

R^6及$R^{6'}$各自獨立表示氫原子、鹵素原子、羥基、-NH_2、C1-C6烷基、C2-C6烯基或C2-C6炔基，

R^7及$R^{7'}$各自獨立表示氫原子或C1-C6烷基，該C1-C6烷基可經選自由鹵素原子及側氧基所組成的群組的1或2個之取代基取代，

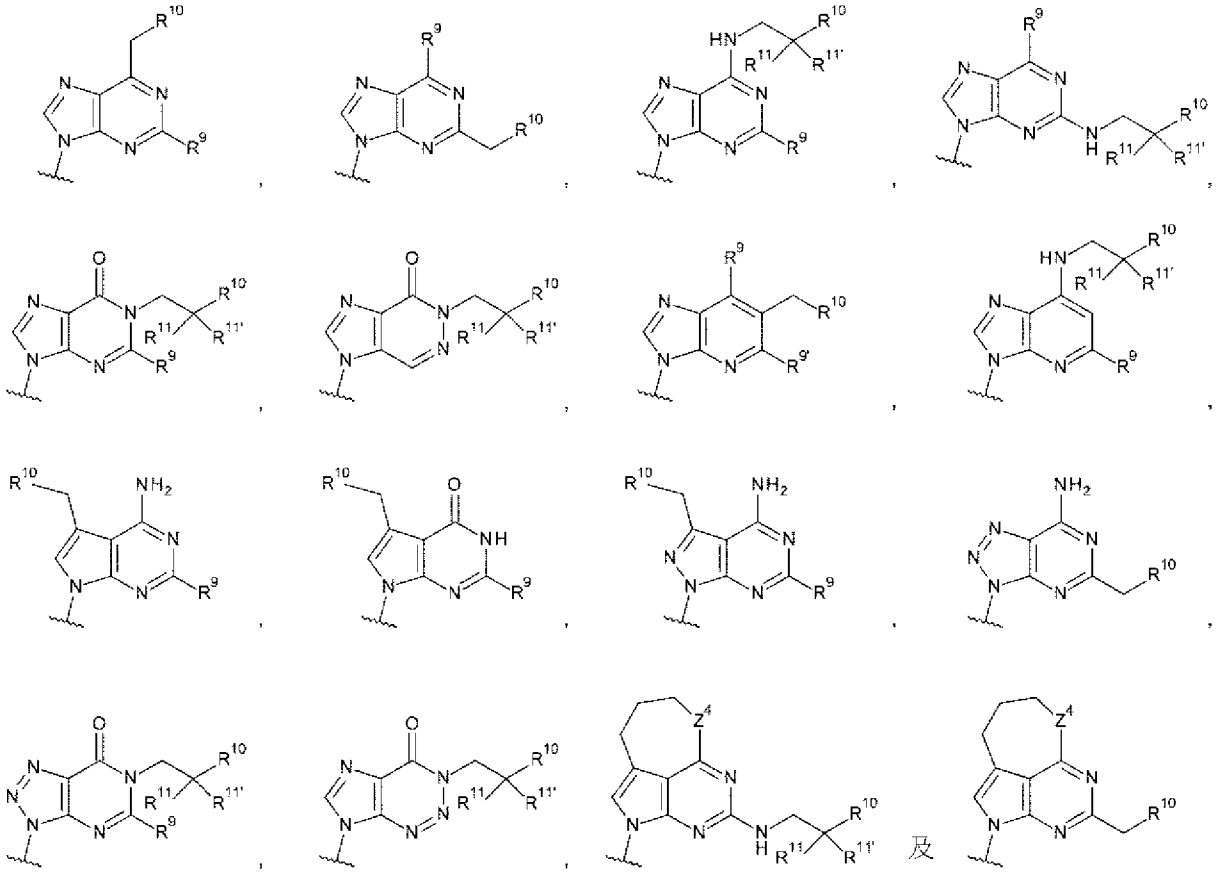
R^8及$R^{8'}$各自獨立表示氫原子或鹵素原子，

Z^4表示-CH_2-、-NH-或氧原子，

Z^5表示氮原子或-CH=)。

【0085】L^1較佳為選自由下式所組成的群組的基：

【0086】



(其中，R^9及$R^{9'}$表示氫原子、鹵素原子、羥基或$-NH_2$，

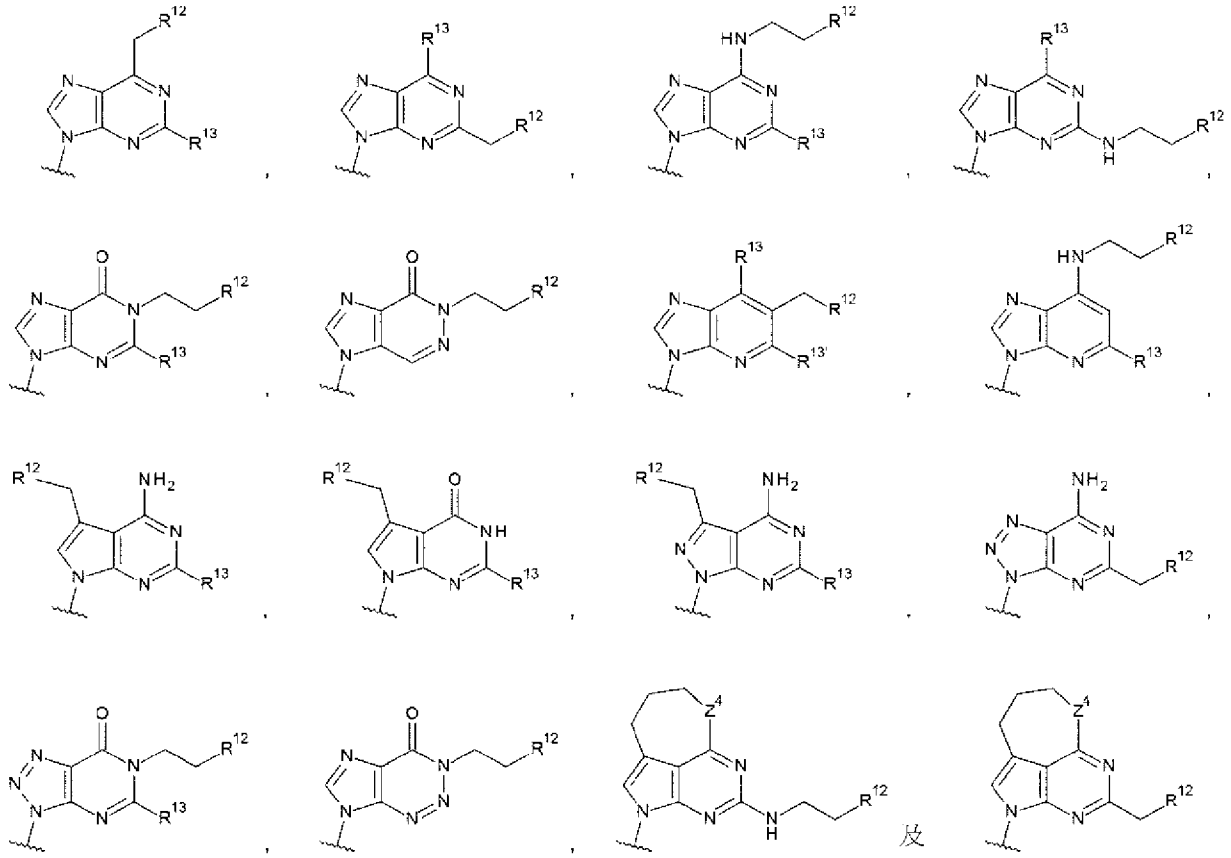
R^{10}表示羥基、$-NH_2$、$-NHC(=O)CH_2OH$、$-CH_2NHC(=O)CH_2OH$、$-CH_2CH_2NHC(=O)CH_2OH$、羥基C1-C3烷基或胺基C1-C3烷基，

R^{11}及$R^{11'}$各自獨立表示氫原子、氟原子或者甲基，或R^{11}及$R^{11'}$結合而表示環丙烷，

Z^4表示$-CH_2-$、-NH-或氧原子)。

【0087】又，L^1較佳為選自由下式所組成的群組的基：

【0088】



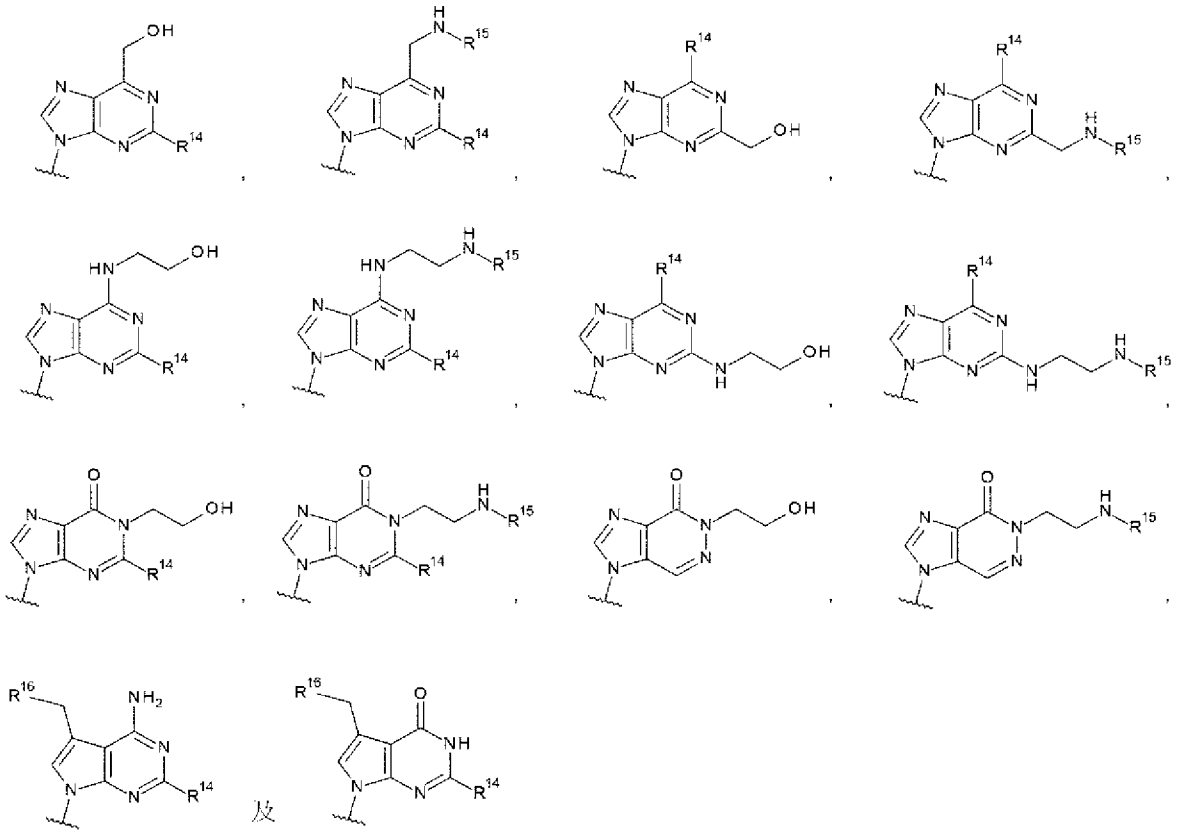
(其中，R^{13}及$R^{13'}$各自獨立表示氫原子、羥基或-NH_2，

R^{12}表示羥基、-NH_2、-CH_2OH、-$NHC(=O)CH_2OH$、-$CH_2NHC(=O)CH_2OH$或-$CH_2CH_2NHC(=O)CH_2OH$，

Z^4為如前述定義)。

【0089】再者，L^1較佳為選自由下式所組成的群組的基：

【0090】



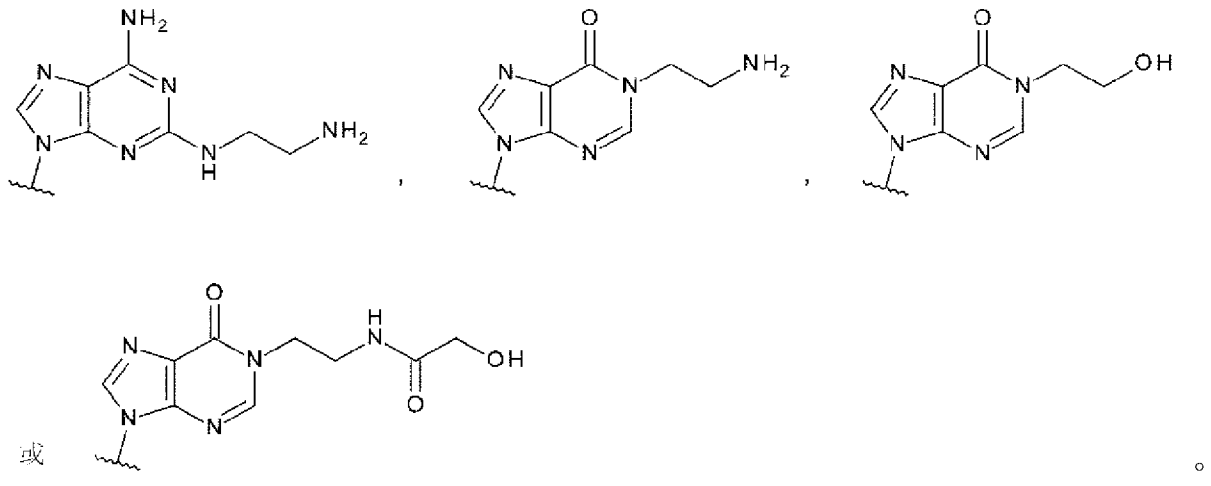
(其中，R^{14}表示氫原子或-NH_2，

R^{15}表示氫原子或-C(=O)CH_2OH，

R^{16}表示羥基、-NH_2、-CH_2OH、-CH_2CH_2OH、-CH_2NH_2或-$CH_2CH_2NH_2$)。

【0091】L^1更佳為選自由下式所組成的群組的基：

【0092】



【0093】L^3選自氫原子、鹵素原子、$-NH_2$、羥基C1-C3烷基或胺基C1-C3烷基。

【0094】Q^1及$Q^{1'}$各自獨立表示羥基、硫醇基或硼烷基(BH_3^-)。Q^1較佳為羥基或硫醇基。$Q^{1'}$較佳為羥基或硫醇基。更佳為Q^1及$Q^{1'}$之組合係Q^1及$Q^{1'}$為硫醇基，或者Q^1及$Q^{1'}$為羥基。

【0095】Q^2及$Q^{2'}$各自獨立表示氧原子或硫原子。較佳為Q^2及$Q^{2'}$皆為氧原子或皆為硫原子。

【0096】Q^1及Q^2之組合，較佳為Q^1為硫醇基且Q^2為氧原子，或者，Q^1為硫醇基且Q^2為硫原子。

【0097】$Q^{1'}$及$Q^{2'}$之組合，較佳為$Q^{1'}$為硫醇基且$Q^{2'}$為氧原子，或$Q^{1'}$為羥基且$Q^{2'}$為氧原子、或者$Q^{1'}$為硫醇基且$Q^{2'}$為硫原子。

【0098】X^1及X^2各自獨立表示氧原子、硫原子或$-CH_2-$。X^1較佳為氧原子。X^2較佳為氧原子。更佳為X^1及X^2為氧原子。

【0099】Y^1及Y^2表示氧原子或$-CH_2-$。Y^1較佳為氧原子。Y^2較佳為氧原子。更佳為Y^1及Y^2為氧原子。

【0100】X^3及X^4表示選自下述(iii)或(iv)的基：

(iii)Y^1為氧原子時，X^3-X^4表示$-CH_2-O-$、$-CH_2-S-$、$-CH_2-CH_2-$或$-CH_2-CF_2-$；或

(iv)Y^1為$-CH_2-$時，X^3-X^4表示$-O-CH_2-$。

X^3及X^4較佳為上述(iii)之$-CH_2-O-$。

【0101】X^5及X^6表示選自下述下述(v)或(vi)的基：

(v)Y^2為氧原子時，X^5-X^6表示$-CH_2-O-$、$-CH_2-S-$、$-CH_2-CH_2-$或$-CH_2-CF_2-$；或

(vi)Y^2為-CH_2-時，X^5-X^6表示-O-CH_2-。

X^5及X^6較佳為上述(v)之-CH_2-O-。

【0102】R^1、R^2及R^3各自獨立表示氫原子、鹵素原子、-OR’、-OC(=O)R’、-N_3、-NHR’、-NR’R’’或-NHC(=O)R’(其中，R’表示氫原子、C1-C6烷基、C2-C6烯基、C2-C6炔基或C3-C6環烷基，該C1-C6烷基、C2-C6烯基或C2-C6炔基可經1至6個之鹵素原子取代，R’’表示C1-C6烷基、C2-C6烯基、C2-C6炔基或C3-C6環烷基)。

【0103】R^1較佳為氫原子、羥基或氟原子。

【0104】R^2較佳為氫原子、羥基或氟原子。

【0105】R^3較佳為氫原子、羥基或氟原子。

【0106】W^1表示氮原子、氧原子、硫原子或-CH-。

【0107】R^5表示選自下述(vii)至(x)的基：

(vii)W^1為氮原子時，R^5表示氫原子、C1-C6烷基、羥基C1-C6烷基或胺基C1-C6烷基；

(viii)W^1為氧原子時，R^5不存在；

(ix)W^1為硫原子時，R^5不存在；或

(x)W^1為-CH-時，R^5表示氫原子、鹵素原子、羥基、-NH_2或C1-C6烷基。

W^1為氮原子時，R^5較佳為氫原子。W^1為-CH-時，R^5較佳為氫原子。

【0108】W^2表示氮原子或-CH=。W^2較佳為-CH=。

【0109】R^4表示氫原子、鹵素原子或-NH_2。R^4較佳為氫原子。

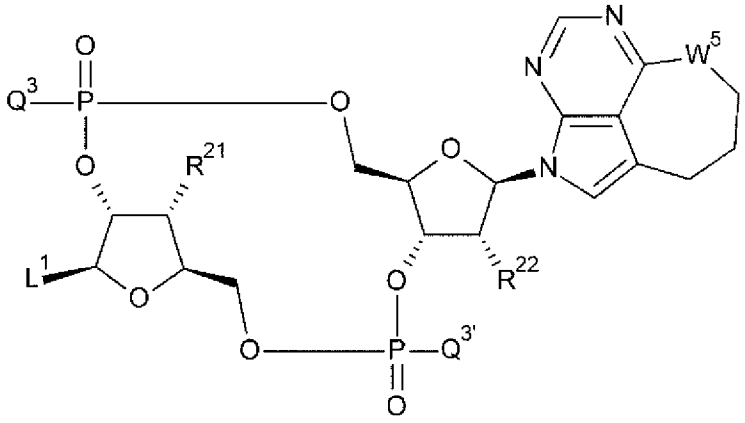
【0110】Z^1-Z^2-Z^3係一起而表示選自以下之基：-CH_2-CH_2-CH_2-、-CH_2-CH_2-R'''-、-CH=CH-CH_2-、-CH=CX-CH_2-、-CX=CH-CH_2-、-CX=CX-CH_2-、-C(=O)-CH_2-CH_2-、-CH_2-CH_2-C(=O)-、-CH_2-CH(CH_3)-CH_2-或-CH_2-CH_2-CH(CH_3)-(其中，R'''表示-O-或-CH_2-CH_2-，X表示鹵素原子)或下述式之任一者所表示的基：

【0111】

(其中，星號表示與W^1結合者，波浪線表示與=C-之碳原子結合者)。Z^1、Z^2及Z^3係較佳為一起而為-CH_2-CH_2-CH_2-、-CH=CH-CH_2-、-CH_2-CH(CH_3)-CH_2-、-CH_2-CH_2-CH(CH_3)-、或-CH_2-CH_2-R'''-(其中，R'''表示-O-或-CH_2-CH_2-)。

【0112】又，本發明之新穎CDN衍生物較佳為具有下式所示的結構：

【0113】



。

【0114】L^1為如前述定義。

【0115】Q^3及$Q^{3'}$各自獨立表示羥基或硫醇基。較佳為Q^3及$Q^{3'}$皆為硫醇基。

【0116】R^{21}及R^{22}各自獨立表示羥基或氟原子。R^{21}較佳為羥基。R^{22}較佳為氟原子。

【0117】W^5表示-NH-或硫原子。

【0118】本發明之新穎CDN衍生物之製造方法係記載於後述的＜3.製造方法＞。

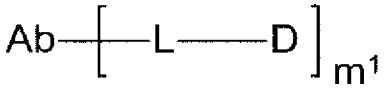
【0119】

＜2.抗體藥物結合物＞

本發明之新穎CDN衍生物可被直接投予至目的之組織(例如，腫瘤內投予)，或者可作為介隔任意之連接子而與辨識且可結合標的細胞(例如，腫瘤細胞或免疫細胞)的抗體連結而成的抗體藥物結合物被投予。

【0120】本發明之抗體藥物結合物為下式(II)所示：

【0121】



(II)。

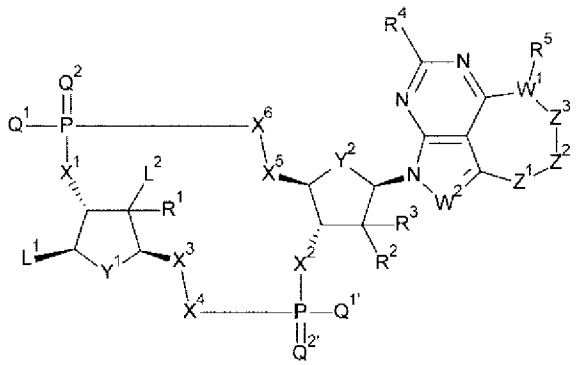
m^1表示抗體藥物結合物中的抗體每1分子的藥物結合數，Ab表示抗體或該抗體之功能性片段，L表示連結Ab與D的連接子，D表示上述的新穎CDN衍生物(本說明書中，新穎CDN衍生物作為抗體藥物結合物之一部分使用的情形，亦有時簡稱為「藥物」)。

【0122】藥物D係具有使免疫細胞賦活化的活性，具體而言，為具有STING促效劑活性的化合物。藥物D於連接子之一部份或全部於標的細胞(例如，腫瘤細胞或免疫細胞)內被切斷時，以

原本的結構游離，而發揮免疫賦活化效果。藉由標的細胞對免疫細胞的感受性亢進或藉由標的細胞的免疫細胞之賦活化，而目的之功能被發揮。就目的之功能而言，只要是與 STING 促效劑活性有關連的功能，則未特別限定，但較佳為抗腫瘤活性。即，於以腫瘤為標的抗體(例如，抗 HER2 抗體)介隔任意之連接子而連結的藥物 D，係被送達至標的之細胞或組織，且連接子之一部份或全部被切斷，而通過標的細胞對免疫細胞的感受性亢進或藉由標的細胞的免疫細胞之賦活化(例如，干擾素或細胞介素之產生)而發揮抗腫瘤效果。

【0123】與本發明之抗體藥物結合物結合的藥物 D 為下式(I)：

【0124】



(I)

(其中，

L 係與 L^1 或 L^2 所含的任意之-NH_2 或羥基結合，

L^1 係如於上述＜1.新穎 CDN 衍生物＞所規定，

L^2 表示選自下述(i)或(ii)的基：

(i)與 L 結合時，L^2 表示-NHR’、羥基 C1-C6 烷基或胺基 C1-C6 烷基，其中，R’表示氫原子、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基或 C3-C6 環烷基，該 C1-C6 烷基、C2-C6 烯基或 C2-C6 炔基可經 1 至 6 個之鹵素原子取代；或

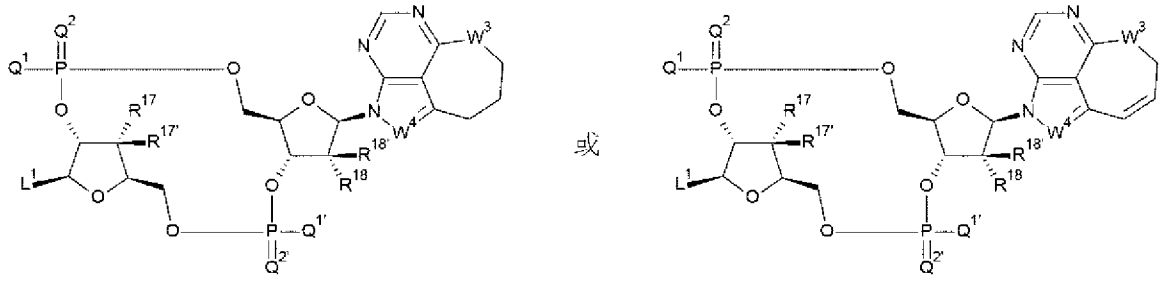
(ii)未與 L 結合時，L^2 表示氫原子或鹵素原子，

Q^1、$Q^{1'}$、Q^2、$Q^{2'}$、X^1、X^2、X^3、X^4、X^5、X^6、Y^1、Y^2、R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、W^1、W^2、Z^1、Z^2 及 Z^3 係如上述＜1.新穎 CDN 衍生物＞所規定。

【0125】L^2 為與 L 結合的情形，較佳為$-NH_2$、$-CH_2NH_2$ 或 $-CH_2OH$。L^2 為未與 L 結合的情形，較佳為氫原子或氟原子。

【0126】於本發明之新穎 CDN 衍生物或本發明之抗體藥物結合物所使用的藥物 D，較佳為以下列之 2 式之任一者所表示者：

【0127】



(其中，L^1、Q^1、$Q^{1'}$、Q^2 及 $Q^{2'}$ 為如前述定義，

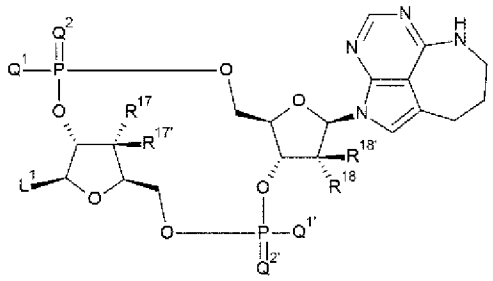
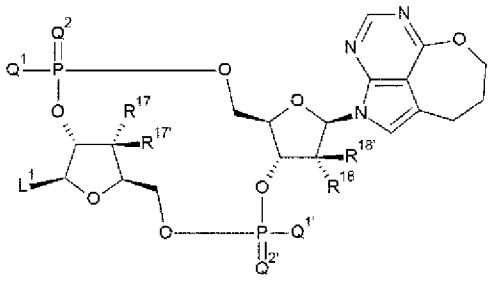
R^{17}、$R^{17'}$、R^{18} 及 $R^{18'}$ 各自獨立表示氫原子、鹵素原子、羥基或$-NH_2$，

W^3 表示-NH-、氧原子、硫原子或$-CH_2-$，

W^4 表示-CH=或氮原子)。

【0128】又，於本發明之新穎 CDN 衍生物或本發明之抗體藥物結合物所使用的藥物 D，較佳為以下列之 2 式之任一者所表示者：

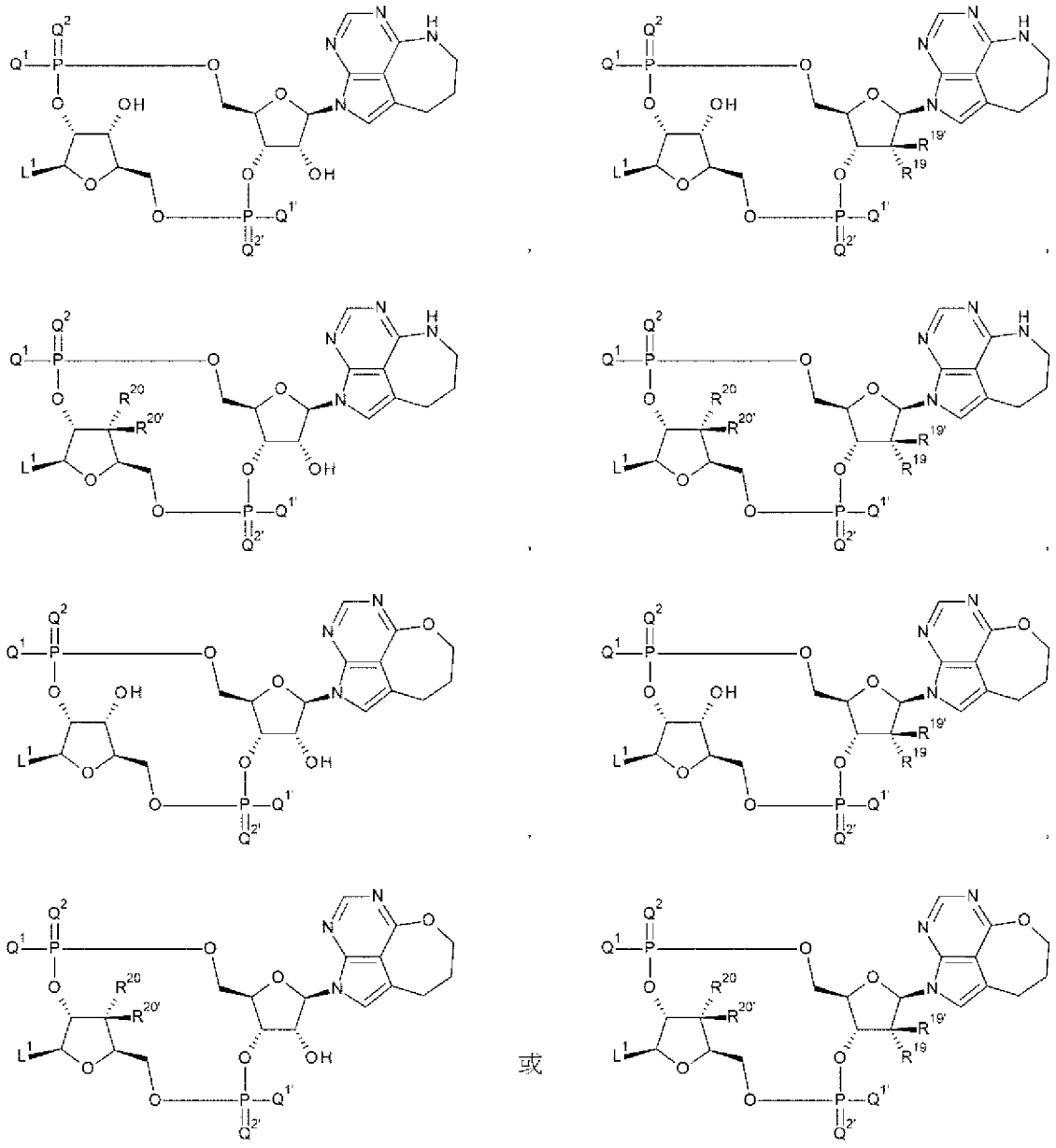
【0129】


或


(其中，L^1、Q^1、$Q^{1'}$、Q^2、$Q^{2'}$、R^{17}、$R^{17'}$、R^{18}及$R^{18'}$為如前述定義)。

【0130】又，於本發明之新穎 CDN 衍生物或本發明之抗體藥物結合物所使用的藥物 D，較佳為以下列之 8 式之任一者所表示者：

【0131】

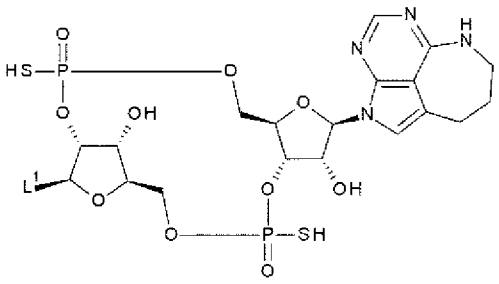
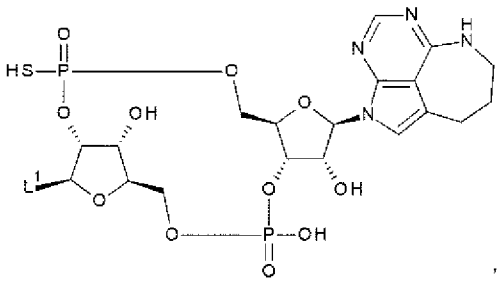
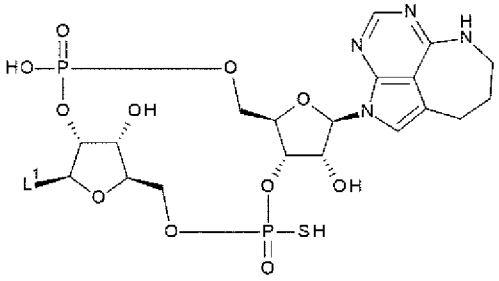
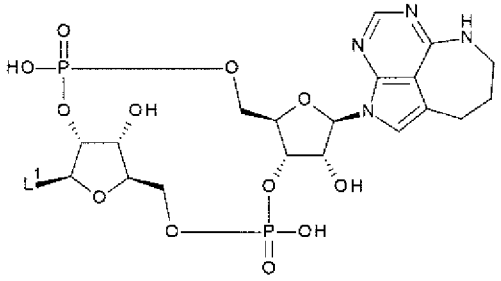


(其中，L1、Q1、Q1’、Q2 及 Q2’為如前述定義，

R19、R19’、R20 及 R20’各自獨立表示氫原子或氟原子)。

又，於本發明之新穎 CDN 衍生物或本發明之抗體藥物結合物所使用的藥物 D 較佳為以下列之 4 式之任一者所表示者：

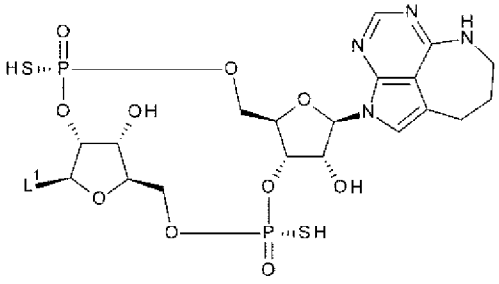
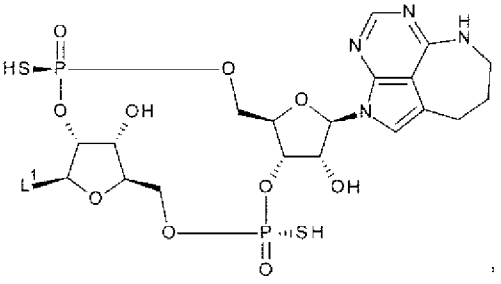
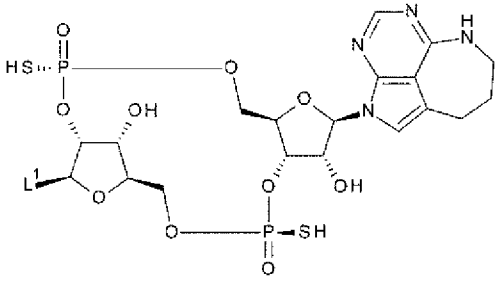
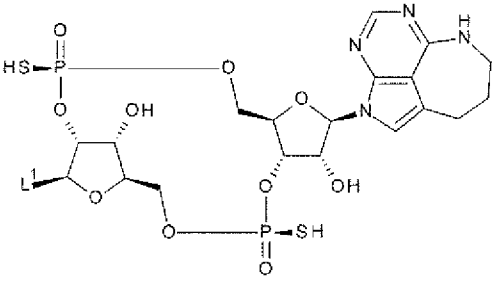
【0132】




或


(其中，L^1 為如前述定義)。

【0133】又，於本發明之新穎 CDN 衍生物或本發明之抗體藥物結合物所使用的藥物 D，較佳為以下列之 4 式之任一者所表示者：

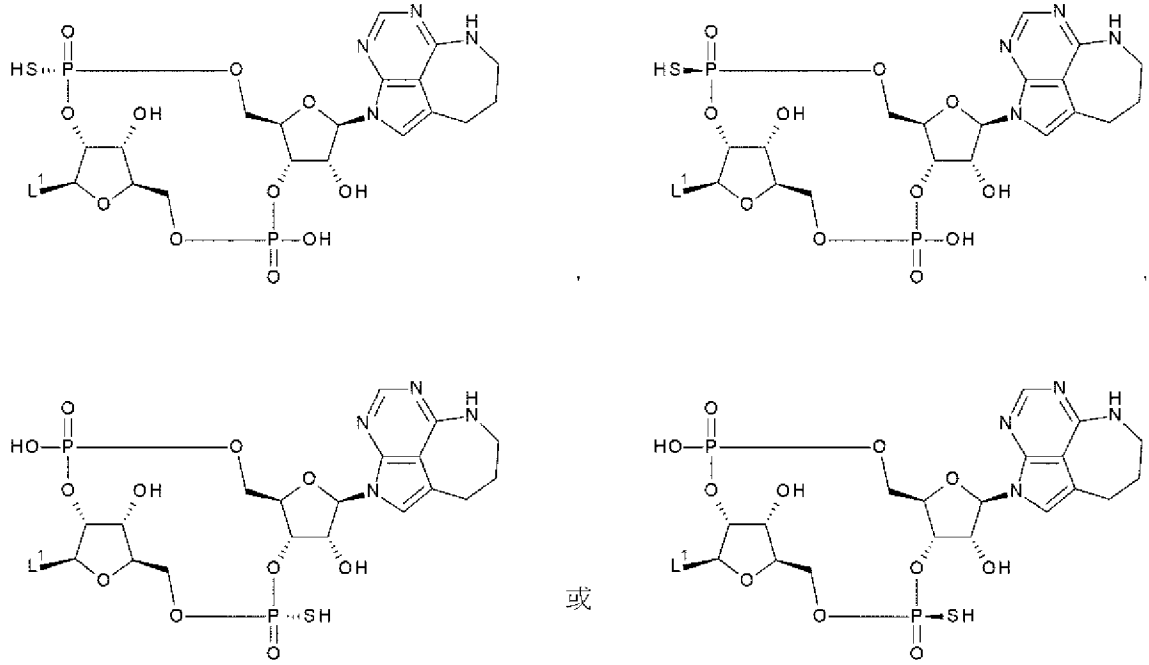
【0134】




或


(其中，L^1 為如前述定義)。

【0135】又，於本發明之新穎 CDN 衍生物或本發明之抗體藥物結合物所使用的藥物 D，較佳為以下列之 4 式之任一者所表示者：

【0136】

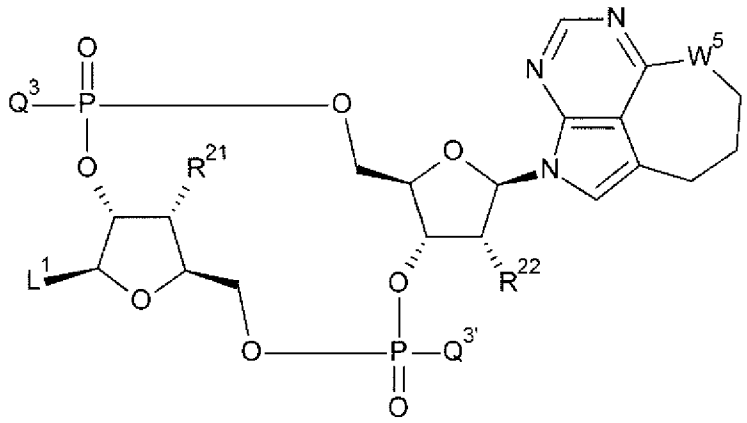


或

(其中，L^1 為如前述定義)。

【0137】又，於本發明之新穎 CDN 衍生物或本發明之抗體藥物結合物所使用的藥物 D，較佳為下式所表示者：

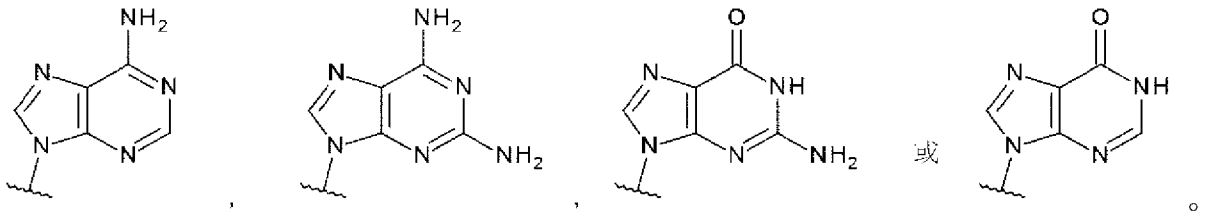
【0138】



(其中，L^1、Q^3、$Q^{3'}$、R^{21}、R^{22} 及 W^5 係如上述＜1.新穎 CDN 衍生物＞所規定)。

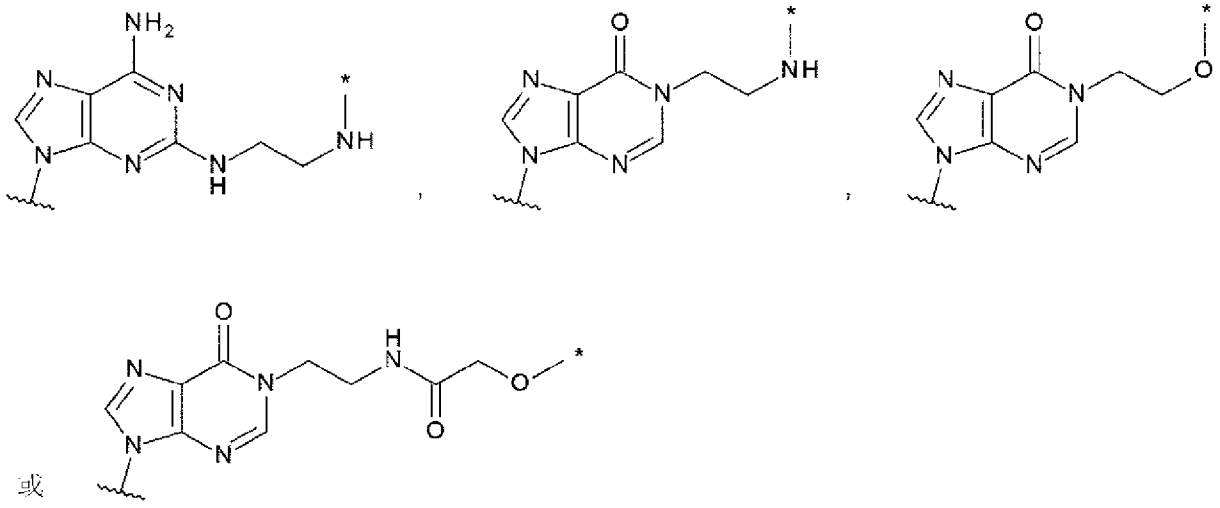
【0139】又，於本發明之新穎 CDN 衍生物或本發明之抗體藥物結合物所使用的藥物 D，L^1 較佳為以下列之任一者所表示者：

【0140】



【0141】又，於本發明之新穎 CDN 衍生物或本發明之抗體藥物結合物所使用的藥物 D，L^1 較佳為以下列之 4 式之任一者所表示者：

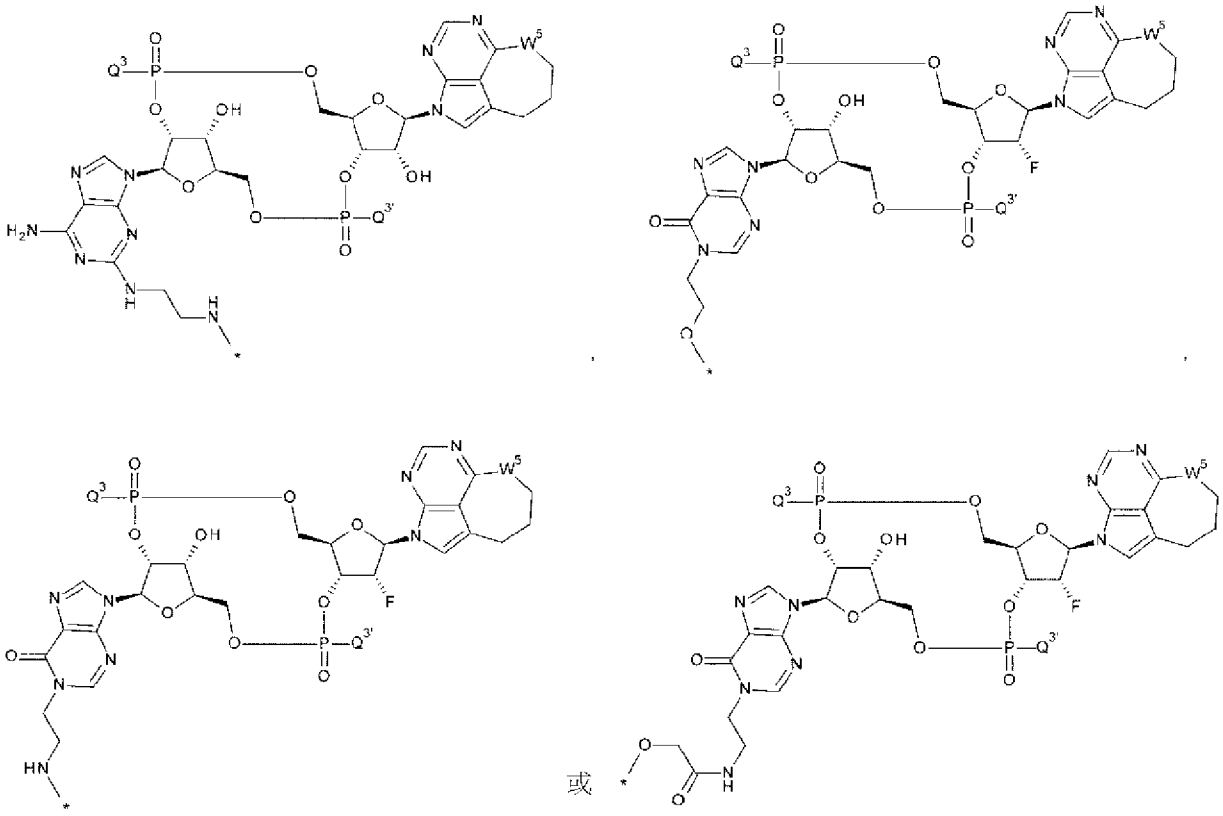
【0142】



(式中，星號表示與 L 結合者)。

【0143】又，於本發明之新穎 CDN 衍生物或本發明之抗體藥物結合物所使用的藥物 D，較佳為以下列之 4 式之任一者所表示者：

【0144】



(其中，星號係表示與 L 結合者，Q^3、$Q^{3'}$及 W^5係如上述＜1.新穎 CDN 衍生物＞所規定)。

【0145】

＜2.1.連接子結構＞

針對於本發明之抗體藥物結合物中使藥物與抗體結合的連接子結構加以說明。於本發明之抗體藥物結合物所使用的連接子係只要所屬技術領域中具通常知識者理解作為使抗體與藥物連結的連接子即可，並未特別限定。就本發明之抗體藥物結合物所使用的連接子而言，可列舉例如，Protein Cell、2018、9(1)：33-46、Pharm Res、2015、32：3526-3540、或 Int.J .Mol.Sci.、2016、17、561 所記載的連接子，但未被限定於此等例。連接子可為於活體內被切斷的連接子，亦可為於活體內未被切斷的連接子，但較佳為於活體內被切斷的連接子。

【0146】就本發明之抗體藥物結合物所使用的連接子而言，可列舉例如，使藥物與抗體之 Fc 部分的糖鏈或被重塑的糖鏈結合(本說明書中，有時稱為「糖鏈結合(sugar chain conjugation)」)連接子(例如，記載於 WO2018/003983)、或使藥物與抗體之任意之胺基酸殘基(例如，半胱胺酸殘基或離胺酸殘基)結合的連接子(例如，記載於 WO2014/057687)，但未被限定於此等例。就使藥物與抗體之任意之胺基酸殘基結合的連接子而言，較佳可列舉 Ab 的半胱胺酸的硫氫基(SH 基)與硫醚結合的情形(本說明書中，有稱為「半胱胺酸結合」的情形)或 Ab 之離胺酸的胺基(NH_2 基)與醯胺結合的情形(本說明書中，有稱為「離胺酸結合」的情形)，較佳為半胱胺酸結合。

【0147】本發明之較佳連接子 L 係下列之式所表示者。

-Lb-La-Lp-Lc-＊

(其中，星號表示與藥物 D 之 L^1 或 L^2 所含的任意之胺基或羥基結合者)。

【0148】首先，針對 Lp 加以說明。

【0149】Lp 表示由於活體內或標的細胞中可被切斷的胺基酸序列所構成的連接子(以下，於本說明書中，亦稱為肽連接子)，或不存在。

【0150】Lp 係例如藉由肽酶或酯酶等之酵素的作用而被切斷。Lp 係由 2 至 7 個(較佳為 2 至 4 個)之胺基酸所構成的肽。Lp 係於其 N 末端與後述的 La 之右端之羰基形成醯胺鍵，且於 C 末端與 Lc 的胺基(-NH-)形成醯胺鍵。藉由前述肽酶等之酵素，Lp 之 C 末端側之醯胺鍵被切斷。

【0151】構成 Lp 的胺基酸並未特別限定，但例如為 L-或 D-胺基酸，較佳為 L-胺基酸。又，除 α-胺基酸之外，可為 β-丙胺酸、ε-胺基己酸、γ-胺基丁酸等之結構之胺基酸，再者，可為例如，N-甲基化的胺基酸等之非天然型之胺基酸。Lp 之胺基酸序列並未特別限定，但就構成的胺基酸而言，可列舉甘胺酸(Gly；G)、纈胺酸(Val；V)、丙胺酸(Ala；A)、苯丙胺酸(Phe；F)、麩胺酸(Glu；E)、異白胺酸(Ile；I)、脯胺酸(Pro；P)、瓜胺酸(Cit)、白胺酸(Leu；L)、甲硫胺酸(Met；M)、絲胺酸(Ser；S)、離胺酸(Lys；K)及天冬胺酸(Asp；D)等。此等中較佳為甘胺酸(Gly；G)、纈胺酸(Val；V)、丙胺酸(Ala；A)、苯丙胺酸(Phe：F)、瓜胺酸(Cit)。此等之胺基酸可重複，且具有包含任意選擇的胺基酸的胺基酸序列。又，可藉由胺基酸之種類，而控制藥物游離的樣式。

【0152】就 Lp 之具體例而言，可列舉例如，-GGVA-、-VA-、-GGFG-、-FG-、-GGPI-、-PI-、-GGVCit-、-VCit-、-GGVK-、-VK-、-GGFCit-、-FCit-、-GGFM-、-FM-、-GGLM-、-LM-、-GGICit-、-ICit-。連接子 Lp 較佳為-GGVA-、-VA-、-GGFG-、-FG-、-GGVCit-、-VCit-、-GGFCit-、-FCit-。連接子 Lp 更佳為-GGVA-、-GGFG、-GGVCit-。又，連接子 Lp 較佳為-GGFG-或-GGPI-。

【0153】接著，針對 La 加以說明。

【0154】La 表示選自由以下所組成的群組的任一者：

$-C(=O)-(CH_2CH_2)n^2-C(=O)-$、

$-C(=O)-(CH_2CH_2)n^2-CH_2-C(=O)-$、

$-C(=O)-(CH_2CH_2)n^2-C(=O)-NH-(CH_2CH_2)n^3-C(=O)-$、

-C(=O)-$(CH_2CH_2)n^2$-C(=O)-NH-$(CH_2CH_2)n^3$-CH_2-C(=O)-、

-C(=O)-$(CH_2CH_2)n^2$-C(=O)-NH-$(CH_2CH_2O)n^3$-CH_2-C(=O)-、

-$(CH_2)n^4$-O-C(=O)-、及、

-$(CH_2)n^9$-C(=O)-

(其中，式中，n^2表示1~3之整數(較佳為1或2)，n^3表示1~5之整數(較佳為2~5之整數，更佳為3或4)，n^4表示0~2之整數(較佳為0或1)，n^9表示2~7之整數(較佳為2~5之整數，更佳為2、3或5))。

【0155】La較佳為表示選自由以下所組成的群組的任一者：

-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-、

-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-NH-$(CH_2CH_2O)_3$-CH_2-C(=O)-、

-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-NH-$(CH_2CH_2O)_4$-CH_2-C(=O)-、

-C(=O)-$(CH_2CH_2)_2$-C(=O)-、

-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-NH-$(CH_2CH_2)_2$-C(=O)-、

-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-NH-$(CH_2CH_2)_2$-CH_2-C(=O)-、

-CH_2-OC(=O)-、

-OC(=O)-、

-$(CH_2)_5$-C(=O)-、及。

【0156】La更佳為

-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-、

-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-NH-$(CH_2CH_2O)_3$-CH_2-C(=O)-、

或

-$(CH_2)_5$-C(=O)-。

【0157】La 進一步更佳為-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-。

【0158】接著，針對 Lb 加以說明。

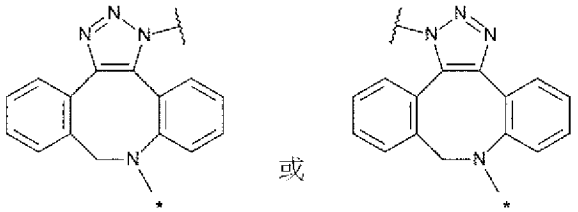
【0159】Lb 表示於糖鏈結合的連接子所使用的間隔子(本說明書中，亦稱為「糖鏈結合的連接子的間隔子」)、或於半胱胺酸結合所使用的間隔子(本說明書中，亦稱為「半胱胺酸結合的連接子的間隔子」)。

【0160】

＜Lb 為「糖鏈結合的連接子的間隔子」的情形＞

Lb 為「糖鏈結合的連接子的間隔子」的情形，Lb 未特別限定，但可列舉例如，下式所示的間隔子。

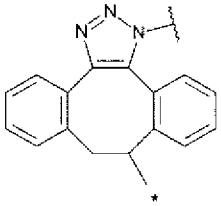
【0161】



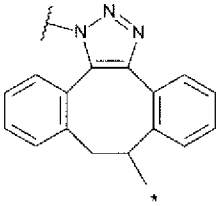
或

(Lb-1)

【0162】



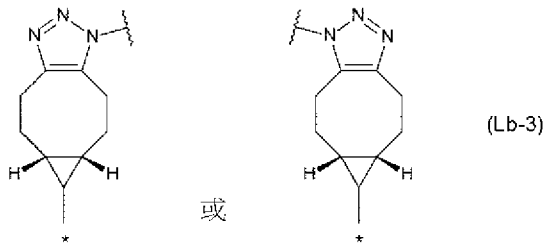
或



(Lb-2)

、或

【0163】



【0164】於上述所示的各自之結構式，星號(＊)表示與 La 之左端的-(C=O)-或-CH_2-結合者，波浪線表示與 Ab 之糖鏈或被重塑的糖鏈結合者。

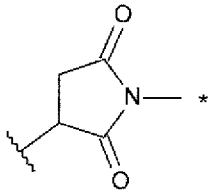
【0165】於 Lb 選擇 Lb-1、Lb-2 或 Lb-3 之任一者的情形，三唑環部位具有幾何異構性結構，且於 1 個之 Lb 中，包含 2 種類之結構中的任一者，或包含彼等之混合物。本發明之抗體藥物結合物係可使複數之藥物結合於抗體 1 分子。使複數之藥物結合於抗體 1 分子的情形，Lb 亦複數存在(例如，參照後述的＜3.製造方法＞之 E 法所示的抗體藥物結合物之模式圖(1e))。Lb 選自 Lb-1、Lb-2 或 Lb-3 之任一者，且該 Lb 對於 1 分子抗體為複數存在的情形(例如，後述的 m^2 為 1 或 2 的情形)，於各自之 Lb，三唑環部位具有幾何異構性結構，且於 1 個之 Lb 中，包含 2 種類之結構中之任一者，或包含彼等之混合物。

【0166】

＜Lb 為「半胱胺酸結合的連接子的間隔子」的情形＞

Lb 為「半胱胺酸結合的連接子的間隔子」的情形，Lb 未特別限定，但可列舉例如，-(琥珀醯亞胺-3-基-N)-。於本發明，「-(琥珀醯亞胺-3-基-N)-」具有下式所示的結構：

【0167】



。

於上述所示的結構式，星號表示與 La 結合者，波浪線與抗體之半胱胺酸殘基之側鏈形成硫醚而結合。

【0168】接著，針對 Lc 加以說明。

【0169】Lc 表示-NH-CH_2-、-NH-苯基-CH_2-O(C=O)-或-NH-雜芳基-CH_2-O(C=O)-，或者不存在。其中，就苯基而言，較佳為 1,4-苯基，就雜芳基而言，較佳為 2,5-吡啶基、3,6-吡啶基、2,5-嘧啶基或 2,5-噻吩基。Lc 較佳為-NH-CH_2-，或不存在。

【0170】本發明之更佳連接子 L，

藥物與抗體之結合樣式為「糖鏈結合」的情形，為

-Z^{L1}-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-GGFG-、

-Z^{L1}-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-GGVA-、

-Z^{L1}-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-GGVCit-、

-Z^{L1}-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-GGFCit-、

-Z^{L1}-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-GGICit-、

-Z^{L1}-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-GGFM-、

-Z^{L1}-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-GGPI-、

-Z^{L1}-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-GGLM-、

-Z^{L1}-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-FG-、

-Z^{L1}-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-VA-、

-Z^{L1}-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-GGFG-NH-CH_2-、

-Z^{L1}-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-GGVA-NH-CH_2-、

-Z^{L1}-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-GGVCit-NH-CH_2-、

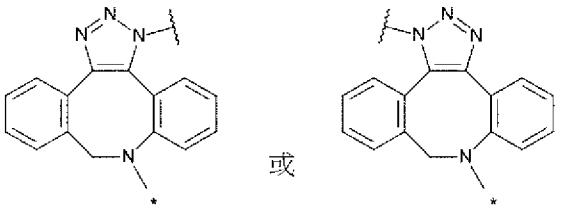
-Z^{L1}-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-GGFCit-NH-CH_2-、

-Z^{L1}-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-NH-$(CH_2CH_2O)_3$-CH_2-C(=O)-、或

-Z^{L1}-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-NH-$(CH_2CH_2O)_4$-CH_2-C(=O)-、

(其中，Z^{L1}表示上述 Lb 之以下所示的結構式：

【0171】



)，或者

藥物與抗體之結合樣式為「半胱胺酸結合」的情形，為

-Z^{L2}-$(CH_2)_5$-C(=O)-GGFG-、

-Z^{L2}-$(CH_2)_5$-C(=O)-GGVA-、

-Z^{L2}-$(CH_2)_5$-C(=O)-GGVCit-、

-Z^{L2}-$(CH_2)_5$-C(=O)-GGFCit-、

-Z^{L2}-$(CH_2)_5$-C(=O)-GGICit-、

-Z^{L2}-$(CH_2)_5$-C(=O)-GGFM-、

-Z^{L2}-$(CH_2)_5$-C(=O)-GGPI-、

-Z^{L2}-$(CH_2)_5$-C(=O)-GGLM-、

-Z^{L2}-$(CH_2)_5$-C(=O)-FG-、

-Z^{L2}-$(CH_2)_5$-C(=O)-VA-、

-Z^{L2}-$(CH_2)_5$-C(=O)-GGFG-NH-CH_2-、

-Z^{L2}-$(CH_2)_5$-C(=O)-GGVA-NH-CH_2-、

-Z^{L2}-$(CH_2)_5$-C(=O)-GGVCit-NH-CH_2-、

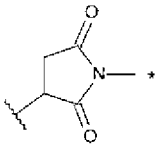
-Z^{L2}-$(CH_2)_5$-C(=O)-GGFCit-NH-CH_2-、

-Z^{L2}-$(CH_2)_5$-C(=O)-NH-$(CH_2CH_2O)_3$-CH_2-C(=O)-、或

-Z^{L2}-$(CH_2)_5$-C(=O)-NH-$(CH_2CH_2O)_4$-CH_2-C(=O)-、

(其中，Z^{L2}表示上述 Lb 之以下所示的結構式：

【0172】



所示的-(琥珀醯亞胺-3-基-N)-)。

【0173】本發明之更佳連接子 L，係藥物與抗體之結合樣式為「糖鏈結合」，為

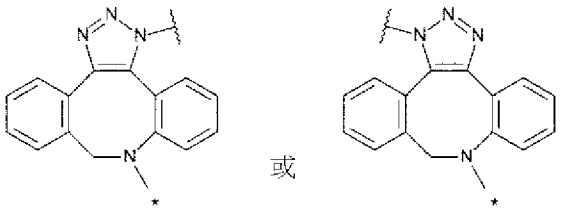
-Z^{L1}-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-GGFG-NH-CH_2-、

或

-Z^{L1}-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-GGPI-NH-CH_2-、

(其中，Z^{L1}表示上述 Lb 之以下所示的結構式：

【0174】



或

)。

【0175】上述之「較佳連接子 L」及「更佳連接子 L」中的右端為與於式(I)之 L^1 或 L^2 所含的任意之-NH_2 或羥基結合。

【0176】

＜2.2.抗體及其糖鏈修飾＞

＜2.2.1 抗體＞

於本說明書，「基因」係意指編碼蛋白質之胺基酸的核苷酸序列所含的核苷酸或核苷酸序列，或其互補鏈，例如，編碼蛋白質之胺基酸的核苷酸序列所含的核苷酸序列或為其互補鏈的多核苷酸、寡核苷酸、DNA、mRNA、cDNA、RNA 等包含於「基因」的意義中。

【0177】於本說明書，「核苷酸」、「多核苷酸」或「核苷酸序列」與「核酸」同意義，例如，DNA、RNA、探針、寡核苷酸、多核苷酸、引子等亦包含於「核苷酸」或「核苷酸序列」之意義中。

【0178】於本說明書，「多肽」、「肽」、「蛋白質」係無區別地使用。

【0179】於本說明書，「抗體之功能性片段」亦稱為「抗體之抗原結合片段」，意指具有與抗原之結合活性的抗體之部分片段，包含 Fab、F(ab')2、Fv、scFv、雙功能抗體(diabody)、線狀抗體及由抗體片段所形成的多特異性抗體等。又，為將 F(ab')2 於還原條件下處理過的抗體之可變區域的一價片段的 Fab'，亦包含於抗體之抗原結合片段。惟，只要具有與抗原的結合能力即可，並未限定於此等之分子。又，於此等之抗原結合片段，不僅包含將抗體蛋白質之全長分子以適當酵素處理者，亦包含使用經基因工程改造的抗體基因而於適當宿主細胞所產生的蛋白質。

【0180】本發明之功能性片段包含保持受到於 IgG 重鏈之 Fc 區域良好地被保存之 N 結合型糖鏈所致的修飾的天冬醯胺(Asn297)及其周邊的胺基酸，且具有與抗原的結合能力的功能性片段。

【0181】於本發明之抗體藥物結合物所使用的抗體意指免疫球蛋白，為含有與抗原作免疫特異性結合的抗原結合部位的分子。作為本發明之抗體，可為 IgG、IgE、IgM、IgD、IgA 及 IgY 之任一群，但較佳為 IgG。又，作為亞群，可為 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1 及 IgA2 之任一者，但較佳為 IgG1、IgG2 或 IgG4(包含於 IgG 重鏈之 Fc 區具有影響 ADCC 及 ADCP 活性的變異的抗體)。

【0182】使用 IgG1 作為本發明之抗體之同型(isotype)的情形，可藉由將恆定區之胺基酸殘基之一部分作取代，而調整效應物(effector)功能(參照 WO88/07089、WO94/28027、WO94/29351)。就 IgG1 之突變體而言，可列舉例如，IgG1 LALA 變異(IgG1-L234A、L235A)。前述 L234A、L235A 係表示依據 EU 索引(Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America，Vol.63，No.1(May 15，1969)，pp.78-85)所指定的 234 位及 235 位之白胺酸被丙胺酸取代。

【0183】抗體可源自任一物種，但較佳可例示人類、大鼠、小鼠及兔。源自人類以外之物種的情形，較佳為使用周知之技術，而嵌合化或人類化者。本發明之抗體可為多株抗體，亦可為單株抗體，但較佳為單株抗體。於單株抗體，包含大鼠抗體、小鼠抗體、兔抗體等之源自非人類動物的單株抗體、嵌合抗體、人類化抗體、人類抗體、彼等之功能性片段、或彼等之修飾體。

【0184】抗體較佳為以腫瘤細胞或免疫細胞為標的的抗體，但未被限定於此等例。抗體更佳為以腫瘤細胞為標的的抗體。

【0185】使用以腫瘤細胞為標的的抗體的情形，就抗體而言，較佳為具備可辨識腫瘤細胞的特性、可與腫瘤細胞結合的特性、可被併入腫瘤細胞內而內化的特性、又具備傷害腫瘤細胞的特性之一或其以上之特性者。藉由連接子而與本發明之抗體結合的藥物具有 STING 促效劑活性。本發明之藥物係將干擾素控制因子3(interferon regulatory factor-3(IRF3))之訊息活性化而誘導干擾素。因此，於本發明之抗體藥物結合物使用以腫瘤細胞為標的的抗體的情形，抗體藥物結合物被投予至體內後，被送達至腫瘤部位，被併入腫瘤細胞內後藉由肽酶等而連接子部分被切斷，而藥物部分游離。一般認為游離的藥物部分通過 STING 促效劑活性而將抗腫瘤免疫賦活化，而使抗腫瘤效果發揮。

【0186】抗體之對腫瘤細胞的結合性，可使用流動式細胞測量術來確認。對腫瘤細胞內的抗體的併入，可使用下列確認：(1)使用與治療抗體結合的二次抗體(螢光標識)而以螢光顯微鏡將被併入細胞內的抗體加以可視化的分析(Cell Death and Differentiation(2008)15，751-761)、(2)使用與治療抗體結合的二次抗體(螢光標識)，而測量被併入細胞內的螢光量的分析(Molecular Biology of the Cell Vol.15，5268-5282，December 2004)或(3)所謂使用與治療抗體結合的免疫毒素，而若被併入細胞內則毒被釋放而細胞增殖會被抑制的 Mab-ZAP 分析(Bio Techniques 28：162-165，January 2000)。就免疫毒素而言，亦可使用白喉毒素的觸媒區與 Protein G 之重組複合蛋白質。

【0187】於本發明，「高內化能」係意指添加了該抗體與皂草素(saporin)標識抗小鼠或大鼠 IgG 抗體的標的抗原表現細胞

(例如，使用抗 HER2 抗體的情形，為 HER2 表現細胞)之生存率(以將抗體未添加時之細胞生存率設為 100%的相對率表示者)，較佳為 70%以下，更較佳為 60%以下。

【0188】於本發明之抗體藥物結合物使用以腫瘤細胞為標的的抗體的情形，抗體本身具有抗腫瘤效果者雖較佳，但並非必須。於本發明之抗體藥物結合物所使用的抗體，較佳為具有會移行至腫瘤細胞內的內化之性質者。

【0189】藥物及抗體藥物結合物之抗腫瘤活性係指對腫瘤細胞的細胞毒性活性、抗細胞效果、腫瘤體積的縮小。可使用周知之活體外或活體內之評價系統，來確認抗腫瘤活性。

【0190】藥物以及抗體藥物結合物之免疫賦活化活性係指腫瘤細胞對免疫細胞的感受性亢進或藉由腫瘤細胞的免疫細胞之賦活化。可使用周知之活體外或活體內之評價系統，來確認免疫賦活化活性。

【0191】就於本發明所使用的抗體而言，可列舉例如，抗 HER2 抗體、抗 HER3 抗體、抗 DLL3 抗體、抗 FAP 抗體、抗 CDH11 抗體、抗 CDH6 抗體、抗 A33 抗體、抗 CanAg 抗體、抗 CD19 抗體、抗 CD20 抗體、抗 CD22 抗體、抗 CD30 抗體、抗 CD33 抗體、抗 CD56 抗體、抗 CD70 抗體、抗 CD98 抗體、抗 TROP2 抗體、抗 CEA 抗體、抗 Cripto 抗體、抗 EphA2 抗體、抗 G250 抗體、抗 MUC1 抗體、抗 GPNMB 抗體、抗整合素抗體、抗 PSMA 抗體、抗肌腱蛋白-C 抗體、抗 SLC44A4 抗體、抗間皮素抗體、抗 ENPP3 抗體、抗 CD47 抗體、抗 EGFR 抗體、抗 GPR20 抗體或抗 DR5 抗體，但未被限定於此等例。作為本發明之抗體，較佳為抗 HER2 抗體(例如，曲妥珠單抗或帕

妥珠單抗)、抗 CDH6 抗體、抗 CD33 抗體或抗 EphA2 抗體，更佳為抗 HER2 抗體。

【0192】本發明之抗體可藉由使用此領域通常實施的方法，將為抗原的多肽對動物免疫，採取並純化於活體內產生的抗體而獲得。抗原之來源並未限定於人類，亦可將源自小鼠、大鼠等之人類以外的動物的抗原對動物免疫。於此情形，藉由試驗與取得的異種抗原結合的抗體和人類抗原之交叉性，可篩選能適用於人類疾病的抗體。

【0193】又，亦可按照周知之方法(例如，Kohler and Milstein，Nature(1975)256，p.495-497、Kennett，R.ed.，Monoclonal Antibodies，p.365-367，Plenum Press，N.Y.(1980))，藉由使產生對抗原的抗體的抗體產生細胞與骨髓瘤細胞融合，而建立融合瘤，獲得單株抗體。

【0194】又，抗原可藉由基因操作使編碼抗原蛋白質的基因於宿主細胞中產生而獲得。

【0195】本發明之人類化抗體可按照周知之方法(例如，Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.，81，6851-6855，(1984)、Nature(1986)321，p.522-525、WO90/07861)而取得。

【0196】例如，抗 HER2 抗體(US5821337、WO2004/008099 等)、抗 CD33 抗體(WO2014/057687 等)、抗 CD70 抗體(WO2004/073656 等)、抗 EphA2 抗體(WO2009/028639 等)、抗 CDH6 抗體(WO2018/212136 等)可藉由周知之手段而取得。

【0197】本發明之抗 HER2 抗體並未特別限制，例如，冀望具有以下之特性者。

(1)一種抗 HER2 抗體，其特徵為具有以下之特性；

(a)與 HER2 特異性結合。

【0198】(b)具有藉由與 HER2 結合而內化於 HER2 表現細胞的活性。

(2)如上述(1)記載之抗體，其與 HER2 之細胞外域結合。

(3)如上述(1)或(2)記載之抗體，其中前述抗體為單株抗體。

(4)如上述(1)~(3)中任一項記載之抗體，其具有抗體依存性細胞傷害(ADCC)活性及/或補體依存性細胞傷害(CDC)活性。

(5)如上述(1)~(4)中任一項記載之抗體，其為小鼠單株抗體、嵌合單株抗體或人類化單株抗體。

(6)如上述(1)~(3)中任一項記載之抗體，其重鏈恆定區為人類 IgG1 之重鏈恆定區，包含引起 ADCC 及 ADCP 活性的降低的變異。

(7)如上述(1)~(4)中任一項記載之抗體，其為包含由序列識別號 2 記載之胺基酸序列所構成的重鏈及由序列識別號 1 記載之胺基酸序列所構成的輕鏈而成的人類化單株抗體。

(8)如上述(5)記載之抗體，其重鏈恆定區為人類 IgG1 之重鏈恆定區，依據 EU 索引所示的 234 位及 235 位之白胺酸被取代為丙胺酸。

(9)如上述(8)記載之抗體，其為包含由序列識別號 3 記載之胺基酸序列所構成的重鏈及由序列識別號 1 記載之胺基酸序列所構成的輕鏈而成的人類化單株抗體。

(10)如上述(1)~(4)中任一項記載之抗體，其為包含由序列識別號 29 記載之胺基酸序列所構成的重鏈及由序列識別號 28 記載之胺基酸序列所構成的輕鏈而成的人類化單株抗體。

(11)如上述(1)~(4)中任一項記載之抗體，其為包含由序列識別號 30 記載之胺基酸序列所構成的重鏈及由序列識別號 28 記載之胺基酸序列所構成的輕鏈而成的人類化單株抗體。

(12)如上述(1)~(11)中任一項記載之抗體，其於重鏈羧基末端有 1 或 2 個之胺基酸缺失。

(13)一種抗體，其係藉由包含下列步驟之抗體之製造方法而獲得：培養藉由含有編碼上述(1)~(12)之任一者記載之抗體的多核苷酸的表現載體而被轉形的宿主細胞的步驟、及自該步驟所獲得的培養物採取目的之抗體的步驟。

【0199】

＜2.2.2 抗體之糖鏈重塑＞

近年來，已報告藉由酵素反應重塑不均一的抗體之糖鏈，將具有官能基的糖鏈均一地導入的方法(ACS Chem.Biol.2012，7，110-122，ACS Med.Chem.Lett.2016，7，1005-1008)。已嘗試使用此糖鏈重塑技術，部位特異性地導入藥物，合成均一的 ADC(Bioconjugate Chem.2015，26，2233-2242，Angew.Chem.Int.Ed.2016，55，2361-2367，US2016361436)。

【0200】糖鏈之重塑係首先利用水解酵素，將被附加於蛋白質(抗體等)的不均一糖鏈僅殘留末端之 GlcNAc 而切除，調製有 GlcNAc 附加的均一蛋白質部分(以下，稱為「接受體(acceptor)」)。接著，準備另外調製的任意之糖鏈(以下，稱為「供予體(donor)」)，使用醣基轉移酵素，將此接受體與供予體連結。藉此，可合成具有任意之糖鏈結構的均一糖蛋白質。

【0201】於本發明，「糖鏈」係意指 2 個以上之單糖藉由糖苷鍵而結合的結構單元。有時會將具體的單糖或糖鏈，縮寫為例

如「GlcNAc-」、「SG-」而標記。於結構式中以此等之縮寫記載的情形，於還原末端歸屬於與其他結構單位之糖苷鍵的氧原子或氮原子，除了有特別定義的情形外，係被表示為不含於表示該糖鏈的縮寫中者。

【0202】於本發明，為糖鏈之基本單元的單糖之記載，除了另外定義的情形之外，為方便起見，於該環結構，將與構成環的氧原子結合，且與羥基(或歸屬於糖苷鍵的氧原子)直接鍵結的碳原子標記為第 1 位(僅於唾液酸為第 2 位)。實施例化合物之名稱係以化學結構整體命名者，未必適用此規則。

【0203】於本發明，將糖鏈記載為記號(例如，SG、MSG、GlcNAc 等)的情形，除了另外定義的情形外，設定直至還原末端的碳為包含於該記號者，且設定歸屬於 N-或 O-糖苷鍵的 N 或 O 為未包含於該記號者。

【0204】本發明之抗體藥物結合物係下式所示

【0205】

，

抗體 Ab 或其功能性片段係自該胺基酸殘基(例如，半胱胺酸、離胺酸等)之側鏈直接與 L 結合，或自 Ab 之糖鏈或被重塑的糖鏈與 L 結合。

【0206】本發明中的 Ab 之糖鏈為 N 結合型糖鏈或 O 結合型糖鏈，較佳為 N 結合型糖鏈。

【0207】N 結合型糖鏈係藉由 N 糖苷鍵，O 結合型糖鏈係藉由 O 糖苷鍵，與抗體之胺基酸側鏈結合。

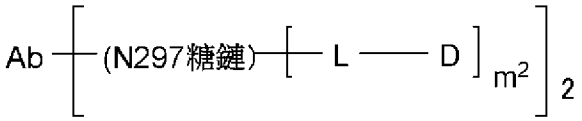
【0208】本發明之 Ab 為 IgG，較佳為 IgG1、IgG2 或 IgG4。

【0209】已知 IgG 具有於其重鏈之 Fc 區域中的第 297 號之天冬醯胺殘基(以下，稱為「Asn297 或 N297」)被良好地保存的 N 結合型糖鏈，有助於抗體分子之活性或動態等(Eon-Duval，A.et al，Biotechnol.Prog.2012，28，608-622、Sanglier-Cianferani，S.，Anal.Chem.2013，85，715-736)。

【0210】IgG 之恆定區中的胺基酸序列被良好地保存，於 Edelman 等人之報告(Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.，63，78-85，(1969))，各自之胺基酸以 EU 編號(EU INDEX)指定。例如，於 Fc 區域附加 N 結合型糖鏈的 Asn297，係相當於 EU 編號第 297 位，即使由於分子之片段化或區域缺欠而實際的胺基酸位置有變動的情形，亦藉由以 EU 編號表示而胺基酸無歧意地被指定。

【0211】下圖表示本發明之抗體藥物結合物自抗體或其功能性片段之前述 N297 糖鏈與 L 結合的情形。

【0212】



【0213】又，將該具有被重塑的糖鏈的抗體稱為糖鏈重塑抗體。

【0214】SGP(α2,6-SGP)為唾液酸糖肽(Sialylglycopeptide)的縮寫，為 N 結合型糖肽的代表。SGP 係例如，可按照 WO2011/027868 記載之方法，自雞蛋的卵黃單離、純化。又，SGP 之純化品由東京化成工業及伏見製藥所販售。於本說明書，將 SGP 之糖鏈部分標記為 SG，將 SG 之還原末端的 GlcNAc 有

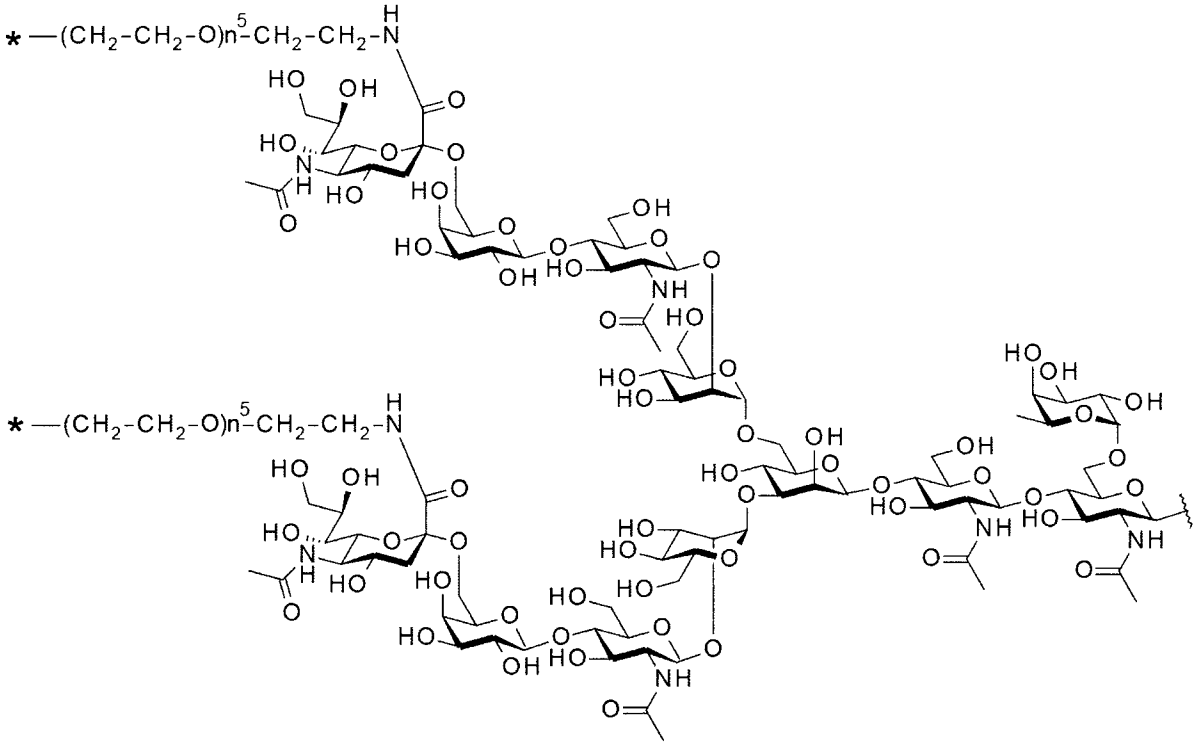
一個缺失的糖鏈標記為 SG(10)。SG(10)係例如，可參照梅川等人的報告(Biochim.Biophys.Acta 2010，1800，1203-1209)，藉由 SGP 之酵素的水解來調製。又，SG(10)亦可購自東京化成工業及伏見製藥所。

【0215】於本說明書，將僅於 SG(10)之 β-Man 的分支鏈之任一者有非還原末端的唾液酸缺失的糖鏈結構標記為 MSG(9)，各自將僅於分支鏈之 1-3 糖鏈有唾液酸者標記為 MSG1，將僅於分支鏈之 1-6 糖鏈有唾液酸者標記為 MSG2。

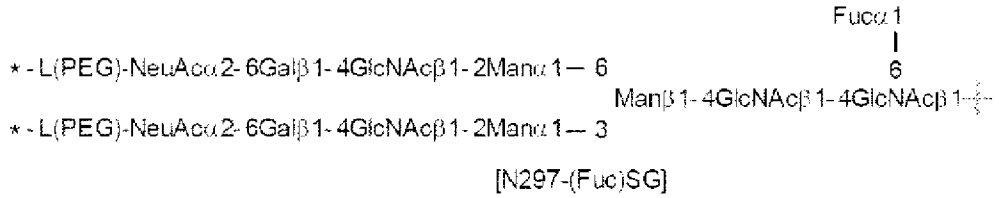
【0216】本發明之被重塑的糖鏈為 N297-(Fuc)SG、N297-(Fuc)MSG1、N297-(Fuc)MSG2、或 N297-(Fuc)MSG1 及 N297-(Fuc)MSG2 之混合物，較佳為 N297-(Fuc)SG、N297-(Fuc)MSG1、或 N297-(Fuc)MSG2，更佳為 N297-(Fuc)SG 或 N297-(Fuc)MSG1。

【0217】N297-(Fuc)SG 以下列之結構式或序列式表示。

【0218】



【0219】



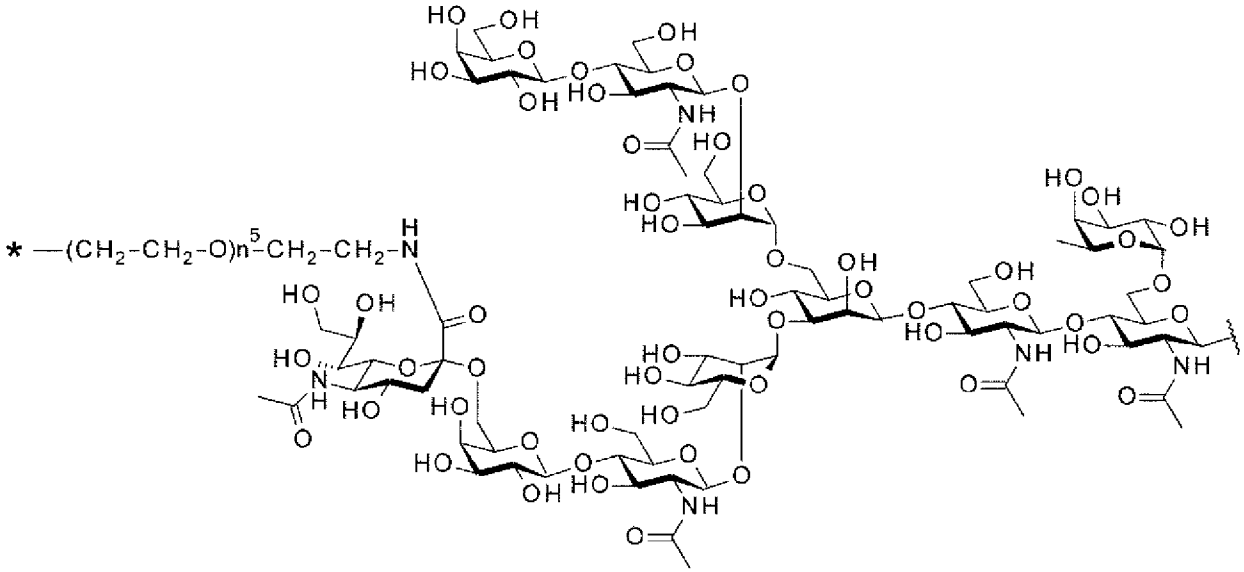
[N297-(Fuc)SG]

【0220】上述式中，波浪線表示與抗體之 Asn297 結合者，L(PEG)表示-(CH_2-CH_2-O)n^5-CH_2-CH_2-NH-，且表示右端之胺基與 N297 糖鏈之 β-Man 的分支鏈之 1-3 鏈側及 1-6 鏈側的兩者之非還原末端之唾液酸的 2 位之羧基作醯胺鍵結，星號表示與前述連接子 L，尤其是與連接子 L 中的 Lb 之 1,2,3-三唑環上之 1 位或 3 位之氮原子結合者，

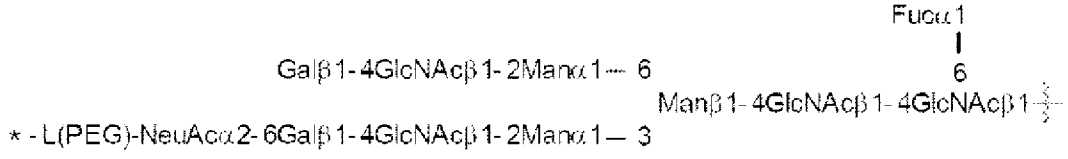
其中，n^5 為 2~10 之整數，較佳為 2~5 之整數。

【0221】N297-(Fuc)MSG1 以下列之結構式或序列式表示。

【0222】



【0223】



[N297-(Fuc)MSG1]

【0224】上述式中，波浪線表示與抗體之 Asn297 結合者，

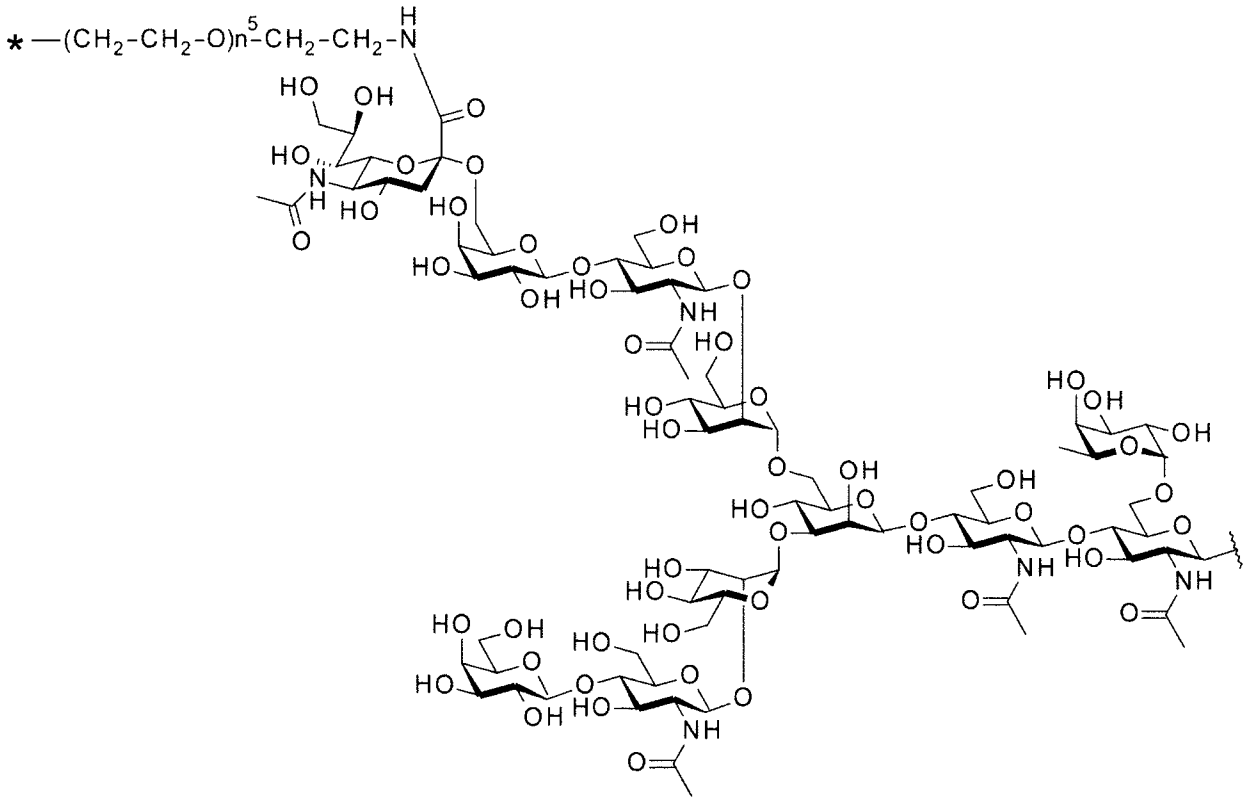
L(PEG)表示-(CH_2-CH_2-O)n^5-CH_2-CH_2-NH-，且表示右端之胺基與 N297 糖鏈之 β-Man 之分支鏈的 1-3 鏈側之非還原末端之唾液酸的 2 位之羧基作醯胺鍵結，

星號表示與前述連接子 L，尤其是與連接子 L 中的 Lb 之 1,2,3-三唑環上之 1 位或 3 位之氮原子結合者，

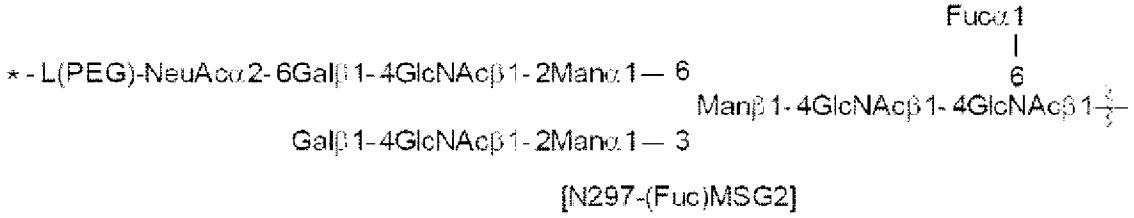
其中，n^5 為 2~10 之整數，較佳為 2~5 之整數。

【0225】N297-(Fuc)MSG2 以下列之結構式或序列式表示。

【0226】



【0227】



【0228】上述式中，波浪線表示與抗體之 Asn297 結合者，

L(PEG)表示-$(CH_2-CH_2-O)n^5-CH_2-CH_2-NH-$，且表示右端之胺基與 N297 糖鏈之 β-Man 之分支鏈之 1-6 鏈側的非還原末端之唾液酸之 2 位的羧基作醯胺鍵結，星號表示與前述連接子 L，尤其是與連接子 L 中的 Lb 之 1,2,3-三唑環上之 1 位或 3 位之氮原子結合者，

其中，n^5 為 2~10 之整數，較佳為 2~5 之整數。

【0229】本發明之抗體藥物結合物中的抗體之 N297 糖鏈為 N297-(Fuc)SG 的情形，因抗體為二聚體，而抗體藥物結合物成為 4 個連接子 L 及 4 個藥物 D 所結合的分子(上述 $m^2=2$)。

本發明之抗體藥物結合物中的抗體之 N297 糖鏈為 N297-(Fuc)MSG1 或 N297-(Fuc)MSG2 或彼等之混合物的情形，因抗體為二聚體，而抗體藥物結合物成為 2 個連接子 L 及 2 個藥物 D 結合的分子(上述 $m^2=1$)(參照圖 1)。

【0230】N297 糖鏈較佳為 N297-(Fuc)SG 或 N297-(Fuc)MSG1 或 N297-(Fuc)MSG2，更佳為 N297-(Fuc)SG。

【0231】本發明之抗體藥物結合物中的抗體之 N297 糖鏈為 N297-(Fuc)SG 或 N297-(Fuc)MSG1 或 N297-(Fuc)MSG2 的情形，可獲得均一性高的 ADC。

【0232】

＜3.製造方法＞

說明本發明之新穎 CDN 衍生物及其抗體藥物結合物或彼等之製造中間體之代表性的製造方法。又，於以下，為了表示化合物，使用各反應式中所示的化合物之編號。即，稱為「式(1)之化合物」、「化合物(1)」等。又，於其以外之編號之化合物亦同樣地記載。

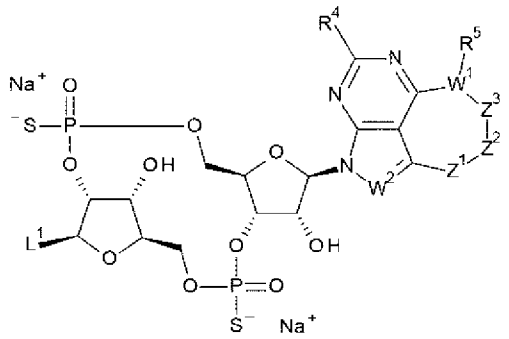
【0233】於下述之 A 法~E 法，取代基 R^1~R^5、L^1、L^2、W^1、W^2、Z^1~Z^3 係與前述同意義。取代基 R^a、R^c、R^e 及 R^g 表示天然型 α-胺基酸之側鏈。例如，甲基、異丙基、二級丁基、異丁基、苄基等。PRO^1 表示一級醇之保護基。較佳表示 4,4'-二甲氧基三苯甲基、4-甲氧基三苯甲基等。PRO^2、PRO^3、PRO^7、PRO^8 表示二級醇之保護基。較佳為三級丁基二甲基矽基、三異丙基矽基氧基甲基、苄醚基、2-硝基苄基、4-甲氧基四氫哌喃-4-基等。PRO^6 表示羧酸之保護基。較佳為三級丁基、苄基等。PRO^5、PRO^9 表示胺之保護基。PRO^5，較佳為三級丁基氧基羰基、9-芴基甲基氧基羰基、烯丙氧基羰基、2,2,2-三氯乙氧基羰基、苄基氧基羰基等，PRO^9，較佳 9-芴基甲基氧基羰基或 2-(三甲基矽基)乙氧基羰基。PRO^4 表示醇或胺之保護基。醇的情形，較佳為三級丁基二甲基矽基、苄醚基等，胺的情形，較佳為 2-(三甲基矽基)乙氧基羰基、烯丙氧基羰基、三級丁基氧基羰基等。Q^a 表示氧原子或硫原子，Q^b 表示羥基或硫醇基。$Q^{a'}$ 及 $Q^{b'}$ 各自獨立表示負電荷的氧原子(O^-)或硫原子(S^-)。R^x 及 R^y 各自獨立表示鹵素原子或-O-PRO^2。n 表示 1 至 3 之整數。

【0234】

A 法

本發明之(1)所表示的 CDN 衍生物可按照以下記載的 A 法來製造。

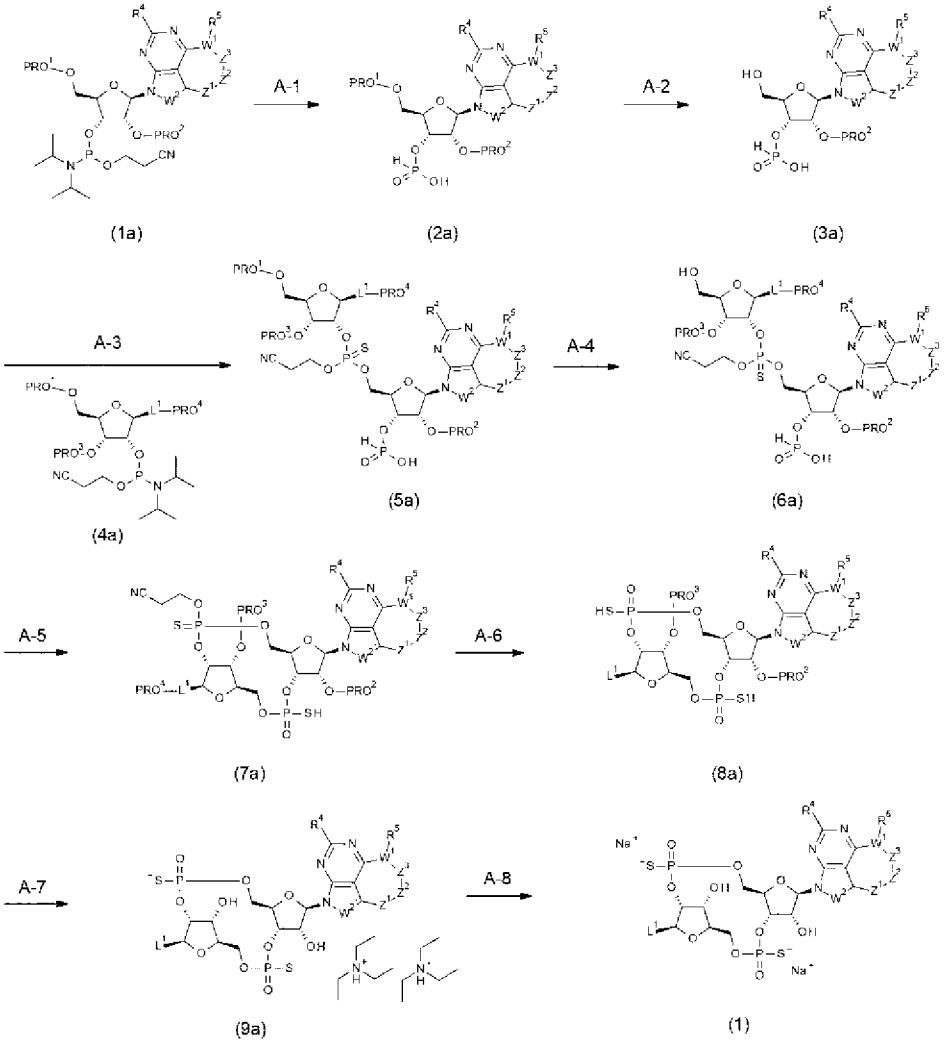
【0235】



(1)

【0236】本製造法係用以製造通式(1)所表示的化合物的方法。自本製造法之 A-1 步驟至 A-5 步驟能夠一鍋合成(One pot synthesis)，但可參照 Gaffney 等人之報告(Org.Lett.2010，12，3269-3271)而實施。

【0237】



【0238】

(A-1 步驟)

本步驟係藉由對式(1a)之化合物使用周知之有機化學的手法而連續進行水解反應及氰基乙基之移除，而製造式(2a)之化合物的步驟。

【0239】將化合物(1a)於溶劑(乙腈、四氫呋喃、N,N-二甲基甲醯胺或彼等之混合溶劑)中，於-10℃至反應所使用的溶劑之沸點為止，較佳為於 15℃至 35℃為止，藉由以水及酸(吡啶三氟乙酸鹽、4,5-二氰基咪唑、1H-四唑等)處理而實施水解反應。相對於化合物(1a)1 莫耳，水使用 2 莫耳至過剩莫耳，較佳為使用 2 莫耳至 10 莫耳，酸係使用 1 莫耳至過剩莫耳，較佳為使用 1 莫耳至 5 莫耳。反應時間為 1 分鐘至 3 小時，較佳為 5 分鐘至 30 分鐘。接著，於此反應液中添加鹼(三級丁基胺等)而移除氰基乙基。鹼，相對於化合物(1a)1 莫耳，使用過剩莫耳，較佳為使用 30 莫耳至 50 莫耳。反應時間為 5 分鐘至 6 小時，較佳為 15 分鐘至 1 小時。將反應液於減壓下濃縮，獲得化合物(2a)之粗體。化合物(2a)之粗體可不純化即進行下一步驟。

【0240】

(A-2 步驟)

本步驟係對式(2a)之化合物使用周知之有機化學的手法而去除羥基之保護基，並製造式(3a)之化合物的步驟。於開始本步驟之反應前，視需要，使用乙腈而共沸 1 次至 3 次，而使式(2a)之粗體乾燥。

【0241】PRO^1 為 4,4'-二甲氧基三苯甲基的情形，藉由將化合物(2a)於溶劑(二氯甲烷、氯仿、二氯乙烷等)中，於-10℃至反

應所使用的溶劑之沸點為止，較佳為於 15℃至 35℃為止，以水與酸(二氯乙酸、三氟乙酸等)處理，而移除 4,4'-二甲氧基三苯甲基。相對於化合物(2a)1 莫耳，水使用過剩莫耳，較佳為使用 10 莫耳至 20 莫耳，酸係以反應所使用的溶劑稀釋為 1%至 50%(v/v)，較佳為 5%至 10%(v/v)為止，且使用過剩莫耳，較佳為使用 5 莫耳至 15 莫耳的該稀釋溶液。反應時間為 1 分鐘至 3 小時，較佳為 5 分鐘至 30 分鐘。於反應液中添加吡啶而反應停止處理。吡啶係使用可充分中和所使用的酸之量，較佳為相對於酸 1 莫耳，使用 2 莫耳至 10 莫耳。將反應液於減壓下濃縮，獲得化合物(3a)之粗體。將化合物(3a)之粗體，使用脫水乙腈而共沸 3 次至 5 次。於最後之共沸時留下乙腈，獲得化合物(3a)之 0.01M 至 1M 之乙腈溶液。將獲得的乙腈溶液直接進行下一步驟。

【0242】

(A-3 步驟)

本步驟係藉由對式(3a)之化合物使用周知之有機化學的手法而連續進行與式(4a)之化合物之偶合反應及獲得的偶合體之硫化反應，而製造式(5a)之化合物的步驟。

開始本步驟之反應前，將化合物(4a)，使用脫水乙腈共沸 3 次至 5 次。於最後之共沸時留下乙腈，調製化合物(4a)之 0.01M 至 1M 之乙腈溶液。於此溶液中添加乾燥劑(粉末狀或團塊狀之分子篩 3A 或者分子篩 4A)，到使用溶液為止保存於氮或氬氣環境下。

【0243】於化合物(3a)之乙腈溶液中，於 5℃至 35℃為止，藉由添加經共沸乾燥的化合物(4a)之乙腈溶液而實施偶合反應。

反應時間為 1 分鐘至 24 小時，較佳為 5 分鐘至 6 小時。接著，於此反應液中添加硫化劑(N,N-二甲基-N'-(3-亞巯基-3H-1,2,4-二噻唑-5-基)甲脒、3H-1,2-苯并二硫醇-3-酮等)而實施硫化反應。硫化劑係相對於化合物(3a)1 莫耳，使用 1 莫耳至 5 莫耳，較佳為使用 1 莫耳至 2 莫耳。反應時間為 5 分鐘至 24 小時，較佳為 30 分鐘至 6 小時。將反應液於減壓下濃縮，獲得化合物(5a)之粗體。獲得的化合物(5a)之粗體直接進行下一步驟。

【0244】

(A-4 步驟)

本步驟係對於式(5a)之化合物使用周知之有機化學的手法而移除羥基之保護基，並製造式(6a)之化合物的步驟。

【0245】PRO^1 為 4,4'-二甲氧基三苯甲基的情形，藉由將化合物(5a)之化合物於溶劑(二氯甲烷、氯仿、二氯乙烷等)中，於 -10℃至反應所使用的溶劑之沸點為止，較佳為於 15℃至 35℃為止，以水及酸(二氯乙酸、三氟乙酸等)處理，而移除 4,4'-二甲氧基三苯甲基。相對於化合物(5a)1 莫耳，水使用過剩莫耳，較佳為使用 10 至 20 莫耳，酸以反應所使用的溶劑稀釋為 1%至 50%(v/v)，較佳為 5%至 10%(v/v)為止，且使用過剩莫耳，較佳為使用 5 莫耳至 15 莫耳的該稀釋溶液。反應時間為 1 分鐘至 3 小時，較佳為 5 分鐘至 30 分鐘。於反應液中添加吡啶而反應停止處理。吡啶係使用可充分中和所使用的酸之量，較佳為相對於酸 1 莫耳，使用 10 莫耳至 200 莫耳。將反應液於減壓下濃縮，獲得化合物(6a)之粗體。將獲得的化合物(6a)之粗體直接進行下一步驟。

【0246】

(A-5 步驟)

本步驟係對式(6a)之化合物使用周知之有機化學的手法而連續進行環化反應及硫化反應，而製造式(7a)之化合物的步驟。

將化合物(6a)溶解於吡啶後，減壓下濃縮而調製 0.01M 至 0.5M 之吡啶溶液。藉由於此吡啶溶液中，於 5℃至 35℃為止，添加脫水縮合劑(2-氯-5,5-二甲基-1,3,2λ^5-二氧磷環己烷-2-酮等)，而實施環化反應。脫水縮合劑係相對於化合物(6a)1 莫耳，使用 1 莫耳至過剩莫耳，較佳為使用 3 莫耳至 5 莫耳。反應時間為 1 分鐘至 6 小時，較佳為 5 分鐘至 1 小時。接著，於此反應液中添加水及硫化劑(3H-1,2-苯并二硫醇-3-酮、N,N-二甲基-N'-(3-亞巯基-3H-1,2,4-二噻唑-5-基)甲脒等)而實施硫化反應。相對於化合物(6a)1 莫耳，水使用過剩莫耳，較佳為使用 30 莫耳至 50 莫耳，硫化劑使用 1 莫耳至 5 莫耳，較佳為使用 1 莫耳至 2 莫耳。反應時間為 5 分鐘至 12 小時，較佳為 30 分鐘至 3 小時。將反應液加到碳酸氫鈉水溶液(0.1M 至 1M 為止)後，攪拌 15 分鐘至 24 小時而進行反應停止處理。反應液以有機溶劑(乙酸乙酯、二乙基醚、甲苯或彼等之混合溶劑)萃取 1 次至 5 次後，合併萃取液而以無水鹽(無水硫酸鈉或無水硫酸鎂)乾燥。濾除乾燥劑而減壓下濃縮濾液。將獲得的殘留物藉由矽膠管柱層析[二氯甲烷/甲醇、乙酸乙酯/甲醇、己烷/乙酸乙酯等]、C18 矽膠管柱層析[緩衝液/乙腈]或組合彼等而純化，獲得為 2 種類以上之非鏡像異構物混合物或 2 種類以上之純的非鏡像異構物之化合物(7a)。於本步驟，多數情形獲得 2 種類之非鏡像異構物，但依原料(1a)及(4a)而定，亦有時進一步獲得 1 種類或 2 種類之非鏡像異構物。即使獲得的化合物(7a)為複數之非鏡像異構物混合物，亦可不進一步純化而進行下一步驟。

【0247】

(A-6 步驟)

本步驟係對式(7a)之化合物使用周知之有機化學的手法，同時移除氰基乙基及全部之醯基系保護基，而製造式(8a)之化合物的步驟。本步驟視需要於高壓釜中或密封管中實施。

【0248】PRO^4 為苄醯基的情形，化合物(7a)之化合物於溶劑(甲醇、乙醇、四氫呋喃或彼等之混合溶劑)中，於 5℃至反應所使用的溶劑的沸點為止，藉由以 28%(v/v)氨水處理而移除氰基乙基及苄醯基。氨係相對於化合物(7a)1 莫耳，而使用過剩莫耳，較佳為使用 300 莫耳至 3000 莫耳。反應時間為 30 分鐘至 96 小時，較佳為 2 小時至 48 小時。視需要，將反應液濃縮，將殘留物藉由製備型 HPLC[緩衝液/乙腈、緩衝液/甲醇等]、C18 矽膠管柱層析[緩衝液/乙腈、緩衝液/甲醇等]或組合彼等而純化，獲得化合物(8a)。獲得的化合物(8a)即使為非鏡像異構物混合物，亦可不進一步純化即進行下一步驟。又，於本步驟亦可不純化而直接進行下一步驟。

【0249】

(A-7 步驟)

本步驟係對式(8a)之化合物使用周知之有機化學的手法，將全部之矽基系保護基同時去除，而製造式(9a)之化合物的步驟。

PRO^2 及 PRO^3 為三級丁基二甲基矽基的情形，藉由將化合物(8a)，於 5℃至 100℃為止，較佳為於 35℃至 60℃為止，直接以三乙基胺三氫氟酸鹽處理，而去除三級丁基二甲基矽基。三乙基胺三氫氟酸鹽，相對於化合物(8a)1 莫耳使用過剩莫耳，較佳為使用 100 至 200 莫耳。反應時間為 30 分鐘至 24 小時，較

佳為 2 小時至 12 小時。將反應液冷卻至室溫後，於反應液中一點一點地注入冰冷的 1M 碳酸氫三乙基銨水溶液與三乙基胺之 3：1 至 10：1(v/v)之混合溶液而進行反應停止處理。視需要，亦可將反應液注入冰冷的 1M 碳酸氫三乙基銨水溶液與三乙基胺之混合溶液中。此情形，反應容器以乙腈及水洗淨。三乙基胺係使反應液之液性變化成弱鹼性的充分量，較佳為相對於三乙基胺三氫氟酸鹽 1 莫耳，使用三乙基胺約 2 莫耳。將反應液之有機溶劑成分於減壓下餾除後，將殘留的水溶液藉由以製備型 HPLC[緩衝液/乙腈、緩衝液/甲醇等]、C18 矽膠管柱層析[緩衝液/乙腈、緩衝液/甲醇等]或組合彼等而純化，獲得為單一之非鏡像異構物之化合物(9a)。

【0250】

(A-8 步驟)

本步驟係對式(9a)之化合物使用周知之有機化學的手法而作離子交換，而製造式(1)之化合物的步驟。

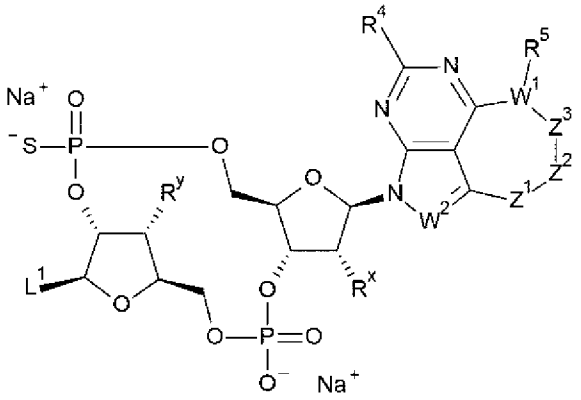
使陽離子交換樹脂(BT AG(註冊商標)50W-X2 樹脂，100-200 網目，氫型)懸浮於純水，填充於空的管柱筒。陽離子交換樹脂係使用重量比為化合物(9a)之 10 倍至 50 倍量。使過剩的純水自然流下後，使 1M 氫氧化鈉水溶液自然流下 3 管柱體積，接著，使 6 管柱體積之純水自然流下。將化合物(9a)溶解於約 3 管柱體積之純水，裝填於管柱中。化合物難溶解於純水的情形，可使用與少量之有機溶劑(乙腈、甲醇等)的混合液。分取自然流下的溶液後，再以 6 管柱體積之純水等溶析，分取流份(fraction)。合併含目的物的流份而冷凍乾燥，獲得為單一之非鏡像異構物之化合物(1)。

【0251】

A’法

本發明之(1’)所表示的CDN衍生物係可按照以下記載的A’法而製造。

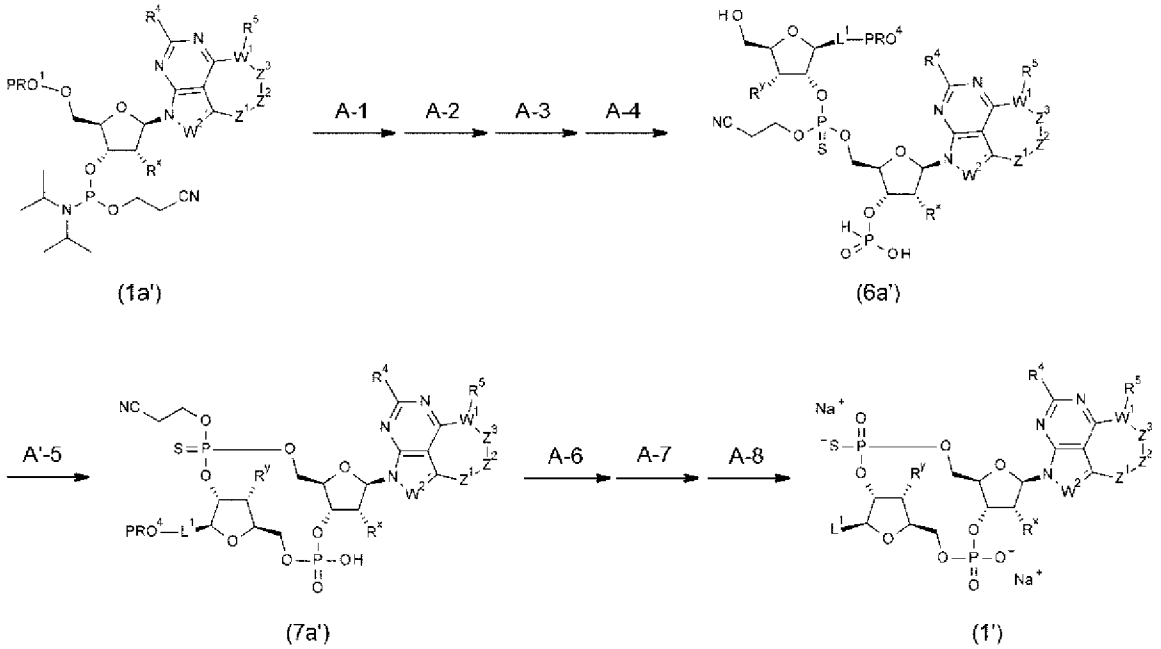
【0252】



(1')

【0253】本製造法係變更A法的一部分而用以製造通式(1’)所表示的化合物的方法。具體而言，通式(1’)之化合物係可將A法A-5步驟變更為以下所示的A’-5步驟而製造。又，取代基R^x及R^y兩者為鹵素原子的情形，可省略A-7步驟。

【0254】



(1a')　(6a')　(7a')　(1')

【0255】

(A’-5 步驟)

本步驟係對式(6a’)之化合物使用周知之有機化學的手法而連續進行環化反應及氧化反應，而製造式(7a’)之化合物的步驟。

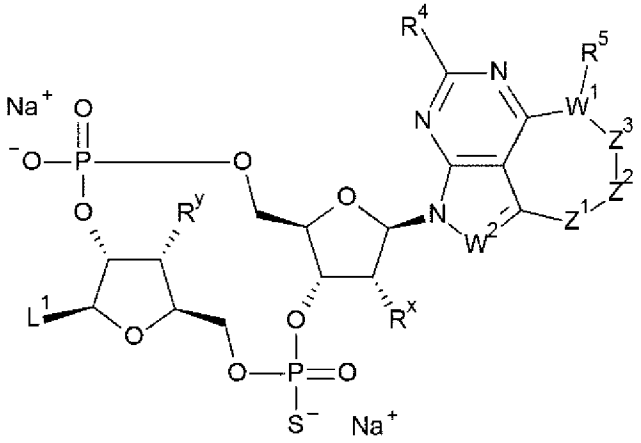
將化合物(6a’)溶解於吡啶後，減壓下濃縮，而調製 0.01M 至 0.5M 之吡啶溶液。於此吡啶溶液中，於 5℃至 35℃為止，添加脫水縮合劑(2-氯-5,5-二甲基-1,3,2λ^5-二氧磷環己烷-2-酮等)而實施環化反應。脫水縮合劑係相對於化合物(6a’)1 莫耳，使用 1 莫耳至過剩莫耳，較佳為使用 3 莫耳至 5 莫耳。反應時間為 1 分鐘至 6 小時，較佳為 5 分鐘至 1 小時。接著，於此反應液中添加水及氧化劑(碘等)而實施氧化反應。相對於化合物(6a’)1 莫耳，水係使用 0 莫耳至過剩莫耳，較佳為使用 30 莫耳至 50 莫耳，氧化劑係使用 2 莫耳至 10 莫耳，較佳為使用 3 莫耳至 5 莫耳。反應時間為 5 分鐘至 12 小時，較佳為 30 分鐘至 3 小時。將反應液加至碳酸氫鈉水溶液(0.1M 至 1M 為止)，攪拌 15 分鐘至 24 小時而進行反應停止處理。反應液以有機溶劑(乙酸乙酯、二乙基醚、甲苯或彼等之混合溶劑)萃取 1 次至 5 次後，合併萃取液而以無水鹽(無水硫酸鈉或無水硫酸鎂)乾燥。濾除乾燥劑而減壓下濃縮濾液。將獲得的殘留物藉由矽膠管柱層析[二氯甲烷/甲醇、乙酸乙酯/甲醇、己烷/乙酸乙酯等]、C18 矽膠管柱層析[緩衝液/乙腈]或組合彼等而純化，獲得化合物(7a’)。

【0256】

A’’法

本發明之(1’’)所表示的 CDN 衍生物可按照以下記載的 A’’法而製造。

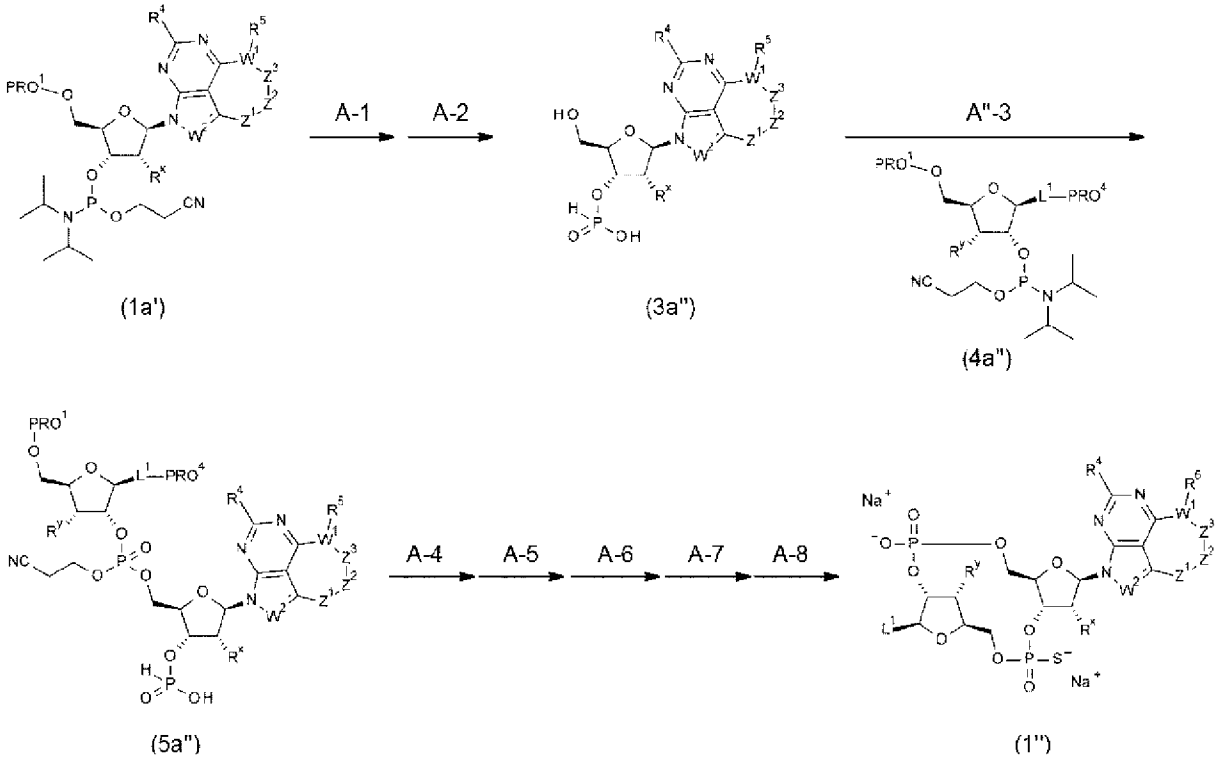
【0257】



(1'')

【0258】本製造法係變更A法之一部分而用以製造通式(1'')所表示的化合物之方法。具體而言，通式(1'')之化合物係可將A法之A-3步驟變更為以下所示的A''-3步驟而製造。又，取代基R^x與R^y兩者為鹵素原子的情形，可省略A-7步驟。

【0259】



【0260】

(A''-3步驟)

本步驟係藉由對式(3a'')之化合物使用周知之有機化學的手法而連續進行與式(4a'')之化合物之偶合反應及獲得的偶合體之氧化反應，而製造式(5a'')之化合物的步驟。

開始本步驟之反應前，將化合物(4a'')，使用脫水乙腈而共沸 3 次至 5 次。於最後之共沸時留下乙腈，調製化合物(4a'')之 0.01M 至 1M 之乙腈溶液。於此溶液中添加乾燥劑(粉末狀或團塊狀之分子篩 3A 或者分子篩 4A)，使用溶液為止保存於氮或氬氣環境下。

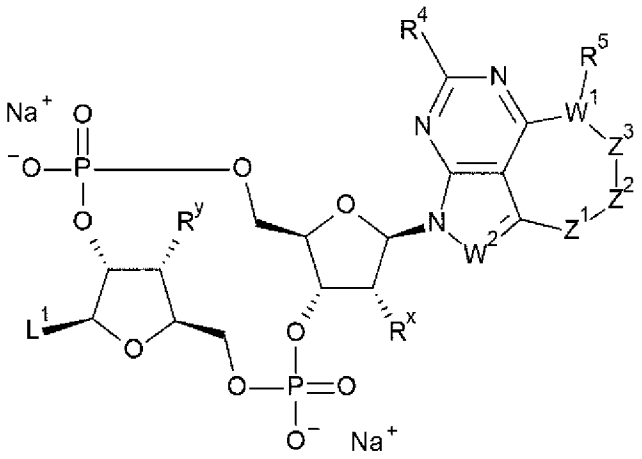
【0261】藉由於化合物(3a'')之乙腈溶液中，於 5℃至 35℃為止，添加經共沸而使乾燥的化合物(4a'')之乙腈溶液，而實施偶合反應。反應時間為 1 分鐘至 24 小時，較佳為 5 分鐘至 6 小時。接著，於此反應液中添加氧化劑(氫過氧化三級丁基等)而實施氧化反應。氧化劑係相對於化合物(3a'')1 莫耳，使用 1 莫耳至 5 莫耳，較佳為使用 2 莫耳至 3 莫耳。反應時間為 5 分鐘至 24 小時，較佳為 30 分鐘至 6 小時。於反應液中添加飽和硫代硫酸鈉水溶液，攪拌 10 分鐘至 12 小時而進行反應停止處理。將反應液以有機溶劑(二氯甲烷與甲醇之混合溶劑等)萃取 1 至至 5 次後，合併萃取液而以無水鹽(無水硫酸鈉或無水硫酸鎂)乾燥。濾除乾燥劑而減壓下濃縮濾液，獲得化合物(5a'')之粗體。將獲得的化合物(5a'')之粗體直接進行下一步驟。

【0262】

A'''法

本發明之(1''')所表示的 CDN 衍生物可按照以下記載的 A'''法而製造。

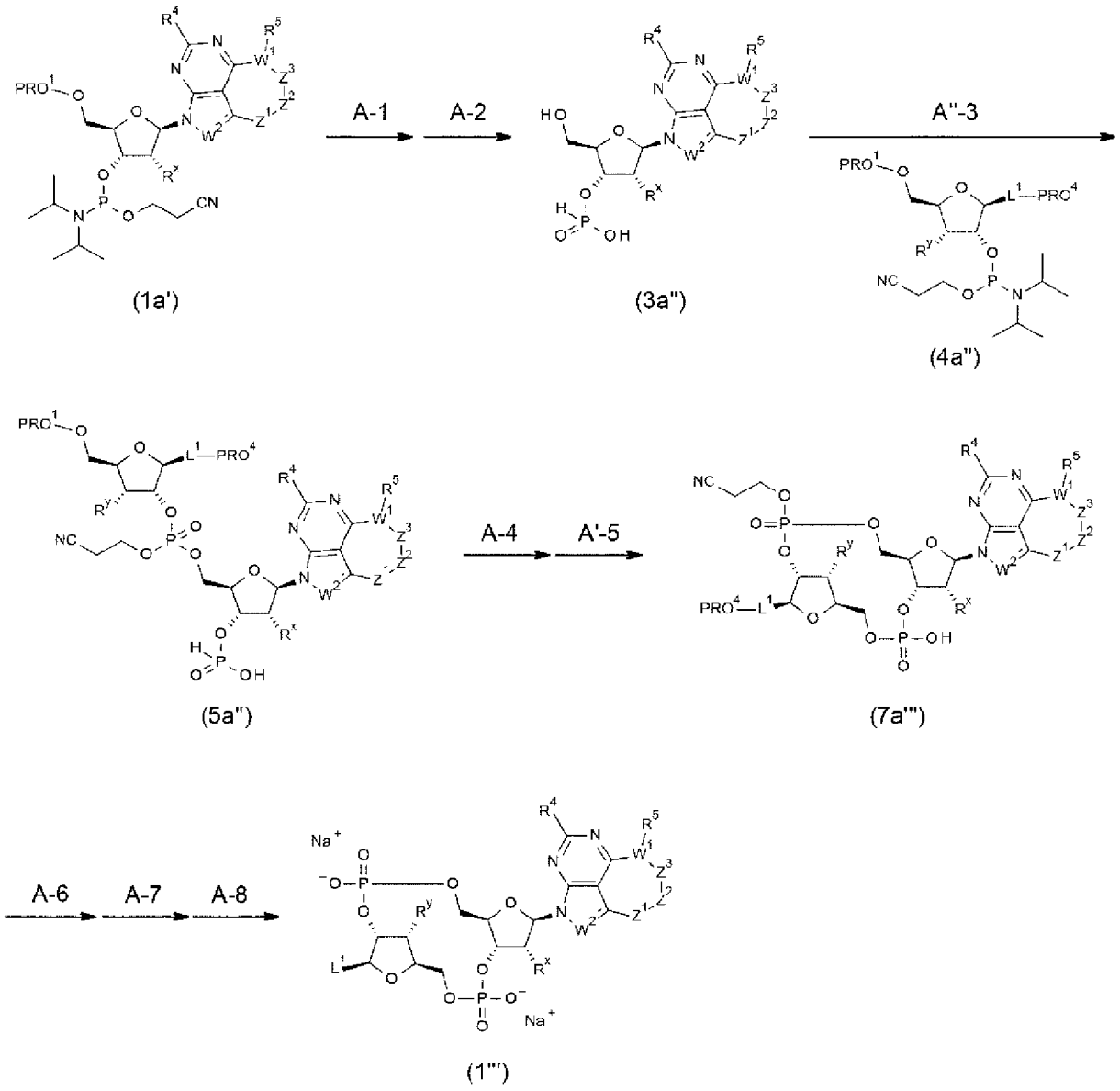
【0263】



(1''')

【0264】本製造法係變更 A 法之一部分而用以製造通式(1’’’)所表示的化合物之方法。具體而言，通式(1’’’)之化合物係可將 A 法之 A-3 步驟變更為 A’’-3 步驟，將 A-5 步驟變更為 A’-5 步驟而製造。又，取代基 R^x 與 R^y 兩者為鹵素原子的情形，可省略 A-7 步驟。

【0265】

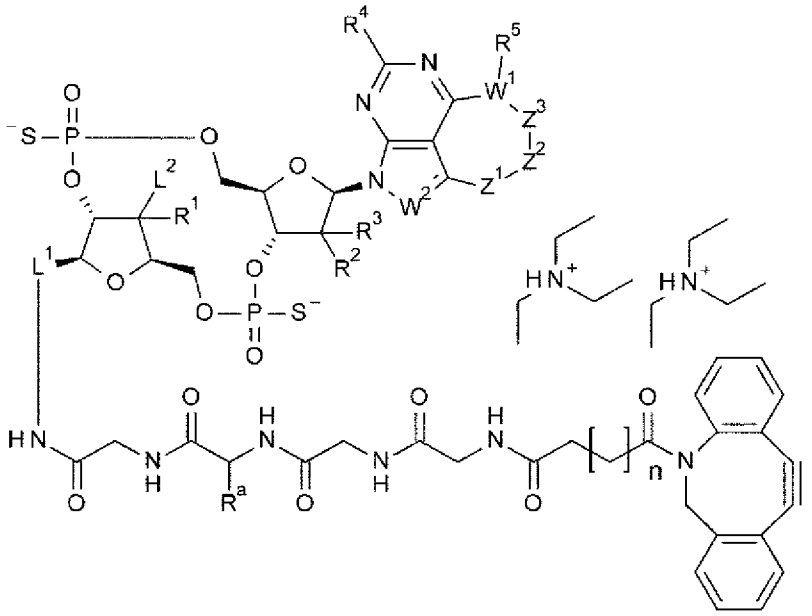


【0266】

B 法：結合前驅物(糖鏈結合)

本發明之(2)所表示的結合前驅物可按照以下記載的 B 法而製造。

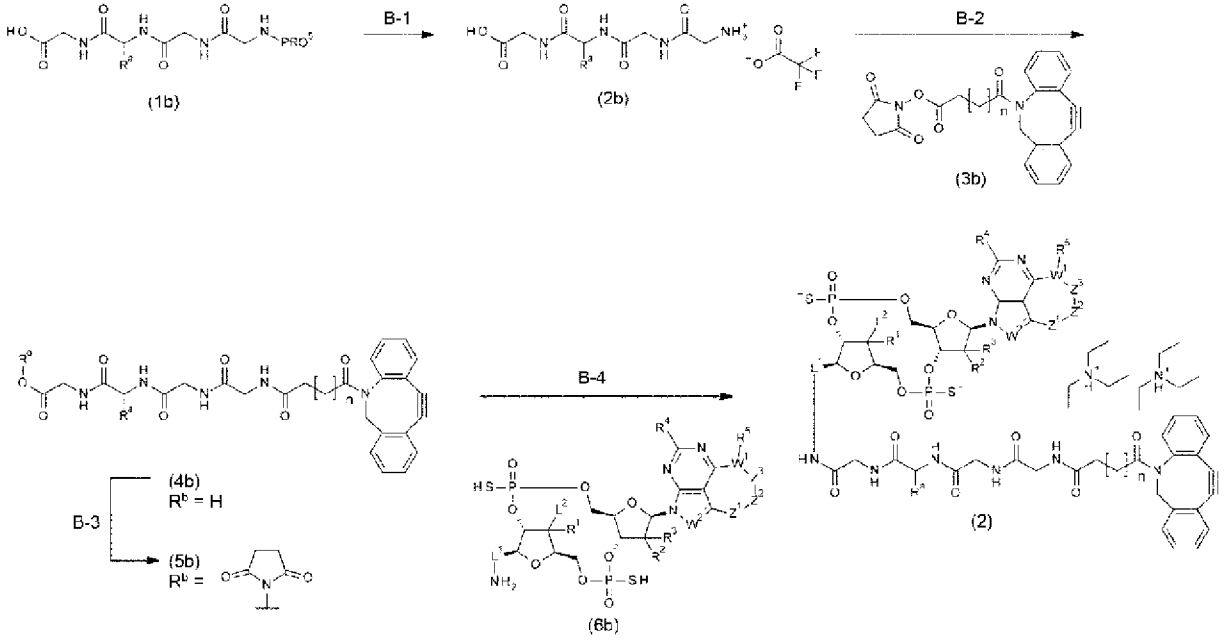
【0267】



(2)

【0268】本製造法係用以製造於 L^1 之任意位置有-NH_2 被取代的情形之結合前驅物(2)之方法。

【0269】



【0270】

(B-1 步驟)

本步驟係藉由對式(1b)之化合物使用周知之有機化學的手法而移除保護基，而製造式(2b)之化合物的步驟。

【0271】PRO^5 為三級丁基氧基羰基的情形，藉由將化合物(1b)於溶劑(二氯甲烷、二噁烷、乙腈、乙酸乙酯、四氫呋喃、或彼等之混合溶劑)中，於-10℃至反應所使用的溶劑之沸點為止，較佳為於 15℃至 35℃為止，以三氟乙酸處理，而移除保護基。三氟乙酸係相對於化合物(1b)1 莫耳，使用過剩莫耳，較佳為使用 20 莫耳至 50 莫耳。反應時間為 5 分鐘至 24 小時，較佳為 30 分鐘至 6 小時。反應液於減壓下濃縮後，使懸浮於甲苯而再次於減壓下濃縮。重複此操作 2 次至 5 次。添加溶劑(二乙基醚、二異丙基醚、己烷、二氯甲烷、乙酸乙酯或彼等之混合溶劑)而作成漿液狀後，濾取固體，而獲得化合物(2b)之粗體。化合物(2b)之粗體係未進一步純化而進行下一步驟。

【0272】

(B-2 步驟)

本步驟係藉由對式(2b)之化合物使用周知之有機化學的手法而進行與式(3b)之化合物之醯胺化，而製造式(4b)之化合物的步驟。

【0273】藉由使化合物(2b)於溶劑(N,N-二甲基甲醯胺、N-甲基吡咯啶酮、N,N-二甲基乙醯胺、乙腈等)中，於 5℃至 35℃為止，與鹼(三乙基胺、N,N-二異丙基乙基胺等)及化合物(3b)反應而實施醯胺化。相對於化合物(2b)1 莫耳，鹼係使用 1 莫耳至 5 莫耳，化合物(3b)係使用 0.5 莫耳至 1.5 莫耳。反應時間為 10 分鐘至 72 小時，較佳為 1 小時至 24 小時。將反應液注入有機溶劑(二氯甲烷、氯仿、乙酸乙酯、甲醇或其混合溶劑)與水或酸性水溶液(0.1 至 1M 之鹽酸、檸檬酸水溶液等)之二層，以有機溶劑萃取 1 次至 5 次。合併萃取液而以飽和食鹽水洗淨後，以無水

鹽(無水硫酸鈉或無水硫酸鎂)乾燥。濾除乾燥劑而將濾液於減壓下濃縮。又，亦可省略上述分液操作，而將反應液直接於減壓下濃縮而繼續進行接下來的矽膠管柱純化。將獲得的殘留物以矽膠管柱層析[二氯甲烷/甲醇、乙酸乙酯/甲醇等]純化，而獲得化合物(4b)。亦可視需要，藉由將獲得的化合物(4b)溶解於良溶劑(乙酸乙酯、乙腈、二氯甲烷、甲醇或彼等之混合溶劑)後，添加不良溶劑(二乙基醚、二異丙基醚、己烷等)而再沉澱，濾取固體以提升純度。

【0274】

(B-3 步驟)

本步驟係藉由對式(4b)之化合物使用周知之有機化學的手法而進行酯化，而製造式(5b)之化合物的步驟。

藉由使化合物(4b)於溶劑(N,N-二甲基甲醯胺、N,N-二甲基乙醯胺、N-甲基吡咯啶酮、乙腈等)中，於 5℃至 35℃為止，與 N-羥基琥珀醯亞胺及縮合劑(1-乙基-3-(3-二甲基胺基丙基)碳二亞胺鹽酸鹽等)反應，而實施酯化。N-羥基琥珀醯亞胺及縮合劑係相對於化合物(4b)1 莫耳，各自使用 1 莫耳至 3 莫耳。反應時間為 30 分鐘至 72 小時，較佳為 2 小時至 24 小時。反應液以有機溶劑(二氯甲烷、氯仿、乙酸乙酯或其混合溶劑)稀釋後，以冰水洗淨 3 次至 5 次。將有機層使用無水鹽(無水硫酸鈉或無水硫酸鎂)而乾燥。濾除乾燥劑後，減壓下濃縮濾液而獲得化合物(5b)之粗體。亦可視需要，而將獲得的化合物(5b)以 C18 矽膠管柱層析[僅乙腈]純化。又，可藉由將獲得的化合物(5b)溶解於良溶劑(乙酸乙酯、乙腈、二氯甲烷或彼等之混合溶劑)後，添加不良溶劑(二乙基醚、二異丙基醚、己烷等)而再沉澱，濾取固體以提升純度。

【0275】

(B-4 步驟)

本步驟係藉由對式(5b)之化合物使用周知之有機化學的手法而進行與式(6b)之化合物之縮合反應，而製造式(2)之化合物的步驟。

【0276】藉由使化合物(6b)於溶劑中(N,N-二甲基甲醯胺、N,N-二甲基乙醯胺、N-甲基吡咯啶酮、乙腈等)，於-10℃至100℃為止，較佳為於15℃至35℃為止，與鹼(三乙基胺、N,N-二異丙基乙基胺等)及化合物(5b)反應，而實施縮合反應。相對於化合物(6b)1莫耳，鹼係使用2莫耳至5莫耳，化合物(5b)係使用1莫耳至2莫耳。反應時間為5分鐘至24小時，較佳為1小時至6小時。於反應液中添加苄基胺而進行反應停止處理。苄基胺係相對於化合物(6b)1莫耳，使用4莫耳至10莫耳。視需要而將反應液於減壓下部分地濃縮，將殘留的溶液藉由製備型HPLC[緩衝液/乙腈、緩衝液/甲醇等]、C18矽膠管柱層析[緩衝液/乙腈、緩衝液/甲醇等]或組合彼等而純化，獲得化合物(2)。

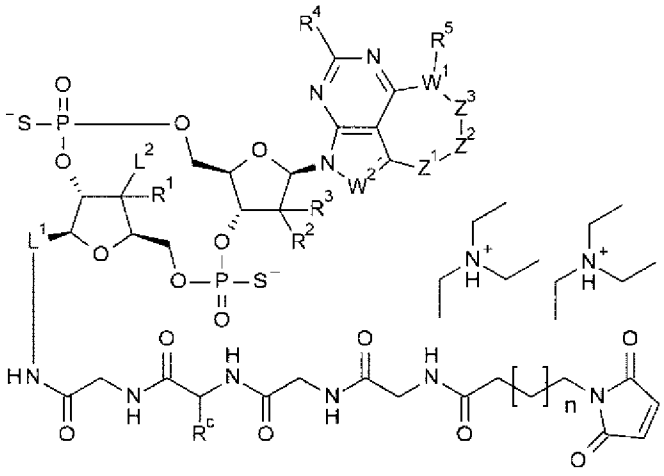
【0277】

B’法：結合前驅物(半胱胺酸結合)

B’法

本發明之(2’)所表示的結合前驅物可按照以下記載的 B’法而製造。

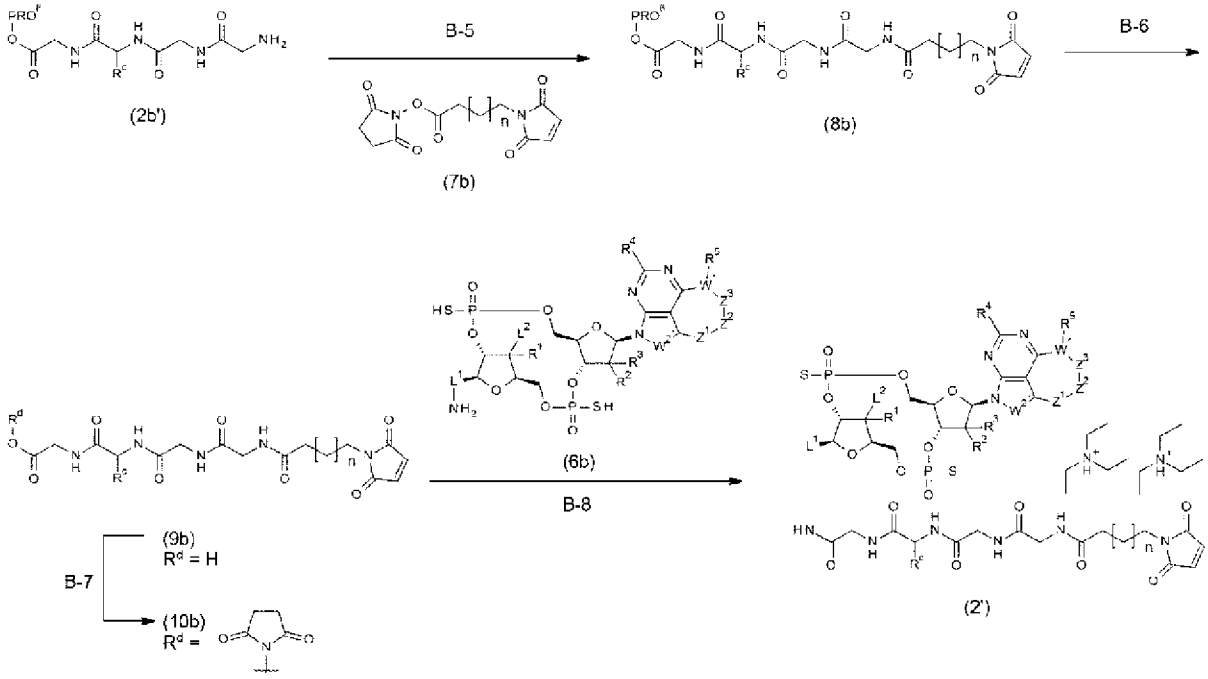
【0278】



(2')

【0279】本製造法係用以製造於 L^1 之任意位置有-NH_2 取代的情形之結合前驅物(2')之方法。

【0280】



【0281】

(B-5 步驟)

本步驟係藉由對式(2b')之化合物使用周知之有機化學的手法而進行與式(7b)之化合物之醯胺化，而製造式(8b)之化合物的步驟。除了未使用鹼以外，按照 B 法 B-2 步驟記載的手法而獲得化合物(8b)。

【0282】

(B-6 步驟)

本步驟係藉由對式(8b)之化合物使用周知之有機化學的手法而移除保護基，而製造式(9b)之化合物的步驟。PRO^6 為三級丁基的情形，除了於純化操作使用矽膠管柱層析[二氯甲烷/甲醇]以外，按照 B 法 B-1 步驟記載的手法而獲得化合物(9b)。

【0283】

(B-7 步驟)

本步驟係藉由對式(9b)之化合物使用周知之有機化學的手法而進行酯化，而製造式(10b)之化合物的步驟。按照 B 法 B-3 步驟記載的手法而獲得化合物(10b)。

【0284】

(B-8 步驟)

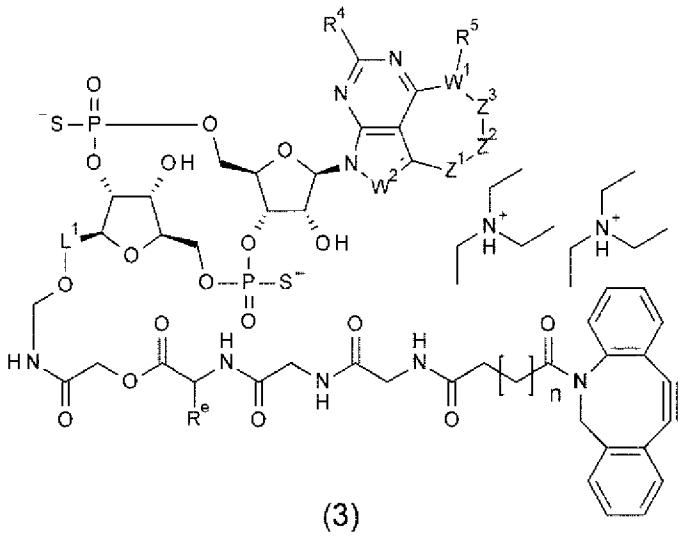
本步驟係藉由對式(6b)之化合物使用周知之有機化學的手法而進行與式(10b)之化合物之縮合反應，而製造式(2')之化合物的步驟。按照 B 法 B-4 步驟記載的手法而獲得化合物(2')。

【0285】

C 法

本發明之(3)所表示的結合前驅物係可按照以下記載的 C 法而製造。

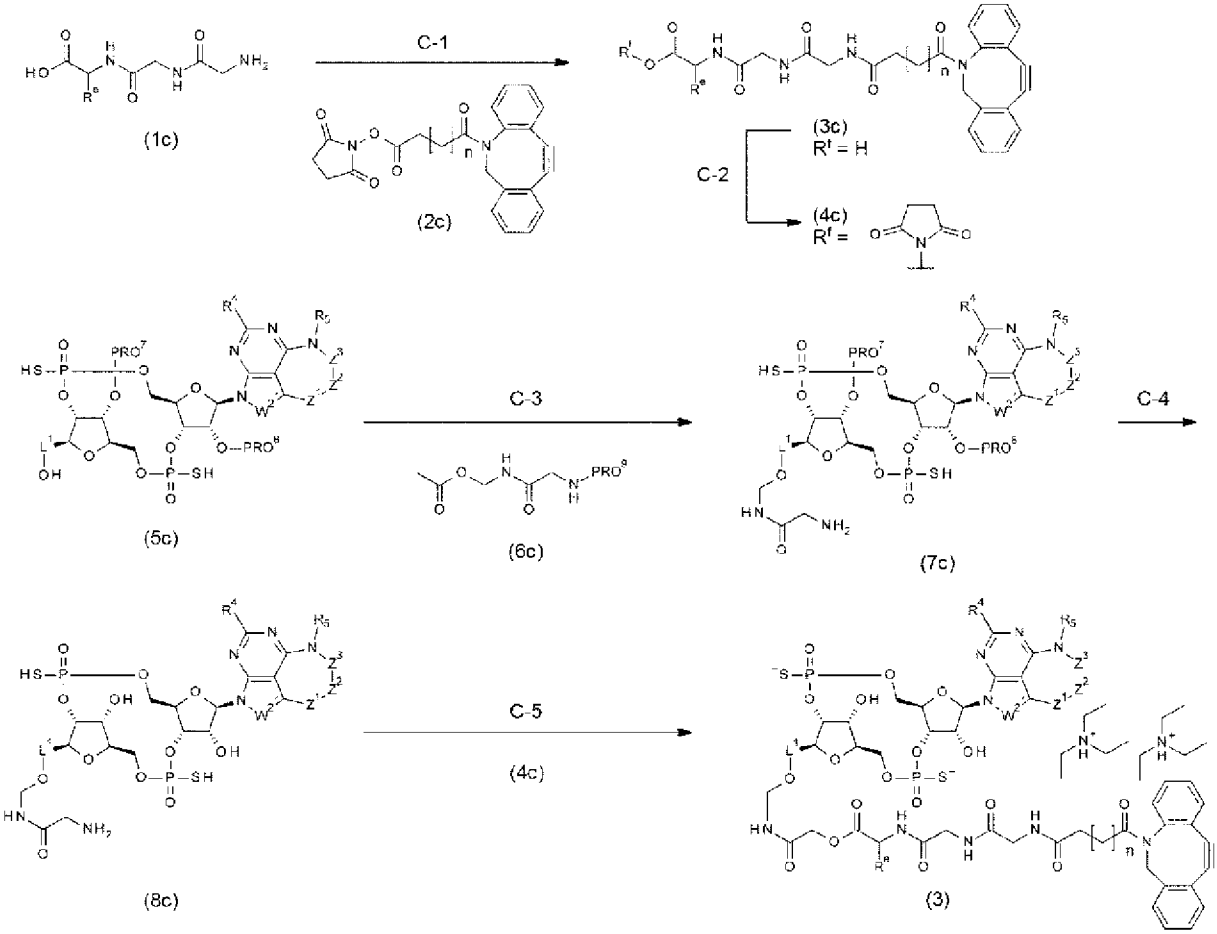
【0286】



(3)

【0287】本製造法係用以製造於 L^1 之任意位置有羥基取代的情形之結合前驅物(3)方法。

【0288】



【0289】

(C-1 步驟)

本步驟係藉由對式(1c)之化合物使用周知之有機化學的手法而進行與式(2c)之化合物之醯胺化，而製造式(3c)之化合物的步驟。按照B法B-2步驟記載的手法而獲得化合物(3c)。

【0290】

(C-2步驟)

本步驟係藉由對式(3c)之化合物使用周知之有機化學的手法而進行酯化，而製造式(4c)之化合物的步驟。按照B法B-3步驟記載的手法而獲得化合物(4c)。

【0291】

(C-3步驟)

本步驟係藉由對式(5c)之化合物使用周知之有機化學的手法而連續進行與式(6c)之化合物之偶合反應(胺基亞甲基化)及獲得的偶合體之脫保護，而製造式(7c)之化合物的步驟。

【0292】PRO^9為9-芴基甲基氧基羰基的情形，藉由使化合物(5c)於四氫呋喃中，於5℃至35℃為止，與化合物(6c)及酸(對甲苯磺酸等)反應，而實施胺基亞甲基化。相對於化合物(5c)1莫耳，化合物(6c)係使用1莫耳至20莫耳，較佳為使用2莫耳至10莫耳，酸係使用0.05莫耳至過剩莫耳，較佳為使用0.1莫耳至3莫耳。反應時間為30分鐘至72小時，較佳為2小時至24小時。接著，於反應液中添加鹼(1,8-二氮雙環[5.4.0]-7-十一烯等)，並實施脫保護。於反應液為懸浮的情形，可視需要追加溶劑(N,N-二甲基甲醯胺等)而使溶解後使反應。鹼係相對於化合物(5c)1莫耳而使用過剩莫耳，較佳為使用5莫耳至20莫耳。反應時間為10分鐘至24小時，較佳為2小時至12小時。於反應液中添加水，並直接以C18矽膠管柱層析[緩衝液/乙腈等]純化，獲得化合物(7c)。

【0293】

(C-4 步驟)

本步驟係對式(7c)之化合物使用周知之有機化學的手法而移除保護基，而製造式(8c)之化合物的步驟。PRO^7 及 PRO^8 為三級丁基二甲基矽基的情形，按照 A 法 A-7 步驟記載的手法而獲得化合物(8c)。

【0294】

(C-5 步驟)

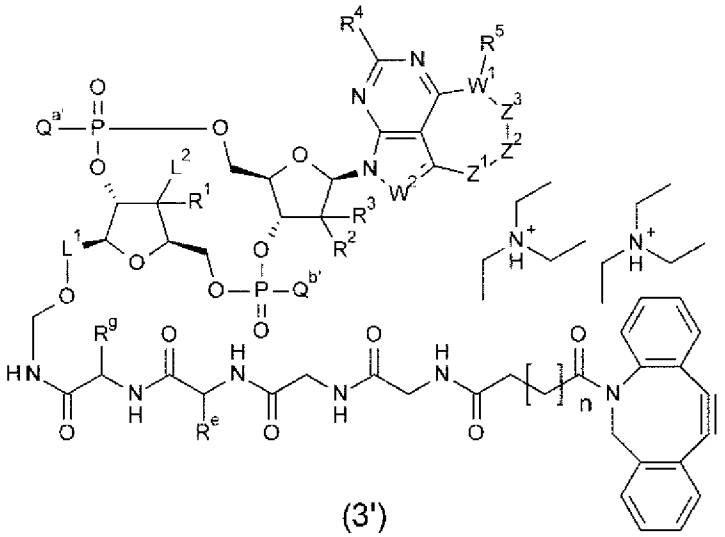
本步驟係藉由對式(8c)之化合物使用周知之有機化學的手法而進行與式(4c)之化合物之縮合反應，而製造式(3)之化合物的步驟。按照 B 法 B-4 步驟記載的手法而獲得化合物(3)。

【0295】

C’法

本發明之(3’)所表示的結合前驅物係可按照以下記載的 C’法而製造。

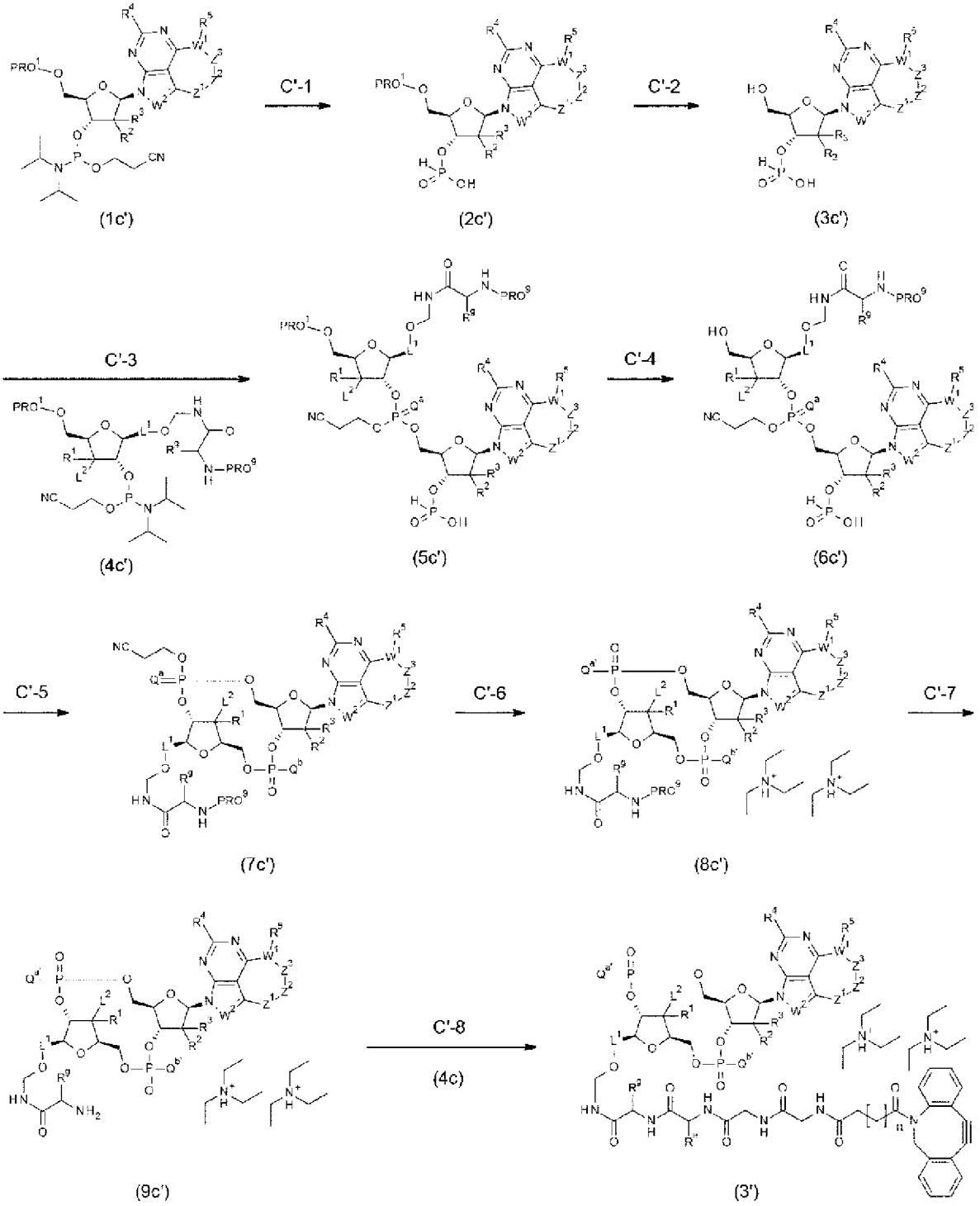
【0296】



(3')

【0297】本製造法係用以製造於 L^1 之任意位置有羥基取代的情形之結合前驅物(3’)的方法。

【0298】



【0299】

(C’-1 步驟)

本步驟係藉由對式(1c')之化合物使用周知之有機化學的手法而連續進行水解反應及氰基乙基之移除，而製造式(2c')之化合物的步驟。按照 A 法 A-1 步驟記載的手法而獲得化合物(2c')。

【0300】

(C'-2 步驟)

本步驟係對式(2c')之化合物使用周知之有機化學的手法而移除羥基之保護基，而製造式(3c')之化合物的步驟。按照 A 法 A-2 步驟記載的手法而獲得化合物(3c')。

【0301】

(C'-3 步驟)

本步驟係藉由對式(3c')之化合物使用周知之有機化學的手法而連續進行與式(4c')之化合物之偶合反應及獲得的偶合體之硫化反應或酸化反應，而製造式(5c')之化合物的步驟。按照 A 法 A-3 步驟或 A''法 A''-3 步驟記載的手法而獲得化合物(5c')。

【0302】

(C'-4 步驟)

本步驟係對式(5c')之化合物使用周知之有機化學的手法而移除羥基之保護基，而製造式(6c')之化合物的步驟。按照 A 法 A-4 步驟記載的手法而獲得化合物(6c')。

【0303】

(C'-5 步驟)

本步驟係對式(6c')之化合物使用周知之有機化學的手法而連續進行環化反應及硫化反應或氧化反應，而製造式(7c')之化合物的步驟。按照 A 法 A-5 步驟或 A'法 A'-5 步驟記載的手法而獲得化合物(7c')。

【0304】

(C’-6 步驟)

本步驟係對式(7c’)之化合物使用周知之有機化學的手法而同時移除氰基乙基及全部的醯基系保護基，而製造式(8c’)之化合物的步驟。按照 A 法 A-6 步驟記載的手法而獲得化合物(8c’)。

【0305】

(C’-7 步驟)

本步驟係對式(8c’)之化合物使用周知之有機化學的手法而同時移除全部的矽基系保護基，而製造式(9c’)之化合物的步驟。PRO^9 為 2-(三甲基矽基)乙氧基羰基的情形，藉由將化合物(8c’)於 5℃至 100℃為止，較佳為於 35℃至 60℃為止，以氟化四丁基銨之四氫呋喃溶液作處理，而移除 2-(三甲基矽基)乙氧基羰基。氟化四丁基銨係相對於化合物(8c’)1 莫耳，使用過剩莫耳，較佳為使用 10 至 30 莫耳。反應時間為 1 小時至 48 小時，較佳為 4 小時至 24 小時。於反應液中添加緩衝液而稀釋後，視需要而將有機溶劑成分於減壓下餾除。藉由將殘留物以製備型 HPLC[緩衝液/乙腈、緩衝液/甲醇等]、C18 矽膠管柱層析[緩衝液/乙腈、緩衝液/甲醇等]或組合彼等而純化，獲得化合物(9c’)。

【0306】

(C’-8 步驟)

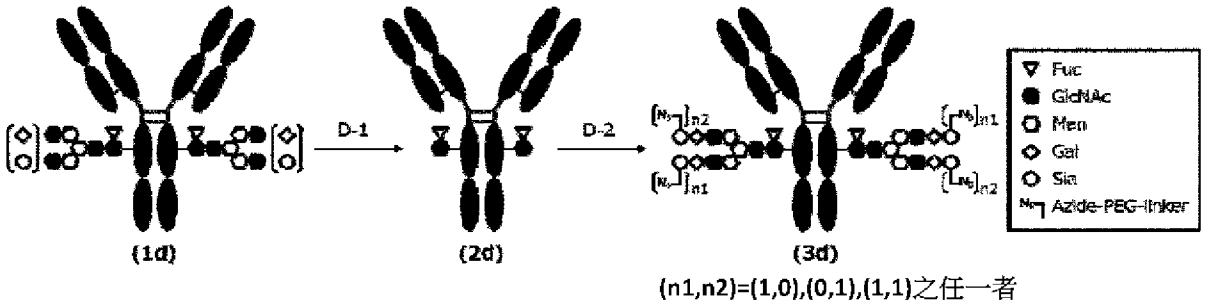
本步驟係藉由對式(9c’)之化合物使用周知之有機化學的手法而進行與式(4c)之化合物之縮合反應，而製造式(3’)之化合物的步驟。按照 B 法 B-4 步驟記載的手法而獲得化合物(3’)。

【0307】

D 法：糖鏈重塑抗體之製造

糖鏈重塑抗體可依據例如 WO2018/003983 等記載之方法，以下式所示方法製造。

【0308】



【0309】

(D-1 步驟)

本步驟係對目的之抗體，使用周知之酵素反應，而將與抗體之胺基酸序列第 297 號之天冬醯胺結合的 N 結合型糖鏈(N297 結合糖鏈)之還原末端幾丁二糖(chitobiose)結構之 GlcNAcβ1-4GlcNAc 間的糖苷鍵結，藉由水解而切斷，而製造糖鏈切斷抗體的步驟。

使目的之抗體(1d)(10mg/mL)於緩衝液(磷酸緩衝液等)中，於 0℃至 40℃為止，使用野生型 EndoS 酵素等之水解酵素，而實施還原末端之幾丁二糖結構的 GlcNAcβ1 與 4GlcNAc 間之糖苷鍵結的水解反應。反應時間為 10 分鐘至 72 小時，較佳為 1 小時至 6 小時。野生型 EndoS 酵素係相對於抗體(1d)100mg，使用 0.1mg 至 10mg，較佳為使用 0.1mg 至 3mg。反應結束後，以親和性層析法(HiTrap rProtein A FF(5ml)(GE HEALTHCARE 製))及/或羥磷灰石管柱(Bio-Scale Mini CHT Type I 筒(5ml)(BIO-RAD 製))純化，獲得(Fucα1，6)GlcNAc 抗體(2d)。

【0310】

(D-2 步驟)

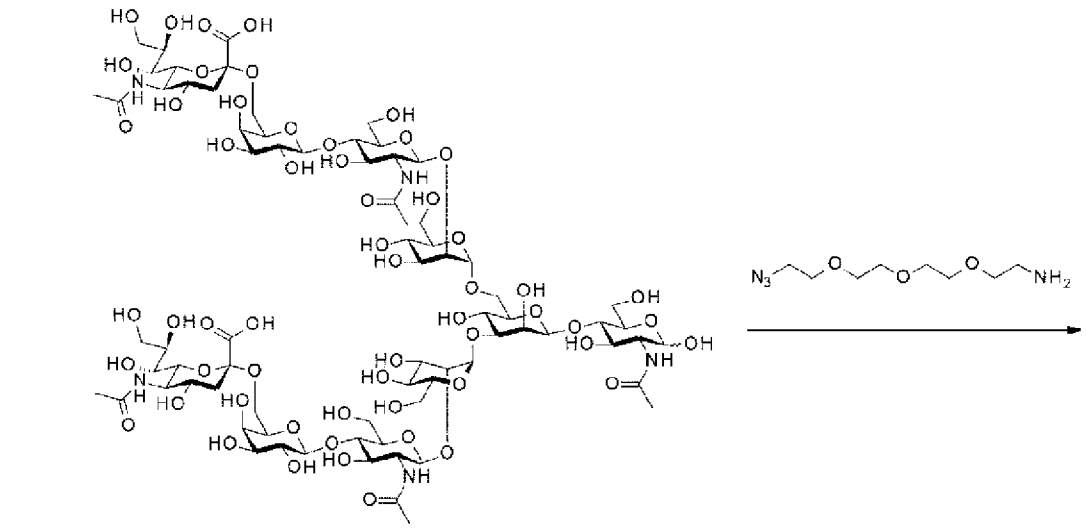
本步驟係對 D-1 步驟所獲得的(Fucα1，6)GlcNAc 抗體(2d)，使用周知之酵素反應，而使具有含有疊氮基的 PEG 連接子的 SG 型或 MSG(MSG1、MSG2)型糖鏈噁唑啉體(以下，「疊氮基糖鏈噁唑啉體」)結合，而製造糖鏈重塑抗體(3d)的步驟。

【0311】藉由使抗體(2d)於緩衝液(磷酸緩衝液等)中，於 0℃至 40℃為止，EndoS(D233Q/Q303L)等之醣基轉移酵素存在下，與疊氮基糖鏈噁唑啉體反應，以實施糖鏈轉移反應。反應時間為 10 分鐘至 72 小時，較佳為 1 小時至 6 小時。EndoS 酵素(D233Q/Q303L)係相對於抗體 100mg，使用 1mg 至 10mg，較佳為使用 1mg 至 3mg，疊氮基糖鏈噁唑啉體係使用 2 當量至過剩當量，較佳為使用 4 當量至 20 當量。反應結束後，以親和性層析法(HiTrap rProtein A FF(5ml)(GE HEALTHCARE 製))及羥磷灰石管柱(Bio-Scale Mini CHT Type I 筒(5ml)(BIO-RAD 製))純化，獲得糖鏈重塑抗體(3d)。

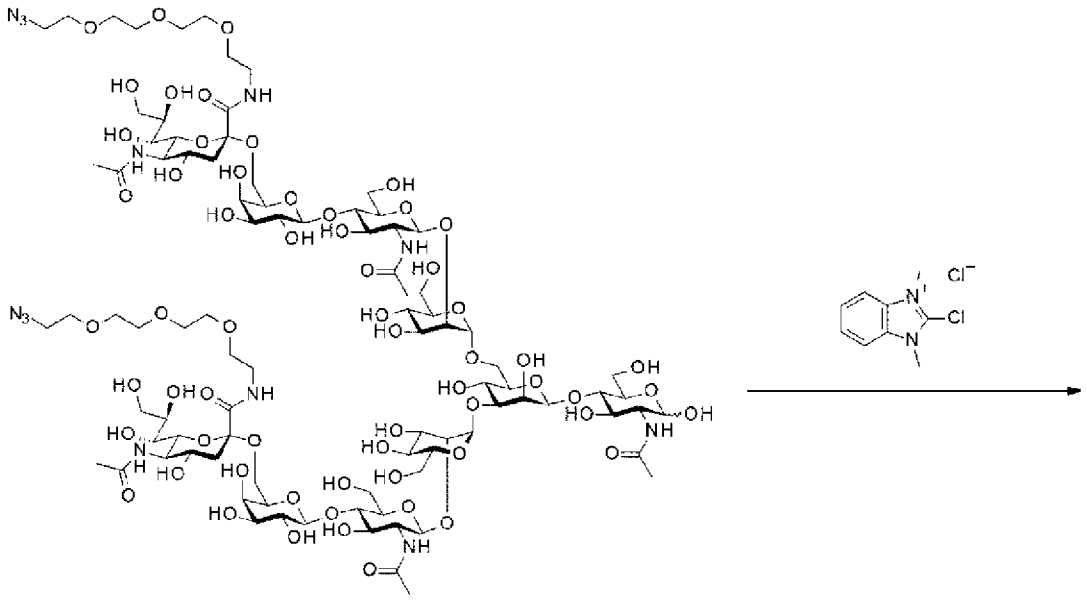
【0312】於上述之糖鏈重塑抗體之調製中，抗體水溶液之濃縮、濃度測定、以及緩衝液交換可按照後述之共通操作 A 至 C 來進行。

又，SG 型之疊氮基糖鏈噁唑啉體係依據 WO2018/003983 記載之方法而合成。作為一例，而將$[N_3\text{-PEG(3)}]_2\text{-SG(10)-Ox}$(WO2018/003983 記載之化合物 1-10)之合成方法示於下式。

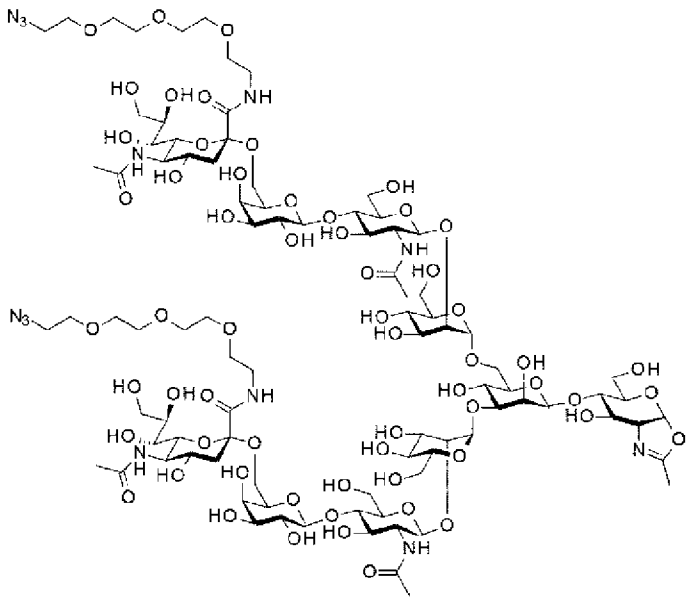
【0313】



SG(10)



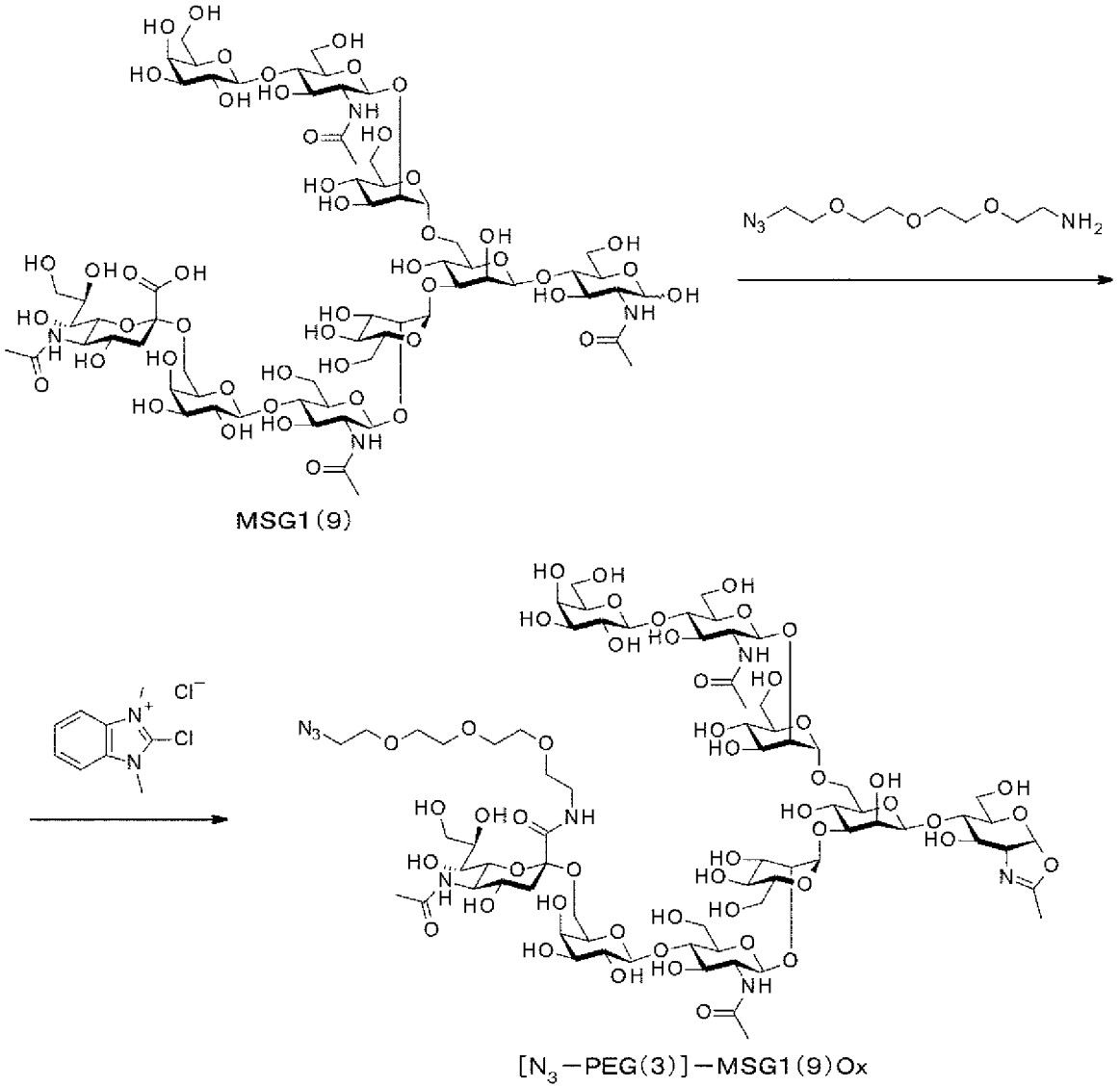
$[N_3-PEG(3)]_2-SG(10)$



$[N_3-PEG(3)]_2-SG(10)Ox$

【0314】MSG 型之疊氮基糖鏈噁唑啉體亦依據WO2018/003983 記載之方法而合成。作為一例，而將[N_3-PEG(3)]-MSG1(9)-Ox(WO2018/003983 記載之化合物 1-11)之合成方法示於下式。

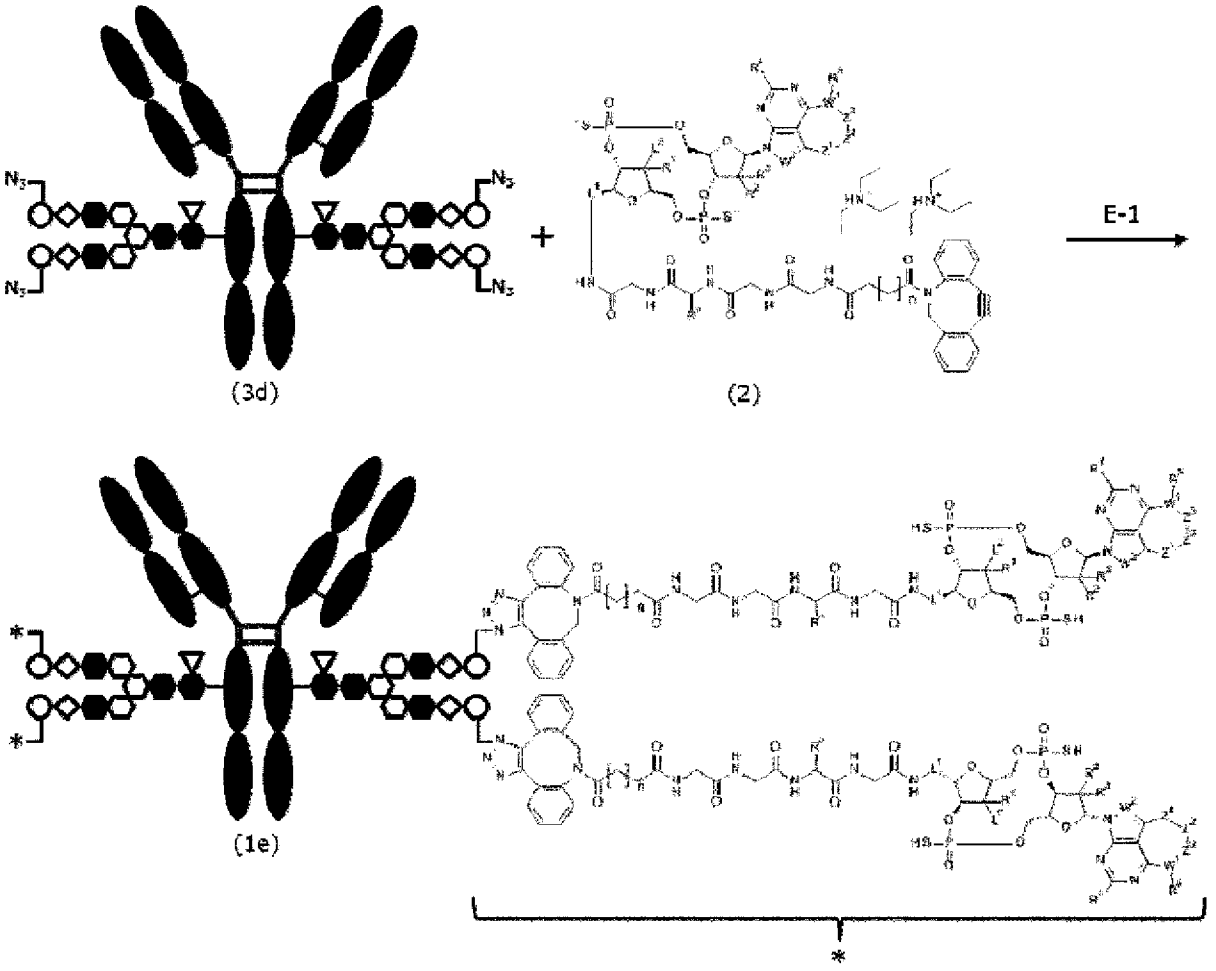
【0315】



【0316】

E 法：抗體與藥物之結合(糖鏈結合 1)

【0317】



【0318】(其中，抗體藥物結合物(1e)之左側之 2 個星號(＊)表示右側之星號所示的藥物連接子部分。)

本製造法係使 D 法 D-2 步驟所獲得的糖鏈重塑抗體(3d)與 B 法 B-4 步驟所獲得的結合前驅物(2)藉由 SPAAC(張力促進疊氮-炔環加成反應(strain-promoted azide-alkyne cycloaddition)：J.Am.Chem.Soc.2004，126，15046-15047)反應而結合，而製造抗體藥物結合物(1e)的方法。

【0319】

(E-1 步驟)

藉由混合糖鏈重塑抗體(3d)之緩衝溶液(磷酸緩衝液、乙酸緩衝液、硼酸緩衝液等)、與使結合前驅物(2)溶解於適當溶劑(二甲亞碸、N,N-二甲基甲醯胺、N,N-二甲基乙醯胺、N-甲基吡咯

啶酮、丙二醇或彼等之混合溶劑)的溶液，而實施 SPAAC 反應。結合前驅物(2)係相對於糖鏈重塑抗體(3d)1 莫耳，為 2 莫耳至過剩莫耳，較佳為 4 莫耳至 30 莫耳，有機溶劑之比率係相對於抗體之緩衝溶液，較佳為 1%至 200%(v/v)。反應溫度為 0℃至 37℃，較佳為 15℃至 25℃，反應時間為 1 小時至 150 小時，較佳為 6 小時至 72 小時。反應溶液之 pH 較佳為 5 至 9。將反應溶液按照後述之共通操作 D 記載之方法而純化，獲得抗體藥物結合物(1e)。

【0320】

E'法：抗體與藥物之結合(半胱胺酸結合)

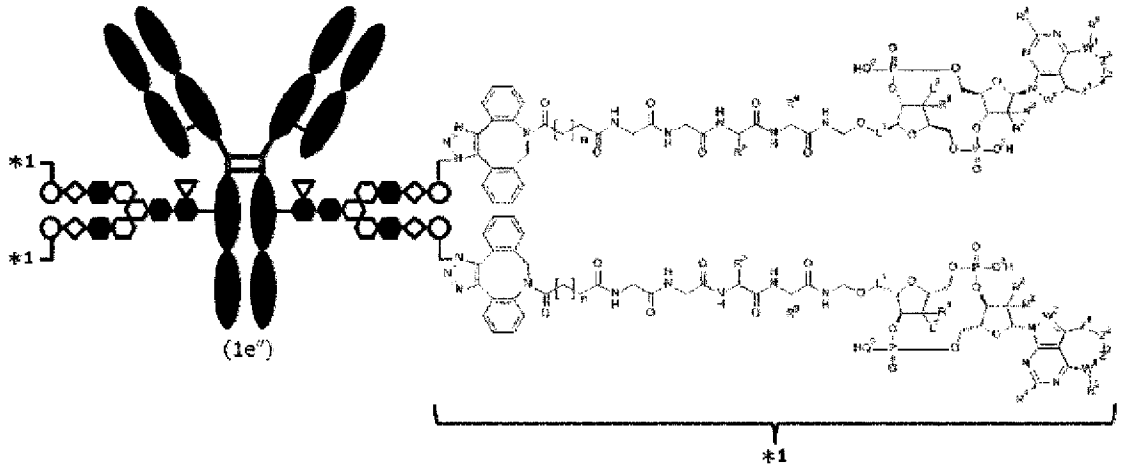
具有半胱胺酸結合的本發明之抗體藥物結合物，可使用按照參考例 1 等而調製的目的之抗體與 B'法 B-8 步驟所獲得的具有順丁烯二醯亞胺基的結合前驅物(2')，依據 WO2014/057687 等記載之方法而製造。

【0321】

E''法：抗體與藥物之結合(糖鏈結合 2)

藉由於 E 法，將結合前驅物(2)變更為 C'法 C'-8 步驟所獲得的結合前驅物(3')，而獲得下式所示的抗體藥物結合物(1e'')。

【0322】



【0323】(其中，抗體藥物結合物(1e’’)之左側之 2 個之星號(＊[1])表示右側之星號所示的藥物連接子部分。)

【0324】抗體藥物結合物係可依據後述之共通操作 D 至 G 進行緩衝液交換、純化、抗體濃度之測定及抗體每一分子之藥物平均結合數的測定，進行抗體藥物結合物之鑑定。

【0325】

共通操作 A：抗體水溶液之濃縮

於 Amicon(註冊商標) Ultra 離心式過濾器裝置(50,000 NMWL，Merck Millipore Ltd.)中置入抗體或抗體藥物結合物溶液，藉由使用離心機(Allegra X-15R，Beckman Coulter，Inc.)的離心操作(於 2000G 至 4000G 離心 5 分鐘至 20 分鐘)，將抗體及抗體藥物結合物溶液濃縮。

【0326】

共通操作 B：抗體之濃度測定

使用 UV 測定器(Nanodrop 1000，Thermo Fisher Scientific，Inc.)，按照製造商規定的方法，進行抗體濃度之測定。那時，每一抗體使用不同的 280nm 吸光係數($1.3mLmg^{-1}cm^{-1}$至$1.8mLmg^{-1}cm^{-1}$)。

【0327】

共通操作 C：抗體之緩衝液交換

於抗體水溶液中添加緩衝液(磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)、磷酸緩衝液(pH6.0)等)，按照共通操作 A 記載之方法濃縮。將此操作進行數次後，按照共通操作 B 記載之方法測定抗體濃度。於此抗體緩衝溶液中添加適當緩衝液(磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)、磷酸緩衝液(pH6.0)等)，而調製目的之濃度(例如，約 10mg/mL)之抗體緩衝溶液。

【0328】

共通操作 D：抗體藥物結合物之純化(凝膠過濾層析法)

以乙酸緩衝液(10mM 乙酸鹽緩衝液，5% 山梨糖醇，pH5.5；於本說明書中稱為 ABS)或其以外之適當緩衝液使 NAP 管柱(NAP-5，NAP-10，NAP-25(GE HEALTHCARE 製))平衡化。於此 NAP 管柱中，注入抗體藥物結合物反應溶液，使製造商規定量之緩衝液自然流下，分取抗體流份。將此流份再次注入 NAP 管柱，使製造商規定量之緩衝液自然流下，分取抗體流份。藉由將此操作重複合計 2 次至 3 次，以獲得經除去未結合之藥物連接子或二甲亞碸、丙二醇的抗體藥物結合物。視需要，而藉由共通操作 A 及 C 調節抗體藥物結合物溶液之濃度。

【0329】

共通操作 E：抗體藥物結合物中的抗體濃度及抗體每一分子之藥物平均結合數的測定(UV 法)

抗體藥物結合物中的結合藥物濃度，係可使用吸光光度計(UV/VIS Spectrometer Lambda 25，PerkinElmer，Inc.)，測定抗體藥物結合物水溶液之 280nm 及 260nm(亦有時使用 260nm 以外之波長)之二波長中的吸光度後，藉由進行下述之計算而算出。因某波長中的全吸光度係等於系統內存在的全部吸收化學物種之吸光度之和(吸光度之加成性)，故若假設於抗體與藥物之結合前後，抗體及藥物之莫耳吸光係數無變化，則抗體-藥物結合物中的抗體濃度及藥物濃度係如下述之關係式所示。

$$A_{280}=A_{D,280}+A_{A,280}=\varepsilon_{D,280}C_D+\varepsilon_{A,280}C_A \quad 式(I)$$

$$A_{260}=A_{D,260}+A_{A,260}=\varepsilon_{D,260}C_D+\varepsilon_{A,260}C_A \quad 式(II)$$

其中，A_{280}表示 280nm 中的抗體藥物結合物水溶液之吸光度，A_{260}表示 260nm 中的抗體藥物結合物水溶液之吸光度，$A_{A,280}$表示 280nm 中的抗體之吸光度，$A_{A,260}$表示 260nm 中的抗體之吸光度，$A_{D,280}$表示 280nm 中的結合物前驅物之吸光度，$A_{D,260}$表示 260nm 中的結合物前驅物之吸光度，$\varepsilon_{A,280}$表示 280nm 中的抗體之莫耳吸光係數，$\varepsilon_{A,260}$表示 260nm 中的抗體之莫耳吸光係數，$\varepsilon_{D,280}$表示 280nm 中的結合物前驅物之莫耳吸光係數，$\varepsilon_{D,260}$表示 260nm 中的結合物前驅物之莫耳吸光係數，C_A表示抗體藥物結合物中的抗體濃度，C_D表示抗體藥物結合物中的藥物濃度。其中，$\varepsilon_{A,280}$、$\varepsilon_{A,260}$、$\varepsilon_{D,280}$、$\varepsilon_{D,260}$係使用事先準備的值(計算推定值或實測值)。例如，$\varepsilon_{A,280}$係可自抗體之胺基酸序列，藉由已知之計算方法(Protein Science, 1995, vol.4, 2411-2423)加以推定。$\varepsilon_{A,260}$係使用自抗體之 UV 測定所獲得的實測值與$\varepsilon_{A,280}$之推定值所計算的值。於實施例，改造抗 HER2 抗體之莫耳吸光係數係使用$\varepsilon_{A,280}$=215380 及$\varepsilon_{A,260}$=110117。改造抗 LPS 抗體之莫耳吸光係數係使用$\varepsilon_{A,280}$=227300 及$\varepsilon_{A,260}$=110710。$\varepsilon_{D,280}$及$\varepsilon_{D,260}$係可藉由測定將使用的結合物前驅物溶解為某莫耳濃度的溶液之吸光度，依據朗伯-比爾定律(Lambert-Beer's law)(吸光度=莫耳濃度×莫耳吸光係數×槽光徑長)而獲得。實施例中的結合物前驅物之莫耳吸光係數係逐次以 UV 測定而獲得。藉由測定抗體藥物結合物水溶液之A_{280}及A_{260}，將此等之值代入式(I)及(II)而解開聯立方程式，而可求得C_A及C_D。再藉由以C_A除C_D，可求得每 1 抗體之藥物平均結合數。

【0330】

共通操作 F：抗體藥物結合物中的抗體濃度及抗體每一分子之藥物平均結合數之測定(逆相高效液相層析法：RP-HPLC)

抗體藥物結合物中的抗體濃度及抗體每一分子之藥物平均結合數係除了前述之共通操作 E 之外，可藉由使用以下之方法的高速液體層析分析而求得。

【0331】

[F-1.HPLC 分析用樣品之調製(抗體藥物結合物之還原)]

將抗體藥物結合物溶液(約 1mg/mL、60μL)與二硫蘇糖醇(DTT)水溶液(100mM、15μL)混合。將混合物於 37℃保溫 30 分鐘，而將抗體藥物結合物之 L 鏈及 H 鏈間的雙硫鍵切斷。將此反應溶液直接用於 HPLC 分析。

【0332】

[F-2.HPLC 分析]

代表性的分析條件係如下述。

HPLC 系統：Agilent 1290 HPLC 系統(Agilent Technologies)

檢測器：紫外吸光度計(測定波長：280nm)

管柱：Acquity BEH Phenyl(2.1×50mm、1.7μm、Waters 製)

管柱溫度：75℃

流速：0.8mL/min

樣品注入量：10μL

移動相 A：0.1%三氟乙酸(TFA)，15%異丙醇水溶液

移動相 B：0.075%TFA，15%異丙醇乙腈溶液

梯度程式(移動相 B)：14%-36%(0 分-15 分)，36%-80%(15-17 分)，80%-14%(17 分-17.1 分)，14%-14%(17.1 分-23 分)

[F-3.資料解析]

[F-3-1]相對於未結合藥物之抗體之 L 鏈(L0)及 H 鏈(H0)，有藥物結合的 H 鏈(有一個藥物結合的 H 鏈：H1、有二個藥物結合的 H 鏈：H2)，係與結合的藥物之數目成比例地疏水性增加而滯留時間變大，故原則上以 L0、H0、H1、H2 之順序被溶出。藉由比較 L0 及 H0 之滯留時間，而可將檢測波峰分配為 L0H0、H1、H2 之任一者。

【0333】[F-3-2]因於藥物連接子有 UV 吸收，故因應藥物連接子之結合數，使用 H 鏈及藥物連接子之莫耳吸光係數而按照下式進行波峰面積之修正。

【0334】

$$\text{H鏈波峰面積修正值}(HPA_i) = \text{波峰面積} \times \frac{\text{H鏈之莫耳吸光係數}}{\text{H鏈之莫耳吸光係數}+\text{結合藥物數}\times\text{藥物連接子之莫耳吸光係數}}$$

【0335】其中，各抗體中的 L 鏈及 H 鏈之莫耳吸光係數(280nm)係使用以共通操作 E 記載的已知之計算方法所算出的推定值。改造抗 HER2 抗體之情形，使用 26213 作為 L 鏈之莫耳吸光係數，使用 81478 作為 H 鏈之莫耳吸光係數。同樣地改造抗 LPS 抗體之情形，使用 27703 作為 L 鏈之莫耳吸光係數，使用 85948 作為 H 鏈之莫耳吸光係數。藥物連接子之莫耳吸光係數(280nm)，於 SPAAC 反應之結合的情形，使用結合前驅物之實測值，於半胱胺酸結合的情形，使用使各結合前驅物以巰基乙醇或 N-乙醯基半胱胺酸反應而將順丁烯二醯亞胺基變換為琥珀醯亞胺硫醚的化合物之實測值。

【0336】[F-3-3]依據下式而計算相對於波峰面積修正值合計之各鏈波峰面積比(%)。

【0337】

$$\text{H鏈波峰面積比 } (\%HPA_i) = \frac{HPA_i}{HPA_0+HPA_1+HPA_2} \times 100$$

【0338】[F-3-4]依據下式計算抗體-藥物結合物中的抗體每一分子之藥物平均結合數(DAR)。

【0339】

$$\text{藥物平均結合數 (DAR)} = \frac{0\times\%HPA_0+1\times\%HPA_1+2\times\%HPA_2}{100} \times 2$$

【0340】[F-3-5]依據下式計算抗體-藥物結合物中的抗體濃度。

【0341】

$$\text{抗體濃度 } (C_A)\ [mg/mL] = \frac{\text{抗體藥物複合體之吸光度}\times\text{稀釋倍數}\times\text{抗體之分子量}}{\text{抗體之莫耳吸光係數}+\text{藥物平均結合數}\times\text{藥物連接子之莫耳吸光係數}}$$

【0342】其中抗體藥物結合物之吸光度(280nm)係使用抗體藥物結合物水溶液之實測值。稀釋倍數係表示於測定吸光度之際將抗體藥物結合物水溶液稀釋為多少倍，通常為 4 倍稀釋。抗體之莫耳吸光係數(280nm)係使用以共通操作 E 記載的已知之計算方法所算出的推定值。藥物平均結合數係使用[F-3-4]所獲得的值。藥物連接子之莫耳吸光係數(280nm)，於 SPAAC 反應之結合的情形，係使用結合前驅物之實測值，於半胱胺酸結合的情形，係使用使各藥物連接子以巰基乙醇或 N-乙醯基半胱胺酸反應並將順丁烯二醯亞胺基變換為琥珀醯亞胺硫醚的化合物之實測值。

【0343】

共通操作 G：抗體藥物結合物中的抗體濃度及抗體每一分子之藥物平均結合數之測定(疏水性相互作用-高速液相層析法：HI-HPLC)

抗體藥物結合物中的抗體濃度及抗體每一分子之藥物平均結合數，係除了前述之共通操作 E 及 F 以外，可藉由使用以下之方法的高速液體層析分析而求得。

【0344】

[G-1.HPLC 分析用樣品之調製]

將抗體藥物結合物溶液(約 1mg/mL、60μL)直接使用於 HPLC 分析。

【0345】

[G-2.HPLC 分析]

代表性的分析條件係如下述之二者。

HPLC 系統：SHIMADZU CBM-20A(島津製作所)

檢測器：紫外吸光度計(測定波長：280nm)

管柱：TSK-gel Butyl-NPR(4.6×100mm，2.5μm，TOSOH 製)

管柱溫度：25℃附近之一定溫度

移動相 A：含有 1.5M 硫酸銨的 25mM 磷酸緩衝液(pH=7.0)

移動相 B：25mM 磷酸緩衝液(pH=7.0)/異丙醇混合液(3：1)

流速：0.8mL/min

樣品注入量：15μL

梯度程式(移動相 B)：10%-15%(0 分-5 分)，15%-65%(5 分-20 分)

或

HPLC 系統：SHIMADZU CBM-20A(島津製作所)

檢測器：紫外吸光度計(測定波長：280nm)

管 柱 ：PolyPROPYL A(4.6×100mm，3μm，1500Å，PolyLC 製)

管柱溫度：40℃附近之一定溫度

移動相 A:含有 1.5M 硫酸銨的 20mM 磷酸緩衝液(pH=7.4)

移動相 B：20mM 磷酸緩衝液(pH=7.4)

流速：0.8mL/min

樣品注入量：15μL

梯度程式(移動相 B)：40%-80%(0 分-20 分)

【0346】

[G-3.資料解析]

[G-3-1]因與抗體結合的藥物之數成比例地疏水性增加而滯留時間變大，故於 SPAAC 反應之結合的情形，原則上以 DAR=0、DAR=2、DAR=4 的順序被溶出。藉由比較與 DAR=0 之滯留時間，可將檢測波峰分配為 DAR=2 及 DAR=4 之任一者。取決於抗體或藥物連接子之種類，亦有檢測到 DAR=1 及 DAR=3 之波峰的情形。檢測波峰之 DAR 亦有以 HI-HPLC 劃分該波峰後，測定質譜而推定的情形。

[G-3-2]因於藥物連接子有 UV 吸收，故因應藥物連接子之結合數，使用抗體及藥物連接子之莫耳吸光係數而按照下式進行波峰面積值之修正。

【0347】

$$\text{抗體波峰面積修正值}(WPA_i) = \text{波峰面積} \times \frac{\text{抗體之莫耳吸光係數}}{\text{抗體之莫耳吸光係數}+\text{結合藥物數}\times\text{藥物藥物連接子之莫耳吸光係數}}$$

【0348】其中，抗體之莫耳吸光係數(280nm)係使用以共通操作 E 記載的已知之計算方法而算出的推定值。藥物連接子之莫耳吸光係數(280nm)係使用結合前驅物之實測值。

【0349】[G-3-3]按照下式算出相對於波峰面積修正值合計的抗體波峰面積比(%)。

【0350】

$$\text{抗體波峰面積比}\ (\%WPA_i) = \frac{WPA_i}{WPA_0+WPA_1+WPA_2+WPA_3+WPA_4} \times 100$$

【0351】[G-3-4]按照下式算出抗體-藥物結合物中的抗體每一分子之藥物平均結合數。

【0352】

$$\text{藥物平均結合數}\ (DAR) = \frac{0\times\%WPA_0+1\times\%WPA_1+2\times\%WPA_2+3\times\%WPA_3+4\times\%WPA_4}{100}$$

【0353】[G-3-5]抗體-藥物結合物中的抗體濃度係按照[F-3-5]記載之式而計算。那時，藥物平均結合數係使用[G-3-4]所獲得的值。

【0354】本發明之新穎 CDN 衍生物、抗體藥物結合物或彼等製造中間體亦存有立體異構物或源自不對稱碳原子的光學異構物、幾何異構物、互變異構物或 d 體、l 體、限制構形異構物(atropoisomer)等之光學異構物，但此等之異構物、光學異構物及此等之混合物之任一者皆包含於本發明。

【0355】於本發明之抗體藥物結合物，對 1 分子抗體之藥物之結合數係影響其有效性、安全性的重要因子。抗體藥物結合物之製造雖以使藥物之結合數成為一定的數目的方式規定使反應進行的原料、試藥之使用量等之反應條件來實施，但與低分子化合物之化學反應不同，通常係會獲得為有不同數目的藥物結合的

混合物。藥物對 1 分子抗體之結合數係可特定為平均值，即平均藥物結合數(DAR)。環狀二核苷酸衍生物對抗體分子之結合數係能控制，作為每 1 抗體之藥物平均結合數，可使 1 至 10 之範圍之環狀二核苷酸衍生物結合，但較佳為 1 至 8 個，更佳為 1 至 5 個。

【0356】於本發明之抗體藥物結合物，抗體 Ab 自抗體 Ab 之被重塑的糖鏈與 L 結合的情形，抗體藥物結合物中的抗體每 1 分子的藥物結合數 m^2 為 1 或 2 之整數。該糖鏈為 N297 糖鏈，糖鏈為 N297-(Fuc)SG 的情形，m^2 為 2，DAR 為 3~5 之範圍(較佳為 3.2~4.8 之範圍，更佳為 3.5~4.2 之範圍)。N297 糖鏈為 N297-(Fuc)MSG1、N297-(Fuc)MSG2 或 N297-(Fuc)MSG1 與 N297-(Fuc)MSG2 之混合物的情形，m^2 為 1，DAR 為 1~3 之範圍(較佳為 1.0~2.5 之範圍、更佳為 1.2~2.2 之範圍)。

【0357】又，只要為所屬技術領域中具通常知識者，可自本案之實施例之記載設計使抗體與必要的數目之藥物結合的反應，且可取得經控制環狀二核苷酸衍生物之結合數的抗體。

【0358】又，本發明之 CDN 衍生物、抗體藥物結合物、彼等之製造中間體，或有放置於大氣中、或有藉由再結晶而吸收水分且附著吸附水，成為水合物的情形，此種包含水之化合物或藥理學可容許之鹽亦包含於本發明。

【0359】本發明之 CDN 衍生物、抗體藥物結合物、彼等之製造中間體為具有胺基等之鹼性基的情形，依據期望，可形成醫藥上可容許的鹽。就此種酸加成鹽而言，可列舉例如鹽酸鹽、碘化氫酸鹽等之鹵素化氫酸鹽；硝酸鹽、過氯酸鹽、硫酸鹽、磷酸

鹽等之無機酸鹽；甲磺酸鹽、三氟甲磺酸鹽、乙磺酸鹽等之低級烷磺酸鹽；苯磺酸鹽、對甲苯磺酸鹽等之芳基磺酸鹽；甲酸、乙酸、蘋果酸鹽、反丁烯二酸鹽、琥珀酸鹽、檸檬酸鹽、酒石酸鹽、草酸鹽、順丁烯二酸鹽等之有機酸鹽；及鳥胺酸鹽、麩胺酸鹽、天冬胺酸鹽等之胺基酸鹽。

【0360】本發明之 CDN 衍生物或抗體藥物結合物因於其結構中含有磷酸基及/或硫代磷酸基，一般而言可形成鹼加成鹽。又，彼等之製造中間體具有羧基等之酸性基的情形，一般而言亦可形成鹼加成鹽。就醫藥上可容許的鹽而言，可列舉例如，鈉鹽、鉀鹽、鈣鹽等之鹼金屬鹽；鈣鹽、鎂鹽等之鹼土類金屬鹽；銨鹽等之無機鹽；二苄基胺鹽、味啉鹽、苯基甘胺酸烷基酯鹽、乙二胺鹽、N-甲葡糖胺鹽、二乙基胺鹽、三乙基胺鹽、環己基胺鹽、二環己基胺鹽、N,N'-二苄基乙二胺鹽、二乙醇胺鹽、N-苄基-N-(2-苯基乙氧基)胺鹽、哌啉鹽、四甲基銨鹽、參(羥基甲基)胺基甲烷鹽等之有機胺鹽等。

【0361】本發明之 CDN 衍生物、抗體藥物結合物、彼等之製造中間體亦有時藉由吸收空氣中之水分等而作為水合物存在。就本發明之溶劑合物而言，只要為醫藥上可容許者即可，並未特別限定，但具體而言，較佳為水合物、乙醇合物、2-丙醇合物等。又，於本發明之 CDN 衍生物、抗體藥物結合物、彼等之製造中間體中有氮原子存在的情形，可為 N-氧化物體，此等溶劑合物及 N-氧化物體亦包含於本發明之範圍。又，本發明之 CDN 衍生物、抗體藥物結合物、彼等之製造中間體中有硫原子存在的情形，可為亞碸體，此等溶劑合物及亞碸體亦包含於本發明之範圍。

【0362】又，於本發明亦包含經各種放射性或非放射性同位素標示的化合物。於構成本發明之 CDN 衍生物、抗體藥物結合物、彼等之製造中間體的原子之 1 個以上，亦能含有原子同位素之非天然比率。就原子同位素而言，可列舉例如，氘(2H)、氚(3H)、碘-125(125I)或碳-14(14C)等。又，本發明化合物，例如，可經如氚(3H)、碘-125(125I)或碳-14(14C)之放射性同位素作放射性標識。經放射性標識的化合物有用於作為治療或預防劑、研究試藥、例如，分析試藥、及診斷劑、例如，活體內影像診斷劑。本發明之抗體藥物結合物之全部的同位素變異種無論是否為放射性，皆包含於本發明之範圍。

【0363】

＜4.醫藥＞

本發明之 CDN 衍生物或抗體藥物結合物因對癌細胞顯示抗腫瘤免疫活性或細胞毒性活性，故可作為醫藥，尤其可作為對癌症的治療劑及/或預防劑、或抗腫瘤劑來使用。

【0364】就本發明之 CDN 衍生物或抗體藥物結合物所適用的癌症之種類而言，可列舉肺癌(非小細胞肺癌、小細胞肺癌等)、腎癌、尿道上皮癌、大腸癌、前列腺癌、多形性神經膠質母細胞瘤、卵巢癌(表層上皮性腫瘤、間質性腫瘤、胚細胞腫瘤等)、胰癌、乳癌、黑色素瘤、肝癌、膀胱癌、胃癌、食道癌、子宮體癌、睪丸癌(精細胞瘤、非精細胞瘤)、子宮頸癌、胎盤絨毛癌、腦腫瘤、頭頸部癌、甲狀腺癌、間皮瘤、消化道間質腫瘤(Gastrointestinal Stromal Tumor、GIST)、膽囊癌、膽管癌、腎上腺癌、鱗狀細胞癌、白血病、惡性淋巴瘤、漿細胞瘤、骨髓瘤、肉瘤等，但關於抗體藥物結合物，只要於成為治療對象的癌

細胞中，有抗體藥物結合物中之抗體可辨識的蛋白質表現的癌細胞即可，並未被限定於此等。

【0365】本發明之 CDN 衍生物或抗體藥物結合物可較佳對哺乳動物投予，但更佳為對人類投予。

【0366】就於包含本發明之 CDN 衍生物或抗體藥物結合物的醫藥組成物所使用的物質而言，於投予量或投予濃度方面，可自此領域通常使用的製劑添加物或其他適當選擇而適用。

【0367】本發明之 CDN 衍生物或抗體藥物結合物，可作為包含 1 種以上之藥學上適合性之成分的醫藥組成物而被投予。例如，上述醫藥組成物，代表性而言，包含 1 種以上之藥學的載體(例如，經滅菌的液體(例如，包含水及油(石油、動物、植物、或合成起源的油(例如，花生油、大豆油、礦物油、芝麻油等))))。於上述醫藥組成物被靜脈內投予的情形，水為更具代表性的載體。食鹽水溶液、以及右旋糖水溶液及甘油水溶液，還可作為液體載體，而特別被使用來用於注射用溶液。適當的藥學性賦形劑為該領域周知。若有所期望，上述組成物還可含有微量之濕潤劑或乳化劑、或 pH 緩衝化劑。適當的藥學性載體的例子被記載於 E.W.Martin 所著的「Remington's Pharmaceutical Sciences」。其處方係對應於投予的態樣。

【0368】各種送達系統為周知，可被使用來用於投予本發明之 CDN 衍生物或抗體藥物結合物。作為導入方法，可列舉皮內、肌肉內、腹腔內、靜脈內、及皮下的路徑，但未被限定於此等例。投予可為例如利用輸注或團式劑量注射方式(bolus injection)者。在特定的較佳實施形態中，上述 CDN 衍生物或抗體藥物結合物之投予為利用輸注者。非經口的投予為較佳投予路徑。

【0369】於代表的實施形態，包含上述抗體藥物結合物的醫藥組成物係按照習慣的順序被調配作為適合對人類之靜脈內投予的醫藥組成物。代表性地，靜脈內投予用之組成物為滅菌之等張性之水性緩衝液中的溶液。於有必要的情形，上述醫藥還可包含可溶化劑及用以緩和注射部位的疼痛的局部麻醉劑(例如，利多卡因(lignocaine))。一般而言，上述成分係作為例如顯示活性劑的量之安瓿或小袋(sachet)等之經密封而被封閉的容器中之乾燥凍結乾燥粉末或無水之濃縮物，而以個別地、或於單位劑形中一起混合之任一方式被供給。於上述醫藥組成物係預定藉由注入而被投予的情形，其可藉由例如，滅菌之包含製藥等級之水或食鹽水的注入瓶被投藥。上述醫藥藉由注射被投予的情形，注射用滅菌水或食鹽水之安瓿可以例如，上述成分可於投予前混合的方式被提供。上述醫藥組成物亦有作為溶液被提供的情形。

【0370】本發明之醫藥組成物，可為僅包含本案之 CDN 衍生物或抗體藥物結合物的醫藥組成物，亦可為包含 CDN 衍生物或抗體藥物結合物及至少一種之此以外之癌治療劑的醫藥組成物。本發明之 CDN 衍生物或抗體藥物結合物亦可與其他之癌治療劑一起被投予，可藉此使抗癌效果增強。以此種目的所使用之其他抗癌劑，可與 CDN 衍生物或抗體藥物結合物同時、個別、或連續投予至個體，亦可各變更各自之投予間隔而投予。作為此種癌治療劑，可列舉亞柏杉(abraxane)、卡鉑(carboplatin)、順鉑(cisplatin)、吉西他濱(gemcitabine)、愛萊諾迪肯(irinotecan)(CPT-11)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)、培美曲塞(pemetrexed)、索拉非尼(sorafenib)、長青花鹼(vinblastine)或國際公開第 WO2003/038043 號小冊記載之藥劑，又 LH-RH

類似物(亮丙瑞林(leuprorelin)、戈舍瑞林(goserelin)等)、磷酸雌莫司汀(estramustine phosphate)、雌激素拮抗藥(泰莫西芬(tamoxifen)、雷洛昔芬(raloxifene)等)、芳香化酶抑制劑(阿那曲唑(anastrozole)、來曲唑(letrozole)、依西美坦(exemestane)等)、免疫檢查點抑制藥(納武單抗(nivolumab)、伊匹單抗(ipilimumab)等)等，但只要具有抗腫瘤活性即可並未限定。

【0371】此種醫藥組成物，作為具有經選擇之組成與必要純度之製劑，只要製劑化呈冷凍乾燥製劑或著液狀製劑即可。作為冷凍乾燥製劑而製劑化之際，可為包含在此領域中所使用之適當製劑添加物的製劑。又，在液劑中亦同樣地進行，可作為包含在此領域中所使用之各種製劑添加物的液狀製劑而製劑化。

【0372】醫藥組成物的組成及濃度亦依據投予方法而變化，但本發明的醫藥組成物所含之抗體藥物結合物，在抗體-藥物結合物對於抗原之親和性的方面，亦即在對於抗原之解離常數(Kd值)的方面上，親和性愈高(Kd值低)就愈可以少量的投予量亦使藥效發揮。因此，在決定抗體-藥物結合物的投予量時，亦可基於抗體-藥物結合物與抗原之親和性的狀況而設定投予量。將本發明之CDN衍生物或抗體藥物結合物對人類進行投予之際，例如，只要將約0.001～100mg/kg投予一次，或者以1～180日一次的間隔投予複數次即可。

【0373】以下以實施例說明本發明，但本發明並未限定於此等例。

[實施例]

【0374】於以下之實施例，室溫表示15℃至35℃。脫水乙腈係使用由關東化學販售的乙腈(脫水)-Super-或由和光純藥工業販售的乙腈(超脫水)。吡啶係使用由關東化學販售的吡啶(脫水)-Super-。矽膠層析係使用 Biotage SNAP Ultra(Biotage製)、Chromatorex Q-Pack SI(Fuji Silysia 製)或 Purif-Pack-Ex SI(Shoko Science 製)而實施。DIOL 矽膠管柱層析係使用 Chromatorex Q-pack DIOL(Fuji Silysia 製)而實施。C18 矽膠管柱層析係使用 Biotage SNAP Ultra C18(Biotage 製)而實施。胺基矽膠管柱層析係使用 Biotage SNAP Isolute NH_2(Biotage 製)而實施。製備性 HPLC 係使用 SHIMADZU SPD-M10A HPLC 系統(島津製作所)等而實施。分取管柱係使用 Kinetex(5μm，C18，100Å，250×30.0mm，Phenomenex製)或 Kinetex(5μm，C18，100Å，250×21.2mm，Phenomenex製)。

【0375】各種光譜數據之測定係使用以下之機器。^{1}H-NMR 光譜係使用 JEOL ECS-400(400MHz)、Varian 400-MR(400MHz)或 Varian Unity Inova 500(500MHz)而測定。^{31}P-NMR 光譜係使用 JEOL ECS-400(160MHz)而測定。質譜係使用 Agilent 6130 Quadrupole LC/MS 系統(Agilent Technologies)而測定。LC/MS 之測定係以下列之條件實施[管柱：Develosil Combi-RP，5μm，50×2.0mm(野村化學製)，移動相：0.1%甲酸乙腈溶液/0.1%甲酸水溶液、0.1%甲酸乙腈溶液：2%-100%(0 分-5 分或 0 分-10 分)]

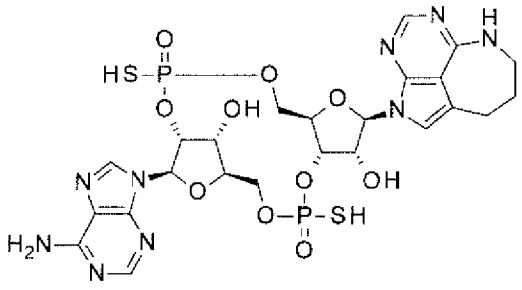
【0376】

實施例 1：CDN1 之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-胺基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二羥基-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-amino-9H-purine-9-yl)-15,16-dihydroxy-2,10-bis(sulfanyl)-14-(6,7,8,9-tetrahydro-2H-2,3,5,6-tetraazabenzo[cd]azulen-2-yl)octahydro-2H,10H,12H-5,8-methano-2λ^5,10λ^5-furo[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]pentaoxadiphosphacyclotetradecine-2,10-dione]

【0377】



1

1a (非鏡像異構物 1)

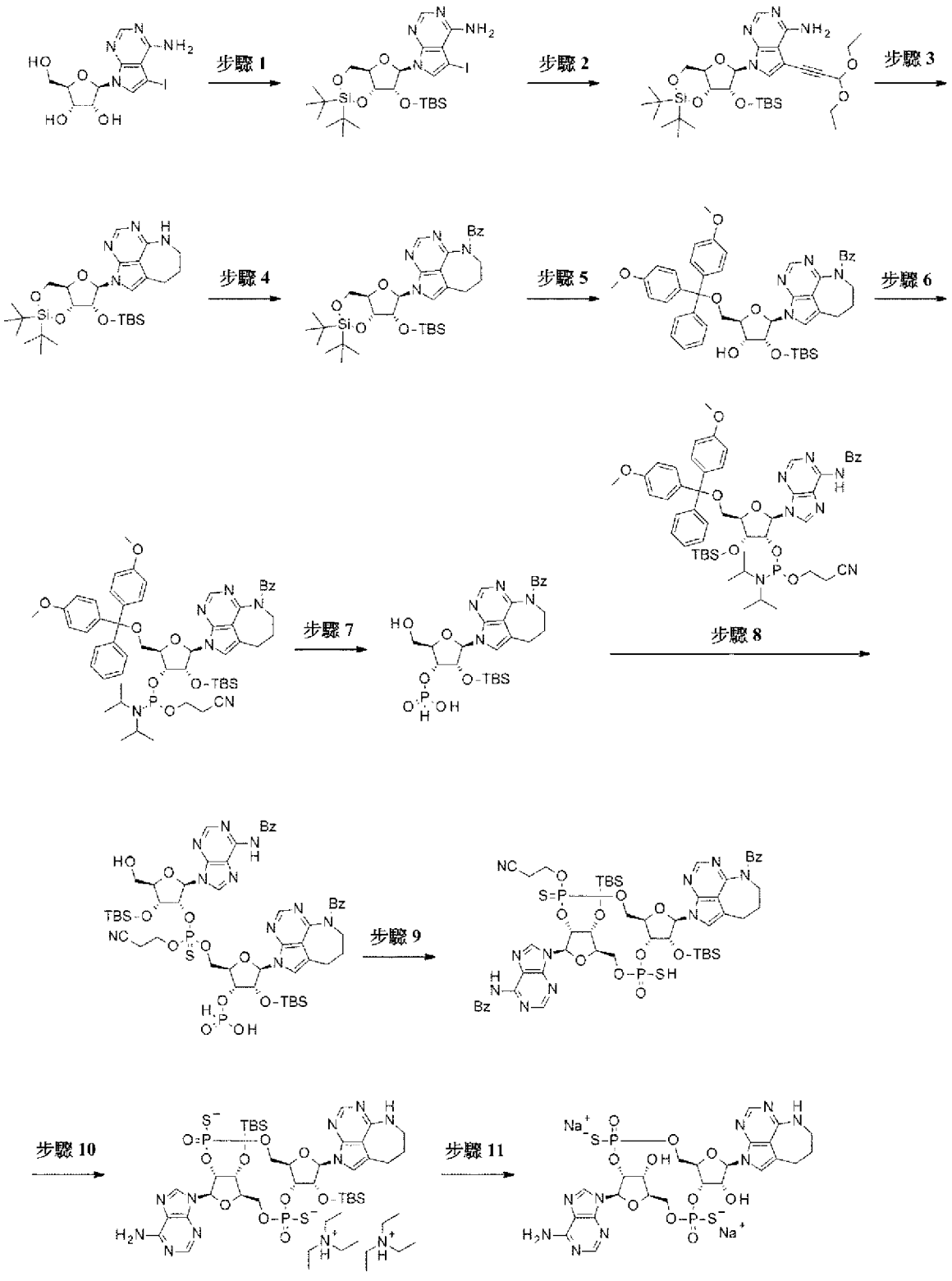
1b (非鏡像異構物 2)

1c (非鏡像異構物 3)

【0378】

[合成流程圖]

【0379】



【0380】

(步驟 1)

7-{2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3,5-O-(二-三級丁基次矽基)-β-D-核呋喃糖基}-5-碘基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺

【0381】文獻已知(Tetrahedron 2007，63，9850-9861)之5-碘代殺結核菌素(5-iodotubercidin)(1.0g)之 N,N-二甲基甲醯胺(10mL)溶液中，於 0℃緩緩滴加二-三級丁基矽基雙(三氟甲磺酸酯)(1.24mL)後，於相同溫度下攪拌 30 分鐘。於 0℃添加咪唑(868mg)後，升溫至室溫而攪拌 30 分鐘。於室溫添加三級丁基二甲基氯矽烷，於相同溫度下攪拌整夜。於反應液中添加飽和碳酸氫鈉水溶液而停止反應後，以乙酸乙酯萃取。有機層以飽和食鹽水洗淨後，以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(910mg)。

MS(ESI)m/z：647$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.25(1H，s)，7.03(1H，s)，6.10(1H，s)，5.63(2H，brs)，4.49-4.44(2H，m)，4.26(1H，dd，J=9.7，4.8Hz)，4.17(1H，m)，4.00(1H，t，J=9.7Hz)，1.09(9H，s)，1.04(9H，s)，0.91(9H，s)，0.13(3H，s)，0.11(3H，s).

【0382】

(步驟 2)

7-{2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3,5-O-(二-三級丁基次矽基)-β-D-核呋喃糖基}-5-(3,3-二乙氧基丙-1-炔-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺

於上述步驟 1 獲得的化合物(910mg)之 N,N-二甲基甲醯胺(3.0mL)-四氫呋喃(9.0mL)混合溶液中依序添加炔丙醛二甲基縮醛(1.01mL)、三乙基胺(0.392mL)、肆(三苯基膦)鈀(0)(163mg)、及碘化銅(I)(53.6mg)，於 40℃攪拌 18 小時。於反應液中添加飽和碳酸氫鈉水溶液及乙酸乙酯，以乙酸乙酯萃

取。有機層以飽和食鹽水洗淨後，以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(878mg)。

MS(ESI)m/z：647$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.27(1H，s)，7.17(1H，s)，6.09(1H，s)，5.56(2H，brs)，5.50(1H，s)，4.48(1H，dd，J=9.1,4.9Hz)，4.42(1H，d，J=4.9Hz)，4.25(1H，dd，J=9.4,4.6Hz)，4.17(1H，m)，4.00(1H，t，J=9.7Hz)，3.85-3.77(2H，m)，3.66(2H，m)，1.28(6H，t，J=7.3Hz)，1.08(9H，s)，1.04(9H，s)，0.91(9H，s)，0.13(3H，s)，0.11(3H，s).

【0383】

(步驟3)

2-{2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3,5-O-(二-三級丁基次矽基)-β-D-核呋喃糖基}-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁

於上述步驟2獲得的化合物(878mg)之乙醇(8.8mL)溶液中添加10%鈀碳(M)濕重(500mg)，氫環境下，於室溫攪拌9小時。濾除觸媒後，以二氯甲烷洗淨，減壓濃縮濾液。於殘留物之乙酸(8.8mL)溶液中添加10%鈀碳(M)濕重(500mg)，氫環境下，於40℃攪拌2日。濾除觸媒後，以二氯甲烷洗淨，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯/0.1%三乙基胺]純化，獲得標題化合物(603mg)。

MS(ESI)m/z：561$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.47(1H，brs)，8.07(1H，s)，6.70(1H，s)，6.14(1H，s)，4.47-4.43(2H，m)，4.29(1H，

dd，J=9.1,4.8Hz)，4.15(1H，m)，3.99(1H，t，J=9.7Hz)，3.55(2H，m)，2.89(2H，t，J=5.4Hz)，2.04(2H，m)，1.09(9H，s)，1.04(9H，s)，0.90(9H，s)，0.10(3H，s)，0.10(3H，s).

【0384】

(步驟 4)

6-苄醯基-2-{2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3,5-O-(二-三級丁基次矽基)-β-D-核呋喃糖基}-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁

於上述步驟 3 獲得的化合物(2.17g)之二氯甲烷(21.7mL)溶液中，於室溫依序添加吡啶(1.56mL)、N,N-二甲基胺基吡啶(94.5mg)、及苯甲醯氯(0.898mL)，於 50℃攪拌 15 小時。於反應液中添加飽和碳酸氫鈉水溶液而停止反應。以二氯甲烷萃取後，有機層以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯/0.1%三乙基胺]純化，獲得標題化合物(1.91g)。

MS(ESI)m/z：665$(M+H)^+$.

1H-NMR(CDCl3)δ：8.08(1H，s)，7.37-7.33(3H，m)，7.23(2H，t，J=7.6Hz)，6.97(1H，s)，6.21(1H，s)，4.50-4.46(2H，m)，4.37-4.30(2H，m)，4.28-4.09(2H，m)，4.02(1H，t，J=10.0Hz)，3.03(2H，t，J=6.3Hz)，2.29-2.17(2H，m)，1.10(9H，s)，1.05(9H，s)，0.90(9H，s)，0.10(6H，s).

【0385】

(步驟 5)

6-苄醯基-2-{5-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-β-D-核呋喃糖基}-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁

於上述步驟 4 獲得的化合物(1.91g)之二氯甲烷(15mL)溶液中，添加於 0℃調製的氟化氫-吡啶(0.30mL)與吡啶(1.88mL)之混合液，並於 0℃攪拌 2 小時。於反應液中添加飽和碳酸氫鈉水溶液而停止反應。反應液以二氯甲烷萃取後，有機層以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物溶解於吡啶(15mL)，添加 4,4'-二甲氧基三苯甲基氯(1.17g)，於 0℃攪拌 12 小時。添加甲醇並攪拌 30 分鐘後，添加飽和碳酸氫鈉水溶液而停止反應。反應液以二氯甲烷萃取後，有機層以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯/0.1%三乙基胺]純化，獲得標題化合物(1.98g)。

MS(ESI)m/z：827$(M+H)^+$.

1H-NMR(CDCl3)δ：8.07(1H，s)，7.47(2H，m)，7.37-7.19(13H，m)，6.84(4H，m)，6.37(1H，d，J=5.5Hz)，4.75(1H，t，J=5.2Hz)，4.38-4.20(4H，m)，3.80(6H，s)，3.53(1H，dd，J=10.7，2.8Hz)，3.40(1H，dd，J=11.0，3.1Hz)，2.83(1H，d，J=3.7Hz)，2.78(2H，t，J=6.4Hz)，2.17(2H，m)，0.81(9H，s)，-0.03(3H，s)，-0.21(3H，s).

【0386】

(步驟 6)

6-苄醯基-2-(5-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}-β-D-核呋喃糖基)-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁

於上述步驟 5 獲得的化合物(1.98g)之二氯甲烷(23.9mL)溶液中，添加 N,N-二異丙基乙基胺(1.02mL)及 2-氰基乙基 N,N-

二異丙基氯亞磷醯胺(1.07mL)，並於室溫攪拌 15 小時。於反應液中添加飽和碳酸氫鈉水溶液而停止反應。反應液以二氯甲烷萃取後，有機層以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物(非鏡像異構物比=7：3)之標題化合物(2.06g)。

MS(ESI)m/z：1027$(M+H)^+$.

1H-NMR(CDCl3)δ：8.06(0.3H，s)，8.04(0.7H，s)，7.50-7.16(15H，m)，6.85-6.79(4H，m)，6.35(0.7H，d，J=6.7Hz)，6.31(0.3H，d，J=6.1Hz)，4.84(0.7H，dd，J=7.0，4.6Hz)，4.78(0.3H，t，J=5.8Hz)，4.43-4.17(4H，m)，4.04-3.85(1.3H，m)，3.80-3.76(6H，m)，3.69-3.43(3H，m)，3.50(0.7H，dd，J=10.6，3.3Hz)，3.33-3.26(1H，m)，2.87-2.76(2H，m)，2.74-2.60(1.4H，m)，2.31(0.6H，t，J=6.7Hz)，2.23-2.11(2H，m)，1.21-1.13(7.8H，m)，1.04(4.2H，d，J=6.7Hz)，0.73(2.7H，s)，0.72(6.3H，s)，—0.03(0.9H，s)，-0.06(2.1H，s)，-0.24(3H，s).

【0387】

(步驟 7)

6-苄醯基-2-{2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3-O-[羥基(側氧基)-λ^5-磷烷基]-β-D-核呋喃糖基}-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁

於上述步驟 6 獲得的化合物(1.37g)之乙腈(6.67mL)溶液中，添加水(48μL)及三氟乙酸吡啶鹽(335mg)，並於室溫攪拌 15 分鐘。於反應液中添加三級丁基胺(6.67mL)，並於室溫攪拌 15

分鐘。將反應液減壓濃縮後，殘留物以乙腈(5mL)共沸 2 次。於殘留物之二氯甲烷(16.7mL)溶液中添加水(0.240mL)後，添加二氯乙酸(0.953mL)之二氯甲烷(16.7mL)溶液，並於室溫攪拌 15 分鐘。添加吡啶(1.82mL)而使反應停止後，減壓濃縮反應液。殘留物以脫水乙腈(10mL)共沸 3 次，最後 1 次殘留 5mL 左右的乙腈。獲得的標題化合物之乙腈溶液直接用於下一反應。

【0388】

(步驟 8)

將市售(ChemGenes)之 N-苄醯基-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-2'-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}腺苷(1.31g)以脫水乙腈(10mL)共沸 3 次，最後 1 次殘留 5mL 左右的乙腈，添加分子篩 3A,1/16(團塊狀之物 5 粒)。於上述步驟 7 合成的溶液中，添加上述之乙腈溶液，氮環境下，於室溫攪拌 20 分鐘。於反應液中添加 N,N-二甲基-N'-(3-亞巯基-3H-1,2,4-二噻唑-5-基)甲脒(300mg)，並於室溫攪拌 30 分鐘後，減壓濃縮反應液。於殘留物之二氯甲烷(19.0mL)溶液中添加水(0.240mL)後，添加二氯乙酸(1.20mL)之二氯甲烷(19.0mL)溶液，並於室溫攪拌 15 分鐘。於反應液中添加吡啶(13.2mL)而停止反應後，減壓濃縮。將獲得的粗生成物直接用於之後的反應。

【0389】

(步驟 9)

N-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-10-(2-氰基乙氧基)-2-側氧

基-2-氫 硫 基-10-亞 颯 基 八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-9H-嘌呤-6-基}苯甲醯胺

將上述步驟 8 所獲得的粗生成物之吡啶(39.6mL)溶液濃縮至 25mL 左右後，添加 2-氯-5,5-二甲基-1,3,2λ^5-二氧磷環己烷-2-酮(908mg)，並於室溫攪拌 30 分鐘。於反應液中添加水(0.84mL)及 3H-1,2-苯并二硫醇-3-酮(336mg)，並於室溫攪拌 15 分鐘。將反應液注入碳酸氫鈉(5.25g)之水溶液(180mL)，於室溫攪拌 30 分鐘後，以乙酸乙酯萃取。有機層以無水硫酸鈉乾燥後，濾除乾燥劑，並減壓濃縮濾液。殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯/甲醇]純化，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(507mg)。

MS(ESI)m/z：1219$(M+H)^+$.

【0390】

(步驟 10)

雙(N,N-二乙基乙銨)(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-胺基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

於上述步驟 9 獲得的化合物(507mg)之甲醇(5mL)溶液中添加 28%氨水(5mL)，並於室溫攪拌 14 小時。將反應液濃縮後，殘留物以 C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]純化，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(301mg)。

MS(ESI)m/z：958$(M+H)^+$.

【0391】

(步驟 11)

二 鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-胺 基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ⁵,10λ⁵-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

於上述步驟 10 獲得的化合物(301mg)中添加三乙基胺三氫氟酸鹽(3.84mL)，並於 45℃攪拌 3 小時。室溫下，於反應液中添加冰冷的 1M 碳酸氫三乙基銨水溶液(20mL)與三乙基胺(4mL)之混合液。減壓濃縮反應液後，以 C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]與製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：0%-25%(0 分-40 分)]純化，分離磷原子上之非鏡像異構物。獲得的化合物(三乙基胺鹽)以下列之手法變換成鈉鹽。

【0392】

[變換為鈉鹽]

將 BT AG(註冊商標) 50W-X2 Resin(生物技術等級，100-200 篩目，氫型)(500mg)懸浮於純水，並填充至空的管柱中。使過剩之純水自然流下後，依序使 1M 氫氧化鈉水溶液(5mL)與純水(10mL)自然流下。將上述獲得的化合物溶解於純水(5mL)而注入管柱中。分取自然流下的溶液後，進一步以純水(10mL)溶析。合併包含目的物的流份而冷凍乾燥，獲得標題化合物之非鏡像異構物 1(83.4mg)、非鏡像異構物 2(44.8mg)、及非鏡像異構物 3(13.1mg)(HPLC 之滯留時間：非鏡像異構物 1＞2,3)。

非鏡像異構物 1

MS(ESI)m/z：730$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.74(1H，s)，8.17(1H，s)，8.02(1H，s)，7.10(1H，s)，6.34(1H，d，J=8.5Hz)，6.30(1H，d，J=4.8Hz)，5.41-5.34(1H，m)，5.19-5.13(1H，m)，4.85(1H，d，J=3.6Hz)，4.79(1H，t，J=4.5Hz)，4.52-4.41(2H，m)，4.40-4.31(2H，m)，4.07-3.97(2H，m)，3.52-3.47(2H，m)，2.90-2.76(2H，m)，2.05-1.95(2H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：57.9(s)，54.5(s).

非鏡像異構物 2

MS(ESI)m/z：730$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.82(1H，s)，8.17(1H，s)，8.02(1H，s)，7.13(1H，s)，6.35(1H，d，J=2.4Hz)，6.33(1H，s)，5.50-5.43(2H，m)，4.80(1H，dd，J=6.7，4.2Hz)，4.52-4.28(5H，m)，4.02(1H，d，J=12.1Hz)，3.93-3.86(1H，m)，3.54-3.47(2H，m)，2.95-2.88(2H，m)，2.05-1.97(2H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：63.0(s)，60.2(s).

非鏡像異構物 3

MS(ESI)m/z：730$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：9.16(1H，s)，8.17(1H，s)，8.02(1H，s)，7.12(1H，s)，6.35(1H，d，J=8.5Hz)，6.29(1H，d，J=6.7Hz)，5.63-5.56(1H，m)，5.54-5.46(1H，m)，4.79(1H，dd，J=6.7，4.8Hz)，4.53-4.43(2H，m)，4.36-4.28(2H，m)，4.26-4.19(1H，m)，4.16-4.09(1H，m)，3.93-3.86(1H，m)，3.52-3.47(2H，m)，2.92-2.87(2H，m)，2.04-1.95(2H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：62.8(s)，58.7(s).

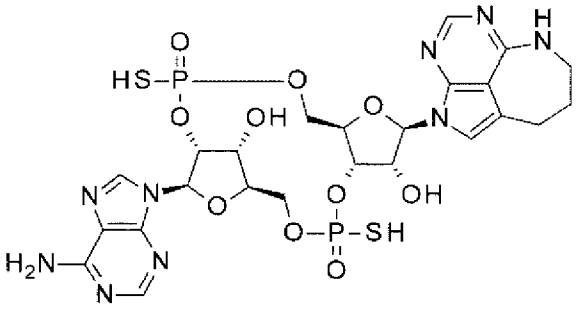
【0393】

實施例 2：CDN2 之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-胺基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二羥基-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

(實施例 1 記載的化合物 1 之非鏡像異構物 4)

【0394】



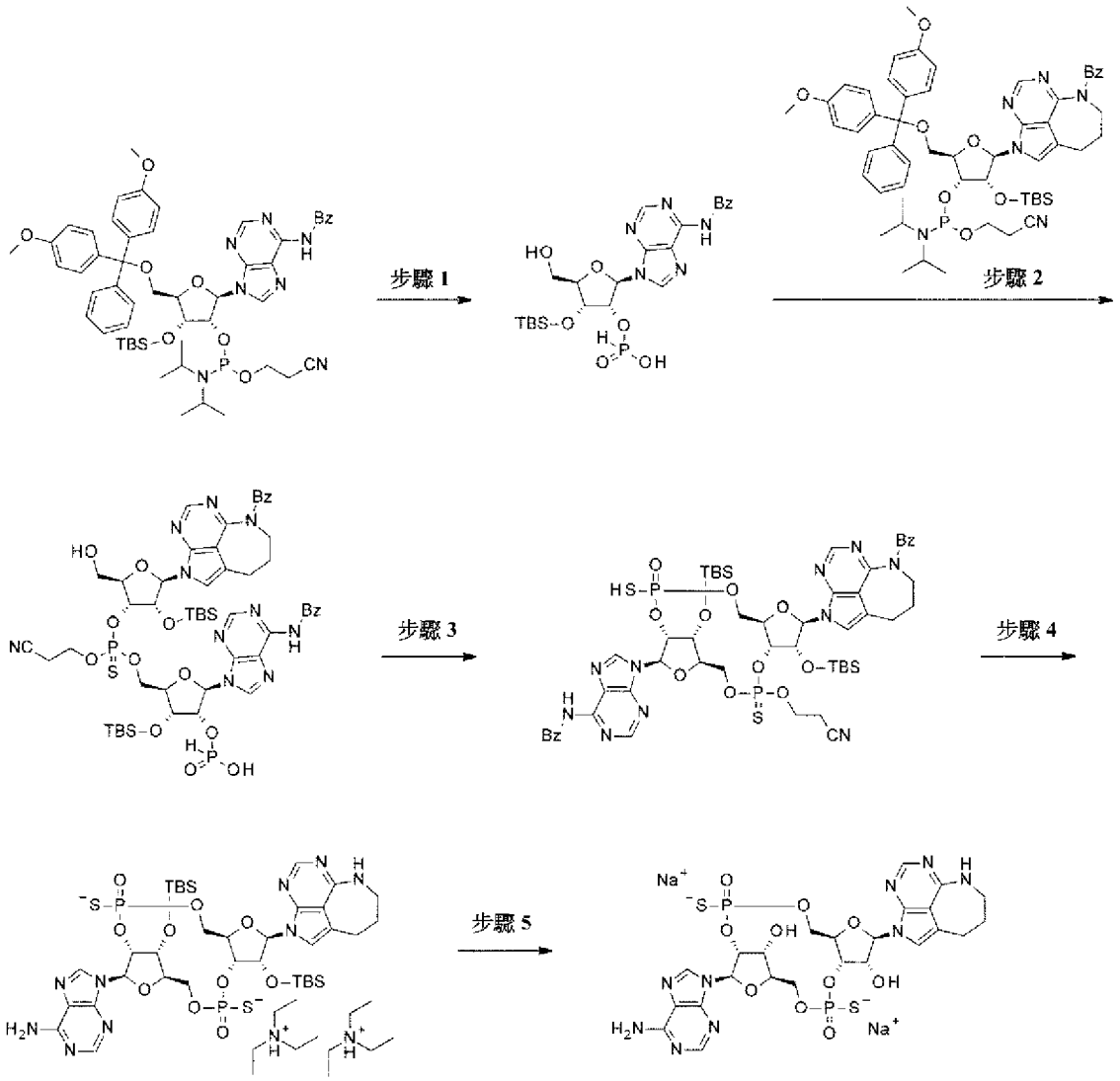
2

2a (1 之非鏡像異構物 4)

【0395】

[合成流程圖]

【0396】



【0397】

(步驟 1)

N-苄醯基-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-2'-O-[羥基(側氧基)-λ^5-磷烷基]腺苷

使用市售(ChemGenes)之 N-苄醯基-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-2'-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}腺苷(962mg),以與實施例 1 步驟 7 同樣之手法進行反應,獲得標題化合物之乙腈溶液。將此乙腈溶液直接用於之後的反應。

【0398】

(步驟 2)

使用於上述步驟 1 獲得的化合物與實施例 1 步驟 6 獲得的化合物(1.00g)，以與實施例 1 步驟 8 同樣之手法進行反應。將獲得的粗生成物直接用於之後的反應。

【0399】

(步驟 3)

N-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-2-(2-氰基乙氧基)-10-側氧基-10-氫 硫 基-2-亞 磺 基 八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-9H-嘌呤-6-基}苯甲醯胺

使用上述步驟 2 所獲得的粗生成物，以與實施例 1 步驟 9 同樣之手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(367mg)。

MS(ESI)m/z：1219(M＋H)$^+$.

【0400】

(步驟 4)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-胺基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於上述步驟 3 獲得的化合物(367mg)，以與實施例 1 步驟 10 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物之非鏡像異構物 1(115mg：含有雜質)與非鏡像異構物 4(101mg：含有雜質)。

非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：958$(M+H)^+$.

非鏡像異構物 4(高極性)

MS(ESI)m/z：958$(M+H)^+$.

【0401】

(步驟 5)

二 鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-胺 基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(化合物 1 之非鏡像異構物 4)

使用於上述步驟 4 獲得的化合物(非鏡像異構物 4)(101mg：含有雜質)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]進行純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]、製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈、乙腈：5%-25%(0 分-40 分)]、及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/甲醇、甲醇：5%-100%(0 分-40 分)]。

將獲得的三乙基胺鹽以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(28.5mg)。

MS(ESI)m/z：730$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：9.11(1H，s)，8.19(1H，s)，8.02(1H，s)，7.08(1H，s)，6.35(1H，d，J=8.5Hz)，6.27(1H，d，J=4.8Hz)，5.43-5.36(1H，m)，5.29-5.21(1H，m)，4.95-4.88(1H，m)，4.80(1H，dd，J=4.5，2.3Hz)，4.50-4.43(1H，m)，4.42-4.33(2H，m)，4.30-4.22(1H，m)，4.20-4.03(2H，m)，3.52-3.46(2H，m)，2.85-2.66(2H，m)，2.05-1.90(2H，m).

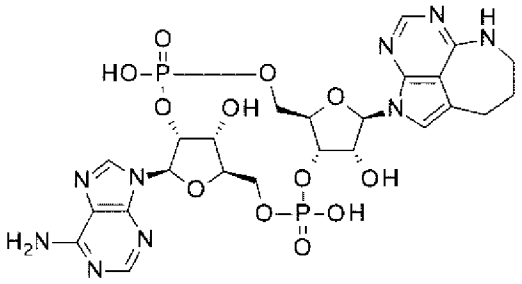
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：58.1(s)，54.1(s).

【0402】

實施例3：CDN3之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-胺基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,15,16-四羥基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0403】

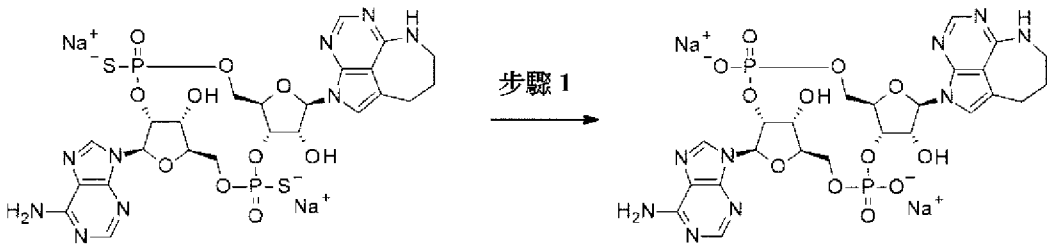


3

【0404】

[合成流程圖]

【0405】



【0406】

(步驟 1)

二 鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-胺 基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(醇鹽)

於實施例 1 步驟 11 獲得的化合物(非鏡像異構物 1)(30.0mg)之丙酮(0.5mL)-水(0.2mL)溶液中，添加三乙基胺(0.27mL)與碘甲烷(60μL)，攪拌 1 日。減壓濃縮反應液後，以製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈、乙腈：0%-20%(0 分-40 分)]純化。獲得的化合物以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，而獲得標題化合物(21.2mg)。

MS(ESI)m/z：698(M+H)$^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.55(1H，s)，8.18(1H，s)，8.01(1H，s)，7.32(1H，s)，6.26(1H，s)，6.13(1H，s)，5.00-4.85(2H，m)，4.68-4.64(1H，m)，4.48-4.23(5H， m)，4.15-4.04(2H，m)，3.49-3.39(2H，m)，2.90-2.66(2H，m)，1.98-1.83(2H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：-0.22(s).

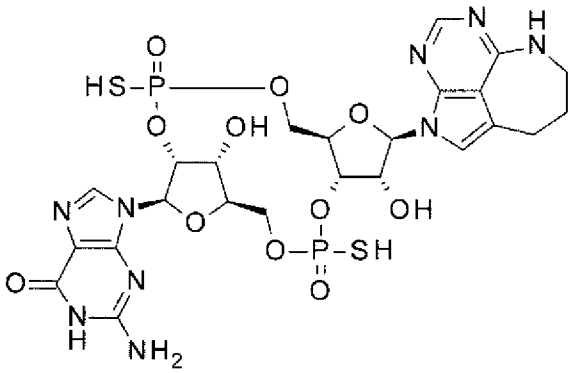
【0407】

實施例 4：CDN4 之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(2-胺基-6-側氧基-1,6-二 氫-9H-嘌 呤-9-基)-15,16-二 羥 基-2,10-雙(氫 硫 基)-14-

(6,7,8,9-四　氫-2H-2,3,5,6-四　氮　苯　并[cd]薁-2-基)八　氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0408】



4

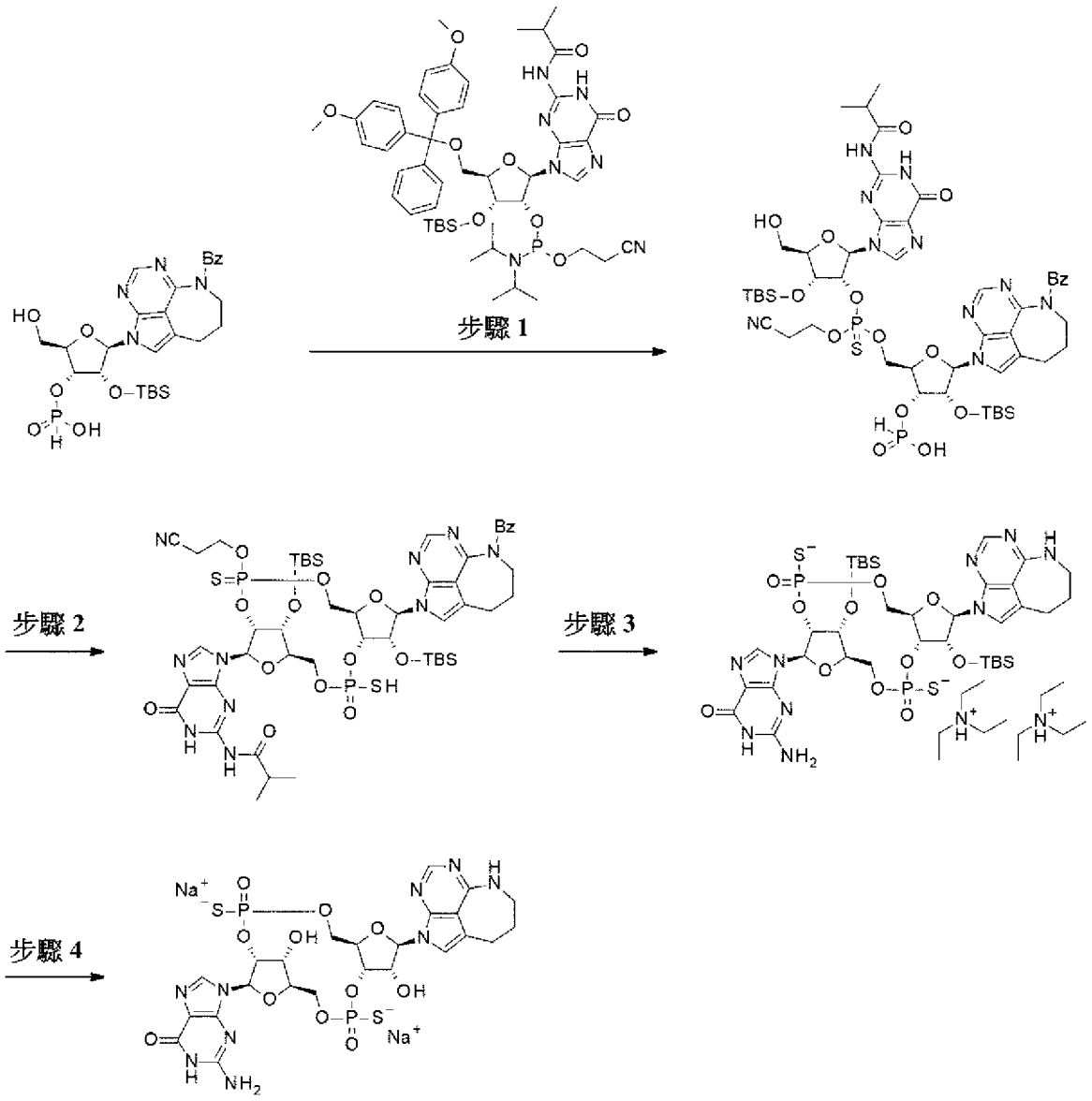
4a (非鏡像異構物 1)

4b (非鏡像異構物 2)

【0409】

[合成流程圖]

【0410】



【0411】

(步驟 1)

將實施例 1 步驟 7 之反應以下列之規模實施(原料：1.01g)。使用獲得的化合物之乙腈溶液與市售(Wuhu Nuowei Chemistry)之 5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-2'-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}-N-(2-甲基丙醯基)鳥苷(954mg)，以與實施例 1 步驟 8 同樣之手法進行反應。將獲得的粗生成物直接用於之後的反應。

【0412】

(步驟 2)

N-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-10-(2-氰基乙氧基)-2-側氧基-2-氫硫基-10-亞巯基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-2-基}-2-甲基丙醯胺

使用上述步驟 1 所獲得的粗生成物，以與實施例 1 步驟 9 同樣之手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(357mg)。

MS(ESI)m/z：1201(M+H)$^+$.

【0413】

(步驟 3)

雙(N,N-二乙基乙銨)(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(2-胺基-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於上述步驟 3 獲得的化合物(357mg)，以與實施例 1 步驟 10 同樣之手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(241mg)。

MS(ESI)m/z：974(M+H)$^+$.

【0414】

(步驟 4)

二 鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(2-胺 基-6-側 氧 基-1,6-二 氫-9H-嘌 呤-9-基)-15,16-二 羥 基-2,10-二 側 氧 基-14-(6,7,8,9-四 氫-2H-2,3,5,6-四 氮 苯 并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於上述步驟 3 獲得的化合物(241mg)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]將磷原子上之非鏡像異構物分離，各自獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物之 2 種類之非鏡像異構物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈、乙腈：5%-20%(0 分-40 分)]。

獲得的三乙基胺鹽以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，而獲得標題化合物之非鏡像異構物 1(56.7mg)及非鏡像異構物 2(25.9mg)(HPLC 之滯留時間：非鏡像異構物 1＞2)。

非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：746(M＋H)$^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.03(1H，s)，8.00(1H，s)，7.11(1H，s)，6.27(1H，d，J=3.0Hz)，5.99(1H，d，J=8.5Hz)，5.67-5.61(1H，m)，5.27-5.21(1H，m)，4.85(1H，d，J=3.6Hz)，4.73(1H，dd，J=3.9，2.0Hz)，4.48-4.39(2H，m)，4.38-4.30(2H，m)，4.18-4.08(2H，m)，3.51-3.45(2H，m)，2.80-2.71(1H，m)，2.63-2.53(1H，m)，2.02-1.84(2H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：57.6(s)，53.5(s).

非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：746(M＋H)$^+$.

1H-NMR(CD_3OD)δ：8.20(1H，s)，8.01(1H，s)，7.19(1H，s)，6.32(1H，d，J=6.0Hz)，6.05(1H，d，J=8.5Hz)，5.67-5.53(1H，m)，5.47-5.40(1H，m)，4.77-4.71(1H，m)，4.51-4.46(1H，m)，4.45-4.30(3H，m)，4.28-4.25(1H，m)，4.19-4.08(1H，m)，3.96-3.89(1H，m)，3.53-3.46(2H，m)，2.92-2.79(2H，m)，2.05-1.93(2H，m).

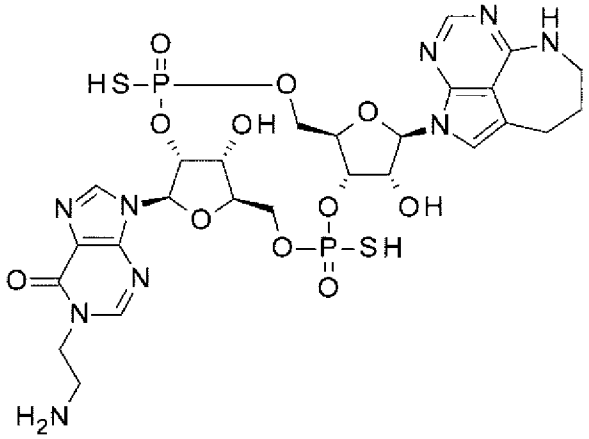
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：61.7(s)，59.5(s).

【0415】

實施例 5：CDN5 之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[1-(2-胺基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-15,16-二羥基-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0416】



5

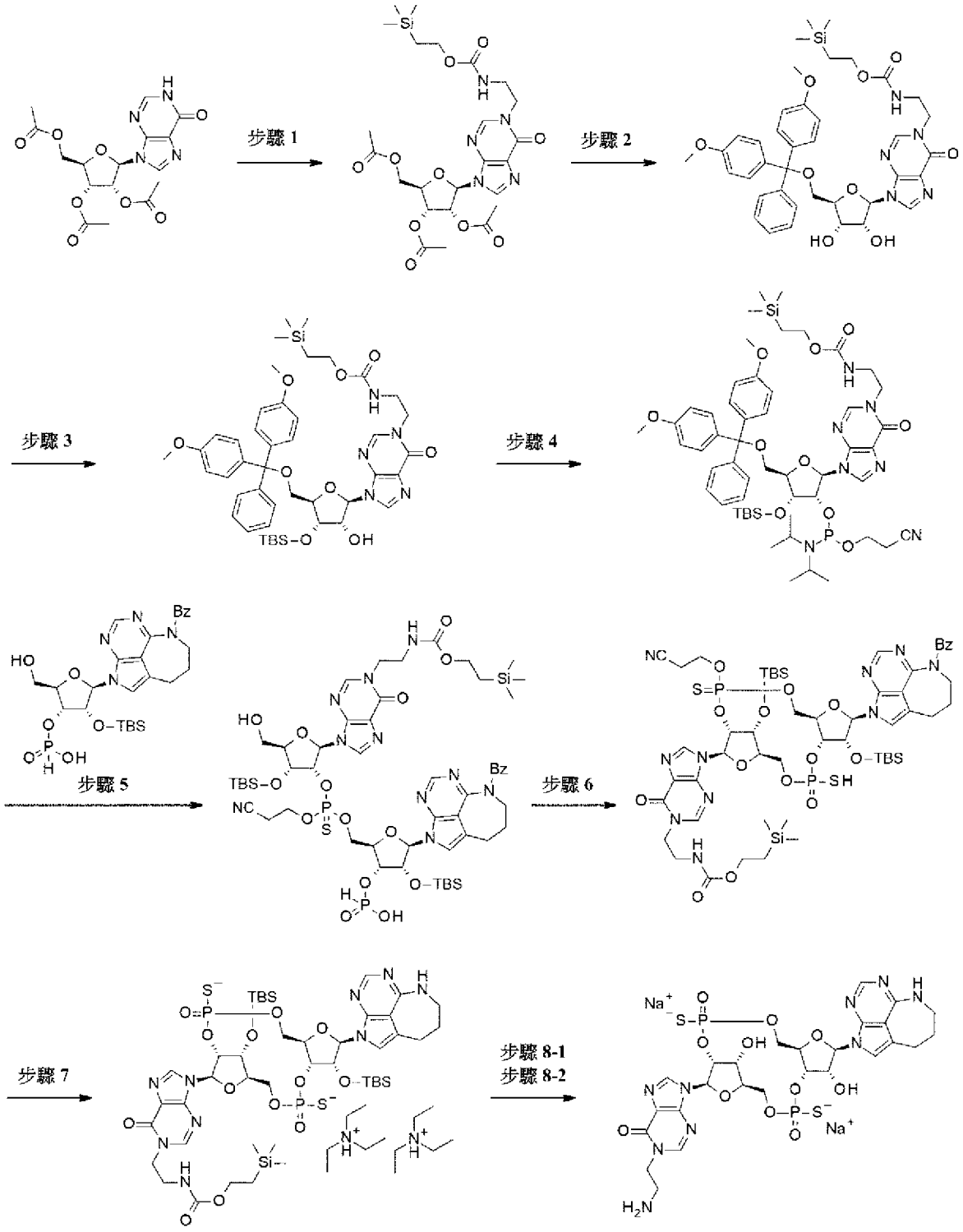
5a (非鏡像異構物 1)

5b (非鏡像異構物 2)

【0417】

[合成流程圖]

【0418】



【0419】

(步驟 1)

2',3',5'-三-O-乙醯基-1-[2-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)乙基]肌苷

於 2',3',5'-三-O-乙醯基肌苷(5.00g)之四氫呋喃(90mL)懸浮液中，添加 2-(三甲基矽基)乙基 (2-羥基乙基)胺甲酸酯(3.12g)與三苯基膦(3.99g)後，添加二丙烷-2-基 (E)-二氮烯-1,2-二甲酸酯(3.05mL)之四氫呋喃(10mL)溶液，並於室溫攪拌 15 小時。減壓濃縮反應液後，殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯/甲醇]純化，獲得標題化合物(3.01g)。

MS(ESI)m/z：582$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：7.96(1H，s)，7.93(1H，s)，6.10(1H，d，J=4.8Hz)，5.86(1H，t，J=5.4Hz)，5.58 (1H，t，J=5.1Hz)，4.96(1H，t，J=7.3Hz)，4.47-4.40(2H，m)，4.36(1H，dd，J=13.0，5.1Hz)，4.24 (2H，t，J=5.4Hz)，4.15(2H，t，J=8.8Hz)，3.55(2H，q，J=6.0Hz)，2.15(3H，s)，2.13(3H，s)，2.10(3H，s)，0.97(2H，t，J=8.8Hz)，0.03(9H，s).

【0420】

(步驟 2)

5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-1-[2-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)乙基]肌苷

於上述步驟 1 獲得的化合物(3.01g)之四氫呋喃(15mL)-甲醇(15mL)溶液中添加碳酸鉀(100mg)，並於室溫攪拌 2 小時。於反應液中添加乙酸(83μL)，減壓濃縮，將殘留物以吡啶共沸。再次溶解於吡啶(30mL)後，於 0℃添加 4,4'-二甲氧基三苯甲基氯(2.10g)，並攪拌 30 分鐘後，於冷藏庫中保管整夜。於反應液

中添加甲醇(1mL)，攪拌 30 分鐘後，減壓濃縮。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯/甲醇/0.1%三乙基胺]純化，獲得標題化合物(3.61g)。

MS(ESI)m/z：758$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：7.92(1H，s)，7.76(1H，s)，7.37(2H，d，J=7.3Hz)，7.29-7.14(7H，m)，6.78(4H， d，J=8.5Hz)，5.94(1H，d，J=5.4Hz)，5.63(1H，br s)，4.81-4.74(1H，m)，4.46-4.41(1H，m)，4.36-4.31(1H，m)，4.19-4.05(4H，m)，3.76(6H，s)，3.52-3.44(2H，m)，3.44-3.31(2H，m)，0.99-0.91 (2H，m)，0.02(9H，s).(僅記載能觀測到的波峰)

【0421】

(步驟 3)

5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-1-[2-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)乙基]肌苷

於上述步驟 2 獲得的化合物(3.61g)之二氯甲烷(18mL)溶液中，添加咪唑(811mg)與三級丁基(氯基)二甲基矽烷(861mg)，並於室溫攪拌 17 小時。於反應液中添加飽和碳酸氫鈉水溶液，以二氯甲烷萃取。有機層以無水硫酸鈉乾燥後，濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯/0.1%三乙基胺]純化，各自獲得標題化合物(1.61g)及為標題化合物之位置異構物的 5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-1-[2-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)乙基]肌苷(1.31g)。

MS(ESI)m/z：872$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：7.98(1H，s)，7.85(1H，s)，7.39(2H，d，J=7.9Hz)，7.32-7.15(7H，m)，6.78(4H，d，J=9.1Hz)，5.93(1H，d，J=4.8Hz)，5.22-5.11(1H，m)，4.60(1H，q，J=5.6Hz)，4.47(1H，t，J=4.2Hz)，4.28-4.08(5H，m)，3.77(6H，s)，3.59-3.49(2H，m)，3.45(1H，dd，J=10.3,3.0Hz)，3.26(1H，dd，J=10.3,3.9Hz)，3.15-3.08(1H，m)，0.95(2H，t，J=8.5Hz)，0.88(9H，s)，0.07(3H，s)，0.02(9H，s)，0.00(3H，s).

位置異構物(2'-O-TBS 體)

MS(ESI)m/z：872$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：7.99(1H，s)，7.82(1H，s)，7.46-7.41(2H，m)，7.35-7.19(7H，m)，6.84-6.78(4H，m)，5.98(1H，d，J=5.4 Hz)，5.06-4.96(1H，m)，4.84(1H，t，J=5.4 Hz)，4.34-4.08(6H，m)，3.78(6H，s)，3.54(2H，q，J=5.8Hz)，3.48(1H，dd，J=10.6，2.7 Hz)，3.39(1H，dd，J=10.6，3.9 Hz)，2.71(1H，d，J=4.2Hz)，0.99-0.91(2H，m)，0.85(9H，s)，0.03(9H，s)，0.02(3H，s)，-0.12(3H，s).

【0422】

(步驟 4)

5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-2'-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}-1-[2-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)乙基]肌苷

於上述步驟 3 獲得的化合物(1.61g)之二氯甲烷(18.5mL)溶液中，添加 4,5-二氰基咪唑(240mg)與 2-氰基乙基 N,N,N',N'-

四異丙基亞磷醯二胺(0.703mL)，並於室溫攪拌 15 小時。於反應液中添加飽和碳酸氫鈉水溶液而停止反應。反應液以二氯甲烷萃取後，有機層以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。殘留物以 DIOL 矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物(非鏡像異構物比=61：39)之標題化合物(1.95g)。

MS(ESI)m/z：1072$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.04(0.39H，s)，7.99(0.61H，s)，7.83(0.39H，s)，7.82(0.61H，s)，7.42(2H，d，J=7.3Hz)，7.35-7.15(7H，m)，6.85-6.77(4H，m)，6.15(0.61H，d，J=6.0Hz)，6.09(0.39H，d，J=4.8 Hz)，5.34-5.24(0.61H，m)，5.12-5.03(0.39H，m)，4.86-4.76(0.39H，m)，4.72-4.62(0.61H，m)，4.47-4.42(0.39H，m)，4.42-4.36(0.69H，m)，4.31-4.05(6H，m)，3.78(6H，s)，3.78-3.65(1H，m)，3.61-3.39(7H，m)， 3.35 (0.61H，dd，J=10.6，3.9Hz)，3.28(0.39H，dd，J=10.9，4.2Hz)，2.49(0.78H，t，J=6.0Hz)，2.29(1.22H，t，J=5.7Hz)，1.30-0.94(12H，m)，0.85(5.49H，s)，0.84(3.51H，s)，0.09(1.17H，s)，0.08(1.83H，s)，0.03(9H，s)，0.02(1.83H，s)，0.00(1.17H，s).

【0423】

(步驟 5)

以與實施例 1 步驟 7 相同方式，將反應以下列之規模實施(原料：910mg)。使用獲得的化合物之乙腈溶液與於上述步驟 4 獲得的化合物(950mg)，以與實施例 1 步驟 8 同樣之手法進行反應。將獲得的粗生成物直接用於之後的反應。

【0424】

(步驟 6)

2-(三甲基矽基)乙基(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-10-(2-氰基乙氧基)-2-側氧基-2-氫硫基-10-亞硫基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基}乙基)胺甲酸酯

使用上述步驟 5 所獲得的粗生成物，以與實施例 1 步驟 9 同樣之手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(602mg)。

MS(ESI)m/z：1303(M＋H)$^+$.

【0425】

(步驟 7)

雙(N,N-二乙基乙銨)(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-2,10-二側氧基-7-{6-側氧基-1-[2-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)乙基]-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基}-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於上述步驟 6 獲得的化合物(602mg)，以與實施例 1 步驟 10 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物之非鏡像異構物 1(205mg：含有雜質)及非鏡像異構物 2(244mg：含有雜質)。

非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：1146(M＋H)$^+$.

非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：1146(M＋H)$^+$.

【0426】

(步驟 8-1)

二　鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[1-(2-胺基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

於上述步驟 7 獲得的化合物(非鏡像異構物 1)(145mg：含有雜質)中添加三乙基胺三氫氟酸鹽(1.31mL)，並於 45℃攪拌 3 小時。室溫下，於反應液中添加冰冷的 1M 碳酸氫三乙基銨溶液(10mL)與三乙基胺(2mL)之混合溶液。減壓濃縮反應液後，以 C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]純化。於獲得的化合物之四氫呋喃(4mL)溶液中添加氟化四丁基銨之四氫呋喃溶液(約 1M，2mL)，並於室溫攪拌 39 小時。於反應液中添加 10mM 乙酸三乙基銨水溶液(4mL)，減壓濃縮。將殘留物以 C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈、乙腈：5%-50%(0 分-40 分)]純化。於進行獲得的化合物(三乙基胺鹽)之鹽交換之際，除了於溶解化合物的溶劑及溶析液之一部分使用乙腈-甲醇-純水(1：1：1)之混合液以外，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，並獲得標題化合物(72.5mg)。

MS(ESI)m/z：774(M＋H)$^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.60(1H，s)，8.15(1H，s)，8.02(1H，s)，7.11(1H，s)，6.26(1H，d，J=4.8Hz)，6.24(1H，t，J=5.1Hz)，5.47(1H，dt，J=8.2，4.2Hz)，5.23-5.17(1H，m)，4.77-4.73(2H，m)，4.52-4.44(2H，m)，4.36-4.19(3H，m)，4.14-4.02(3H，m)，3.48(2H，t，J=4.8Hz)，3.31-3.26(2H，m)，2.90-2.74(2H，m)，2.01-1.93(2H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：57.7(s)，54.7(s).

【0427】

(步驟 8-2)

二　鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[1-(2-胺基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

使用於上述步驟 7 獲得的化合物(非鏡像異構物 2)(133mg：含有雜質)而以與上述步驟 8-1 同樣的手法進行反應及鹽交換，獲得標題化合物(55.4mg)。

MS(ESI)m/z：774$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.72(1H，s)，8.25(1H，s)，8.02(1H，s)，7.11(1H，s)，6.31(1H，d，J=6.7Hz)，6.28(1H，d，J=8.5Hz)，5.47-5.38(2H，m)，4.77(1H，dd，J=6.7，4.2Hz)，4.48(1H，d，J=4.2Hz)，4.46-4.37(2H，m)，4.37-4.29(3H，m)，4.27-4.18(1H，m)，4.08-4.02(1H，m)，3.92-3.85(1H，m)，3.53-3.46(2H，m)，3.28-3.23(2H，m)，2.93-2.86(2H，m)，2.04-1.96(2H，m).

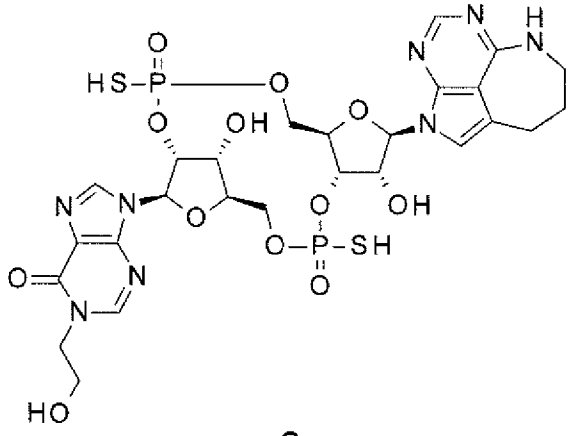
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：62.6(s)，60.0(s).

【0428】

實施例 6：CDN6 之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二羥基-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0429】



6

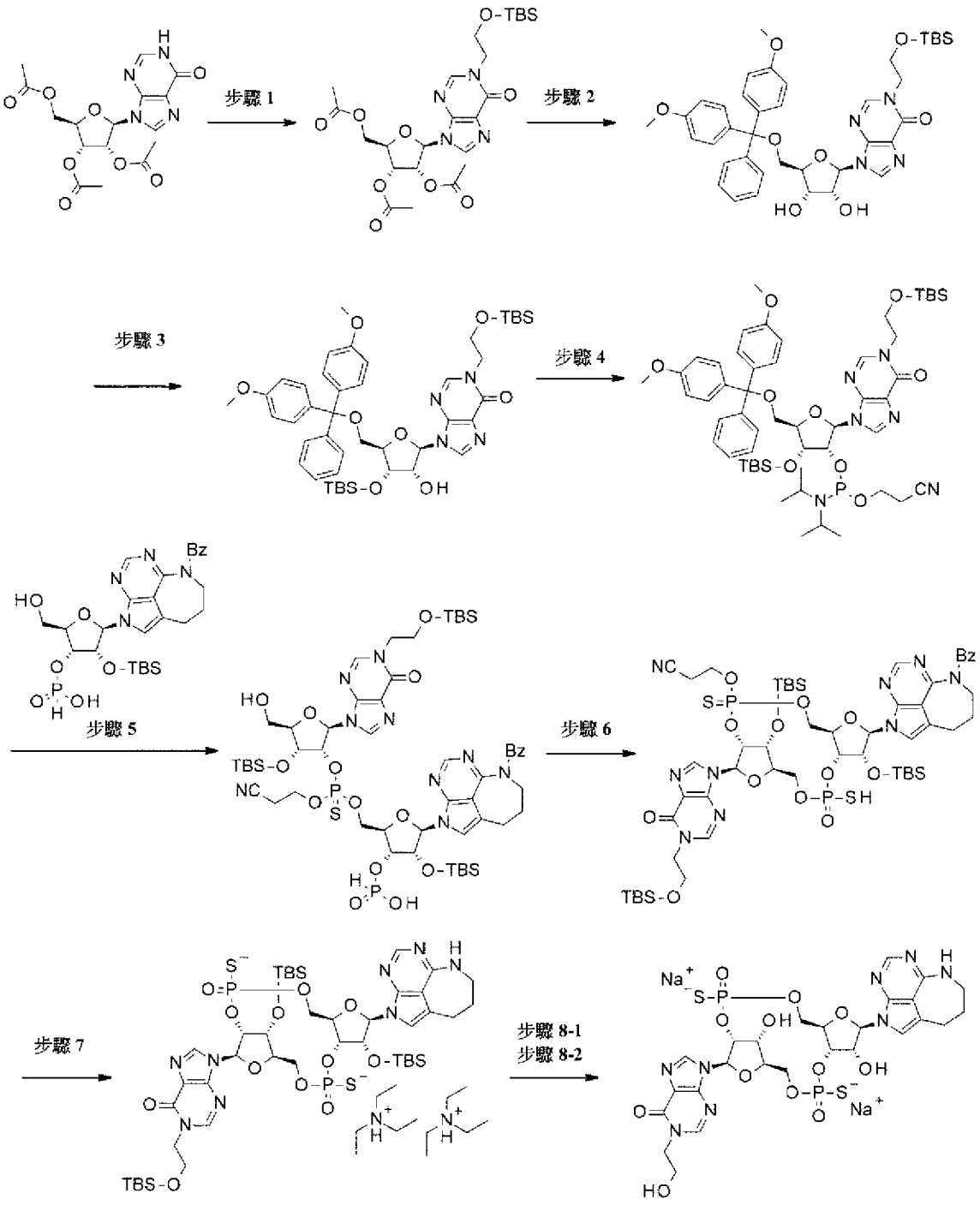
6a (非鏡像異構物 1)

6b (非鏡像異構物 2)

【0430】

[合成流程圖]

【0431】



【0432】

(步驟 1)

2',3',5'-三-O-乙醯基-1-(2-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}乙基)肌苷

於市售(Ark Pharm)之 2',3',5'-三-O-乙醯基肌苷(10.0g)之四氫呋喃(100mL)懸浮液中，添加 2-{[三級丁基(二甲基)矽

基]氧基}乙-1-醇(5.37g)與三苯基膦(7.69g)後，添加二丙烷-2-基 (E)-二氮烯-1,2-二甲酸酯(6.10mL)，並於室溫攪拌 6 小時。減壓濃縮反應液後，將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯/二氯甲烷]純化，獲得呈標題化合物與三苯基膦氧化物之混合物(10.6g)。

MS(ESI)m/z：553$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.05(1H，s)，7.92(1H，s)，6.12(1H，d，J=5.4Hz)，5.86(1H，t，J=5.4Hz)，5.59(1H，dd，J=5.4,4.2Hz)，4.47-4.41(2H，m)，4.38-4.31(1H，m)，4.22-4.17(2H，m)，3.89(2H，t，J=4.8Hz)，2.15(3H，s)，2.14(3H，s)，2.08(3H，s)，0.83(9H，s)，-0.06(3H，s)，-0.06(3H，s).

【0433】

(步驟 2)

5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-1-(2-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}乙基)肌苷

使用於上述步驟 1 獲得的化合物(10.6g)，以與實施例 5 步驟 2 同樣的手法進行反應，獲得呈標題化合物與三苯基膦氧化物之混合物(7.21g)。

MS(ESI)m/z：729$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.01(1H，s)，7.97(1H，s)，7.35-7.30(2H，m)，7.25-7.17(7H，m)，6.81-6.76(4H，m)，5.95(1H，d，J=5.4Hz)，5.13(1H，brs)，4.68-4.61(1H，m)，4.43-4.36(2H，m)，4.31-4.23(1H，m)，4.15-4.08(1H，m)，3.89(2H，t，J=4.5Hz)，3.77(6H，s)，3.42(1H，dd，J=10.3,3.6Hz)，

3.34(1H，dd，J=10.3,3.6Hz)，3.10(1H，brs)，0.83(9H，s)，-0.06(3H，s)，-0.07(3H，s).

【0434】

(步驟 3)

5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-1-(2-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}乙基)肌苷

使用於上述步驟 2 獲得的化合物(7.21g)，以與實施例 5 步驟 3 同樣的手法進行反應，獲得標題化合物(2.17g)及為標題化合物之位置異構物的 5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-1-(2-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}乙基)肌苷(2.55g)。

MS(ESI)m/z：843$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：7.99(1H，s)，7.97(1H，s)，7.43-7.39(2H，m)，7.33-7.19(7H，m)，6.83-6.77(4H，m)，5.96(1H，d，J=4.2Hz)，4.56-4.50(2H，m)，4.33-4.25(1H，m)，4.19-4.02(2H，m)，3.89(2H，t，J=4.8Hz)，3.78(6H，s)，3.45(1H，dd，J=10.9，4.2Hz)，3.27(1H，dd，J=10.9，4.2Hz)，3.03(1H，d，J=6.0Hz)，0.88(9H，s)，0.82(9H，s)，0.07(3H，s)，-0.01(3H，s)，-0.07(3H，s)，-0.07(3H，s).

位置異構物(2'-O-TBS 體)

MS(ESI)m/z：843$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：7.98(1H，s)，7.94(1H，s)，7.46-7.42(2H，m)，7.35-7.20(7H，m)，6.85-6.79(4H，m)，5.99(1H，d，J=5.4Hz)，4.83(1H，t，J=5.1Hz)，4.33-4.29(1H，m)，4.27-4.24(1H，m)，4.24-4.12(2H，m)，3.90(2H，t，J=4.5Hz)，

3.79(3H，s)，3.78(3H，s)，3.48(1H，dd，J=10.3,3.0Hz)，3.40(1H，dd，J=10.3,3.0Hz)，2.71(1H，d，J=3.6Hz)，0.86(9H，s)，0.83(9H，s)，0.01(3H，s)，-0.07(3H，s)，-0.07(3H，s)，-0.11(3H，s).

【0435】

(步驟 4)

5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-1-(2-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}乙基)-2'-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}肌苷

使用於上述步驟 3 獲得的化合物(2.17g)，以與實施例 5 步驟 4 同樣的手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(2.65g)。

MS(ESI)m/z：1043$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.03(0.53H，s)，8.01(0.47H，s)，7.97(0.53H，s)，7.93(0.47H，s)，7.45-7.41(2H，m)，7.35-7.19(7H，m)，6.83-6.78(4H，m)，6.17(0.53H，d，J=4.2Hz)，6.05(0.47H，d，J=4.2Hz)，4.87-4.80(0.47H，m)，4.64-4.58(0.53H，m)，4.46-4.40(1H，m)，4.30-4.05(3H，m)，3.92-3.87(2H，m)，3.78(6H，s)，3.86-3.40(5H，m)，3.33-3.24(1H，m)，2.54(0.94H，t，J=6.0Hz)，2.43(1.06H，t，J=6.7Hz)，1.16-1.09(9H，m)，1.01-0.97(3H，m)，0.83(4.23H，s)，0.83(4.77H，s)，0.82(9H，s)，0.07(1.41H，s)，0.04(1.59H，s)，-0.02(3H，s)，-0.07(1.41H，s)，-0.08(1.59H，s)，-0.08(3H，s).

【0436】

(步驟 5)

以與實施例 1 步驟 7 相同方式，將反應以下列之規模實施(原料：935mg)。使用獲得的化合物之乙腈溶液與於上述步驟 4 獲得的化合物(950mg)，以與實施例 1 步驟 8 同樣之手法進行反應。將獲得的粗生成物直接用於之後的反應。

【0437】

(步驟 6)

3-({(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-苄 醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-7-[1-(2-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2-側氧基-2-氫硫基-10-亞巯基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-10-基}氧基)丙腈

使用上述步驟 5 所獲得的粗生成物，以與實施例 1 步驟 9 同樣之手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(494mg)。

MS(ESI)m/z：1274$(M+H)^+$.

【0438】

(步驟 7)

雙(N,N-二 乙 基 乙 銨)(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-7-[1-(2-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於上述步驟 6 獲得的化合物(494mg)，以與實施例 1 步驟 10 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物之非鏡像異構物 1(88.5mg：含有雜質)及非鏡像異構物 2(70.7mg：含有雜質)。

非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：1003$(M-C_6H_{15}Si+2H)^+$.

非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：1003$(M-C_6H_{15}Si+2H)^+$.

【0439】

(步驟 8-1)

二 鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二 羥基-7-[1-(2-羥 基 乙 基)-6-側 氧 基-1,6-二 氫-9H-嘌 呤-9-基]-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ⁵,10λ⁵-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

使用於上述步驟 7 獲得的化合物(非鏡像異構物 1)(88.5mg：含有雜質)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]進行純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件] C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：5%-30%(0 分-40 分)]。

獲得的三乙基胺鹽以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，而獲得標題化合物(25.7mg)。

MS(ESI)m/z：775$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.63(1H，s)，8.22(1H，s)，8.02(1H，s)，7.11(1H，s)，6.30-6.24(2H，m)，5.46-5.37(1H，m)，5.23-5.15(1H，m)，4.83-4.79(1H，m)，4.78-4.74(1H，m)，4.53-4.42(2H，m)，4.35-4.16(3H，m)，4.16-3.97(3H，m)，3.83-3.78(2H，m)，3.52-3.47(2H，m)，2.88-2.81(2H，m)，2.03-1.95(2H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：57.8(s)，54.4(s).

【0440】

(步驟 8-2)

二 鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二 羥基-7-[1-(2-羥 基 乙 基)-6-側 氧 基-1,6-二 氫-9H-嘌 呤-9-基]-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

使用於上述步驟 7 獲得的化合物(非鏡像異構物 2)(70.7mg：含有雜質)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]進行純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件] C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]、製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈、乙腈：5%-25%(0 分-40 分)]、及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/甲醇、甲醇：15%-70%(0 分-40 分)]。

獲得的三乙基胺鹽以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，而獲得標題化合物(17.8mg)。

MS(ESI)m/z：775$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.72(1H，s)，8.23(1H，s)，8.02(1H，s)，7.11(1H，s)，6.30(2H，dd，J=13.6,7.6Hz)，5.48-5.39(2H，m)，4.78(1H，dd，J=6.7，4.2Hz)，4.51-4.28(5H，m)，4.26-4.13(2H，m)，4.06-4.00(1H，m)，3.93-3.86(1H，m)，3.85-3.80(2H，m)，3.52-3.47(2H，m)，2.94-2.88(2H，m)，2.05-1.97(2H，m).

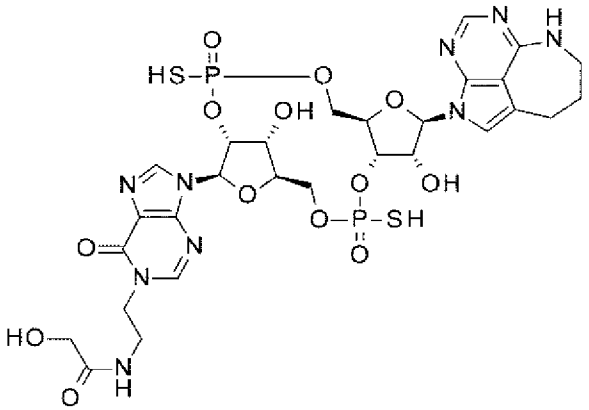
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：62.9(s)，60.0(s).

【0441】

實施例 7：CDN7 之合成

N-(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基}乙基)-2-羥基乙醯胺

【0442】



7

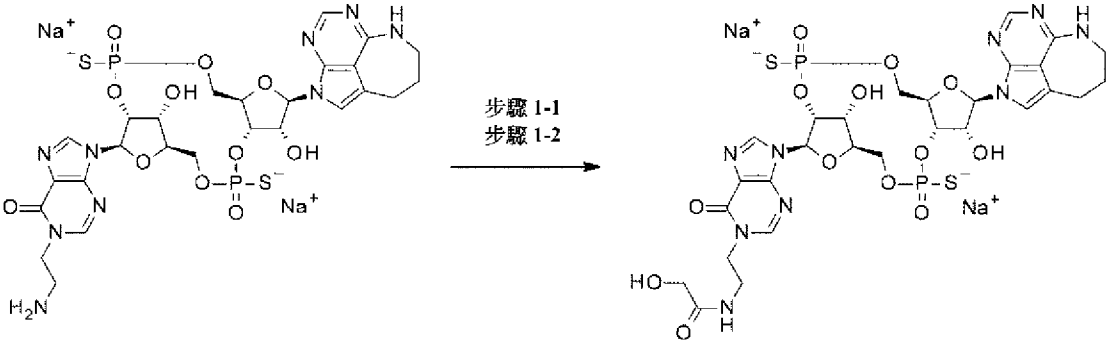
7a (非鏡像異構物 1)

7b (非鏡像異構物 2)

【0443】

[合成流程圖]

【0444】



【0445】

(步驟 1-1)

二 鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二 羥基-7-{1-[2-(2-羥基乙醯胺)乙基]-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基}-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

於實施例 5 步驟 8-1 獲得的化合物(10.0mg)之 N,N-二甲基甲醯胺(0.5mL)溶液中，添加三乙基胺(8μL)與 1-[(羥基乙醯基)氧基]吡咯啶-2,5-二酮(5.3mg)，並於室溫攪拌 2 小時。將反應液以 10mM 乙酸三乙基銨水溶液稀釋，以 C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：0%-30%(0 分-40 分)]純化。將獲得的化合物(三乙基胺鹽)，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，並獲得標題化合物(10.5mg)。

MS(ESI)m/z：832$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.57(1H，s)，8.04(1H，s)，8.03(1H，s)，7.13(1H，s)，6.26(1H，d，J=4.2Hz)，6.24-6.19(1H，m)，5.57-5.49(1H，m)，5.26-5.18(1H，m)，4.80(1H，d，

J=3.6Hz)，4.76(1H，t，J=4.5 Hz)，4.51-4.41(2H，m)，4.35-4.17(3H，m)，4.11-3.95(3H，m)，3.91(2H，s)，3.62-3.55(2H，m)，3.52-3.45(2H，m)，2.89-2.65(2H，m)，2.02-1.91(2H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：57.6(s)，54.3(s).

【0446】

(步驟 1-2)

二 鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二 羥基-7-{1-[2-(2-羥基乙醯胺)乙基]-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基}-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

使用於實施例 5 步驟 8-2 獲得的化合物(30.0mg)，以與上述步驟 1-1 同樣的手法進行反應後，以下列之[純化條件]進行純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：5%-30%(0 分-40 分)]。

【0447】將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(23.6mg)。

MS(ESI)m/z：832$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.69(1H，s)，8.14(1H，s)，8.02(1H，s)，7.11(1H，s)，6.31(1H，d，J=6.7Hz)，6.26(1H，d，J=7.9Hz)，

5.49-5.40(2H，m)，4.77(1H，dd，J=6.7，4.8Hz)，4.48(1H，d，J=4.2Hz)，4.46-4.28(4H，m)，4.22(2H，t，J=5.4Hz)，4.06-4.00(1H，m)，3.94(2H，s)，3.92-3.86(1H，m)，3.70-3.55(2H，m)，3.52-3.47(2H，m)，2.92-2.86(2H，m)，2.04-1.96(2H，m).

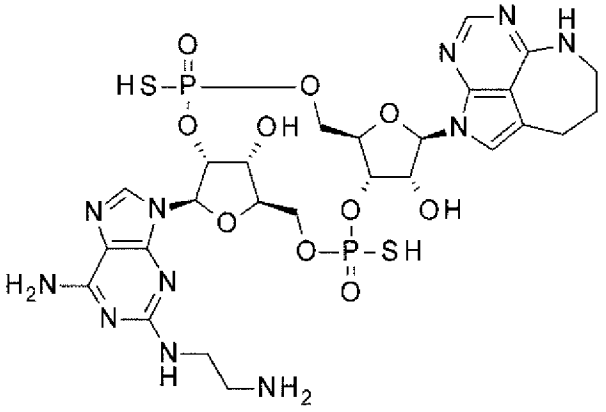
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：62.7(s)，59.9(s).

【0448】

實施例 8：CDN8 之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{6-胺 基-2-[(2-胺 基 乙 基)胺 基]-9H-嘌 呤-9-基}-15,16-二 羥 基-2,10-雙(氫 硫 基)-14-(6,7,8,9-四 氫-2H-2,3,5,6-四 氮 苯 并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0449】



8

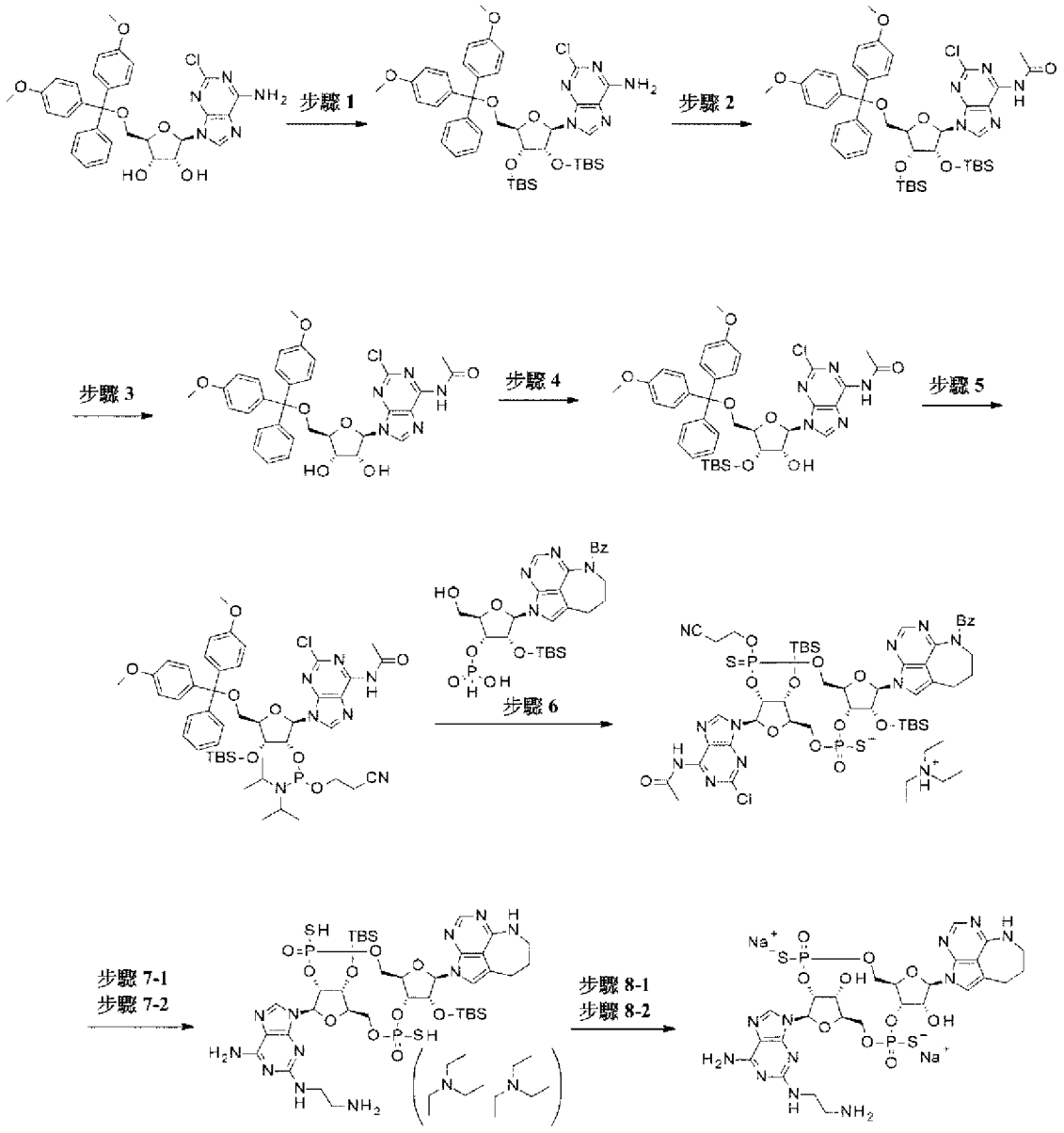
8a (非鏡像異構物 1)

8b (非鏡像異構物 2)

【0450】

[合成流程圖]

【0451】



【0452】

(步驟 1)

5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2',3'-雙-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-2-氯腺苷

於文獻已知(J.Med.Chem.1989，32,1135-1140)之 5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2-氯腺苷(29.1g)之 N,N-二甲基甲醯胺(145mL)溶液中，添加咪唑(16.4g)與三級丁基二甲基氯矽烷(18.2g)，並於室溫攪拌 18 小時。於反應液中添加水而將反應停止後，以乙酸乙酯萃取。有機層以飽和食鹽水洗淨後，以

無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯/0.1%三乙基胺]純化，獲得標題化合物(34.9g)。

MS(ESI)m/z：832$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.02(1H，s)，7.47-7.42(2H，m)，7.36-7.32(4H，m)，7.31-7.18(3H，m)，6.84-6.79(4H，m)，5.90(1H，d，J=4.8Hz)，5.72(2H，brs)，4.74(1H，dd，J=4.5，2.3Hz)，4.25(1H，dd，J=4.2，2.3Hz)，4.21(1H，q，J=4.2Hz)，3.78(6H，s)，3.58(1H，dd，J=10.9，4.2Hz)，3.33(1H，dd，J=10.9，4.2Hz)，0.84(9H，s)，0.82(9H，s)，0.04(3H，s)，-0.01(3H，s)，-0.02(3H，s)，-0.17(3H，s).

【0453】

(步驟2)

N-乙醯基-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2',3'-雙-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-2-氯腺苷

於上述步驟1獲得的化合物(34.9g)之吡啶(210mL)溶液中，添加乙酸酐(140mL)與4-二甲基胺基吡啶(515mg)，氮環境下，於室溫攪拌21小時。反應液以二氯甲烷(100mL)稀釋後，添加飽和碳酸氫鈉水溶液，並以二氯甲烷萃取。有機層以無水硫酸鈉乾燥後，濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。於殘留物中添加二氯甲烷(210mL)與味啉(7.30mL)，並於室溫攪拌1小時。於反應液中添加飽和氯化銨水溶液，以二氯甲烷萃取。有機層以無水硫酸鈉乾燥後，濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯/0.1%三乙基胺]純化，獲得標題化合物(45.4g：含有雜質)。獲得的化合物不進行進一步純化而用於下一反應。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.95(1H，brs)，8.22(1H，s)，7.45-7.42(2H，m)，7.34-7.20(7H，m)，6.82(4H，dq，J=9.4，2.7Hz)，5.96(1H，d，J=4.8Hz)，4.72-4.69(1H，m)，4.23(2H，brs)，3.79(6H，s)，3.59(1H，dd，J=10.9，3.6Hz)，3.35(1H，dd，J=10.3,3.6Hz)，2.73(3H，s)，0.83(9H，s)，0.82(9H，s)，0.04(3H，s)，0.00(3H，s)，-0.03(3H，s)，-0.18(3H，s).

【0454】

(步驟 3)

N-乙醯基-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2-氯腺苷

於上述步驟 2 獲得的化合物(45.4g：含有雜質)之四氫呋喃(200mL)溶液中，添加氟化四丁基銨之四氫呋喃溶液(約 1.0M，100mL)，氮環境下，於室溫攪拌 3 小時。於反應液中添加飽和氯化銨水溶液，並以二氯甲烷萃取。有機層以無水硫酸鈉乾燥後，濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。殘留物以矽膠管柱層析[二氯甲烷/丙酮/0.1%三乙基胺]純化，獲得標題化合物(23.0g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.71(1H，brs)，8.16(1H，s)，7.28-7.16(9H，m)，6.78-6.73(4H，m)，5.99(1H，d，J=5.4Hz)，4.86(1H，t，J=5.1Hz)，4.49(1H，dd，J=5.1,2.7Hz)，4.39(1H，q，J=3.2Hz)，3.78(3H，s)，3.77(3H，s)，3.42(1H，dd，J=10.9，3.6Hz)，3.35(1H，dd，J=10.6，3.3Hz)，2.66(3H，s).

【0455】

(步驟 4)

N-乙醯基-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-2-氯腺苷

於上述步驟 3 獲得的化合物(23.0g)之 N,N-二甲基甲醯胺(178mL)溶液中，添加咪唑(5.94g)與三級丁基二甲基氯矽烷(6.44g)，氮環境下，於室溫攪拌 18 小時。於反應液中添加飽和碳酸氫鈉水溶液，以二氯甲烷萃取。有機層以無水硫酸鈉乾燥後，濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯/0.1%三乙基胺]純化，獲得標題化合物(9.01g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.42(1H，brs)，8.14(1H，s)，7.38-7.35(2H，m)，7.29-7.18(7H，m)，6.80-6.76(4H，m)，5.99(1H，d，J=4.2Hz)，4.71-4.66(2H，m)，4.17-4.14(1H，m)，3.78(6H，s)，3.49(1H，dd，J=10.6，3.3Hz)，3.29(1H，dd，J=10.9，4.2Hz)，3.02(1H，d、J=5.4Hz)，2.67(3H，s)，0.89(9H，s)，0.11(3H，s)，0.02(3H，s).

【0456】

(步驟 5)

N-乙醯基-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-2-氯-2'-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}腺苷

使用於上述步驟 4 獲得的化合物(9.01g)，以與實施例 1 步驟 6 同樣的手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物(非鏡像異構物比=65：35)之標題化合物(10.6g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.40(1H，brs)，8.31(0.35H，s)，8.25(0.65H，s)，7.38(2H，d，J=7.3Hz)，7.29-7.19(7H，m)，6.80(4H，dd，J=9.1,2.4Hz)，6.27(0.35H，d，J=3.0Hz)，6.13(0.65H，d，J=3.6Hz)，4.88-4.83(0.65H，m)，4.69-4.65(0.35H，m)，4.56(1H，t，J=4.8Hz)，4.23-4.17(1H，m)，

3.93-3.78(1H，m)，3.78(6H，s)，3.64-3.54(4H，m)，3.33-3.28(1H，m)，2.67(3H，s)，2.56(1.3H，t，J=6.3Hz)，2.52(0.7H，t，J=6.3Hz)，1.16(2.1H，d，J=7.3Hz)，1.14(3.9H，d，J=6.0Hz)，1.12(3.9H，d，J=6.0Hz)，1.02(2.1H，d，J=6.7Hz)，0.83(5.9H，s)，0.82(3.1H，s)，0.10(1.9H，s)，0.07(1.1H，s)，0.01H(3H，s).

【0457】

(步驟 6)

N,N-二乙基乙銨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-乙醯胺-2-氯-9H-嘌呤-9-基)-14-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-10-(2-氰基乙氧基)-2-側氧基-10-亞巯基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2-硫醇鹽

以與實施例 1 步驟 7 相同方式，將反應以下列之規模實施(原料：2.06g)。使用獲得的化合物之乙腈溶液及於上述步驟 5 獲得的化合物(1.98g)，以與實施例 1 步驟 8 及實施例 1 步驟 9 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物之非鏡像異構物 1(180mg)及非鏡像異構物 2(167mg：含有雜質)。

非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：1191$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：9.10(1H，s)，8.00(1H，s)，7.40-7.36(2H，m)，7.30-7.23(4H，m)，6.38(1H，d，J=8.5Hz)，6.35(1H，d，J=3.0Hz)，5.67-5.60(1H，m)，5.09-5.04(1H，m)，4.72(1H，d，J=3.6Hz)，4.50-4.29(8H，m)，4.07(1H，

dd，J=12.4,4.5Hz)，3.91-3.83(1H，m)，3.54-3.45(1H，m)，3.17(6H，q，J=7.3Hz)，3.08(2H，t，J=6.0Hz)，2.45-2.42(2H，m)，2.42(3H，s)，2.28-2.23(2H，m)，1.29(9H，t，J=7.3Hz)，1.01(9H，s)，0.90(9H，s)，0.29(3H，s)，0.28(3H，s)，0.25(3H，s)，0.10(3H，s).

非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：1191$(M+H)^+$.

【0458】

(步驟 7-1)

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{6-胺基-2-[(2-胺基乙基)胺基]-9H-嘌呤-9-基}-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ⁵,10λ⁵-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

於上述步驟 6 獲得的化合物(非鏡像異構物 1)(49.6mg)之甲醇(1.28mL)溶液中，添加乙二胺(256μL)，於 60℃攪拌 2 小時後，使用微波反應裝置而於 120℃使其反應 2 小時。以製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：40%-70%(0 分-30 分)]純化，獲得標題化合物(37.2mg)。

MS(ESI)m/z：1016$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.27(1H，s)，7.99(1H，s)，7.16(1H，s)，6.25(1H，d，J=4.2Hz)，6.09(1H，d，J=8.5Hz)，5.41-5.35(1H，m)，5.12-5.08(1H，m)，4.86-4.80(2H，m)，4.69(1H，t，J=4.5Hz)，4.51-4.45(1H，m)，4.29-4.23(2H，m)，4.11-

4.03(2H，m)，3.51-3.44(4H，m)，3.13-3.04(2H，m)，2.80-2.76(2H，m)，2.02-1.92(2H，m)，0.99(9H，s)，0.84(9H，s)，0.32(3H，s)，0.29(3H，s)，0.24(3H，s)，0.07(3H，s).

【0459】

(步驟 7-2)

雙(N,N-二乙基乙銨)(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{6-胺基-2-[(2-胺基乙基)胺基]-9H-嘌呤-9-基}-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

於上述步驟 6 獲得的化合物(非鏡像異構物 2)(50.0mg：含有雜質)之甲醇(1.29mL)溶液中，添加乙二胺(25.8μL)，並於 60℃攪拌 2 小時後，使用微波反應裝置而於 120℃使其反應 2 小時。以製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：30%-50%(0 分-30 分)]純化，獲得標題化合物(23.7mg)。

MS(ESI)m/z：1016$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.16(1H，s)，8.00(1H，s)，7.08(1H，s)，6.33(1H，d，J=7.3Hz)，6.13(1H，d，J=8.5Hz)，5.51-5.48(1H，m)，5.30(1H，t，J=4.8Hz)，5.13-5.06(1H，m)，4.95(1H，d，J=4.2Hz)，4.66-4.55(2H，m)，4.24(1H，s)，4.08(1H，dd，J=12.4,4.5Hz)，3.89-3.83(1H，m)，3.69-3.61(1H，m)，3.50-3.33(4H，m)，3.12-3.01(14H，m)，2.89(2H，t，J=5.4Hz)，2.03-1.96(2H，m)，1.25(18H，t，J=7.3Hz)，0.99(9H，s)，0.74(9H，s)，0.27(6H，s)，0.18(3H，s)，-0.08(3H，s).

【0460】

(步驟 8-1)

二 鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{6-胺 基-2-[(2-胺基乙基)胺基]-9H-嘌呤-9-基}-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

使用於上述步驟 7-1 獲得的化合物(37.2mg),以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後,以製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈,乙腈:2%-20%(0 分-30 分)]純化,獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

【0461】獲得的三乙基胺鹽以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換,而獲得標題化合物(16.5mg)。

MS(ESI)m/z:788$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ:8.21(1H,brs),8.01(1H,s),7.07(1H,s),6.27(1H,d,J=3.6Hz),6.10(1H,d,J=8.5Hz),5.51-5.41(1H,m),5.16-5.11(1H,m),4.83(1H,d,J=3.6Hz),4.73(1H,t,J=4.2Hz),4.50-4.45(2H,m),4.35-4.29(2H,m),4.16-4.04(2H,m),3.50-3.42(4H,m),3.17-3.05(2H,m),2.82-2.66(2H,m),2.04-1.92(2H,m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ:57.9(s),54.2(s).

【0462】

(步驟 8-2)

二 鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{6-胺 基-2-[(2-胺基乙基)胺基]-9H-嘌呤-9-基}-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

使用於上述步驟 7-2 獲得的化合物(23.7mg),以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後,以製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈,乙腈:2%-20%(0 分-30 分)]純化,獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

【0463】獲得的三乙基胺鹽以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換,而獲得標題化合物(14.9mg)。

MS(ESI)m/z:788(M+H)$^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ:8.27(1H,brs),8.02(1H,s),7.15(1H,s),6.31(1H,d,J=6.0Hz),6.12(1H,d,J=8.5Hz),5.45-5.33(2H,m),4.75(1H,dd,J=5.7,4.5Hz),4.50(1H,d,J=4.2Hz),4.47-4.30(4H,m),4.17-4.13(1H,brm),3.94-3.89(1H,m),3.69-3.59(1H,brm),3.51-3.44(3H,m),3.21-3.07(2H,m),2.88-2.85(2H,m),2.03-1.97(2H,m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ:62.2(s),59.8(s).

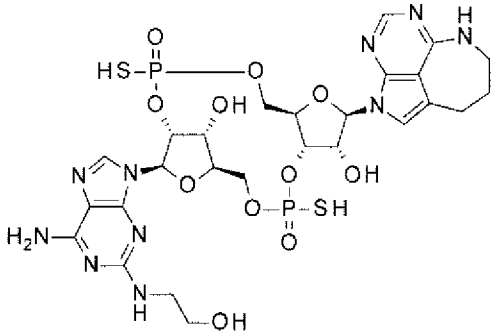
【0464】

實施例 9:CDN9 之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{6-胺 基-2-[(2-羥 基 乙 基)胺 基]-9H-嘌 呤-9-基}-15,16-二 羥 基-2,10-雙(氫 硫 基)-14-(6,7,8,9-四 氫-2H-2,3,5,6-四 氮 苯 并[cd]薁-2-

基)八　氫-2H,10H,12H-5,8-甲　橋-2λ⁵,10λ⁵-呋　喃　并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0465】

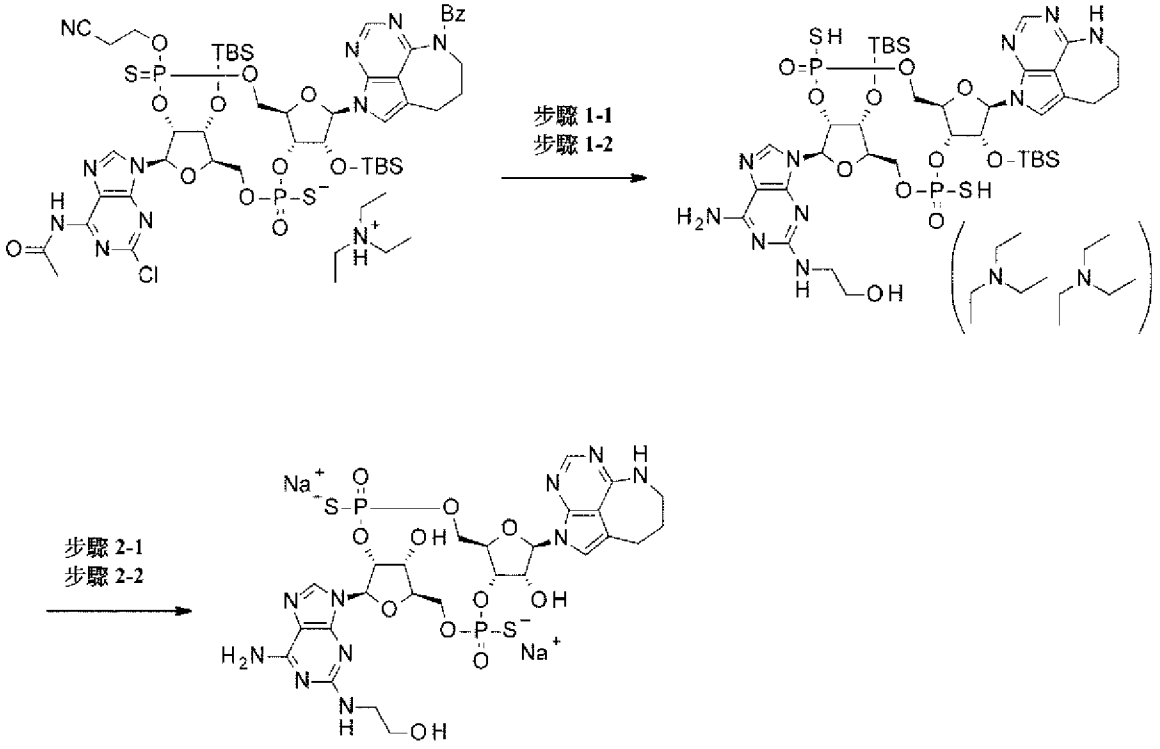


9
9a (非鏡像異構物 1)
9b (非鏡像異構物 2)

【0466】

[合成流程圖]

【0467】



【0468】

(步驟 1-1)

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{6-胺基-2-[(2-羥基乙基)胺基]-9H-嘌呤-9-基}-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

於實施例8步驟6獲得的化合物(非鏡像異構物1)(50.1mg)之甲醇(1.29mL)溶液中，添加2-胺基乙醇(258μL)，並於60℃攪拌2小時後，使用微波反應裝置而於120℃使其反應2小時。以製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨溶液/乙腈，乙腈：20%-60%(0分-30分)]純化，獲得呈含有源自乙醇胺的化合物的混合物之標題化合物(39.4mg)。

MS(ESI)m/z：1017$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.32(1H，s)，8.01(1H，s)，7.16(1H，s)，6.28(1H，d，J=5.4Hz)，6.13(1H，d，J=9.1Hz)，5.44-5.38(1H，m)，5.19-5.14(1H，m)，4.98-4.83(2H，m)，4.78-4.75(1H，m)，4.45-4.39(1H，m)，4.28-4.22(1H，m)，4.18(1H，s)，4.13-4.07(1H，m)，4.04-3.99(1H，m)，3.67(2H，t，J=5.4Hz)，3.51-3.42(4H，m)，2.86(2H，t，J=5.4Hz)，2.04-1.98(2H，m)，0.98(9H，s)，0.82(9H，s)，0.31(3H，s)，0.27(3H，s)，0.22(3H，s)，0.05(3H，s).

【0469】

(步驟1-2)

雙(N,N-二乙基乙銨)(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{6-胺基-2-[(2-羥基乙基)胺基]-9H-嘌呤-9-基}-15,16-雙{[三

級丁基(二甲基)矽基]氧基}-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ⁵,10λ⁵-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

於實施例8步驟6獲得的化合物(非鏡像異構物2)(49.3mg:含有雜質)之甲醇(1.27mL)溶液中，添加2-胺基乙醇(254μL)，於60℃攪拌2小時後，使用微波反應裝置而於120℃使其反應3小時。以製備性HPLC[10mM乙酸三乙基銨溶液/乙腈，乙腈：20%-60%(0分-30分)]純化，獲得標題化合物(26.1mg)。

MS(ESI)m/z：1017$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.25(1H，s)，8.01(1H，s)，7.10(1H，s)，6.36(1H，d，J=7.3Hz)，6.17(1H，d，J=7.9Hz)，5.59-5.53(1H，m)，5.41(1H，t，J=4.5Hz)，5.21-5.14(1H，m)，5.02-4.95(2H，m)，4.70-4.61(2H，m)，4.18(1H，s)，4.03(1H，dd，J=12.1,4.8Hz)，3.91-3.86(1H，m)，3.75-3.69(2H，m)，3.52-3.43(4H，m)，3.14(12H，q，J=7.3Hz)，2.93-2.91(2H，m)，2.04-1.99(2H，m)，1.28(18H，t，J=7.6Hz)，0.99(9H，s)，0.75(9H，s)，0.27(6H，s)，0.21(3H，s)，-0.05(3H，s).

【0470】

(步驟2-1)

二鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{6-胺基-2-[(2-羥基乙基)胺基]-9H-嘌呤-9-基}-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ⁵,10λ⁵-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

使用上述步驟 1-1 所獲得的混合物(39.4mg)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]進行純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：2%-20%(0 分-30 分)]。

獲得的三乙基胺鹽以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，而獲得標題化合物(16.8mg)。

MS(ESI)m/z：789$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.25(1H，s)，8.02(1H，s)，7.10(1H，s)，6.30(1H，d，J=3.6Hz)，6.15(1H，d，J=8.5Hz)，5.49-5.42(1H，m)，5.21-5.16(1H，m)，4.87-4.85(1H，m)，4.77(1H，t，J=4.2Hz)，4.50-4.35(3H，m)，4.31(1H，s)，4.12-4.10(2H，m)，3.64(2H，t，J=5.4Hz)，3.51-3.38(4H，m)，2.85-2.70(2H，m)，2.02-1.94(2H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：57.8(s)，53.9(s).

【0471】

(步驟 2-2)

二 鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{6-胺 基-2-[(2-羥基乙基)胺基]-9H-嘌呤-9-基}-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

使用於上述步驟 1-2 獲得的化合物(26.1mg)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]進行純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：2%-20%(0 分-30 分)]。

獲得的三乙基胺鹽以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，而獲得標題化合物(18.6mg)。

MS(ESI)m/z：789$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.35(1H，s)，8.03(1H，s)，7.17(1H，s)，6.33(1H，d，J=6.0Hz)，6.16(1H，d，J=8.5Hz)，5.49-5.41(2H，m)，4.80(1H，t，J=5.4Hz)，4.51-4.26(5H，m)，4.07(1H，d，J=12.7Hz)，3.94-3.89(1H，m)，3.67(2H，5，J=5.7Hz)，3.53-3.39(4H，m)，2.89(2H，t，J=5.4Hz)，2.03-1.99(2H，m).

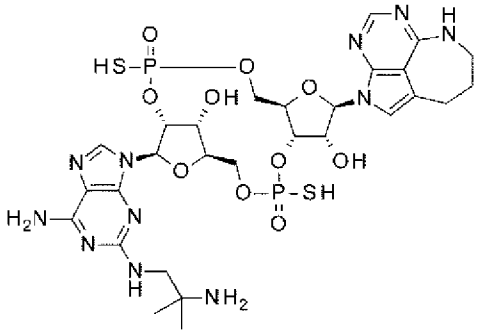
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：62.8(s)，60.3(s).

【0472】

實施例 10：CDN10 之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{6-胺基-2-[(2-胺基-2-甲基丙基)胺基]-9H-嘌呤-9-基}-15,16-二羥基-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0473】



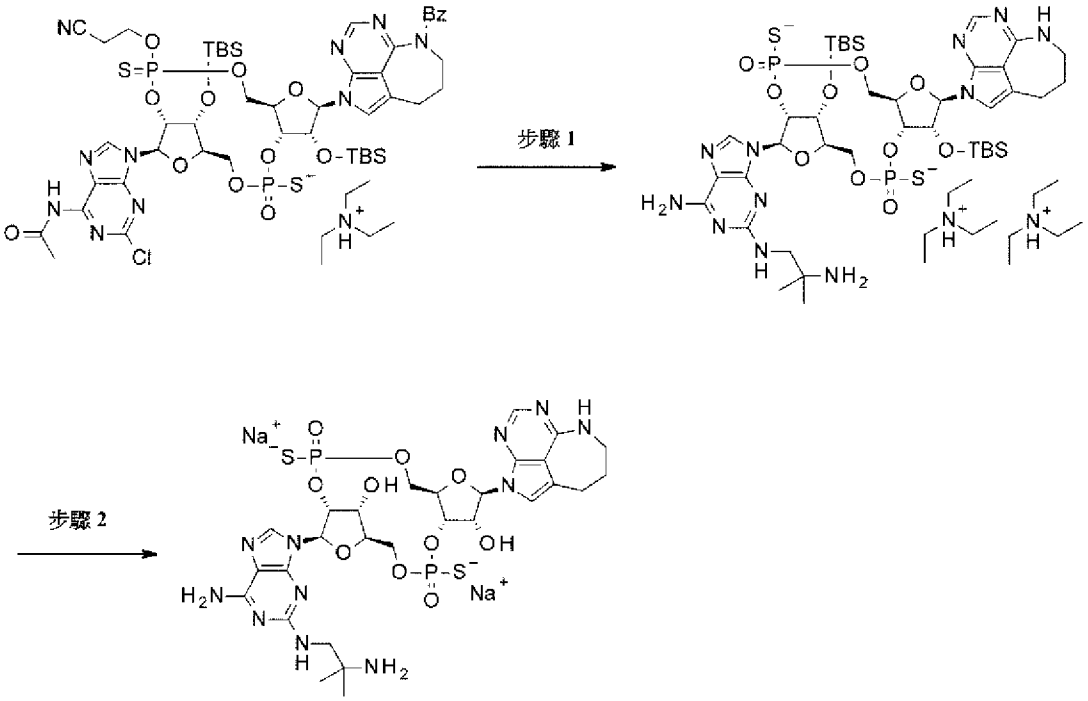
10

10a (非鏡像異構物 1)

【0474】

[合成流程圖]

【0475】



【0476】

(步驟 1)

雙(N,N-二乙基乙銨)(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{6-胺基-2-[(2-胺基-2-甲基丙基)胺基]-9H-嘌呤-9-基}-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-

2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l] [1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

於實施例8步驟6獲得的化合物(非鏡像異構物1)(41.0mg)之甲醇(1.10mL)溶液中，添加1,2-二胺基-2-甲基丙烷(210μL)，於60℃攪拌2小時後，使用微波反應裝置而於120℃使其反應6小時。以製備性HPLC[10mM乙酸三乙基銨溶液/乙腈，乙腈：20%-60%(0分-30分)]簡易純化，獲得標題化合物(16.3mg：含有雜質)。獲得的化合物不進行進一步純化而用於下一反應。

MS(ESI)m/z：1044(M＋H)$^+$.

【0477】

(步驟2)

二鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{6-胺基-2-[(2-胺基-2-甲基丙基)胺基]-9H-嘌呤-9-基}-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於上述步驟1獲得的化合物(16.3mg：含有雜質)，以與實施例1步驟11同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]進行純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]製備性HPLC[10mM乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：5%-25%(0分-30分)]。

獲得的三乙基胺鹽以與實施例1步驟11記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，而獲得標題化合物(6.4mg)

MS(ESI)m/z：816(M＋H)$^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.28(1H，brs)，8.01(1H，s)，7.05(1H，s)，6.27(1H，d，J=4.2Hz)，6.15(1H，d，J=7.9Hz)，5.41-5.27(1H，m)，5.13-5.08(1H，m)，4.84(1H，d，J=3.6Hz)，4.73(1H，t，J=4.5Hz)，4.50-4.44(2H，m)，4.36-4.31(2H，m)，4.16-4.00(2H，m)，3.49(2H，dd，J=6.3,3.3Hz)，3.31-3.25(2H，m)，2.84-2.70(2H，m)，2.03-1.91(2H，m)，1.34(3H，s)，1.30(3H，s).

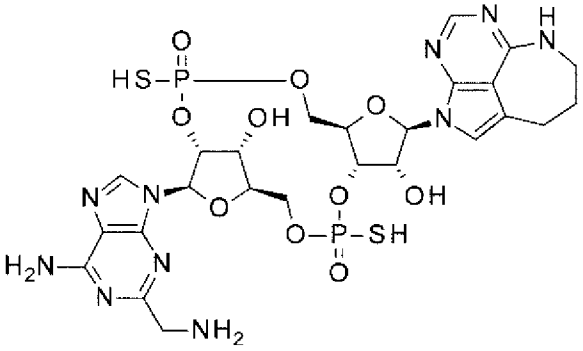
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：57.9(s)，54.5(s).

【0478】

實施例 11：CDN11 之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[6-胺基-2-(胺基甲基)-9H-嘌呤-9-基]-15,16-二羥基-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l] [1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0479】



11

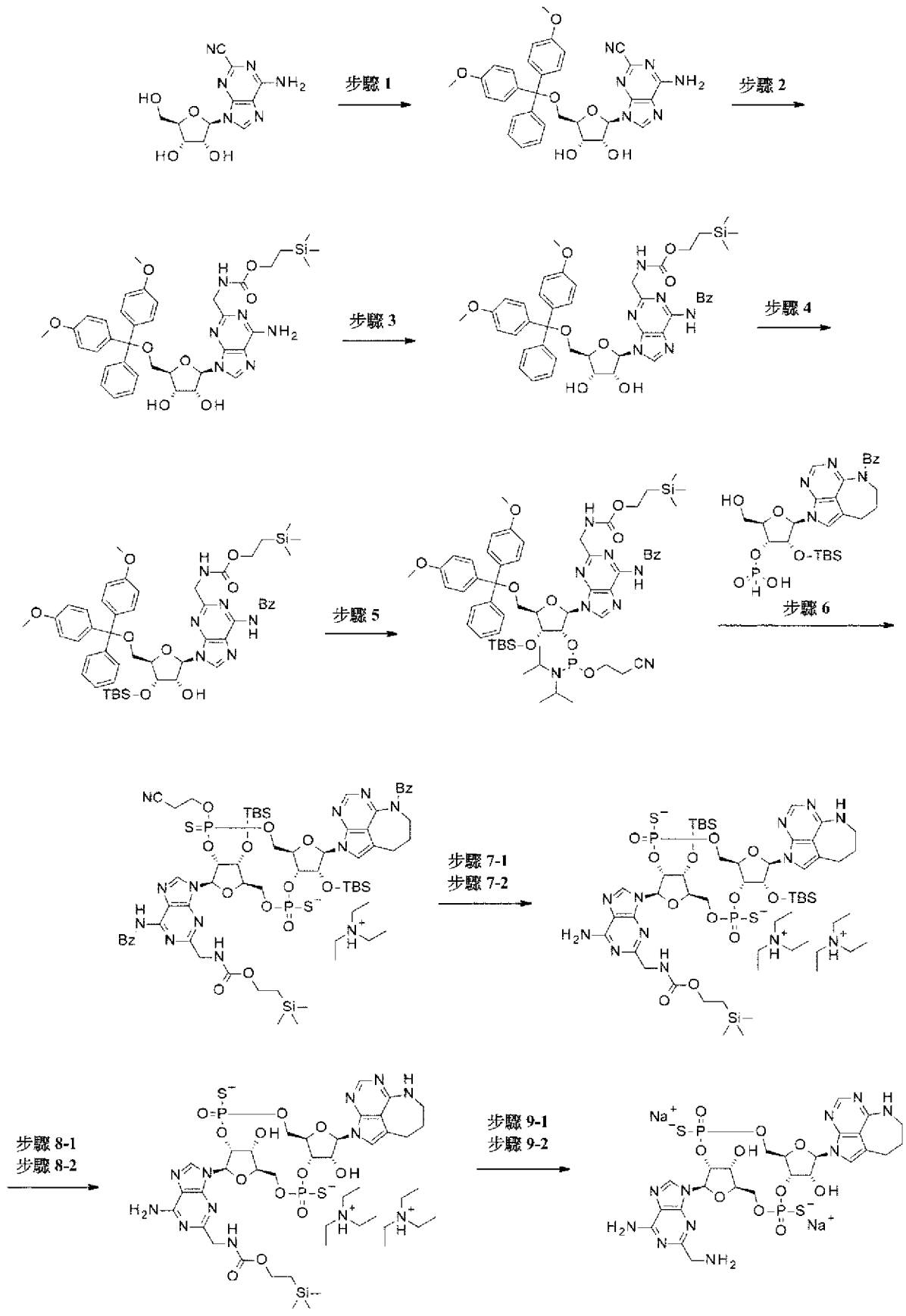
11a (非鏡像異構物 1)

11b (非鏡像異構物 2)

【0480】

[合成流程圖]

【0481】



【0482】

(步驟 1)

5’-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2-氰基腺苷

於文獻已知(J.Am.Chem.Soc.1989，111,8502-8504)之 2-氰基腺苷(440mg)之吡啶(8.00mL)溶液中添加 4,4’-二甲氧基三苯甲基氯(642mg)，氮環境下，於室溫攪拌 4 小時。於反應液中添加甲醇(10mL)而停止反應後，減壓濃縮。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯/甲醇/0.1%三乙基胺]純化，獲得標題化合物(528mg)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.21(1H，s)，7.31-7.17(9H，m)，6.79-6.70(4H，m)，5.99(1H，d，J=5.4Hz)，5.86(2H，brs)，4.86(1H，q，J=4.6Hz)，4.65(1H，t，J=3.6Hz)，4.48-4.45(1H，m)，4.41(1H，q，J=3.0Hz)，3.79(6H，s)，3.46(1H，dd，J=10.9，3.6Hz)，3.34(1H，dd，J=10.6，3.3Hz)，2.93(1H，d，J=2.4Hz).

【0483】

(步驟 2)

5’-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2-[({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)甲基]腺苷

於上述步驟 1 獲得的化合物(14.3g)之四氫呋喃(500mL)溶液中添加氫化鋰鋁之四氫呋喃溶液(約 2.5M，29.0mL)，氮環境下，於 40℃攪拌 2 小時。將反應液冰冷，添加飽和碳酸氫鈉水溶液(450mL)並攪拌 10 分鐘後，添加 1-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}氧基)吡咯啶-2,5-二酮(25.0g)，並於室溫使其反應 18 小時。添加飽和羅雪鹽(Rochelle salt)水溶液，並攪拌 2.5 小時

後，以二氯甲烷/甲醇之混合液萃取。有機層以無水硫酸鈉乾燥後，濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯/0.1%三乙基胺]純化，獲得標題化合物(10.8g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.01(1H，s)，7.26-7.15(9H，m)，6.75-6.71(4H，m)，6.37(1H，brs)，5.93(1H，d，J=6.0Hz)，5.67(2H，brs)，5.59(1H，brs)，4.77-4.74(1H，m)，4.46-4.37(4H，m)，4.21(2H，t，J=8.5Hz)，3.76(3H，s)，3.76(3H，s)，3.42(1H，dd，J=10.6，3.3Hz)，3.25(1H，dd，J=10.6，3.3Hz)，3.16(1H，brs)，1.03(2H，t，J=8.5Hz)，0.05(9H，s).

【0484】

(步驟3)

N-苄醯基-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2-[({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)甲基]腺苷

於上述步驟2獲得的化合物(10.8g)之吡啶(70.0mL)溶液中添加氯三甲基矽烷(15.0mL)，氮環境下，於室溫攪拌2小時。於反應液中添加苯甲醯氯(8.44mL)，進一步攪拌2小時。將反應液冷卻至0℃，添加水(21.0mL)而攪拌10分鐘後，添加28%氨水(31.4mL)而於相同溫度進一步攪拌20分鐘。升溫至室溫再攪拌3小時後，減壓濃縮反應液。使殘留物懸浮於乙酸乙酯，並濾除固體。減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯/甲醇/0.1%三乙基胺]純化，獲得標題化合物(9.47g)。

MS(ESI)m/z：847$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：9.54(1H，brs)，8.17(2H，d，J=6.7Hz)，7.91(1H，brs)，7.66-7.52(3H，m)，7.35-7.10(9H，

m)，6.75(4H，d，J=8.5Hz)，6.45(1H，brs)，6.23(1H，brs)，6.03(1H，d，J=6.7Hz)，4.70-4.65(2H，m)，4.45-4.19(5H，m)，3.73(6H，s)，3.38-3.32(2H，m)，2.65(1H，brs)，1.05(2H，t，J=8.8Hz)，0.00(9H，s).

【0485】

(步驟 4)

N-苄醯基-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-2-[({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)甲基]腺苷

使用於上述步驟 3 獲得的化合物(9.47g)，藉由與實施例 8 步驟 4 同樣的手法而獲得標題化合物(3.13g)。

MS(ESI)m/z：961$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.87(1H，brs)，8.24(1H，brs)，8.02(2H，d，J=7.3Hz)，7.64-7.51(3H，m)，7.40-7.18(9H，m)，6.81-6.77(4H，m)，6.08(1H，d，J=4.8Hz)，5.85(1H，brs)，4.70-4.52(4H，m)，4.23-4.17(3H，m)，3.77(6H，s)，3.50(1H，dd，J=10.9，3.0Hz)，3.29(1H，dd，J=10.9，4.2Hz)，3.21(1H，d，J=6.0Hz)，1.06-1.02(2H，m)，0.89(9H，s)，0.09(3H，s)，0.05(9H，s)，0.01(3H，s).

【0486】

(步驟 5)

N-苄醯基-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-2'-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}-2-[({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)甲基]腺苷

於上述步驟4獲得的化合物(1.49g)之二氯甲烷(15.5mL)溶液中，添加N,N-二異丙基乙基胺(1.58mL)及2-氰基乙基N,N-二異丙基氯亞磷醯胺(1.04mL)，氮環境下，於室溫攪拌2小時。將反應液減壓濃縮，殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯/0.1%三乙基胺]及以C18矽膠管柱層析[乙腈：100%]純化，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物(非鏡像異構物比=6：4)之標題化合物(1.39g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ8.84(1H，s)，8.33(0.6H，s)，8.28(0.4H，s)，8.02-7.99(2H，m)，7.64-7.59(1H，m)，7.55-7.51(2H，m)，7.42-7.20(9H，m)，6.82-6.79(4H，m)，6.30(0.4H，d，J=4.2Hz)，6.25(0.6H，d，J=4.2Hz)，5.95-5.88(1H，m)，4.89-4.77(1H，m)，4.60-4.58(2H，m)，4.51-4.45(1H，m)，4.25-4.18(3H，m)，3.86-3.46(5H，m)，3.78(6H，s)，3.35-3.29(1H，m)，2.53(1.2H，t，J=6.3Hz)，2.38(0.8H，t，J=6.3Hz)，1.16-0.98(14H，m)，0.85(3.6H，s)，0.84(5.4H，s)，0.10(1.8H，s)，0.08(1.2H，s)，0.05(9H，s)，0.01(1.2H，s).-0.01(1.8H，s).

【0487】

(步驟6)

N,N-二乙基乙銨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{6-苯甲醯胺-2-[({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)甲基]-9H-嘌呤-9-基}-14-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-10-(2-氰基乙氧基)-2-側氧基-10-亞巯基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l] [1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2-硫醇鹽

以與實施例 1 步驟 7 相同方式，將反應以下列之規模實施(原料：1.94g)。使用獲得的化合物之乙腈溶液與於上述步驟 5 獲得的化合物(2.19g)，以與實施例 1 步驟 8 及實施例 1 步驟 9 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物之非鏡像異構物 1(138mg)及非鏡像異構物 2(82.8mg)。

非鏡像異構物 1(低極性)

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：9.08(1H，s)，8.11(2H，d，J=7.3Hz)，7.98(1H，s)，7.67(1H，t，J=7.6Hz)，7.57(2H，t，J=7.9Hz)，7.37(2H，d，J=7.9Hz)，7.28-7.22(4H，m)，6.54(1H，d，J=8.5Hz)，6.36(1H，d，J=1.8Hz)，5.66-5.59(1H，m)，5.07-5.02(1H，m)，4.85-4.83(1H，m)，4.72(1H，d，J=3.6Hz)，4.58-4.08(12H，m)，3.88-3.78(1H，m)，3.49-3.38(1H，m)，3.21(6H，q，J=7.3Hz)，3.05-3.00(2H，m)，2.49-2.40(1H，m)，2.34-2.26(1H，m)，2.09-2.03(2H，m)，1.31(9H，t，J=7.6Hz)，1.21-1.09(2H，m)，1.02(9H，s)，0.91(9H，s)，0.30(3H，s)，0.29(3H，s)，0.26(3H，s)，0.12(3H，s)，0.05(9H，s).

非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：1392$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.91(1H，s)，8.10-8.07(2H，m)，7.94(1H，s)，7.67-7.63(1H，m)，7.59-7.54(2H，m)，7.41-7.20(6H，m)，6.54(1H，d，J=8.5Hz)，6.22(1H，d，J=5.4Hz)，5.36-5.30(1H，m)，3.20(6H，q，J=7.3Hz)，3.04-3.00(2H，m)，2.85-2.75(2H，m)，2.23-2.13(2H，m)，1.30(9H，t，J=7.3Hz)，1.03(9H，s)，0.79(9H，s)，0.05(9H，s).(僅記載能觀測到的波峰)

【0488】

(步驟 7-1)

雙(N,N-二乙基乙銨)(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{6-胺基-2-[({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)甲基]-9H-嘌呤-9-基}-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l] [1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於上述步驟 6 獲得的化合物(非鏡像異構物 1)(42.3mg)，以與實施例 1 步驟 10 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(25.9mg)。

MS(ESI)m/z：1131(M+H)$^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.72(1H，s)，8.00(1H，s)，7.26(1H，s)，6.35(1H，d，J=9.1Hz)，6.26(1H，d，J=4.8Hz)，5.42-5.36(1H，m)，5.20-5.15(1H，m)，4.91-4.87(2H，m)，4.80-4.78(1H，m)，4.43(1H，t，J=11.2Hz)，4.36-4.28(3H，m)，4.20-4.15(3H，m)，4.09-3.99(2H，m)，3.51(2H，d，J=6.7Hz)，3.13(12H，q，J=7.3Hz)，2.85(2H，brs)，2.01-1.97(2H，m)，1.25(18H，t，J=7.3Hz)，1.07-1.00(2H，m)，1.00(9H，s)，0.82(9H，s)，0.32(3H，s)，0.28(3H，s)，0.25(3H，s)，0.07(12H，s).

【0489】

(步驟 7-2)

雙(N,N-二乙基乙銨)(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{6-胺基-2-[({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)甲基]-9H-

嘌呤-9-基}-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l] [1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於上述步驟 6 獲得的化合物(非鏡像異構物 2)(82.8mg)，以與實施例 1 步驟 10 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(45.2mg)。

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.61(1H，s)，8.01(1H，s)，7.08(1H，s)，6.34(2H，t，J=7.9Hz)，5.49(1H，dd，J=10.6，4.5Hz)，5.42(1H，t，J=5.1Hz)，5.24-5.17(1H，m)，5.00-4.95(2H，m)，4.69-4.57(2H，m)，4.36(2H，t，J=17.8Hz)，4.22-4.15(3H，m)，4.05(1H，dd，J=12.4,5.1Hz)，3.90-3.85(1H，m)，3.51(2H，d，J=9.1Hz)，3.17(12H，q，J=7.3Hz)，2.92(2H，t，J=5.4Hz)，2.04-1.99(2H，m)，1.29(18H，t，J=7.3Hz)，1.07-0.98(2H，m)，1.00(9H，s)，0.74(9H，s)，0.28(3H，s)，0.28(3H，s)，0.21(3H，s)，0.07(9H，s)，-0.06(3H，s).

【0490】

(步驟 8-1)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{6-胺基-2-[({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)甲基]-9H-嘌呤-9-基}-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

於上述步驟 7-1 獲得的化合物(25.9mg)中添加三乙基胺三氫氟酸鹽(700μL)，並於 55℃攪拌 2 小時。室溫下，於反應液中添加冰冷的 1M 碳酸三乙基銨水溶液(3.5mL)及三乙基胺(1.10mL)之混合液，以製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：10%-40%(0 分-30 分)]純化，獲得標題化合物(19.1mg)。

MS(ESI)m/z：903$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.71(1H，s)，8.03(1H，s)，7.10(1H，s)，6.37(1H，d，J=7.9Hz)，6.28(1H，d，J=4.2Hz)，5.38-5.33(1H，m)，5.18-5.13(1H，m)，4.84-4.80(2H，m)，4.50-4.40(2H，m)，4.35-4.40(4H，m)，4.21-4.16(2H，m)，4.07-4.00(2H，m)，3.51-3.49(2H，m)，3.07(12H，q，J=7.3Hz)，2.85(2H，t，J=5.4Hz)，2.02-1.97(2H，m)，1.23(18H，t，J=7.3Hz)，1.04(2H，t，J=8.2Hz)，0.07(9H，s).

【0491】

(步驟 8-2)

雙(N,N-二乙基乙銨)(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{6-胺基-2-[({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)甲基]-9H-嘌呤-9-基}-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於上述步驟 7-2 獲得的化合物(45.2mg)，以與上述步驟 8-1 同樣的手法進行反應，獲得標題化合物(37.1mg)。

MS(ESI)m/z：903$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.75(1H，s)，8.02(1H，s)，7.13(1H，s)，6.36(1H，d，J=9.1Hz)，6.33(1H，d，J=6.7Hz)，5.51-5.42(2H，m)，4.81(1H，dd，J=6.7，4.8Hz)，4.51-4.28(7H，m)，4.18(2H，dt，J=8.3,2.6Hz)，4.02(1H，d，J=12.7Hz)，3.92-3.87(1H，m)，3.51-3.47(2H，m)，3.13(12H，q，J=7.3Hz)，2.93-2.90(2H，m)，2.04-1.98(2H，m)，1.27(18H，t，J=7.3Hz)，1.06-0.99(2H，m)，0.06(9H，s).

【0492】

(步驟 9-1)

二 鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[6-胺 基-2-(胺基甲基)-9H-嘌呤-9-基]-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四 氫-2H-2,3,5,6-四 氮 苯 并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

於上述步驟 8-1 獲得的化合物(19.1mg)之四氫呋喃(576μL)溶液中，添加氟化四丁基銨之四氫呋喃溶液(約 1M，288μL)，氮環境下，於室溫攪拌整夜後，以下列之[純化條件]進行純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：0%-30%(0 分-40 分)]及 Sep-Pak(註冊商標)C18[水/乙腈]。

獲得的三乙基胺鹽以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，而獲得標題化合物(8.4mg)。

MS(ESI)m/z：759$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.48(1H，s)，8.03(1H，s)，7.04(1H，s)，6.27(1H，d，J=3.6Hz)，6.24(1H，d，J=8.5Hz)，5.98-5.93(1H，m)，5.04-4.99(1H，m)，4.81-4.79(2H，m)，4.45-4.39(2H，m)，4.31-4.27(2H，m)，4.12-3.99(4H，m)，3.54-3.44(2H，m)，2.88-2.85(2H，m)，2.02-1.97(2H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：57.6，55.5.

【0493】

(步驟 9-2)

二 鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[6-胺 基-2-(胺基甲基)-9H-嘌呤-9-基]-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四 氫-2H-2,3,5,6-四 氮 苯 并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

使用於上述步驟 8-2 獲得的化合物(37.1mg)，以與上述步驟 9-1 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(12.8mg)。

MS(ESI)m/z：759$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.61(1H，s)，8.02(1H，s)，7.13(1H，s)，6.31(1H，d，J=6.0Hz)，6.28(1H，d，J=8.5Hz)，5.61-5.55(1H，m)，5.38-5.35(1H，m)，4.80(1H，t，J=5.1Hz)，4.54(1H，d，J=4.2Hz)，4.48-4.28(4H，m)，4.13(2H，s)，4.08-4.04(1H，m)，3.94-3.90(1H，m)，3.52-3.49(2H，m)，2.90-2.88(2H，m)，2.03-1.98(2H，m).

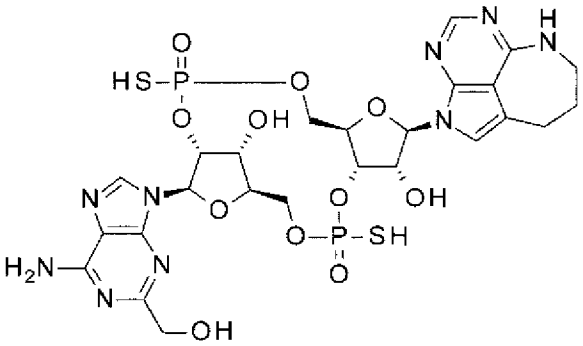
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：62.2(s)，60.0(s).

【0494】

實施例 12：CDN12 之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[6-胺 基-2-(羥基甲基)-9H-嘌呤-9-基]-15,16-二羥基-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四 氫-2H-2,3,5,6-四 氮 苯 并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0495】



12

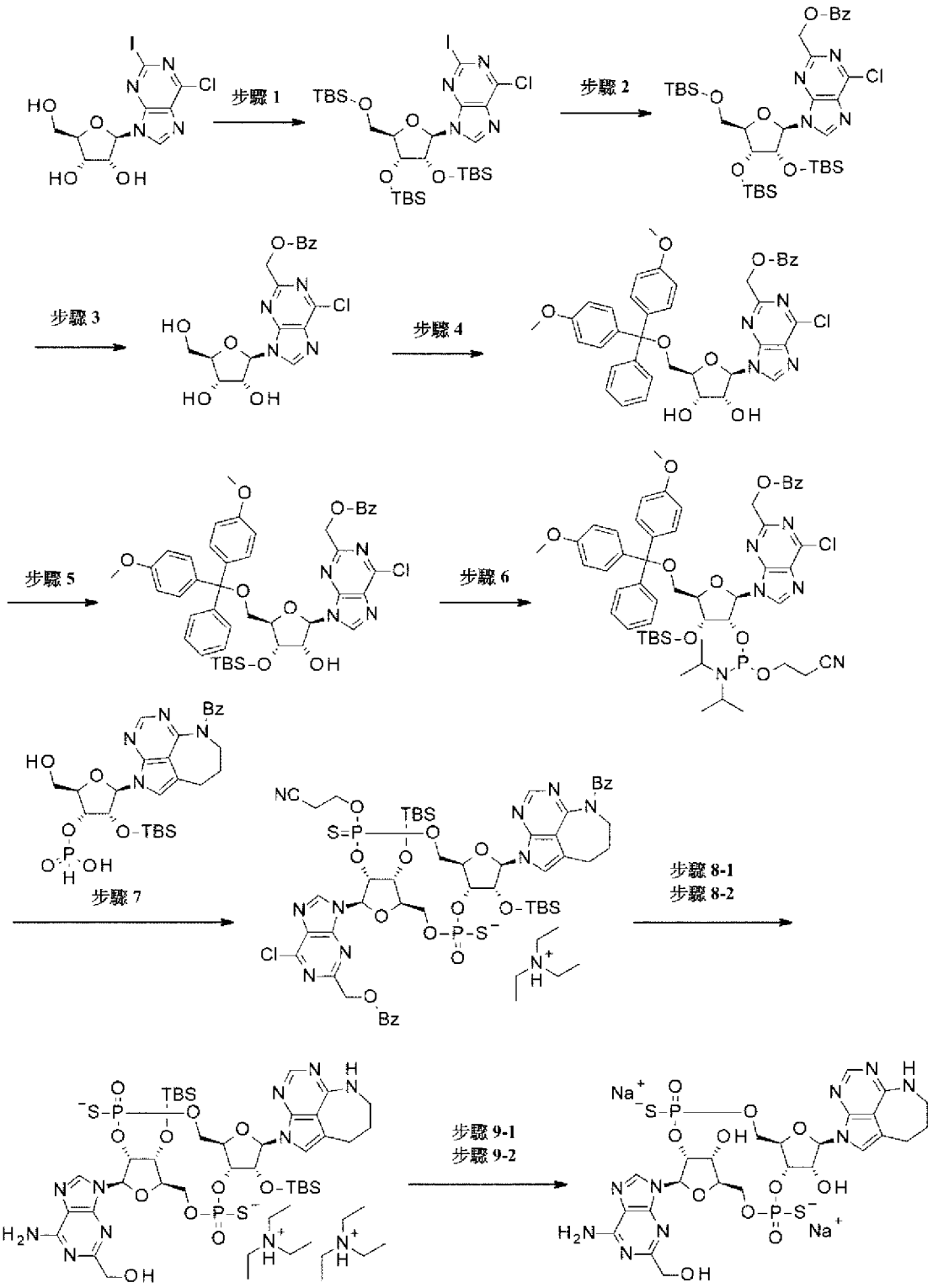
12a (非鏡像異構物 1)

12b (非鏡像異構物 2)

【0496】

[合成流程圖]

【0497】



【0498】

(步驟 1)

6-氯-2-碘基-9-{2,3,5-參-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-β-D-核呋喃糖基}-9H-嘌呤

於市售(Amadis Chemical)之 6-氯-2-碘基-9-β-D-核呋喃糖基-9H-嘌呤(9.65g)之乙二醇二甲基醚(120mL)溶液中，於0℃添加 N,N-二異丙基乙基胺(40.7mL)及三級丁基二甲基矽基三氟甲磺酸酯(26.9mL)，氮環境下，升溫至室溫而攪拌 19 小時。將反應液冷卻至 0℃為止，於反應液中添加飽和碳酸氫鈉水溶液而停止反應後，以二氯甲烷萃取。有機層以無水硫酸鈉乾燥後，濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(13.7g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.48(1H，s)，6.02(1H，d，J=4.2Hz)，4.54(1H，t，J=4.5Hz)，4.29(1H，t，J=4.5Hz)，4.18-4.15(1H，m)，4.04(1H，dd，J=11.5，4.2Hz)，3.80(1H，dd，J=11.5，2.4Hz)，0.96(9H，s)，0.93(9H，s)，0.84(9H，s)，0.17(3H，s)，0.16(3H，s)，0.10(3H，s)，0.09(3H，s)，0.01(3H，s)，-0.16(3H，s).

【0499】

(步驟 2)

2-[(苄醯基氧基)甲基]-6-氯-9-{2,3,5-參-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-β-D-核呋喃糖基}-9H-嘌呤

於上述步驟 1 獲得的化合物(13.7g)之四氫呋喃(121mL)溶液中，氮環境下添加肆(三苯基膦)鈀(0)(2.10g)及以下述之手法調製的苄基氧基甲基碘化鋅(約 0.9M，30.2mL)，於室溫攪拌 20 小時。於反應液中添加飽和氯化銨水溶液而停止反應後，以二氯甲烷萃取。有機層以無水硫酸鈉乾燥後，濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(7.29g)。

[苄基氧基甲基碘化鋅之調製]

氮環境下，將鋅粉末(5.99g)之四氫呋喃(17.1mL)懸浮液作超音波處理後，於 10~15℃添加苯甲酸碘甲酯(12.0g)之四氫呋喃(21.3mL)溶液，於相同溫度下攪拌 1.5 小時，獲得苄基氧基甲基碘化鋅之四氫呋喃溶液(約 0.9M，38.4mL)。

MS(ESI)m/z：763$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.58(1H，s)，8.13(1H，dd，J=8.5,1.2Hz)，7.60-7.56(1H，m)，7.47-7.43(2H，m)，6.09(1H，d，J=4.8Hz)，5.60(1H，d，J=13.9Hz，)，5.56(1H，d，J=13.9Hz)，4.48(1H，t，J=4.5Hz)，4.27(1H，t，J=4.2Hz)，4.15-4.11(1H，m)，4.03(1H，dd，J=11.5，3.0Hz)，3.80(1H，dd，J=11.5，2.4Hz)0.96(9H，s)，0.90(9H，s)，0.76(9H，s)，0.16(3H，s)，0.15(3H，s)，0.08(3H，s)，0.06(3H，s)，-0.07(3H，s)，-0.27(3H，s).

【0500】

(步驟 3)

2-[(苄醯基氧基)甲基]-6-氯-9-β-D-核呋喃糖基-9H-嘌呤

於上述步驟 2 獲得的化合物(7.29g)之四氫呋喃(47.7mL)溶液中，氮氣環境下，於 0℃添加氟化四丁基銨之四氫呋喃溶液(約 1M，38mL)，於相同溫度下攪拌 2.5 小時。於反應液中添加飽和氯化銨水溶液而停止反應後，以二氯甲烷萃取。有機層以無水硫酸鈉乾燥後，濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(3.69g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.23(1H，s)，8.15(2H，dd，J=8.5,1.2Hz)，7.63-7.59(1H，m)，7.48(2H，t，J=7.9Hz)，

5.89(1H，d，J=6.0Hz)，5.61(1H，d，J=13.9Hz)，5.56(1H，d，J=14.5Hz)，4.90(1H，q，J=5.6Hz)，4.46-4.43(1H，m)，4.28(1H，q，J=2.2Hz)，4.02(1H，dd，J=10.0，2.7Hz)，3.84-3.79(1H，m)，3.71-3.65(1H，m)，3.56-3.53(1H，m)，2.70(1H，d，J=2.4Hz).

【0501】

(步驟 4)

2-[(苄醯基氧基)甲基]-9-{5-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-β-D-核呋喃糖基}-6-氯-9H-嘌呤

於上述步驟 3 獲得的化合物(2.36g)之吡啶(56mL)溶液中，添加 4,4'-二甲氧基三苯甲基氯(2.30g)，氮環境下，於室溫攪拌 17 小時。於反應液中添加乙醇(20mL)，再攪拌 10 分鐘左右後，減壓濃縮。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(1.41g)。

MS(ESI)m/z：745$(M+Na)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.32(1H，s)，8.14-8.11(2H，m)，7.64-7.59(1H，m)，7.49-7.44(2H，m)，7.23-7.12(9H，m)，6.72(4H，d，J=7.9Hz)，5.94(1H，d，J=5.4Hz)，5.64(1H，d，J=15.1Hz)，5.59(1H，d，J=14.5Hz)，4.83-4.77(2H，m)，4.37-4.33(2H，m)，3.77(6H，s)，3.35(1H，dd，J=10.6，3.3Hz)，3.28(1H，dd，J=10.9，3.6Hz)，2.64(1H，s).

【0502】

(步驟 5)

2-[(苄醯基氧基)甲基]-9-{5-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-β-D-核呋喃糖基}-6-氯-9H-嘌呤

於上述步驟 4 獲得的化合物(2.61g)之乙二醇二甲基醚(72.0mL)溶液中，添加 N,N-二異丙基乙基胺(1.89mL)及三級丁基二甲基矽基三氟甲磺酸酯(1.24mL)，氮環境下，於室溫攪拌 1.5 小時。於反應液中添加飽和碳酸氫鈉水溶液而停止反應後，以二氯甲烷萃取。有機層以無水硫酸鈉乾燥後，濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯/0.1%三乙基胺]純化，獲得標題化合物(1.10g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.35(1H，s)，8.12-8.10(2H，m)，7.60-7.56(1H，m)，7.46-7.42(2H，m)，7.37-7.35(2H，m)，7.28-7.20(7H，m)，6.81-6.75(4H，m)，6.00(1H，d，J=4.8Hz)，5.50(2H，s)，4.69(1H，q，J=5.6Hz)，4.39(1H，dd，J=5.1，3.9Hz)，4.16(1H，q，J=3.8Hz)，3.77(6H，s)，3.45(1H，dd，J=10.6，3.3Hz)，3.31(1H，dd，J=10.9，4.2Hz)，3.06(1H，d，J=6.7Hz)，0.86(9H，s)，0.04(3H，s)，-0.02(3H，s).

【0503】

(步驟 6)

2-[(苄醯基氧基)甲基]-9-(5-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-2-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}-β-D-核呋喃糖基)-6-氯-9H-嘌呤

使用於上述步驟 5 獲得的化合物(511mg)，以與實施例 1 步驟 6 同樣的手法進行反應，獲得呈與磷原子有關的非鏡像異構物混合物(非鏡像異構物比=6：4)之標題化合物(569mg)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.43(0.6H，s)，8.39(0.4H，s)，8.10(2H，d，J=7.9Hz)，7.58(1H，t，J=7.6Hz)，7.47-7.38(4H，m)，7.31-7.18(7H，m)，6.82-6.78(4H，m)，6.25(0.4H，d，

J=4.8Hz)，6.21(0.6H，d，J=4.8Hz)，5.49(1H，d，J=13.9Hz)，5.45(1H，d，13.9Hz)，4.98-4.93(0.6H，m)，4.83-4.78(0.4H，m)，4.45(0.6H，t，J=4.2Hz)，4.36(0.4H，t，J=4.2Hz)，4.21-4.17(1H，m)，3.78(6H，s)，3.76-3.32(6H，m)，2.46(1.2H，t，J=6.3Hz)，2.30(0.8H，t，J=6.3Hz)，1.28-0.86(12H，m)，0.825(5.4H，s)，0.815(3.6H，s)，0.08(1.8H，s)，0.04(1.2H，s)，-0.01(1.8H，s)，-0.02(1.2H，s).

【0504】

(步驟 7)

N,N-二乙基乙銨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{2-[(苄醯基氧基)甲基]-6-氯-9H-嘌呤-9-基}-14-(6-苄醯基-6,7,8,9-四 氫-2H-2,3,5,6-四 氮 苯 并[cd]薁-2-基)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-10-(2-氰基乙氧基)-2-側氧基-10-亞硫基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2-硫醇鹽

以與實施例 1 步驟 7 相同方式，將反應以下列之規模實施(原料：2.72g)。使用獲得的化合物之乙腈溶液及於上述步驟 6 獲得的化合物(3.03g)，以與實施例 1 步驟 8 及實施例 1 步驟 9 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物之非鏡像異構物 1(351mg)及非鏡像異構物 2(351mg)。

非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：1268$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：9.30(1H，s)，8.14(2H，d，J=7.3Hz)，7.99(1H，s)，7.64(1H，t，J=7.3Hz)，7.52(2H，t，J=7.9Hz)，7.40-7.36(2H，m)，7.30-7.23(4H，m)，6.43(1H，d，J=8.5Hz)，

6.37(1H，d，J=3.0Hz)，5.62-5.56(1H，m)，5.62(2H，s)，5.06-5.01(1H，m)，4.83(1H，dd，J=4.5，2.7Hz)，4.69(1H，d，J=4.2Hz)，4.49-4.28(7H，m)，4.08(1H，dd，J=12.1,4.8Hz)，3.81-3.70(1H，m)，3.46-3.38(1H，m)，3.17-3.10(8H，m)，2.29-2.23(4H，m)，1.28(9H，t，J=7.3Hz)，0.91(9H，s)，0.90(9H，s)，0.29(3H，s)，0.20(3H，s)，0.16(3H，s)，0.11(3H，s).

非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：1268$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.97(1H，s)，8.14(2H，d，J=8.5Hz)，7.94(1H，s)，7.68-7.63(1H，m)，7.55-7.50(2H，m)，7.39-7.36(2H，m)，7.26-7.21(4H，m)，6.41(1H，d，J=7.9Hz)，6.21(1H，d，J=5.4Hz)，5.64(1H，d，J=15.1Hz)，5.57(1H，d，J=15.1Hz)，5.25-5.18(2H，m)，5.13-5.10(1H，m)，5.04-5.01(1H，m)，4.94-4.78(3H，m)，4.51(1H，t，J=10.9Hz)，4.33-4.06(6H，m)，3.15(6H，q，J=7.3Hz)，3.08-2.96(2H，m)，2.84-2.71(2H，m)，2.25-2.19(2H，m)，1.28(9H，t，J=7.3Hz)，0.91(9H，s)，0.79(9H，s)，0.19(6H，s)，0.14(3H，s)-0.07(3H，s).

【0505】

(步驟 8-1)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-[6-胺基-2-(羥基甲基)-9H-嘌呤-9-基]-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-

2λ⁵,10λ⁵-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

於上述步驟7獲得的化合物(非鏡像異構物1)(37.3mg)之甲醇(0.500mL)溶液中，添加28%氨水溶液(0.500mL)，於密封管中於60℃攪拌3小時。將反應液直接以製備性HPLC[10mM乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：35%-55%(0分-30分)]純化，獲得標題化合物(22.0mg：含有雜質)。

MS(ESI)m/z：988$(M+H)^+$.

【0506】

(步驟8-2)

雙(N,N-二乙基乙銨)(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-[6-胺基-2-(羥基甲基)-9H-嘌呤-9-基]-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ⁵,10λ⁵-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

於上述步驟7獲得的化合物(非鏡像異構物2)(37.7mg)之四氫呋喃(0.500mL)溶液中，添加28%氨水溶液(0.500mL)，於密封管中於60℃攪拌3小時。追加28%氨水溶液(0.500mL)再攪拌3小時。追加28%氨水溶液(0.500mL)再攪拌整夜。將反應液直接以製備性HPLC[10mM乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：20%-50%(0分-30分)]純化，獲得標題化合物(19.3mg)。

MS(ESI)m/z：988$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.64(1H，s)，8.02(1H，s)，7.09(1H，s)，6.35(2H，d，J=7.9Hz)，5.48-5.41(2H，m)，5.26-5.19(1H，

m)，5.00-4.95(2H，m)，4.70-4.53(4H，m)，4.22(1H，s)，4.06(1H，dd，J=12.1,4.8Hz)，3.91-3.86(1H，m)，3.53-3.48(2H，m)，3.18(12H，q，J=7.3Hz)，2.92(2H，t，J=5.4Hz)，2.04-1.99(2H，m)，1.29(18H，t，J=7.3Hz)，1.00(9H，s)，0.74(9H，s)，0.28(6H，s)，0.21(3H，s)，-0.06(3H，s).

【0507】

(步驟 9-1)

二 鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[6-胺 基-2-(羥基甲基)-9H-嘌呤-9-基]-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四 氫-2H-2,3,5,6-四 氮 苯 并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於上述步驟 8-1 獲得的化合物(22.0mg：含有雜質)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]進行純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：2%-30%(0 分-30 分)]。

獲得的三乙基胺鹽以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，而獲得標題化合物(8.0mg)。

MS(ESI)m/z：760$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.70(1H，s)，8.03(1H，s)，7.14(1H，s)，6.39(1H，d，J=8.5Hz)，6.29(1H，d，J=3.6Hz)，5.40-5.35(1H，m)，5.15(1H，dt，J=9.1，3.8Hz)，4.84(1H，d，J=3.6Hz)，4.80(1H，t，J=4.5Hz)，4.57(2H，s)，4.51-4.43(2H，m)，4.38-4.31(2H，m)，4.09-4.00(2H，m)，3.52-3.48(2H，m)，2.89-2.76(2H，m)，2.01-1.97(2H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：58.1(s)，54.4(s).

【0508】

(步驟 9-2)

二 鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[6-胺 基-2-(羥基甲基)-9H-嘌呤-9-基]-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四 氫-2H-2,3,5,6-四 氮 苯 并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於上述步驟 8-2 獲得的化合物(19.3mg)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]進行純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：2%-30%(0 分-30 分)]。

獲得的三乙基胺鹽以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，而獲得標題化合物(6.5mg)。

MS(ESI)m/z：760$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.76(1H，s)，8.05(1H，s)，7.18(1H，s)，6.38(1H，d，J=8.5Hz)，6.33(1H，d，J=6.7Hz)，5.49-5.43(2H，m)，4.81(1H，dd，J=6.3，4.5Hz)，4.58(2H，s)，4.51-4.29(5H，m)，4.04(1H，d，J=12.1Hz)，3.93-3.88(1H，m)，3.54-3.52(2H，m)，2.92(2H，t，J=5.4Hz)，2.05-2.00(2H，m).

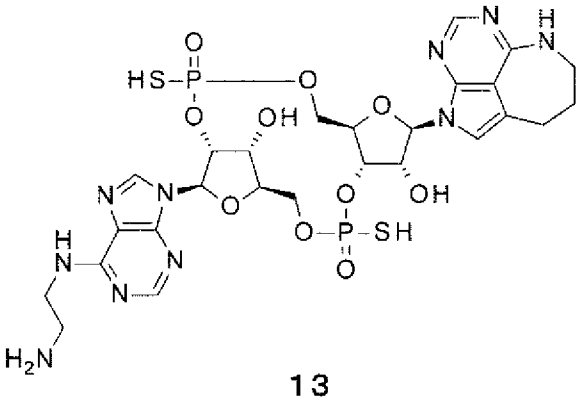
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：63.0(s)，60.3(s).

【0509】

實施例 13：CDN13 之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{6-[(2-胺基乙基)胺基]-9H-嘌呤-9-基}-15,16-二羥基-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0510】



13

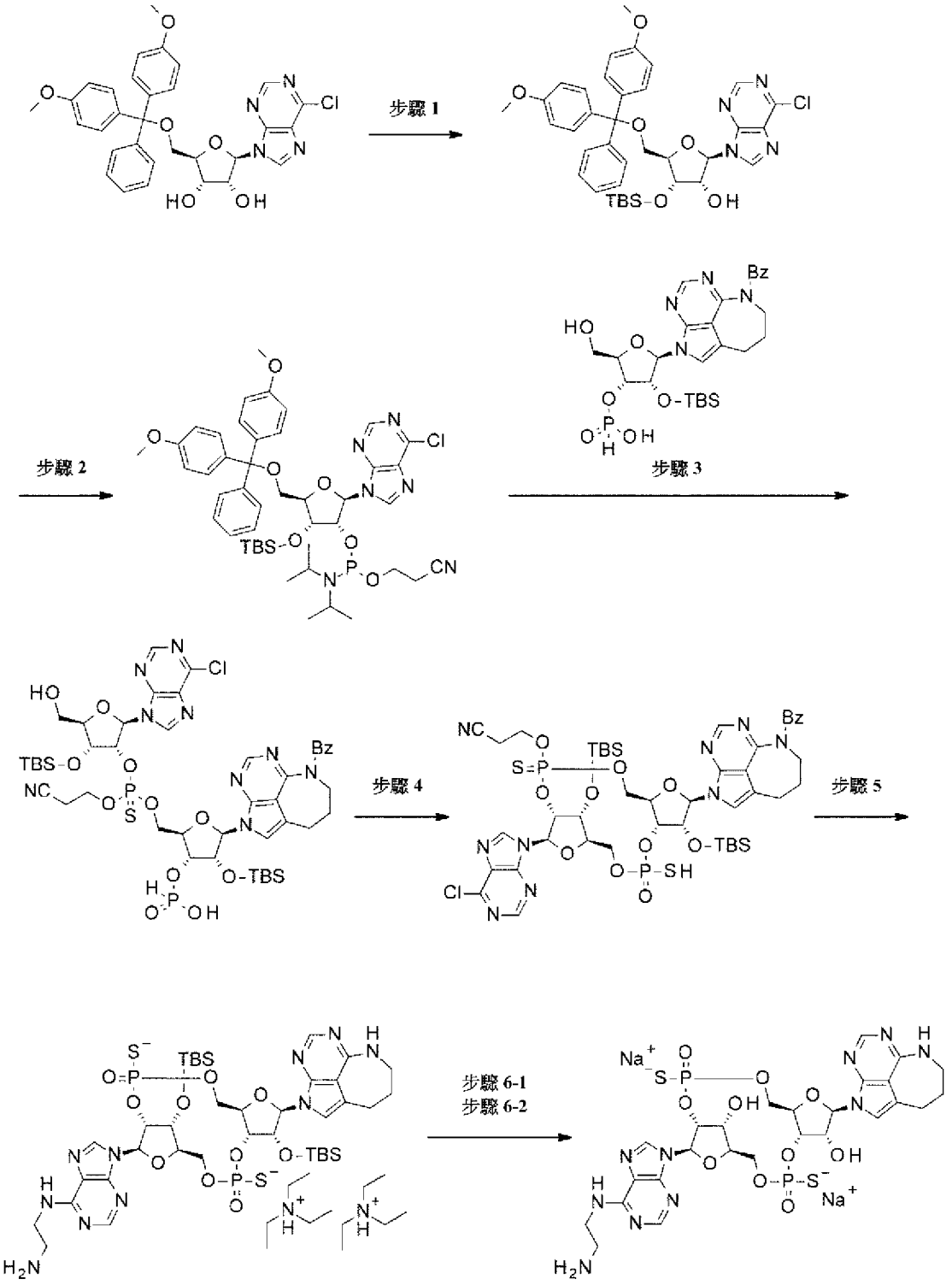
13a (非鏡像異構物 1)

13b (非鏡像異構物 2)

【0511】

[合成流程圖]

【0512】



【0513】

(步驟 1)

9-{5-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-β-D-核呋喃糖基}-6-氯-9H-嘌呤

使用文獻已知(J.Org.Chem.2000，65,5104-5113)之 9-{5-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-β-D-核呋喃糖基}-6-氯-9H-嘌呤(15.3g)，以與實施例 5 步驟 3 同樣的手法進行反應，獲得標題化合物(8.44g)及為標題化合物之位置異構物的 9-{5-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-β-D-核呋喃糖基}-6-氯-9H-嘌呤(5.77g)。

MS(ESI)m/z：703$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.71(1H，s)，8.37(1H，s)，7.40-7.37(2H，m)，7.31-7.19(7H，m)，6.82-6.78(4H，m)，6.06(1H，d，J=4.9Hz)，4.79-4.74(1H，m)，4.59(1H，dd，J=4.9，3.9Hz)，4.20(1H，dd，J=3.9，1.9Hz)，3.79(3H，s)，3.78(3H，s)，3.52(1H，dd，J=10.7，3.4Hz)，3.29(1H，dd，J=10.7，3.9Hz)，3.08(1H，d，J=6.8Hz)，0.90(9H，s)，0.10(3H，s)，0.03(3H，s).

位置異構物(2'-O-TBS 體)

MS(ESI)m/z：703$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.67(1H，s)，8.36(1H，s)，7.46-7.42(2H，m)，7.36-7.20(7H，m)，6.84-6.80(4H，m)，6.11(1H，d，J=5.4Hz)，5.00-4.97(1H，m)，4.40-4.35(1H，m)，4.31-4.28(1H，m)，3.79(3H，s)，3.79(3H，s)，3.52(1H，dd，J=10.7，2.9Hz)，3.42(1H，dd，J=10.7，3.9Hz)，2.68(1H，d，J=3.9Hz)，0.84(9H，s)，0.00(3H，s)，-0.16(3H，s).

【0514】

(步驟 2)

9-(5-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-2-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}-β-D-核呋喃糖基)-6-氯-9H-嘌呤

使用於上述步驟 1 獲得的化合物(5.39g)，以與實施例 5 步驟 4 同樣的手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物(非鏡像異構物比=1：1)之標題化合物(5.78g)。

MS(ESI)m/z：903$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.69(0.5H，s)，8.67(0.5H，s)，8.43(0.5H，s)，8.41(0.5H，s)，7.43-7.37(2H，m)，7.32-7.19(7H，m)，6.83-6.78(4H，m)，6.30(0.5H，d，J=4.4Hz)，6.21(0.5H，d，J=4.9Hz)，5.06-5.00(0.5H，m)，4.86-4.80(0.5H，m)，4.56-4.50(1H，m)，4.27-4.20(1H，m)，3.79(6H，s)，3.75-3.62(1H，m)，3.57-3.46(4H，m)，3.30(1H，dt，J=10.7，3.9Hz)，2.50(1H，t，J=6.3Hz)，2.37(1H，t，J=6.6Hz)，1.13-1.06(9H，m)，0.90(1.5H，s)，0.89(1.5H，s)，0.86(4.5H，s)，0.85(4.5H，s)，0.12(1.5H，s)，0.08(1.5H，s)，0.02(1.5H，s)，0.02(1.5H，s).

【0515】

(步驟 3)

以與實施例 1 步驟 7 相同方式，將反應以下列之規模實施(原料：1.84g)。使用獲得的化合物之乙腈溶液及於上述步驟 2 獲得的化合物(1.62g)，以與實施例 1 步驟 8 同樣之手法進行反應。將獲得的粗生成物直接用於之後的反應。

【0516】

(步驟 4)

3-{[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-7-(6-氯-9H-嘌呤-9-基)-2-側氧基-2-氫硫基-10-亞巯基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-10-基]氧基}丙腈

使用上述步驟3所獲得的粗生成物，以與實施例1步驟9同樣之手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(626mg)。

MS(ESI)m/z：1134$(M+H)^+$.

【0517】

(步驟5)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{6-[(2-胺基乙基)胺基]-9H-嘌呤-9-基}-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

於上述步驟4獲得的化合物(299mg：非鏡像異構物混合物)之乙醇(10mL)溶液中添加乙二胺(0.352mL)及三乙基胺(0.735mL)，並於60℃攪拌15小時。減壓濃縮反應液後，殘留物以C18矽膠管柱層析[10mM乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]純化，獲得標題化合物之非鏡像異構物1(122mg：含有雜質)及非鏡像異構物2(111mg：含有雜質)。

非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：1001$(M+H)^+$.

非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：1001$(M+H)^+$.

【0518】

(步驟 6-1)

二 鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{6-[(2-胺基乙基)胺基]-9H-嘌呤-9-基}-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四 氫-2H-2,3,5,6-四 氮 苯 并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

使用於上述步驟 5 獲得的化合物(非鏡像異構物 1)(122mg：含有雜質)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]進行純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：5%-30%(0 分-40 分)]。

獲得的三乙基胺鹽以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，而獲得標題化合物(29.6mg)。

MS(ESI)m/z：773$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.77(1H，s)，8.27(1H，s)，8.03(1H，s)，7.10(1H，s)，6.35(1H，d，J=8.5Hz)，6.27(1H，d，J=4.8Hz)，5.41(1H，ddd，J=7.9，4.2，2.1Hz)，5.21-5.14(1H，m)，4.84-4.77(2H，m)，4.49-4.38(2H，m)，4.35-4.26(2H，m)，4.09-

3.99(2H，m)，3.92-3.80(2H，m)，3.51-3.45(2H，m)，3.22(2H，t，J=6.0Hz)，2.89-2.81(2H，m)，2.02-1.94(2H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：57.8(s)，55.0(s).

【0519】

(步驟 6-2)

二 鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{6-[(2-胺基乙基)胺基]-9H-嘌呤-9-基}-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四 氫-2H-2,3,5,6-四 氮 苯 并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

使用於上述步驟 5 獲得的化合物(非鏡像異構物 2)(119mg：含有雜質)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]進行純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：5%-25%(0 分-40 分)]。

獲得的三乙基胺鹽以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，而獲得標題化合物(15.6mg)。

MS(ESI)m/z：773$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.83(1H，s)，8.27(1H，s)，8.02(1H，s)，7.10(1H，s)，6.35(1H，d，J=7.9Hz)，6.32(1H，d，J=6.7Hz)，5.55-5.43(2H，m)，4.81(1H，dd，J=7.0，4.5 Hz)，4.52-4.29(5H，m)，4.06-4.00(1H，m)，3.93-3.80(3H，m)，3.52-3.47(2H，m)，3.21(2H，t，J=5.7Hz)，2.94-2.88(2H，m)，2.05-1.96(2H，m).

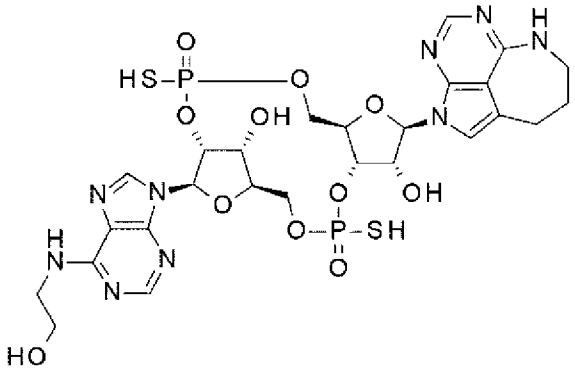
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：63.1(s)，60.1(s).

【0520】

實施例14：CDN14之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二羥基-7-{6-[(2-羥基乙基)胺基]-9H-嘌呤-9-基}-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0521】



14

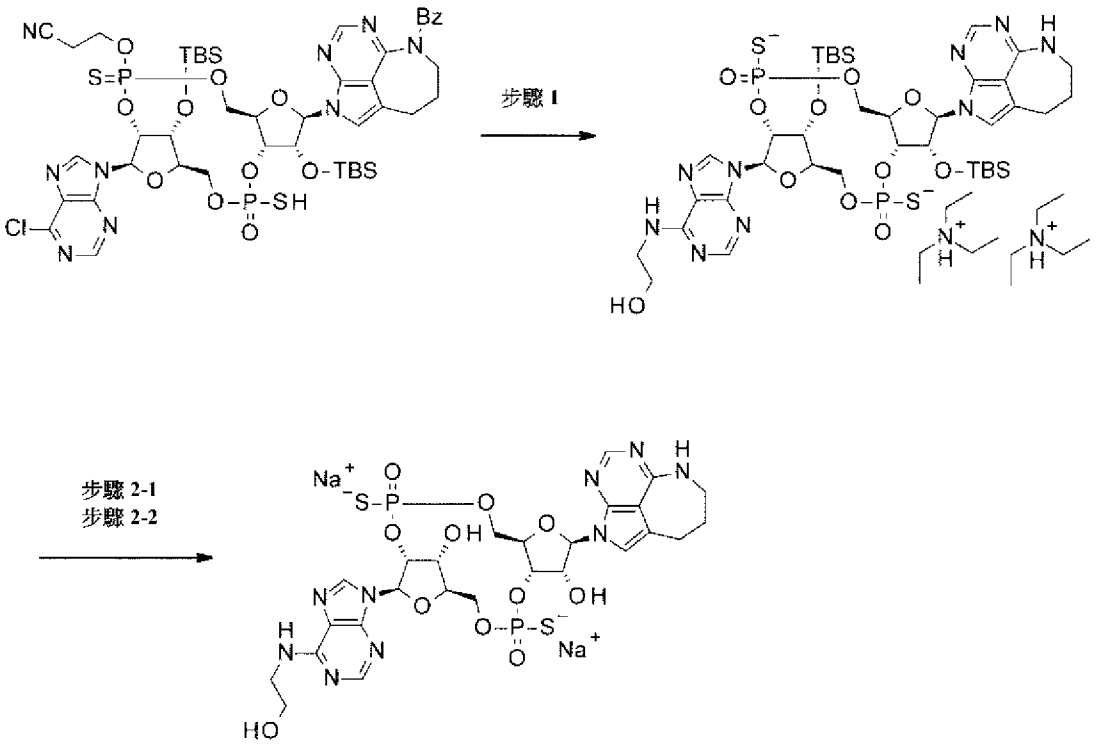
14a (非鏡像異構物1)

14b (非鏡像異構物2)

【0522】

[合成流程圖]

【0523】



【0524】

(步驟 1)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-7-{6-[(2-羥基乙基)胺基]-9H-嘌呤-9-基}-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

於實施例 13 步驟 4 獲得的化合物(313mg)之乙醇(10mL)溶液中，添加 2-胺基乙醇(0.330mL)及三乙基胺(0.769mL)，於 60℃攪拌 15 小時。減壓濃縮反應液後，殘留物以 C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]純化，獲得標題化合物之非鏡像異構物 1(111mg：含有雜質)及非鏡像異構物 2(102mg：含有雜質)。

非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：1002$(M+H)^+$.

非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：1002$(M+H)^+$.

【0525】

(步驟 2-1)

二 鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二 羥基-7-{6-[(2-羥基乙基)胺基]-9H-嘌呤-9-基}-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四 氫-2H-2,3,5,6-四 氮 苯 并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

使用於上述步驟 1 獲得的化合物(非鏡像異構物 1)(111mg：含有雜質)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]進行純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：5%-30%(0 分-40 分)]。

獲得的三乙基胺鹽以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，而獲得標題化合物(47.1mg)。

MS(ESI)m/z：774$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.70(1H，s)，8.22(1H，s)，8.03(1H，s)，7.10(1H，s)，6.34(1H，d，J=8.5Hz)，6.29(1H，d，J=4.8Hz)，5.41-5.34(1H，m)，5.19-5.13(1H，m)，4.84(1H，d，J=4.2Hz)，4.79(1H，dd，J=4.8，2.4Hz)，4.52-4.41(2H，m)，4.39-

4.31(2H，m)，4.07-3.96(2H，m)，3.81-3.66(4H，m)，3.52-3.47(2H，m)，2.90-2.77(2H，m)，2.03-1.95(2H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：57.9(s)，54.4(s).

【0526】

(步驟 2-2)

二 鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二 羥基-7-{6-[(2-羥基乙基)胺基]-9H-嘌呤-9-基}-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四 氫-2H-2,3,5,6-四 氮 苯 并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

使用於上述步驟 1 獲得的化合物(非鏡像異構物 2)(102mg：含有雜質)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]進行純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：5%-25%(0 分-40 分)]。

獲得的三乙基胺鹽以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，而獲得標題化合物(27.1mg)。

MS(ESI)m/z：774$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.78(1H，s)，8.22(1H，s)，8.02(1H，s)，7.12(1H，s)，6.34(1H，d，J=1.8Hz)，6.32(1H，s)，5.52-5.42(2H，m)，4.80(1H，dd，J=6.7，4.8Hz)，4.50-4.28(5H，m)，4.05-3.98(1H，m)，3.93-3.86(1H，m)，3.81-3.68(4H，m)，3.53-3.47(2H，m)，2.95-2.88(2H，m)，2.05-1.98(2H，m).

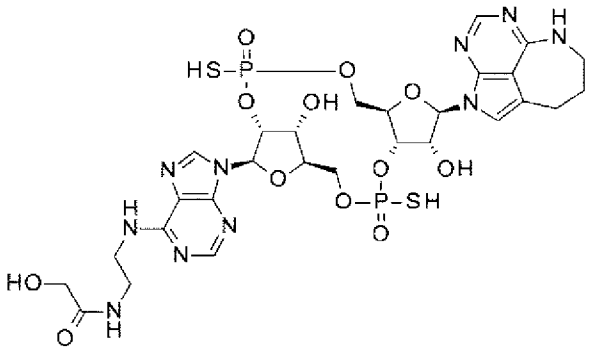
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：63.0(s)，60.2(s).

【0527】

實施例 15：CDN15 之合成

N-[2-({9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-9H-嘌呤-6-基}胺基)乙基]-2-羥基乙醯胺

【0528】



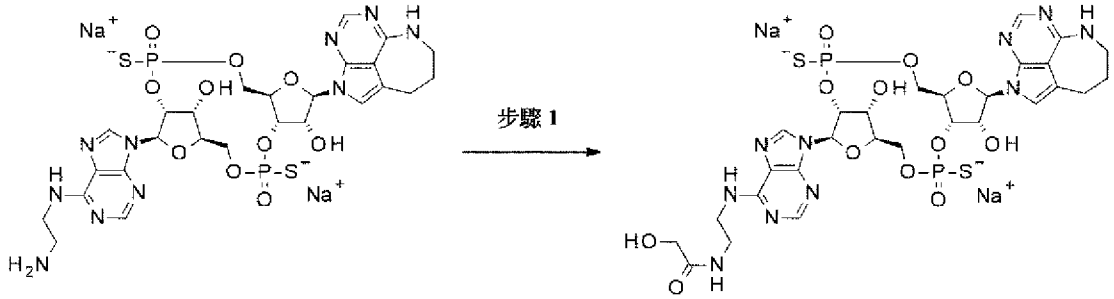
15

15a (非鏡像異構物 I)

【0529】

[合成流程圖]

【0530】



【0531】

(步驟 1)

二鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二羥基-7-(6-{[2-(2-羥基乙醯胺)乙基]胺基}-9H-嘌呤-9-基)-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於實施例13步驟6-2獲得的化合物(10.0mg)，以與實施例7步驟1-1同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]進行純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18矽膠管柱層析[10mM乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]、製備性HPLC[10mM乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：5%-35%(0分-40分)]。

將獲得的三乙基胺鹽以與實施例1步驟11記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(6.6mg)。

MS(ESI)m/z：831(M+H)$^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.78(1H，s)，8.24(1H，s)，8.02(1H，s)，7.12(1H，s)，6.33(2H，d，J=6.7Hz)，5.52-5.42(2H，m)，4.80(1H，dd，J=6.7，4.2Hz)，4.50-4.27(5H，m)，4.04-3.98(1H，m)，3.95(2H，s)，3.93-3.86(1H，m)，3.83-3.73(2H，m)，3.58-3.46(4H，m)，2.95-2.88(2H，m)，2.05-1.98(2H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：63.1(s)，60.4(s).

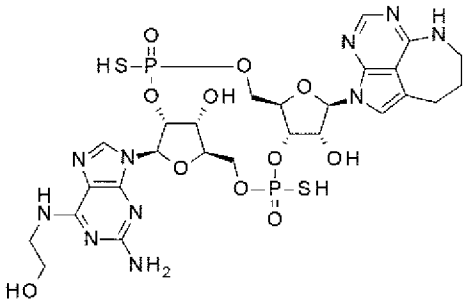
【0532】

實施例16：CDN16之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{2-胺基-6-[(2-羥基乙基)胺基]-9H-嘌呤-9-基}-15,16-二羥基-2,10-雙

(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0533】

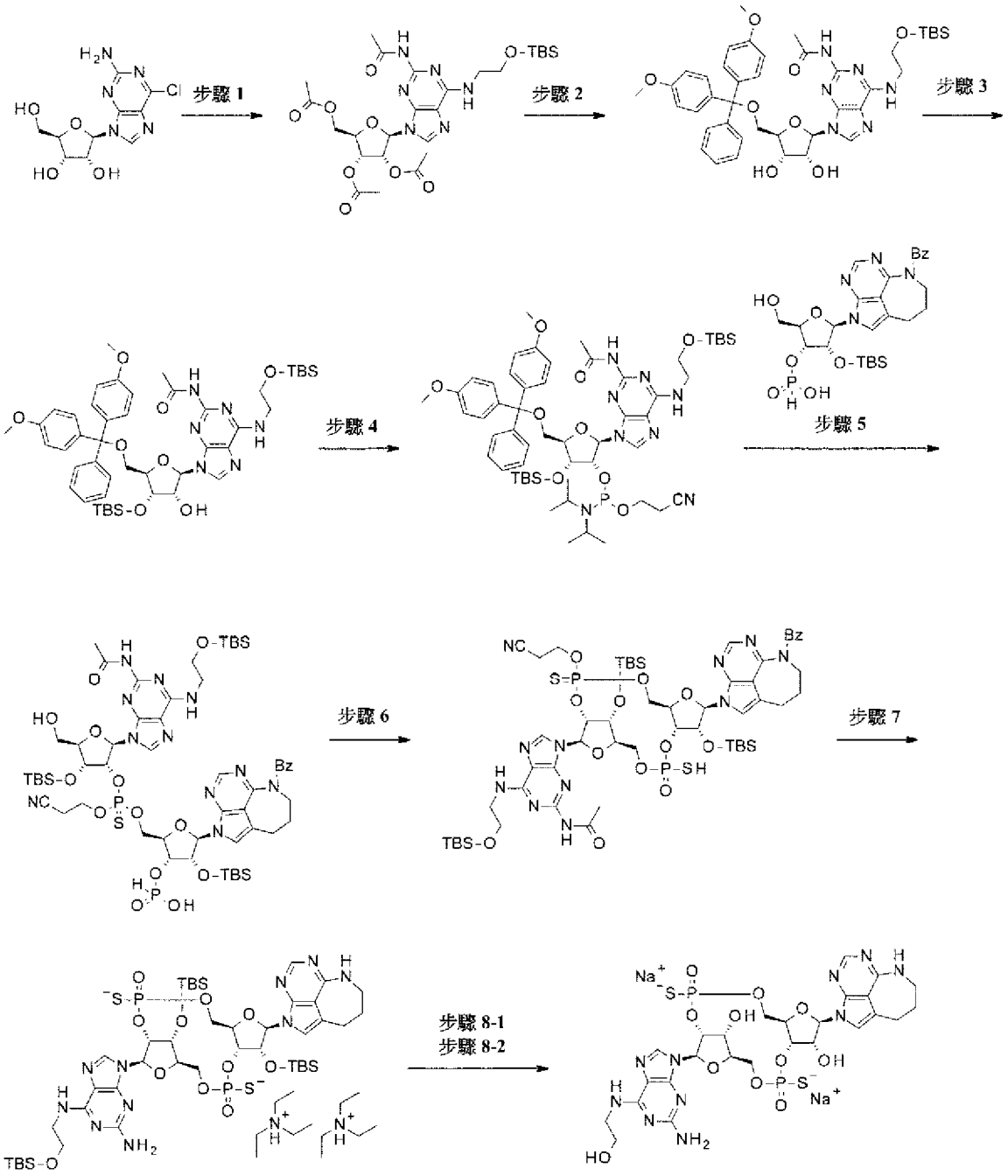


16
16a (非鏡像異構物 1)
16b (非鏡像異構物 2)

【0534】

[合成流程圖]

【0535】



【0536】

(步驟 1)

2-乙醯胺-2',3',5'-三-O-乙醯基-N-(2-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}乙基)腺苷

於市售(東京化成工業)之 6-氯-9-β-D-核呋喃糖基-9H-嘌呤-2-胺(5.00g)之乙醇(30mL)溶液中，添加 2-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}乙烷-1-胺(3.49g)及 N,N-二異丙基乙基胺

(4.33mL)，並於 80℃攪拌 65 小時。減壓濃縮反應液後，於殘留物中添加吡啶(15mL)及乙酸酐(15mL)，並於 70℃攪拌 4 小時。減壓濃縮反應液後，添加飽和碳酸氫鈉水溶液，並以乙酸乙酯萃取。有機層以無水硫酸鈉乾燥後，濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(8.91g)。

MS(ESI)m/z：609$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：7.84(1H，s)，7.77(1H，s)，6.14(1H，brs)，6.03(1H，d，J=4.8Hz)，5.92(1H，t，J=5.1Hz)，5.72(1H，t，J=5.1Hz)，4.50-4.40(2H，m)，4.35(1H，dd，J=11.8，4.5Hz)，3.83(2H，t，J=5.1Hz)，3.76-3.63(2H，m)，2.54(3H，s)，2.14(3H，s)，2.10(6H，s)，0.91(9H，s)，0.07(6H，s).

【0537】

(步驟 2)

2-乙醯胺-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-N-(2-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}乙基)腺苷

於上述步驟 1 獲得的化合物(4.00g)之二氯甲烷(40mL)溶液中添加甲醇鈉之甲醇溶液(1.0M，6.64mL)，並於 0℃攪拌 1 小時。於反應液中添加乙酸(0.413mL)及吡啶(0.5mL)而將反應停止後，減壓濃縮反應液。於殘留物中添加吡啶後，減壓下一部分濃縮，而調製吡啶(約 20mL)溶液。於此溶液中，於 0℃添加 4,4'-二甲氧基三苯甲基氯(4.68g)，於相同溫度下攪拌 30 分鐘後，於 4℃保存整夜。於反應液中添加甲醇(2mL)，攪拌 30 分鐘後，減壓濃縮。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯/甲醇/0.1%三乙基胺]純化，獲得標題化合物(4.41g)。

MS(ESI)m/z：785$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：7.97(1H，s)，7.90(1H，s)，7.21-7.08(9H，m)，6.73-6.67(4H，m)，6.14(1H，s)，5.88(1H，d，J=6.7Hz)，4.91-4.85(1H，m)，4.46(1H，t，J=3.0Hz)，4.32(1H，d，J=5.4Hz)，3.86-3.80(2H，m)，3.76(3H，s)，3.76(3H，s)，3.70-3.66(1H，m)，3.42-3.34(2H，m)，3.13(1H，dd，J=10.6，2.7Hz)，2.24(3H，s)，0.90(9H，s)，0.07(3H，s)，0.07(3H，s).(僅記載能觀測到的波峰)

【0538】

(步驟 3)

2-乙醯胺-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-N-(2-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}乙基)腺苷

使用於上述步驟 2 獲得的化合物(4.41g)，以與實施例 5 步驟 3 同樣的手法進行反應，獲得標題化合物(1.75g)及為標題化合物之位置異構物的 2-乙醯胺-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-N-(2-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}乙基)腺苷(1.31g)。

MS(ESI)m/z：899$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：7.89(1H，s)，7.69(1H，brs)，7.39-7.34(2H，m)，7.29-7.18(7H，m)，6.80-6.75(4H，m)，6.11(1H，brs)，5.89(1H，d，J=5.4Hz)，4.65(1H，dd，J=5.4，2.7Hz)，4.43(1H，dd，J=5.1，3.3Hz)，4.19-4.15(1H，m)，3.83(2H，dd，J=5.4，2.7Hz)，3.77(6H，s)，3.74-3.63(2H，m)，3.40(1H，dd，J=10.9，3.6Hz)，3.22(1H，dd，J=10.9，3.9Hz)，2.43(3H，

s)，0.90(9H，s)，0.88(9H，s)，0.10(3H，s)，0.06(6H，s)，0.03(3H，s).(僅記載能觀測到的波峰)

位置異構物(2'-O-TBS 體)

MS(ESI)m/z：899$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：7.84(1H，s)，7.52(1H，brs)，7.48-7.44(2H，m)，7.37-7.32(4H，m)，7.29-7.18(3H，m)，6.83-6.78(4H，m)，6.12(1H，brs)，5.89(1H，d，J=6.0Hz)，4.96-4.89(1H，m)，4.32-4.27(1H，m)，4.24(1H，dd，J=3.2,1.6Hz)，3.84(2H，dd，J=5.4，2.7Hz)，3.78(6H，s)，3.75-3.65(2H，m)，3.48(1H，dd，J=10.6，2.7Hz)，3.35(1H，dd，J=10.6，3.6Hz)，2.72(1H，d，J=3.0Hz)，2.37(3H，s)，0.91(9H，s)，0.84(9H，s)，0.07(6H，s)，-0.01(3H，s)，-0.17(3H，s).

【0539】

(步驟 4)

2-乙醯胺-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-N-(2-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}乙基)-2'-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}腺苷

使用於上述步驟 3 獲得的化合物(1.75g)，以與實施例 5 步驟 4 同樣的手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物(非鏡像異構物比=6：4)之標題化合物(2.08g)。

MS(ESI)m/z：1099$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：7.90(0.6H，s)，7.88(0.4H，s)，7.61(1H，d，J=7.3 Hz)，7.45-7.18(9H，m)，6.81(4H，m)，6.10(0.6H，d，J=5.4Hz)，6.09(1H，brs)，6.06(0.4H，d，J=4.8Hz)，4.95-4.85(0.6H，m)，4.76-4.69(0.4H，s)，4.45-

4.41(0.6H，m)，4.40-4.36(0.4H，m)，4.19-4.13(1H，m)，3.86-3.80(2H，m)，3.78(6H，s)，3.75-3.41(8H，m)，3.32-3.22(1H，m)，2.55-2.45(3H，m)，2.36-2.30(1H，m)，1.30-1.10(9H，m)，0.92(1.2H，d，J=6.7Hz)，0.90(9H，s)，0.85(9H，s)，0.76(1.8H，d，J=6.7Hz)，0.10(1.8H，s)，0.07(1.2H，s)，0.06(6H，s)，0.00(3H，s).

【0540】

(步驟 5)

以與實施例 1 步驟 7 相同方式，將反應以下列之規模實施(原料：981mg)。使用獲得的化合物之乙腈溶液及於上述步驟 4 獲得的化合物(1.05g)，以與實施例 1 步驟 8 同樣之手法進行反應。將獲得的粗生成物直接用於之後的反應。

【0541】

(步驟 6)

N-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-10-(2-氰基乙氧基)-2-側氧基-2-氫硫基-10-亞巯基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-[(2-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}乙基)胺基]-9H-嘌呤-2-基}乙醯胺

使用上述步驟 5 所獲得的粗生成物，以與實施例 1 步驟 9 同樣之手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(413mg)。

MS(ESI)m/z：1330(M＋H)$^+$.

【0542】

(步驟 7)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{2-胺基-6-[(2-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}乙基)胺基]-9H-嘌呤-9-基}-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使上述步驟 6 獲得的化合物(413mg)溶解於甲醇(5mL)及28%氨水(5mL)，於室溫攪拌 63 小時。減壓濃縮反應液後，殘留物以 C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]簡易純化，將低極性之非鏡像異構物 1 與高極性之非鏡像異構物 2 分離。使各自之非鏡像異構物再次溶解於甲醇(5mL)及 28%氨水(5mL)，於 100℃攪拌 2 日。減壓濃縮反應液後，殘留物以 C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]純化，獲得標題化合物之非鏡像異構物 1(70.4mg：含有雜質)及非鏡像異構物 2(65.1mg：含有雜質)。

非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：1131$(M+H)^+$.

非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：1131$(M+H)^+$.

【0543】

(步驟 8-1)

二鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{2-胺基-6-[(2-羥基乙基)胺基]-9H-嘌呤-9-基}-15,16-二羥基-2,10-二

側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ⁵,10λ⁵-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

使用於上述步驟 7 獲得的化合物(非鏡像異構物 1)(70.4mg:含有雜質),以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後,以下列之[純化條件]進行純化,獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈,乙腈:5%-30%(0 分-40 分)]。

獲得的三乙基胺鹽以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換,而獲得標題化合物(20.8mg)。

MS(ESI)m/z:789$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ:8.24(1H,s),8.02(1H,s),7.09(1H,s),6.29(1H,d,J=4.2Hz),6.12(1H,d,J=8.5Hz),5.46-5.39(1H,m),5.22-5.15(1H,m),4.84(1H,d,J=3.6Hz),4.80(1H,t,J=4.5Hz),4.50-4.32(3H,m),4.32-4.28(1H,m),4.12-3.98(2H,m),3.74(2H,t,J=5.4Hz),3.68-3.60(2H,m),3.48(2H,t,J=5.4Hz),2.87-2.70(2H,m),2.01-1.93(2H,m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ:57.8(s),54.1(s).

【0544】

(步驟 8-2)

二鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{2-胺基-6-[(2-羥基乙基)胺基]-9H-嘌呤-9-基}-15,16-二羥基-2,10-二

側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ⁵,10λ⁵-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

使用於上述步驟 7 獲得的化合物(非鏡像異構物 2)(65.1mg:含有雜質),以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後,以下列之[純化條件]進行純化,獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]、製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈,乙腈:5%-30%(0 分-40 分)]、及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/甲醇、甲醇:0%-60%(0 分-40 分)]。

獲得的三乙基胺鹽以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換,而獲得標題化合物(7.9mg)。

MS(ESI)m/z:789$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ:8.39(1H,s),8.02(1H,s),7.13(1H,s),6.33(1H,d,J=6.7Hz),6.13(1H,d,J=8.5Hz),5.51-5.40(2H,m),4.83-4.78(1H,m),4.51-4.29(4H,m),4.28-4.23(1H,m),4.07-4.00(1H,m),3.94-3.87(1H,m),3.75(2H,t,J=5.7Hz),3.69-3.62(2H,m),3.53-3.47(2H,m),2.91(2H,t,J=5.7Hz),2.05-1.97(2H,m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ:62.9(s),60.3(s).

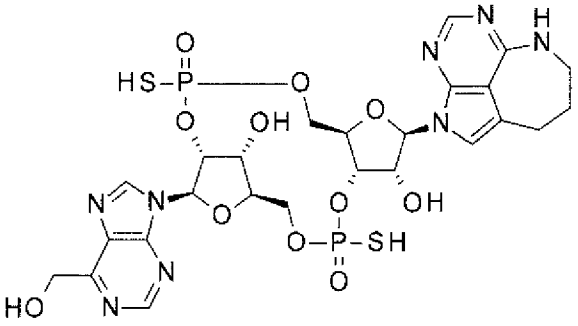
【0545】

實施例 17:CDN17 之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二羥基-7-[6-(羥基甲基)-9H-嘌呤-9-基]-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-

四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0546】



17

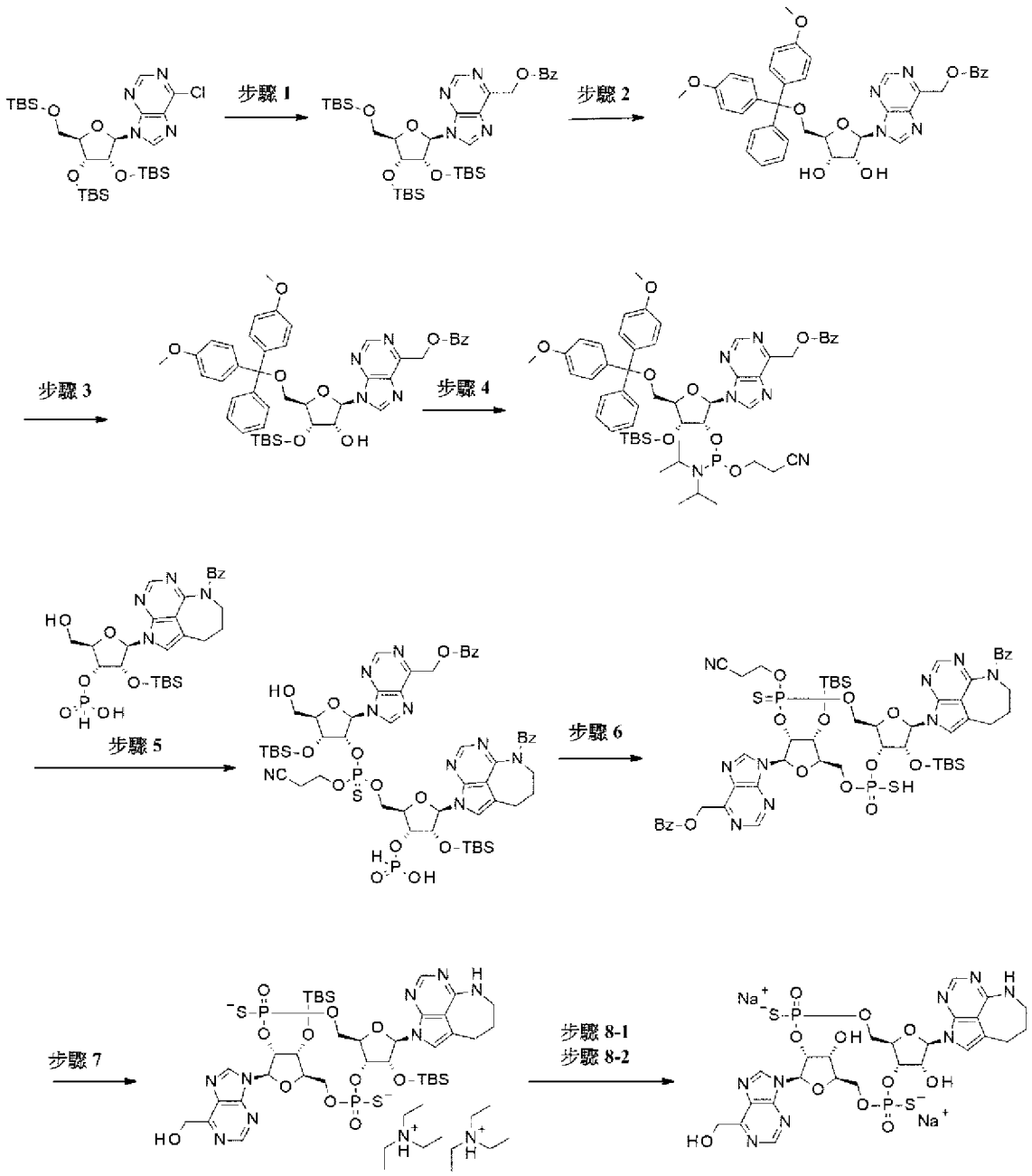
17a (非鏡像異構物 1)

17b (非鏡像異構物 2)

【0547】

[合成流程圖]

【0548】



【0549】

(步驟 1)

6-[(苄醯基氧基)甲基]-9-{2,3,5-參-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-β-D-核呋喃糖基}-9H-嘌呤

使用文獻已知(J.Org.Chem.1997，62,6833-6841)之 6-氯-9-{2,3,5-參-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-β-D-核呋喃糖基}-9H-嘌呤(10.7g)，以與實施例 12 步驟 2 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(10.4g)。

MS(ESI)m/z：729$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.94(1H，s)，8.50(1H，s)，8.18-8.13(2H，m)，7.60-7.54(1H，m)，7.48-7.41(2H，m)，6.13(1H，d，J=4.2Hz)，5.88(2H，s)，4.63(1H，dd，J=4.5，2.1Hz)，4.34(1H，dd，J=4.2，2.1Hz)，4.17-4.14(1H，m)，4.04(1H，dd，J=11.5，3.6Hz)，3.80(1H，dd，J=11.5，2.4Hz)，0.94(9H，s)，0.93(9H，s)，0.80(9H，s)，0.14(3H，s)，0.13(3H，s)，0.11(3H，s)，0.10(3H，s)，-0.02(3H，s)，-0.20(3H，s).

【0550】

(步驟 2)

6-[(苄醯基氧基)甲基]-9-{5-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-β-D-核呋喃糖基}-9H-嘌呤

於上述步驟 1 獲得的化合物(10.3g)之四氫呋喃(50mL)溶液中，添加氟化四丁基銨之四氫呋喃溶液(約 1M，49.4mL)，於 0℃攪拌 4 小時。於反應液中添加乙酸(2.83mL)後，減壓濃縮。將殘留物以矽膠管柱層析[二氯甲烷/甲醇]粗純化。於粗生成物之吡啶(50mL)溶液中，於 0℃添加 4,4'-二甲氧基三苯甲基氯(10.1g)，並於 4℃攪拌整夜。於反應液中添加甲醇(2mL)，並攪拌 1 小時。於反應液中添加飽和碳酸氫鈉水溶液，以二氯甲烷萃取。有機層以無水硫酸鈉乾燥後，濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯/0.1%三乙基胺]純化，獲得標題化合物(4.62g)。

MS(ESI)m/z：689$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.91(1H，s)，8.33(1H，s)，8.15-8.11(2H，m)，7.60-7.54(1H，m)，7.46-7.40(2H，m)，7.27-

7.12(9H，m)，6.75-6.70(4H，m)，6.04(1H，d，J=6.0Hz)，5.88(2H，s)，5.43(1H，brs)，4.90-4.84(1H，m)，4.48-4.41(2H，m)，3.76(6H，s)，3.44(1H，dd，J=10.6，3.3Hz)，3.30(1H，dd，J=10.6，3.3Hz)，3.09(1H，brs).

【0551】

(步驟 3)

6-[(苄醯基氧基)甲基]-9-{5-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-β-D-核呋喃糖基}-9H-嘌呤

使用於上述步驟 2 獲得的化合物(4.53g)，以與實施例 5 步驟 3 同樣的手法進行反應，獲得標題化合物(2.09g)及為標題化合物之位置異構物的 6-[(苄醯基氧基)甲基]-9-{5-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-β-D-核呋喃糖基}-9H-嘌呤(1.81g)。

MS(ESI)m/z：803$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.92(1H，s)，8.32(1H，s)，8.16-8.12(2H，m)，7.60-7.54(1H，m)，7.47-7.36(4H，m)，7.31-7.17(7H，m)，6.81-6.76(4H，m)，6.07(1H，d，J=4.8Hz)，5.87(2H，s)，4.81-4.74(1H，m)，4.62-4.57(1H，m)，4.22-4.17(1H，m)，3.77(6H，s)，3.52(1H，dd，J=10.9，3.6Hz)，3.26(1H，dd，J=10.9，3.6Hz)，3.12(1H，d，J=6.7Hz)，0.89(9H，s)，0.09(3H，s)，0.02(3H，s).

位置異構物(2'-O-TBS 體)

MS(ESI)m/z：803$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.87(1H，s)，8.31(1H，s)，8.17-8.13(2H，m)，7.60-7.55(1H，m)，7.48-7.42(4H，m)，7.35-7.31(4H，m)，7.28-7.17(3H，m)，6.83-6.78(4H，m)，6.12(1H，d，J=5.4Hz)，5.88(2H，s)，4.99(1H，dd，J=5.1,2.6Hz)，4.40-4.34(1H，m)，4.28(1H，dd，J=3.6，2.0Hz)，3.77(6H，s)，3.53(1H，dd，J=10.9，3.0Hz)，3.40(1H，dd，J=10.9，3.9Hz)，2.68(1H，d，J=4.8Hz)，0.84(9H，s)，0.00(3H，s)，-0.14(3H，s).

【0552】

(步驟 4)

6-[(苄醯基氧基)甲基]-9-(5-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-2-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}-β-D-核呋喃糖基)-9H-嘌呤

使用於上述步驟 3 獲得的化合物(2.04g)，以與實施例 5 步驟 4 同樣的手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物(非鏡像異構物比=56：44)之標題化合物(2.37g)。

MS(ESI)m/z：1003$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.88(0.44H，s)，8.87(0.56H，s)，8.37(0.44H，s)，8.35(0.56H，s)，8.16-8.11(2H，m)，7.60-7.54(1H，m)，7.47-7.38(4H，m)，7.33-7.16(7H，m)，6.83-6.76(4H，m)，6.31(0.44H，d，J=4.8Hz)，6.21(0.56H，d，J=4.8Hz)，5.87(0.88H，s)，5.86(1.12H，s)，5.08-5.01(0.56H，m)，4.86-4.80(0.44H，m)，4.56-4.50(1H，m)，4.27-4.20(1H，m)，3.85-3.54(2H，m)，3.78(6H，s)，3.54-3.44(3H，m)，3.34-3.25(1H，m)，2.51(1.12H，t，J=6.3Hz)，

2.34(0.88H，t，J=6.3Hz)，1.14-1.05(9H，m)，0.90(3H，d，J=6.7Hz)，0.85(5.04H，s)，0.85(3.96H，s)，0.11(1.68H，s)，0.08(1.32H，s)，0.01(3H，s).

【0553】

(步驟 5)

以與實施例 1 步驟 7 相同方式，將反應以下列之規模實施(原料：783mg)。使用獲得的化合物之乙腈溶液及於上述步驟 4 獲得的化合物(765mg)，以與實施例 1 步驟 8 同樣之手法進行反應。將獲得的粗生成物直接用於之後的反應。

【0554】

(步驟 6)

{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-苄 醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-10-(2-氰基乙氧基)-2-側氧基-2-氫硫基-10-亞硫基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-9H-嘌呤-6-基}甲基苯甲酸酯

使用上述步驟 5 所獲得的粗生成物，以與實施例 1 步驟 9 同樣之手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(345mg)。

MS(ESI)m/z：1234(M＋H)$^+$.

【0555】

(步驟 7)

雙(N,N-二乙基乙銨)(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-7-[6-(羥基甲基)-9H-

嘌呤-9-基]-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於上述步驟6獲得的化合物(345mg)，以與實施例1步驟10同樣之手法進行反應，獲得標題化合物之非鏡像異構物1(101mg：含有雜質)及非鏡像異構物2(89.9mg：含有雜質)。

非鏡像異構物1(低極性)

MS(ESI)m/z：973(M+H)$^+$.

非鏡像異構物2(高極性)

MS(ESI)m/z：973(M+H)$^+$.

【0556】

(步驟8-1)

二鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二羥基-7-[6-(羥基甲基)-9H-嘌呤-9-基]-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物1)

使用於上述步驟7獲得的化合物(非鏡像異構物1)(101mg：含有雜質)，以與實施例1步驟11同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]進行純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18矽膠管柱層析[10mM乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]、製備性HPLC[10mM乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：5%-30%(0分-40分)]。

將獲得的三乙基胺鹽以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(59.2mg)。

MS(ESI)m/z：745$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：9.07(1H，s)，8.88(1H，s)，8.03(1H，s)，7.10(1H，s)，6.48(1H，d，J=8.5Hz)，6.29(1H，d，J=4.8Hz)，5.46(1H，dt，J=7.9，4.2Hz)，5.21-5.15(1H，m)，5.10(2H，s)，4.84-4.80(1H，m)，4.79(1H，t，J=4.5Hz)，4.51-4.42(2H，m)，4.37-4.34(1H，m)，4.33-4.24(1H，m)，4.09-3.97(2H，m)，3.52-3.47(2H，m)，2.89-2.82(2H，m)，2.03-1.95(2H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：57.9(s)，54.8(s).

【0557】

(步驟 8-2)

二 鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二 羥 基-7-[6-(羥 基 甲 基)-9H-嘌 呤-9-基]-2,10-二 側 氧 基-14-(6,7,8,9-四 氫-2H-2,3,5,6-四 氮 苯 并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

使用於上述步驟 7 獲得的化合物(非鏡像異構物 2)(88.5mg：含有雜質)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]進行純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]、製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：5%-30%(0 分-40 分)]、及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/甲醇，甲醇：10%-70%(0 分-40 分)]。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(27.7mg)。

MS(ESI)m/z：745$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：9.16(1H，s)，8.87(1H，s)，8.03(1H，s)，7.11(1H，s)，6.51(1H，d，J=8.5Hz)，6.33(1H，d，J=6.7Hz)，5.58-5.45(2H，m)，5.12-5.09(2H，m)，4.81-4.76(1H，m)，4.53-4.49(1H，m)，4.48-4.36(2H，m)，4.34(2H，s)，4.09-4.02(1H，m)，3.92-3.85(1H，m)，3.53-3.47(2H，m)，2.94-2.87(2H，m)，2.05-1.97(2H，m).

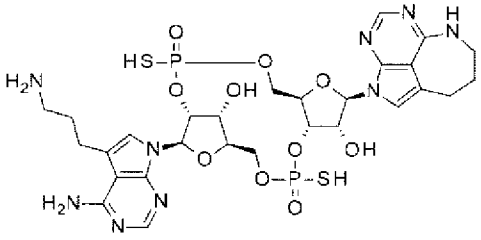
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：63.1(s)，60.1(s).

【0558】

實施例 18：CDN18 之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[4-胺基-5-(3-胺基丙基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-15,16-二羥基-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0559】



18

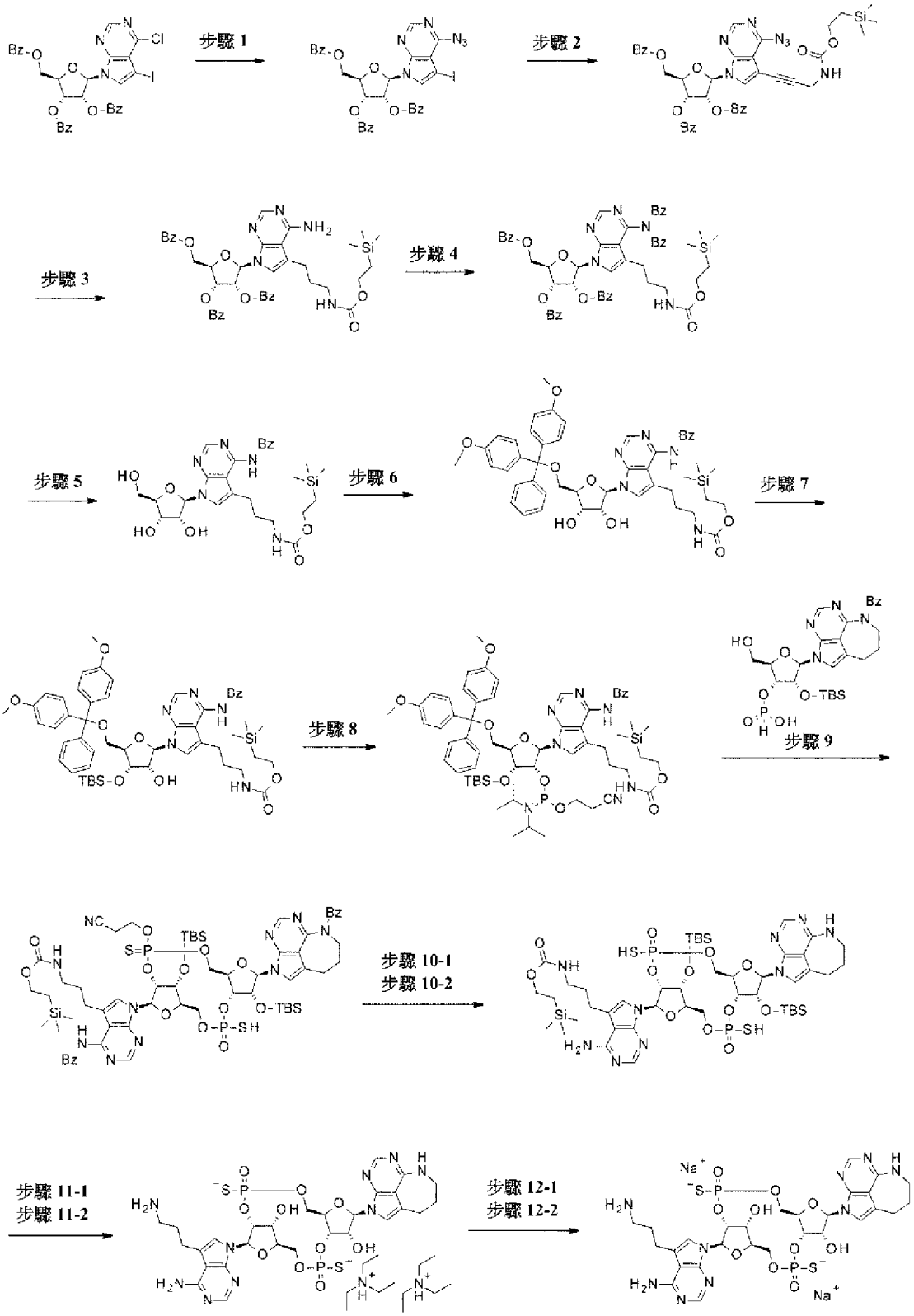
18a (非鏡像異構物 1)

18b (非鏡像異構物 2)

【0560】

[合成流程圖]

【0561】



【0562】

(步驟 1)

4-疊氮基-5-碘基-7-(2,3,5-三-O-苄醯基-β-D-核呋喃糖基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶

於文獻已知(Synth.Commun.2012，42,358-374)之 4-氯-5-碘基-7-(2,3,5-三-O-苄醯基-β-D-核呋喃糖基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶(17.96g)之 N,N-二甲基甲醯胺(90mL)溶液中，添加疊氮化四丁基銨(10.1g)，於 80℃攪拌 30 分鐘。將反應液回到室溫，於反應液中添加飽和碳酸氫鈉水溶液及乙酸乙酯，以乙酸乙酯萃取。有機層以飽和食鹽水洗淨後，以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，並減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(17.66g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：9.18(1H，s)，8.13-8.09(2H，m)，8.03-7.99(2H，m)，7.95-7.90(2H，m)，7.64-7.34(10H，m)，6.71(1H，d，J=5.1Hz)，6.20(1H，t，J=5.5Hz)，6.11(1H，t，J=5.3Hz)，4.96(1H，dd，J=12.2,3.2Hz)，4.88-4.84(1H，m)，4.70(1H，dd，J=12.2,3.2Hz).

【0563】

(步驟 2)

4-疊氮基-7-(2,3,5-三-O-苄醯基-β-D-核呋喃糖基)-5-[3-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)丙-1-炔-1-基]-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶

於上述步驟 1 獲得的化合物(9.64g)之 N,N-二甲基甲醯胺(30mL)-四氫呋喃(100mL)混合溶液中，依序添加 2-(三甲基矽基)乙基丙-2-炔-1-基胺甲酸酯(6.58g)、三乙基胺(4.57mL)、肆(三苯基膦)鈀(0)(763mg)、及碘化銅(I)(251mg)，並於室溫攪拌整夜。於反應液中添加水，以乙酸乙酯萃取。有機層以飽和食鹽

水洗淨後，以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(7.20g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：9.16(1H，s)，8.14-8.08(2H，m)，8.03-7.99(2H，m)，7.94-7.90(2H，m)，7.66(1H，s)，7.65-7.35(9H，m)，6.66(1H，d，J=5.1Hz)，6.22(1H，t，J=5.5Hz)，6.10(1H，t，J=5.3Hz)，5.07(1H，brs)，4.95(1H，dd，J=12.3,2.9Hz)，4.88-4.84(1H，m)，4.70(1H，dd，J=12.3,3.7Hz)，4.29(2H，d，J=5.5Hz)，4.21(2H，t，J=8.6Hz)，1.02(2H，t，J=8.6Hz)，0.05(9H，s).

【0564】

(步驟3)

7-(2,3,5-三-O-苄醯基-β-D-核呋喃糖基)-5-[3-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)丙基]-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺

於上述步驟2獲得的化合物(7.20g)之甲醇(70mL)-四氫呋喃(70mL)混合溶液中添加20%氫氧化鈀碳(2g)，氫環境下，於室溫攪拌2小時。濾除觸媒後，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(5.45g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.26(1H，s)，8.19-8.15(2H，m)，8.02-7.97(2H，m)，7.96-7.92(2H，m)，7.65-7.48(5H，m)，7.43-7.32(4H，m)，6.82(1H，s)，6.73(1H，d，J=6.3Hz)，6.17(1H，t，J=5.9Hz)，6.11(1H，dd，J=5.9，3.9Hz)，5.23(2H，s)，4.90(1H，dd，J=12.2,3.4Hz)，4.77-4.70(2H，m)，4.63(1H，dd，J=12.2,3.4Hz)，4.15(2H，t，J=8.6Hz)，3.20-3.10(2H，m)，2.62(2H，t，J=7.6Hz)，1.72-1.62(2H，m)，1.01-0.94(2H，m)，0.04(9H，s).

【0565】

(步驟 4)

N,N-二苄醯基-7-(2,3,5-三-O-苄醯基-β-D-核呋喃糖基)-5-[3-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)丙基]-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺

於上述步驟 3 獲得的化合物(5.45g)之二氯甲烷(60mL)溶液中，於 0℃依序添加吡啶(1.69mL)及苯甲醯氯(2.01mL)，於 0℃攪拌 5 分鐘後，再添加三乙基胺(2.91mL)，於室溫攪拌 2 小時。於反應液中添加飽和碳酸氫鈉水溶液及二氯甲烷，以二氯甲烷萃取。有機層以無水硫酸鈉乾燥後，濾除乾燥劑，並減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，進一步以乙酸乙酯及己烷加以粉末化。濾取獲得的固體，而獲得標題化合物(6.16g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.54(1H，s)，8.20-8.16(2H，m)，8.02-7.98(2H，m)，7.96-7.92(2H，m)，7.82-7.76(4H，m)，7.65-7.32(15H，m)，7.18(1H，brs)，6.82(1H，d，J=5.9Hz)，6.17(1H，t，J=6.1Hz)，6.13(1H，dd，J=5.9，3.5Hz)，4.94(1H，dd，J=12.2,3.2Hz)，4.79-4.75(1H，m)，4.65(1H，dd，J=12.2,3.2Hz)，4.41(1H，brs)，4.08(2H，t，J=8.6Hz)，2.95-2.87(2H，m)，2.58-2.50(2H，m)，1.54-1.52(2H，m)，0.97-0.91(2H，m)，0.02(9H，s).

【0566】

(步驟 5)

N-苄醯基-7-β-D-核呋喃糖基-5-[3-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)丙基]-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺

於上述步驟 4 獲得的化合物(6.16g)之四氫呋喃(250mL)溶液中，於 0℃滴加甲醇鈉之甲醇溶液(1.0M，12.0mL)，於室溫攪拌 1 小時。於 0℃於反應液中添加乙酸(1.07mL)後，減壓濃縮。將殘留物以矽膠管柱層析[乙酸乙酯/甲醇]純化，進一步以乙酸乙酯及己烷加以粉末化。濾取獲得的固體，而獲得標題化合物(3.35g)。

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.62(1H，s)，8.04(2H，d，J=7.0Hz)，7.69-7.62(1H，m)，7.60-7.54(3H，m)，6.26(1H，d，J=6.3Hz)，4.59(1H，t，J=5.7Hz)，4.31(1H，dd，J=5.1，3.5Hz)，4.12-4.01(3H，m)，3.86(1H，dd，J=12.3,2.9Hz)，3.76(1H，dd，J=12.1，3.5Hz)，3.01(2H，t，J=6.7Hz)，2.76(2H，t，J=7.4Hz)，1.86-1.76(2H，m)，0.93(2H，t，J=8.2Hz)，0.03(9H，s).

【0567】

(步驟 6)

N-苄醯基-7-{5-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-β-D-核呋喃糖基}-5-[3-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)丙基]-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺

將於上述步驟 5 獲得的化合物(3.35g)以吡啶共沸，於殘留物之無水吡啶(50mL)溶液中，於 0℃添加 4,4'-二甲氧基三苯甲基氯(2.38g)，並於室溫攪拌整夜。於反應液中添加乙醇(5mL)而停止反應後，減壓濃縮。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(4.34g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.51(1H，brs)，8.30(1H，brs)，8.05-7.90(1H，m)，7.56-7.42(3H，m)，7.39-7.31(2H，m)，7.29-7.16(10H，m)，6.81-6.75(4H，m)，6.22(1H，d，J=5.9Hz)，

4.91(1H，brs)，4.76-4.67(2H，m)，4.45-4.41(1H，m)，4.38-4.29(1H，m)，4.05-3.95(2H，m)，3.77(6H，s)，3.50(1H，dd，J=10.6，3.1Hz)，3.37-3.27(1H，m)，3.19-2.94(4H，m)，2.66(1H，brs)，1.82(1H，brs)，0.93-0.76(2H，m)，-0.01(9H，s).

【0568】

(步驟 7)

N-苄醯基-7-{5-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-β-D-核呋喃糖基}-5-[3-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)丙基]-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺(3'-O-TBS 體)

使用於上述步驟 6 獲得的化合物(4.34g)，以與實施例 8 步驟 4 同樣之手法進行反應，各自獲得標題化合物(1.51g)、及為標題化合物之位置異構物的 N-苄醯基-7-{5-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-β-D-核呋喃糖基}-5-[3-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)丙基]-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺(2'-O-TBS 體)(2.01g)。

(3'-OTBS 體)(高極性)

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.38-8.26(2H，m)，8.10-8.03(1H，m)，7.58-7.40(5H，m)，7.36-7.20(10H，m)，6.86-6.77(4H，m)，6.30-6.22(1H，m)，5.02-4.89(1H，m)，4.63-4.45(2H，m)，4.17-4.10(1H，m)，4.04-3.92(2H，m)，3.79(3H，s)，3.79(3H，s)，3.59-3.52(1H，m)，3.32-3.23(1H，m)，3.17-2.80(4H，m)，1.86-1.64(2H，m)，0.89(9H，s)，0.86-0.72(2H，m)，0.09(3H，s)，0.01(3H，s)，-0.01(9H，s).

(2'-OTBS 體)(低極性)

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.39-8.25(2H，m)，8.04(1H，s)，7.57-7.42(5H，m)，7.37-7.18(10H，m)，6.87-6.80(4H，m)，6.33(1H，d，J=5.1Hz)，5.01(1H，brs)，4.78(1H，t，J=5.7Hz)，4.40-4.33(1H，m)，4.29-4.25(1H，m)，4.05-3.92(2H，m)，3.80(3H，s)，3.79(3H，s)，3.59-3.51(1H，m)，3.44-3.37(1H，m)，3.16-3.03(1H，m)，2.99-2.81(3H，m)，1.74-1.61(2H，m)，0.83(9H，s)，0.80-0.70(2H，m)，0.00--0.03(12H，m)，-0.20(3H，s).

【0569】

(步驟 8)

N-苄醯基-7-(5-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-2-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}-β-D-核呋喃糖基)-5-[3-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)丙基]-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺

使用於上述步驟 7 獲得的化合物(3'-OTBS 體)(1.51g)，以與實施例 1 步驟 6 同樣的手法進行反應，各自獲得為磷原子上之非鏡像異構物的標題化合物之非鏡像異構物 1(0.77g)及非鏡像異構物 2(0.48g)。

非鏡像異構物 1(低極性)

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.36-8.27(2H，m)，8.02(1H，brs)，7.57-7.40(5H，m)，7.37-7.21(10H，m)，6.87-6.77(4H，m)，6.39(1H，d，J=5.1Hz)，4.98(1H，brs)，4.85-4.73(1H，m)，4.56-4.47(1H，m)，4.20-4.15(1H，m)，4.05-3.92(2H，m)，3.88-3.67(8H，m)，3.63-3.47(3H，m)，3.33-3.23(1H，m)，

3.15-2.82(3H，m)，2.60-2.45(2H，m)，1.83-1.64(2H，m)，1.10(6H，d，J=6.7Hz)，0.92(6H，d，J=6.7Hz)，0.87(9H，s)，0.81-0.71(2H，m)，0.12(3H，s)，0.03(3H，s)，-0.01(9H，s).

非鏡像異構物 2(高極性)

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.36-8.28(2H，m)，8.05(1H，brs)，7.57-7.38(5H，m)，7.36-7.19(10H，m)，6.84-6.79(4H，m)，6.48-6.40(1H，m)，5.02(1H，brs)，4.65-4.42(2H，m)，4.19-4.15(1H，m)，4.06-3.90(2H，m)，3.80-3.48(11H，m)，3.32-3.24(1H，m)，3.17-3.03(2H，m)，2.99-2.86(1H，m)，2.51-2.40(2H，m)，1.86-1.69(2H，m)，1.18-1.02(12H，m)，0.85(9H，s)，0.81-0.71(2H，m)，0.08(3H，s)，0.02(3H，s)，-0.01(9H，s).

【0570】

(步驟 9)

2-(三甲基矽基)乙基 (3-{4-苯甲醯胺-7-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-10-(2-氰基乙氧基)-2-側氧基-2-氫硫基-10-亞硫基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-基}丙基)胺甲酸酯

以與實施例 1 步驟 7 相同方式，將反應以下列之規模實施(原料：1.08g)。使用獲得的化合物之乙腈溶液及以上述步驟 8 獲得的化合物(1.25g：非鏡像異構物混合物)，以與實施例 1 步驟

8 及實施例 1 步驟 9 同樣之手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物。以製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：10%-50%(0 分-35 分)]將磷原子上之非鏡像異構物分離，獲得標題化合物之非鏡像異構物 1(0.19g)及非鏡像異構物 2(0.043g)。

非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：1419$(M+H)^+$.

非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：1419$(M+H)^+$.

【0571】

(步驟 10-1)

2-(三甲基矽基)乙基(3-{4-胺基-7-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-2,10-二側氧基-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-基}丙基)胺甲酸酯

使用於上述步驟 9 獲得的化合物(非鏡像異構物 1)(0.19g)，以與實施例 12 步驟 8-1 同樣之手法進行反應。以製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：40%-70%(0 分-35 分)]純化，獲得標題化合物(58mg)。

MS(ESI)m/z：1158$(M+H)^+$.

【0572】

(步驟 10-2)

2-(三甲基矽基)乙基(3-{4-胺基-7-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-2,10-二側氧基-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-基}丙基)胺甲酸酯

使用於上述步驟9獲得的化合物(非鏡像異構物2)(43mg)，以與實施例12步驟8-1同樣之手法進行反應。以製備性HPLC[10mM乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：30%-60%(0分-35分)]純化，獲得標題化合物(15mg)。

MS(ESI)m/z：1158(M+H)$^+$.

【0573】

(步驟11-1)

雙(N,N-二乙基乙銨)(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[4-胺基-5-(3-胺基丙基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

於上述步驟10-1獲得的化合物(58mg)之四氫呋喃(1mL)溶液中，添加氟化四丁基銨之四氫呋喃溶液(約1M，5mL)，並於室溫攪拌整夜。反應未結束，因而進一步於40℃攪拌3小時。減壓濃縮反應液後，以製備性HPLC[10mM乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：10%-40%(0分-35分)]純化。進一步以Sep-Pak(註

冊商標)C18[0.1%三乙基胺水溶液/乙腈，乙腈：0%-30%]純化，獲得標題化合物(25mg)。

MS(ESI)m/z：786$(M+H)^+$.

【0574】

(步驟 11-2)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[4-胺基-5-(3-胺基丙基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於上述步驟 10-2 獲得的化合物(15mg)，以與上述步驟 11-1 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(7.2mg)。

MS(ESI)m/z：786$(M+H)^+$.

【0575】

(步驟 12-1)

二鈉 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[4-胺基-5-(3-胺基丙基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

使用於上述步驟 11-1 獲得的化合物(25mg)，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(17mg)。

MS(ESI)m/z：786$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.028(1H，s)，8.025(1H，s)，7.71(1H，s)，7.09(1H，s)，6.51(1H，d，J=8.2Hz)，6.26(1H，d，J=5.1Hz)，5.38-5.29(1H，m)，5.17-5.10(1H，m)，4.85-4.80(1H，m)，4.75(1H，d，J=3.9Hz)，4.44-4.37(1H，m)，4.33-4.23(3H，m)，4.09-3.97(2H，m)，3.52-3.46(2H，m)，3.00-2.72(6H，m)，2.13-2.02(2H，m)，2.02-1.93(2H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：56.65(s)，55.31(s).

【0576】

(步驟 12-2)

二鈉 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[4-胺基-5-(3-胺基丙基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

使用於上述步驟 11-2 獲得的化合物(7.2mg)，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(6.0mg)。

MS(ESI)m/z：786$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.02(1H，s)，8.01(1H，s)，7.75(1H，s)，7.07(1H，s)，6.52(1H，d，J=8.6Hz)，6.29(1H，d，J=7.4Hz)，5.61-5.55(1H，m)，5.47-5.37(1H，m)，4.86-4.83(1H，m)，4.56-4.43(2H，m)，4.31-4.21(3H，m)，4.06-3.99(1H，m)，3.91-3.84(1H，m)，3.54-3.46(3H，m)，3.00-2.87(5H，m)，2.29-2.07(2H，m)，2.06-1.95(2H，m).

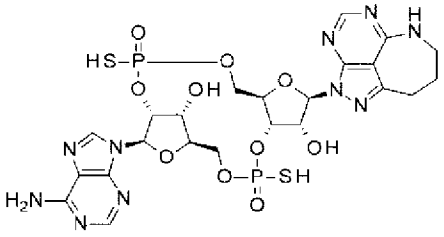
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：63.08(s)，58.68(s).

【0577】

實施例 19：CDN19 之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-胺基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二羥基-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-1,2,3,5,6-五氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0578】



19

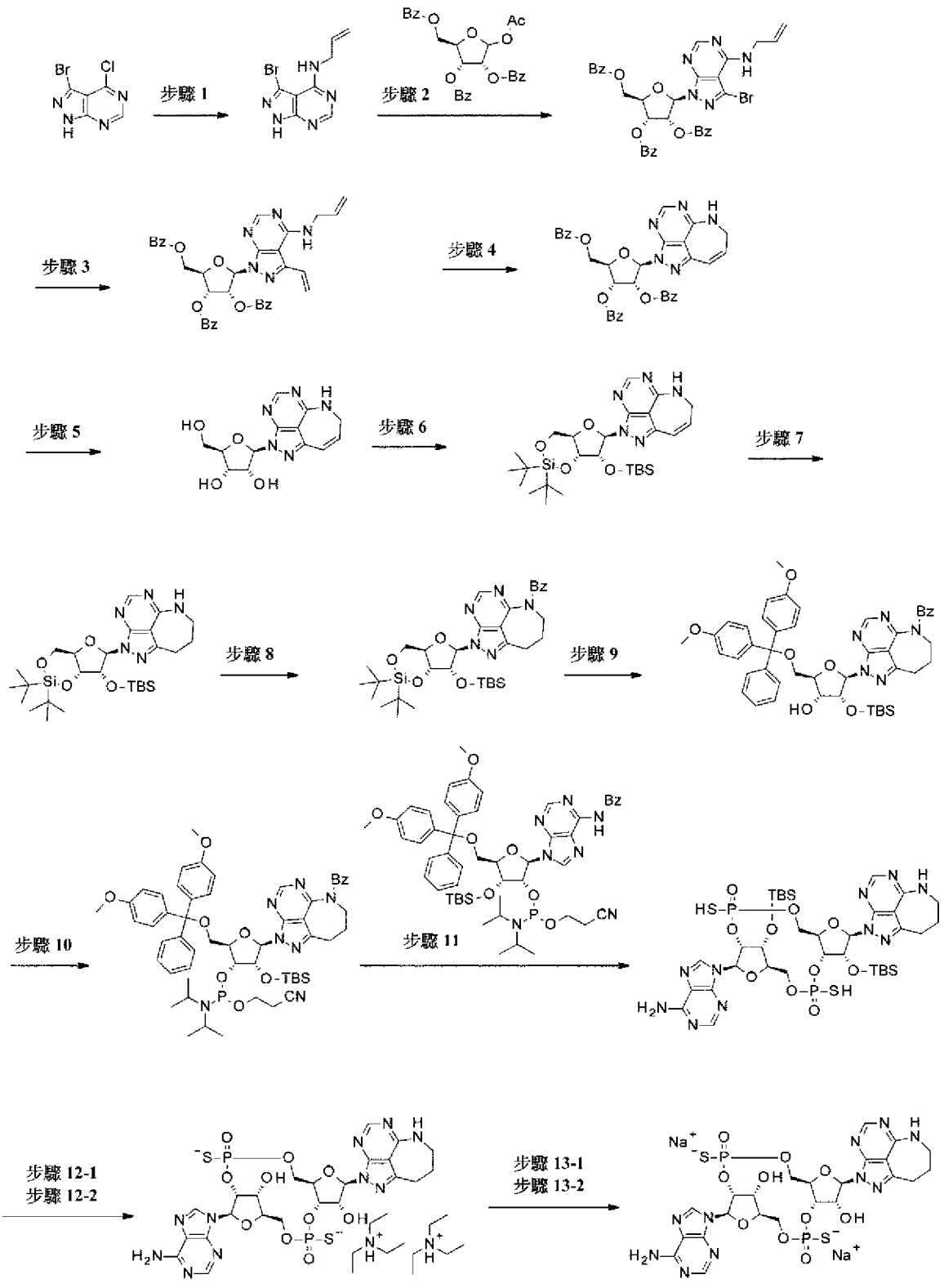
19a (非鏡像異構物 1)

19b (非鏡像異構物 2)

【0579】

[合成流程圖]

【0580】



【0581】

(步驟 1)

3-溴-N-(丙-2-烯-1-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4-胺

使市售(Bepharm)之 3-溴-4-氯-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶(8.50g)懸浮於二噁烷(140mL)，於室溫添加 N,N,-二異丙基乙基胺(12.5mL)及烯丙基胺(11mL)，並於相同溫度下攪拌 70 小時。將反應液減壓濃縮，將殘留物以二氯甲烷及乙酸乙酯作成漿液狀後，濾取固體(固體 1)。將濾液減壓濃縮後，重複 2 次同樣之操作而各自獲得固體 2 及固體 3。將最後之濾液以矽膠管柱[己烷/乙酸乙酯]純化而獲得固體 4。再者，將固體 1 以矽膠管柱[己烷/乙酸乙酯]純化而獲得固體 5。合併固體 4 及固體 5，獲得標題化合物(4.48g)。合併固體 2 及固體 3，而獲得含雜質的標題化合物(3.78g)。

MS(ESI)m/z：254$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：13.82(1H，s)，8.26(1H，s)，7.23(1H，t，J=5.9Hz)，5.96(1H，m)，5.18(1H，dd，J=17.1，1.5Hz)，5.10(1H，dd，J=10.3，1.5Hz)，4.19(2H，m).

【0582】

(步驟 2)

3-溴-N-(丙-2-烯-1-基)-1-(2,3,5-三-O-苄醯基-β-D-核呋喃糖基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4-胺

使於上述步驟 1 獲得的化合物(1.00g)與市售(Ark Pharm)之 1-O-乙醯基-2,3,5-三-O-苄醯基-β-D-核呋喃糖(2.58g)懸浮於硝基甲烷(50mL)後，加熱而使其溶解。加熱回流下添加三氟化硼二乙基醚錯合物(0.63mL)，於相同溫度下攪拌 1 小時。追加 1-O-乙醯基-2,3,5-三-O-苄醯基-β-D-核呋喃糖(0.40g)及三氟化硼二乙基醚錯合物(0.10mL)，再攪拌 3 小時。減壓濃縮反應液後，殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(1.80g)。

MS(ESI)m/z：698(M＋H)$^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.40(1H，s)，8.13(2H，m)，7.96(4H，m)，7.59-7.32(9H，m)，6.79(1H，d，J=3.4Hz)，6.39(1H，dd，J=5.1，3.7Hz)，6.25(1H，t，J=5.6Hz)，6.17(1H，t，J=5.6Hz)，6.00(1H，m)，5.31(1H，dd，J=17.1，1.0Hz)，5.24(1H，dd，J=10.5,1.2Hz)，4.81(1H，m)，4.75(1H，dd，J=12.0，3.7Hz)，4.63(1H，dd，J=12.2，4.4Hz)，4.30(2H，m).

【0583】

(步驟 3)

3-乙烯基-N-(丙-2-烯-1-基)-1-(2,3,5-三-O-苄醯基-β-D-核呋喃糖基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4-胺

於上述步驟 2 獲得的化合物(11.65g)之甲苯(120mL)，將溶液於減壓下進行超音波處理而脫氣。氮環境下，於反應液中添加三丁基乙烯基錫(12.8mL)及肆(三苯基膦)鈀(0)(2.73g)，並加熱回流 2 小時。減壓濃縮反應液後，將殘留物以矽膠管柱層析[二氯甲烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(10.07g)。

MS(ESI)m/z：646(M＋H)$^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.42(1H，s)，8.09(2H，m)，7.99(2H，m)，7.95(2H，m)，7.59-7.50(3H，m)，7.42-7.33(6H，m)，6.90-6.84(2H，m)，6.43(1H，dd，J=5.4，3.4Hz)，6.32(1H，t，J=5.9Hz)，6.00(1H，m)，5.94(1H，dd，J=17.6，1.0Hz)，5.67(1H，dd，J=11.2,1.0Hz)，5.56(1H，t，J=5.6Hz)，5.27(1H，dd，J=17.1，1.0Hz)，5.22(1H，dd，J=10.3，1.0Hz)，4.82(1H，m)，4.77(1H，dd，J=12.2,3.9Hz)，4.62(1H，dd，J=11.7，4.9Hz)，4.29(2H，m).

【0584】

(步驟 4)

2-(2,3,5-三-O-苄醯基-β-D-核呋喃糖基)-6,7-二氫-2H-1,2,3,5,6-五氮苯并[cd]薁

於上述步驟 3 獲得的化合物(9.0g)以苯共沸 2 次。於殘留物之二氯甲烷溶液(480mL)中添加(＋)-10-樟腦磺酸(4.2g)及亞苄基[1,3-雙(2,4,6-三甲基苯基)咪唑啶-2-亞基]二氯化物(三環己基-λ^5-磷烷基)釕(第二世代 Grubbs 觸媒)(360mg)，並加熱回流 3 小時。追加第二世代 Grubbs 觸媒(360mg)，進一步加熱回流 1 小時。將反應液冷卻至室溫為止，依序以飽和碳酸氫鈉水溶液及飽和食鹽水洗淨後，以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(6.39g)。

MS(ESI)m/z：618$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.39(1H，s)，8.11(2H，m)，7.99(2H，m)，7.96(2H，m)，7.57-7.52(3H，m)，7.42-7.35(6H，m)，6.83(1H，d，J=2.9Hz)，6.76(1H，d，J=10.7Hz)，6.43(1H，dd，J=5.1,3.2Hz)，6.33(1H，t，J=5.9Hz)，6.12(1H，m)，5.61(1H，brs)，4.83(1H，m)，4.78(1H，dd，J=12.2,3.9Hz)，4.63(1H，dd，J=12.0，4.6Hz)，4.16(2H，m).

【0585】

(步驟 5)

2-β-D-核呋喃糖基-6,7-二氫-2H-1,2,3,5,6-五氮苯并[cd]薁

於上述步驟 4 獲得的化合物(620mg)之甲醇(10mL)-四氫呋喃(5.0mL)混合溶液中，於室溫添加甲醇鈉之甲醇溶液(1.0M，0.10mL)，並於相同溫度下攪拌 18 小時。將反應液以 1N 鹽酸中和後，減壓濃縮。將殘留物以矽膠管柱層析[二氯甲烷/甲醇]純化，獲得標題化合物(279mg)。

MS(ESI)m/z：306$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.23(1H，s)，6.79(1H，m)，6.22-6.17(2H，m)，4.74(1H，t，J=5.1Hz)，4.42(1H，t，J=4.6Hz)，4.14(2H，dd，J=5.9，1.5Hz)，4.11(1H，q，J=4.1Hz)，3.81(1H，dd，J=12.4，3.2Hz)，3.68(1H，dd，J=12.4,4.6Hz).

【0586】

(步驟 6)

2-{2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3,5-O-(二-三級丁基次矽基)-β-D-核呋喃糖基}-6,7-二氫-2H-1,2,3,5,6-五氮苯并[cd]薁

使用於上述步驟 5 獲得的化合物(2.81g)，以與實施例 1 之步驟 1 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(4.72g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.38(1H，s)，6.85(1H，dt，J=11.0，1.4Hz)，6.28(1H，s)，6.16-6.08(1H，m)，5.78(1H，brs)，4.71-4.63(2H，m)，4.39(1H，dd，J=9.0，5.1Hz)，4.22-4.10(3H，m)，3.96(1H，dd，J=10.6,9.0Hz)，1.11(9H，s)，1.05(9H，s)，0.90(9H，s)，0.11(3H，s)，0.09(3H，s).

【0587】

(步驟 7)

2-{2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3,5-O-(二-三級丁基次矽基)-β-D-核呋喃糖基}-6,7,8,9-四氫-2H-1,2,3,5,6-五氮苯并[cd]薁

於上述步驟 6 獲得的化合物(2.12g)之四氫呋喃(20mL)溶液中，添加乙酸(以巴氏吸管(Pasteur pipette)3 滴)、10%鈀碳(AD)濕重(0.82g)，氫環境下，於室溫攪拌 3 小時。濾除觸媒後，以四氫呋喃洗淨，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(2.09g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.29(1H，s)，6.33(1H，brs)，6.27(1H，s)，4.70(1H，d，J=4.7Hz)，4.62(1H，dd，J=9.6，4.9Hz)，4.39(1H，dd，J=9.0，5.1Hz)，4.21-4.08(1H，m)，3.95(1H，dd，J=10.4，9.2Hz)，3.65-3.58(2H，m)，3.15-2.99(2H，m)，2.22-2.10(2H，m)，1.11(9H，s)，1.05(9H，s)，0.90(9H，s)，0.10(3H，s)，0.09(3H，s).

【0588】

(步驟 8)

6-苄醯基-2-{2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3,5-O-(二-三級丁基次矽基)-β-D-核呋喃糖基}-6,7,8,9-四氫-2H-1,2,3,5,6-五氮苯并[cd]薁

使用於上述步驟 7 獲得的化合物(2.09g)，以與實施例 1 步驟 4 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(2.23g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.19(1H，s)，7.47-7.40(3H，m)，7.33-7.28(2H，m)，6.34(1H，s)，4.72(1H，d，J=4.7Hz)，4.66(1H，dd，J=9.4,4.7Hz)，4.49(1H，dd，J=14.7，8.0Hz)，4.40(1H，dd，J=9.0，5.1Hz)，4.24-4.09(2H，m)，3.96(1H，

dd，J=10.6,9.0Hz)，3.26-3.11(2H，m)，2.45-2.23(2H，m)，1.12(9H，s)，1.05(9H，s)，0.90(9H，s)，0.12(3H，s)，0.10(3H，s).

【0589】

(步驟 9)

6-苄醯基-2-{5-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-β-D-核呋喃糖基}-6,7,8,9-四氫-2H-1,2,3,5,6-五氮苯并[cd]薁

使用於上述步驟 8 獲得的化合物(2.23g)，以與實施例 1 步驟 5 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(2.69g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.22(1H，s)，7.55-7.51(2H，m)，7.46-7.36(7H，m)，7.32-7.26(2H，m)，7.26-7.16(3H，m)，6.80-6.73(4H，m)，6.43(1H，d，J=5.5Hz)，5.32(1H，t，J=5.5Hz)，4.43(1H，dd，J=14.3，8.0Hz)，4.34-4.29(1H，m)，4.25-4.13(2H，m)，3.78(3H，s)，3.77(3H，s)，3.46(1H，dd，J=10.4，3.3Hz)，3.17-3.05(3H，m)，2.79(1H，d，J=3.5Hz)，2.40-2.19(2H，m)，0.82(9H，s)，0.03(3H，s)，-0.13(3H，s).

【0590】

(步驟 10)

6-苄醯基-2-(5-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}-β-D-核呋喃糖基)-6,7,8,9-四氫-2H-1,2,3,5,6-五氮苯并[cd]薁

使用於上述步驟 9 獲得的化合物(2.69g)，以與實施例 5 之步驟 4 同樣之手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物(非鏡像異構物比=6：4)之標題化合物(2.93g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.22(0.4H，s)，8.21(0.6H，s)，7.56-7.50(2H，m)，7.44-7.37(7H，m)，7.28-7.18(5H，m)，6.81-6.73(4H，m)，6.44(0.6H，d，J=6.3Hz)，6.40(0.4H，d，J=6.3Hz)，5.34-5.28(1H，m)，4.47-4.35(2.4H，m)，4.32-4.26(0.6H，m)，4.25-4.16(1H，m)，4.03-3.84(1H，m)，3.80-3.73(6H，m)，3.69-3.44(4H，m)，3.18-3.00(3H，m)，2.73-2.59(1H，m)，2.40-2.19(3H，m)，1.22-1.14(8.4H，m)，1.01(3.6H，d，J=6.7Hz)，0.76(3.6H，s)，0.74(5.4H，s)，0.02(1.2H，s)，0.01(1.8H，s)，-0.12(1.8H，s)，-0.15(1.2H，s).

【0591】

(步驟 11)

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-胺基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-1,2,3,5,6-五氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

使用於上述步驟 10 獲得的化合物(1.04g)，以與實施例 1 步驟 7 同樣之手法進行反應，獲得 6-苄醯基-2-{2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3-O-(二羥基磷烷基)-β-D-核呋喃糖基}-6,7,8,9-四氫-2H-1,2,3,5,6-五氮苯并[cd]薁之乙腈溶液。使用此乙腈溶液及市售(Cool Pharm)之 N-苄醯基-5'-O-[雙(4-甲氧基苯

基)(苯基)甲基]-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-2'-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}腺苷(1.20g)，以與實施例1步驟8、實施例1步驟9、實施例1步驟10同樣之手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物。以製備性HPLC[10mM乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：25-50%(0分-35分)]將磷原子上之非鏡像異構物分離，獲得標題化合物之非鏡像異構物1(15mg)及非鏡像異構物2(55mg)(HPLC之滯留時間：非鏡像異構物1＞2)。

非鏡像異構物1(低極性)

MS(ESI)m/z：959$(M+H)^+$.

非鏡像異構物2(高極性)

MS(ESI)m/z：959$(M+H)^+$.

【0592】

(步驟12-1)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-胺基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-1,2,3,5,6-五氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

於上述步驟11獲得的化合物(非鏡像異構物1)(20mg)中，添加三乙基胺三氫氟酸鹽(1mL)，並於45℃攪拌2小時。將反應液添加至冰冷的1M碳酸氫三乙基銨水溶液(3mL)與三乙基胺(1mL)之混合溶液中而停止反應。以Sep-Pak(註冊商標)C18[0.1%三乙基胺水/乙腈，乙腈：0%-17%]純化，獲得標題化合物(15mg)。

MS(ESI)m/z：731(M＋H)$^+$.

【0593】

(步驟 12-2)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-胺基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-1,2,3,5,6-五氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於上述步驟11獲得的化合物(非鏡像異構物2)(43mg)，以與上述步驟 12-1 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(34mg)。

MS(ESI)m/z：731(M＋H)$^+$.

【0594】

(步驟 13-1)

二 鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-胺基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-1,2,3,5,6-五氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

使用於上述步驟 12-1 獲得的化合物(15mg)，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物之非鏡像異構物混合物(12mg)。

MS(ESI)m/z：731(M＋H)$^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.79(1H，s)，8.18(1H，s)，8.14(1H，s)，6.37-6.34(2H，m)，5.50(1H，dd，J=10.8，5.3Hz)，5.40-5.33(1H，m)，5.06(1H，dd，J=4.5，2.9Hz)，4.94(1H，d，J=3.5Hz)，4.67-4.30(4H，m)，4.03(1H，ddd，J=12.5,6.1,2.2Hz)，3.93(1H，dt，J=18.1,6.1Hz)，3.58(2H，d，J=7.4Hz)，3.02(2H，t，J=5.9Hz)，2.18-2.04(2H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：56.5(s)，54.2(s).

【0595】

(步驟 13-2)

二 鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-胺 基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-1,2,3,5,6-五 氮 苯 并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

使用於上述步驟 12-2 獲得的化合物(34mg)，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物之非鏡像異構物混合物(28mg：非鏡像異構物比=4：1)。

MS(ESI)m/z：731$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：9.16(0.2H，s)，8.85(0.8H，s)，8.19(0.2H，s)，8.17(0.8H，s)，8.14(0.8H，s)，8.13(0.2H，s)，6.38-6.30(2H，m)，5.67-5.61(0.8H，m)，5.57-5.36(1.2H，m)，5.22(0.8H，dd，J=5.9，4.3Hz)，5.10(0.2H，t，J=4.5Hz)，4.64-4.26(4.8H，m)，4.16-4.10(0.2H，m)，4.05-3.98(1H，m)，3.86-3.79(1H，m)，3.62-3.54(2H，m)，3.07(1.6H，t，J=5.7Hz)，2.98(0.4H，t，J=5.9Hz)，2.17-2.04(2H，m).

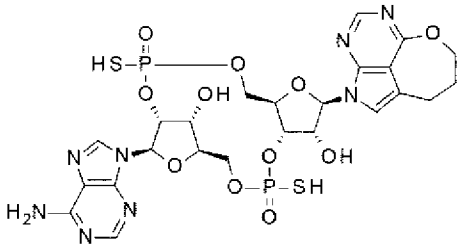
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：63.5(s)，63.4(s)，60.0(s)，59.9(s).

【0596】

實施例 20：CDN20 之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-胺基-9H-嘌呤-9-基)-14-(8,9-二氫-6-氧-2,3,5-三氮苯并[cd]薁-2(7H)-基)-15,16-二羥基-2,10-雙(氫硫基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0597】



20

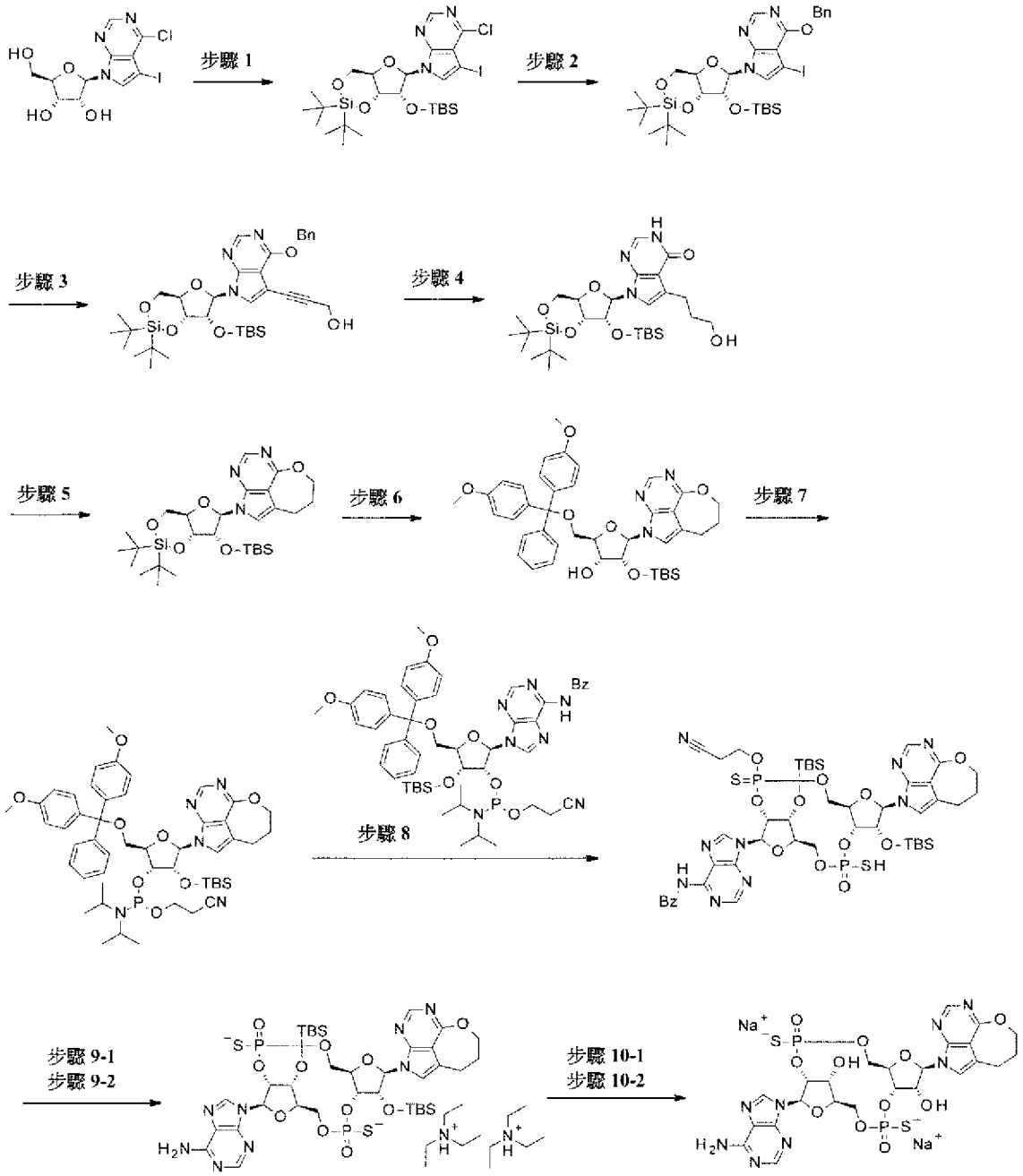
20a (非鏡像異構物 1)

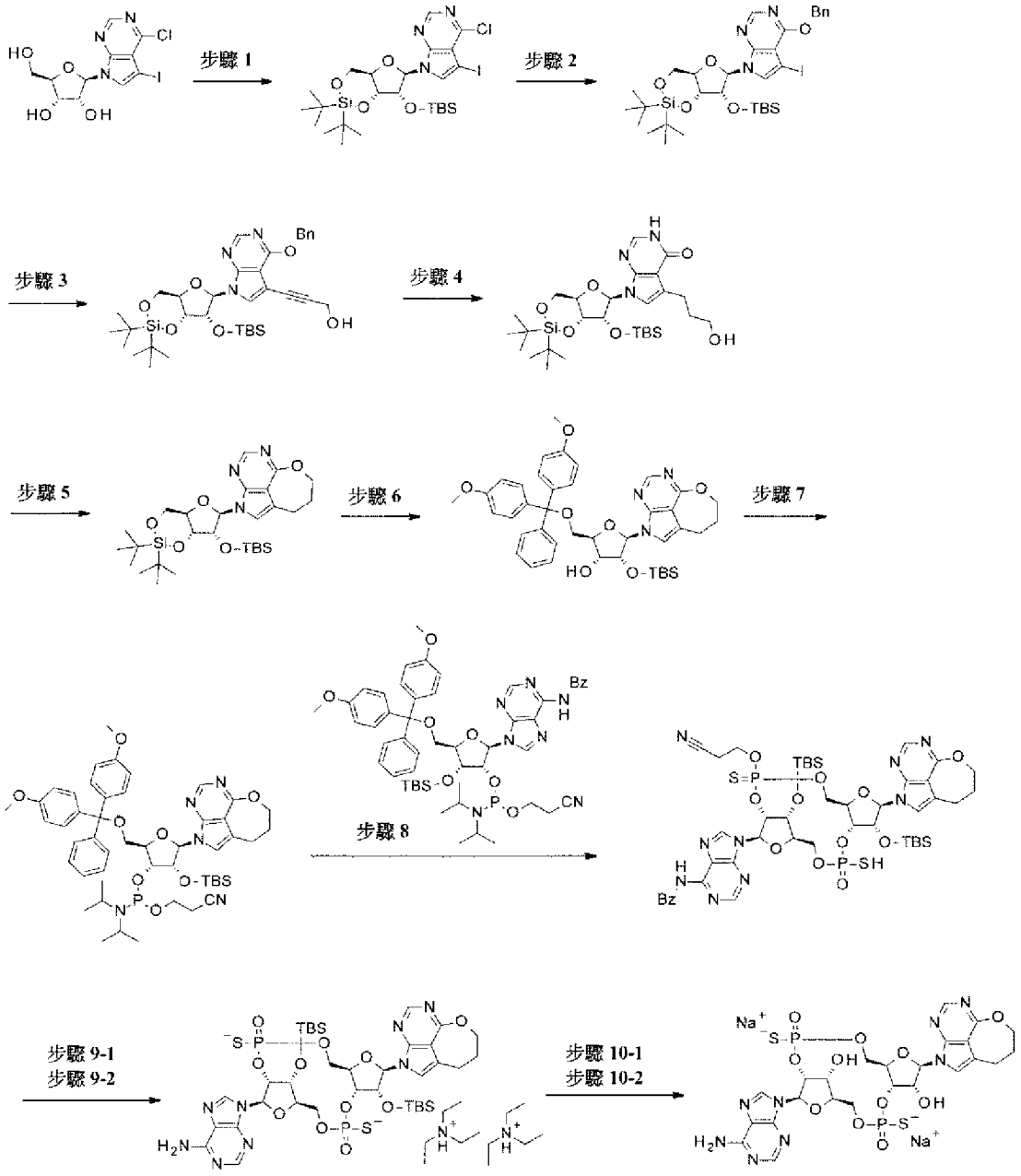
20b (非鏡像異構物 2)

【0598】

[合成流程圖]

【0599】


步驟 1
步驟 2
步驟 3
步驟 4
步驟 5
步驟 6
步驟 7
步驟 8
步驟 9-1
步驟 9-2
步驟 10-1
步驟 10-2



【0600】

(步驟 1)

7-{2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3,5-O-(二-三級丁基次矽基)-β-D-核呋喃糖基}-4-氯-5-碘基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶

使用文獻已知(J.Med.Chem.2008，51,3934-3945)之 4-氯-5-碘基-7-β-D-核呋喃糖基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶(3.15g)，以與實施例 1 之步驟 1 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(2.97g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.62(1H，s)，7.38(1H，s)，6.18(1H，s)，4.53-4.47(1H，m)，4.44(1H，d，J=3.9Hz)，4.24-4.18(2H，m)，4.06-3.98(1H，m)，1.09(9H，s)，1.05(9H，s)，0.92(9H，s)，0.13(3H，s)，0.12(3H，s).

【0601】

(步驟 2)

4-(苄基氧基)-7-{2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3,5-O-(二-三級丁基次矽基)-β-D-核呋喃糖基}-5-碘基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶

於上述步驟 1 獲得的化合物(4.97g)及苄基醇(1.0mL)之四氫呋喃(50mL)溶液中，於冰冷下添加氫化鈉(含有 37%之礦物油)(426mg)，升溫至室溫並攪拌整夜。冰冷下，於反應液中添加飽和氯化銨水溶液而停止反應。將反應液以乙酸乙酯萃取後，有機層以水、飽和食鹽水洗淨，以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(3.38g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.43(1H，s)，7.62-7.57(2H，m)，7.43-7.37(2H，m)，7.36-7.30(1H，m)，7.13(1H，s)，6.15(1H，s)，5.65(1H，d，J=13.7Hz)，5.62(1H，d，J=13.7Hz)，4.50-4.43(2H，m)，4.27(1H，dd，J=9.2，4.9Hz)，4.21-4.12(1H，m)，4.01(1H，dd，J=10.4，9.2Hz)，1.09(9H，s)，1.04(9H，s)，0.91(9H，s)，0.12(3H，s)，0.11(3H，s).

【0602】

(步驟 3)

4-(苄基氧基)-7-{2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3,5-O-(二-三級丁基次矽基)-β-D-核呋喃糖基}-5-(3-羥基丙-1-炔-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶

使用於上述步驟 2 獲得的化合物(3.38g)及 2-丙炔-1-醇(1.35mL)，將反應溫度作成室溫，以與實施例 1 步驟 2 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(2.22g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.46(1H，s)，7.59-7.55(2H，m)，7.43-7.33(3H，m)，7.22(1H，s)，6.16(1H，s)，5.60(1H，d，J=12.7Hz)，5.57(1H，d，J=12.7Hz)，4.51-4.41(4H，m)，4.27(1H，dd，J=9.5,5.0Hz)，4.19(1H，dt，J=9.9，5.0Hz)，4.01(1H，dd，J=9.9，9.5Hz)，1.52(1H，t，J=6.3Hz)，1.08(9H，s)，1.04(9H，s)，0.91(9H，s)，0.13(3H，s)，0.11(3H，s).

【0603】

(步驟 4)

7-{2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3,5-O-(二-三級丁基次矽基)-β-D-核呋喃糖基}-5-(3-羥基丙基)-3,7-二氫-4H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-酮

使用於上述步驟 3 獲得的化合物(3.38g)，將反應溶劑作成甲醇(20mL)-四氫呋喃(20mL)之混合液，以與實施例 19 步驟 7 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(0.92g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：11.36(1H，brs)，7.86(1H，s)，6.69(1H，s)，6.10(1H，s)，4.48(1H，dd，J=9.2，4.9Hz)，4.37(1H，d，J=5.1Hz)，4.23(1H，dd，J=9.3,4.8Hz)，4.16(1H，dt，J=9.8，4.8Hz)，4.02(1H，dd，J=9.8,9.3Hz)，3.84(1H，t，J=6.3Hz)，3.58(2H，dd，J=11.9，6.1Hz)，3.03-2.90(2H，

m)，1.86(2H，s)，1.09(9H，s)，1.04(9H，s)，0.90(9H，s)，0.10(6H，s).

【0604】

(步驟 5)

2-{2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3,5-O-(二-三級丁基次矽基)-β-D-核呋喃糖基}-2,7,8,9-四氫-6-氧-2,3,5-三氮苯并[cd]薁

於上述步驟 4 獲得的化合物(0.92g)之四氫呋喃(32mL)溶液中，於冰冷下添加三苯基膦(0.62g)及偶氮二甲酸二異丙酯(0.47mL)，升溫至室溫而攪拌 1 小時。減壓濃縮反應液後，殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(0.77g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.44(1H，s)，6.85(1H，s)，6.19(1H，s)，4.56-4.51(2H，m)，4.50-4.44(2H，m)，4.35(1H，dd，J=9.5,5.0Hz)，4.17(1H，dt，J=10.0，5.0Hz)，4.00(1H，dd，J=10.0，9.5Hz)，2.98-2.92(2H，m)，2.28-2.20(2H，m)，1.10(9H，s)，1.05(9H，s)，0.91(9H，s)，0.12(3H，s)，0.11(3H，s).

【0605】

(步驟 6)

2-{5-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-β-D-核呋喃糖基}-2,7,8,9-四氫-6-氧-2,3,5-三氮苯并[cd]薁

使用於上述步驟 5 獲得的化合物(0.95g)，以與實施例 1 步驟 5 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(1.13g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.42(1H，s)，7.48-7.43(2H，m)，7.37-7.21(7H，m)，7.19(1H，s)，6.85-6.79(4H，m)，6.35(1H，d，J=5.4Hz)，4.71(1H，t，J=5.4Hz)，4.55-4.48(2H，m)，4.35(1H，dd，J=8.2，4.3Hz)，4.22(1H，q，J=3.0Hz)，3.79(3H，s)，3.79(3H，s)，3.53(1H，dd，J=10.6，3.1Hz)，3.37(1H，dd，J=10.6，3.1Hz)，2.80(1H，d，J=4.3Hz)，2.71(2H，t，J=5.5Hz)，2.23-2.15(2H，m)，0.83(9H，s)，-0.04(3H，s)，-0.16(3H，s).

【0606】

(步驟 7)

2-(5-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}-β-D-核呋喃糖基)-2,7,8,9-四氫-6-氧-2,3,5-三氮苯并[cd]薁

使用於上述步驟 6 獲得的化合物(1.13g)，除了於純化使用矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯/0.1%三乙基胺]以外，以與實施例 5 步驟 4 同樣的手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物(非鏡像異構物比=6：4)之標題化合物(1.00g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.41(0.4H，s)，8.39(0.6H，s)，7.51-7.43(2H，m)，7.39-7.17(8H，m)，6.85-6.79(4H，m)，6.34(0.6H，d，J=6.7Hz)，6.30(0.4H，d，J=5.9Hz)，4.82(0.6H，dd，J=6.7，4.7Hz)，4.76(0.4H，dd，J=5.9，4.7Hz)，4.55-4.47(2H，m)，4.43-4.35(1.2H，m)，4.30-4.25(0.8H，m)，4.05-3.85(1H，m)，3.81-3.76(6H，m)，3.70-3.47(4H，m)，3.32-3.24(1H，m)，2.79-2.64(3.2H，m)，2.31(0.8H，t，

J=6.5Hz)，2.23-2.14(2H，m)，1.20-1.15(8.4H，m)，1.03(3.6H，d，J=7.0Hz)，0.75(3.6H，s)，0.73(5.4H，s)，-0.03(1.2H，s)，-0.08(1.8H，s)，-0.20(1.2H，s)，-0.22(1.8H，s).

【0607】

(步驟 8)

N-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-10-(2-氰基乙氧基)-14-(8,9-二氫-6-氧-2,3,5-三氮苯并[cd]薁-2(7H)-基)-2-側氧基-2-氫硫基-10-亞硫基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-9H-嘌呤-6-基}苯甲醯胺

使用於上述步驟 7 獲得的化合物(1.00g)，以與實施例 1 步驟 7 同樣之手法進行反應，獲得 2-{2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3-O-(二羥基磷烷基)-β-D-核呋喃糖基}-2,7,8,9-四氫-6-氧-2,3,5-三氮苯并[cd]薁之乙腈溶液。使用此乙腈溶液與市售(Cool Pharm)之 N-苄醯基-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-2'-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}腺苷(1.28g)，以與實施例 1 步驟 8、實施例 1 步驟 9 同樣之手法進行反應，各自獲得含標題化合物之非鏡像異構物 1 的混合物及含非鏡像異構物 2 的混合物。

非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：1116(M＋H)$^+$.

非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：1116(M＋H)$^+$.

【0608】

(步驟 9-1)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-胺基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-14-(8,9-二氫-6-氧-2,3,5-三氮苯并[cd]薁-2(7H)-基)-2,10-二側氧基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用全部量之於上述步驟 8 獲得的化合物(含非鏡像異構物 1 的混合物)，以與實施例 1 步驟 10 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]進行純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物(73mg)。

[純化條件]HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：30%-60%(0 分-35 分)]。

MS(ESI)m/z：959(M＋H)$^+$.

【0609】

(步驟 9-2)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-胺基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-14-(8,9-二氫-6-氧-2,3,5-三氮苯并[cd]薁-2(7H)-基)-2,10-二側氧基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用全部量之於上述步驟 8 獲得的化合物(含非鏡像異構物 2 的混合物)，以與實施例 1 步驟 10 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]進行純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物(58mg)。

[純化條件]HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：25%-50%(0 分-35 分)]。

MS(ESI)m/z：959$(M+H)^+$.

【0610】

(步驟 10-1)

二鈉 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-胺基-9H-嘌呤-9-基)-14-(8,9-二氫-6-氧-2,3,5-三氮苯并[cd]薁-2(7H)-基)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

使用於上述步驟 9-1 獲得的化合物(68mg)，以與實施例 19 步驟 12-1 同樣之手法進行反應後，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(42mg)。

MS(ESI)m/z：731$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.73(1H，s)，8.31(1H，s)，8.17(1H，s)，7.36(1H，s)，6.38(1H，d，J=4.7Hz)，6.34(1H，d，J=8.2Hz)，5.42-5.34(1H，m)，5.24-5.16(1H，m)，4.86-4.81(2H，m)，4.64-4.29(6H，m)，4.12-4.01(2H，m)，2.98-2.81(2H，m)，2.28-2.13(2H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：58.2(s)，54.4(s).

【0611】

(步驟 10-2)

二鈉 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-胺基-9H-嘌呤-9-基)-14-(8,9-二氫-6-氧-2,3,5-三氮苯并[cd]薁-

2(7H)-基)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

使用於上述步驟 9-2 獲得的化合物(58mg)，以與實施例 19 步驟 12-1 同樣之手法進行反應後，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(35mg)。

MS(ESI)m/z：731$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.81(1H，s)，8.31(1H，s)，8.17(1H，s)，7.38(1H，s)，6.41(1H，d，J=6.7Hz)，6.34(1H，d，J=8.6Hz)，5.56-5.41(2H，m)，4.87(1H，m)，4.64-4.27(7H，m)，4.06-3.99(1H，m)，3.92-3.88(1H，m)，2.99(2H，t，J=5.5Hz)，2.28-2.19(2H，m).

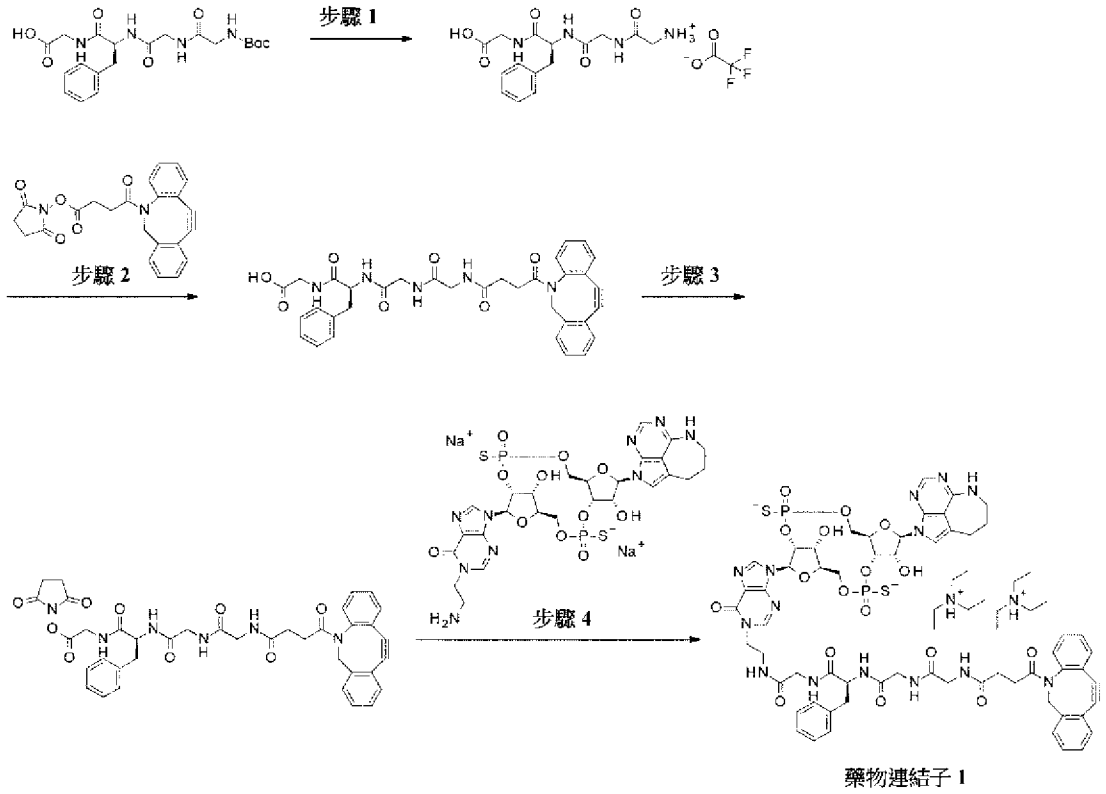
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：63.1(s)，60.5(s).

【0612】

實施例 21：藥物連接子 1 之合成

[合成流程圖]

【0613】



【0614】

(步驟 1)

N-(銨基乙醯基)甘胺醯基-L-苯基丙胺醯基甘胺酸三氟乙酸鹽

於市售(BACHEM)之 N-(三級丁氧基羰基)甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯基甘胺酸(3.00g)之二氯甲烷(30mL)溶液中，於室溫添加三氟乙酸(15mL)，並於相同溫度下攪拌 3 小時。減壓濃縮反應液後，使其懸浮於甲苯而再度減壓濃縮。將此濃縮操作再重複 2 次。殘留物以二乙基醚(100mL)作成漿液狀後，濾取，獲得標題化合物(3.27g)之粗製體。

MS(ESI)m/z：337$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：12.60(1H，brs)，8.48(1H，t，J=5.6Hz)，8.44(1H，t，J=5.9Hz)，8.31(1H，d，J=8.8Hz)，7.97(3H，brs)，7.28-7.16(5H，m)，4.58(1H，m)，3.87(1H，

dd，J=16.8，5.6Hz)，3.78(2H，d，J=5.9Hz)，3.67(1H，dd，J=17.1，5.4Hz)，3.56(2H，brd，J=4.4Hz)，3.05(1H，dd，J=13.7，3.9Hz)，2.74(1H，dd，J=13.7，10.3Hz).

【0615】

(步驟 2)

N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯基甘胺酸

於上述步驟 1 獲得的化合物(2.09g)之 N,N-二甲基甲醯胺(46.4mL)溶液中，添加三乙基胺(0.804mL)及 1-{[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]氧基}吡咯啶-2,5-二酮(1.87g)，並於室溫攪拌 21 小時。將反應液減壓濃縮，將殘留物以矽膠管柱層析[二氯甲烷/甲醇]純化。於獲得的化合物之二氯甲烷溶液中添加二乙基醚而作成漿液狀後，濾取，獲得標題化合物(2.10g)。

MS(ESI)m/z：624$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：8.20-7.91(4H，m)，7.68-7.13(13H，m)，4.98(1H，dd，J=13.9，3.2Hz)，4.51-4.46(1H，m)，3.73-3.47(7H，m)，3.00(1H，dd，J=13.9，4.1Hz)，2.73(1H，t，J=11.7Hz)，2.67-2.57(1H，m)，2.29-2.22(1H，m)，2.06-2.01(1H，m)，1.80-1.73(1H，m).(僅記載能觀測到的波峰)

【0616】

(步驟 3)

2,5-二側氧基吡咯啶-1-基 N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯基甘胺酸酯

於上述步驟 2 獲得的化合物(2.10g)之 N,N-二甲基甲醯胺(33.7mL)溶液中，添加 N-羥基琥珀醯亞胺(426mg)及 1-乙基-3-(3-二甲基胺基丙基)-碳二亞胺鹽酸鹽(710mg)，氮環境下，於室溫攪拌 16 小時。反應液以二氯甲烷稀釋後，以冰水洗淨 3 次，以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。於油狀之殘留物中添加乙酸乙酯而使固體析出。減壓下餾除溶劑，於獲得的固體中添加二乙基醚而作成漿液狀後，濾取，獲得標題化合物(2.18g)。

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：8.74-8.69(1H，m)，8.16-8.08(2H，m)，8.00-7.93(1H，m)，7.71-7.15(13H，m)，5.00(1H，dd，J=13.9，3.0Hz)，4.55-4.49(1H，m)，4.27(2H，t，J=6.0Hz)，3.77-3.68(1H，m)，3.64-3.50(4H，m)，3.02(1H，dd，J=13.9，4.2Hz)，2.82-2.73(5H，m)，2.69-2.58(1H，m)，2.33-2.24(1H，m)，2.10-2.02(1H，m)，1.83-1.75(1H，m).

【0617】

(步驟 4)

雙(N,N-二乙基乙銨) N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯基-N-(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-2,10-二硫醚-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^{5},10λ^{5}-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基}乙基)甘胺醯胺

(藥物連接子 1)

於實施例 5 步驟 8-2 獲得的化合物(10.0mg)之 N,N-二甲基甲醯胺(1mL)溶液中，添加三乙基胺(8μL)及於上述步驟 3 獲得的化合物(17.6mg)，並於室溫攪拌 2 小時。於反應液中，添加苄基胺(3μL)，並於室溫攪拌 1 小時。於反應液中添加 10mM 乙酸三乙基銨水溶液及甲醇，以 C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：5%-50%(0 分-40 分)]純化，獲得標題化合物(10.9mg)。

MS(ESI)m/z：1379$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.72(1H，d，J=10.0Hz)，8.15(1H，d，J=10.0Hz)，8.02(1H，s)，7.63-7.50(2H，m)，7.42-7.37(3H，m)，7.32-7.13(8H，m)，7.12(1H，s)，6.31(1H，d，J=6.7Hz)，6.25(1H，d，J=8.5Hz)，5.51-5.40(2H，m)，5.09-4.99(1H，m)，4.85-4.77(1H，m)，4.53-4.42(2H，m)，4.42-4.15(5H，m)，4.04-3.96(1H，m)，3.92-3.46(12H，m)，3.18(12H，q，J=7.3Hz)，

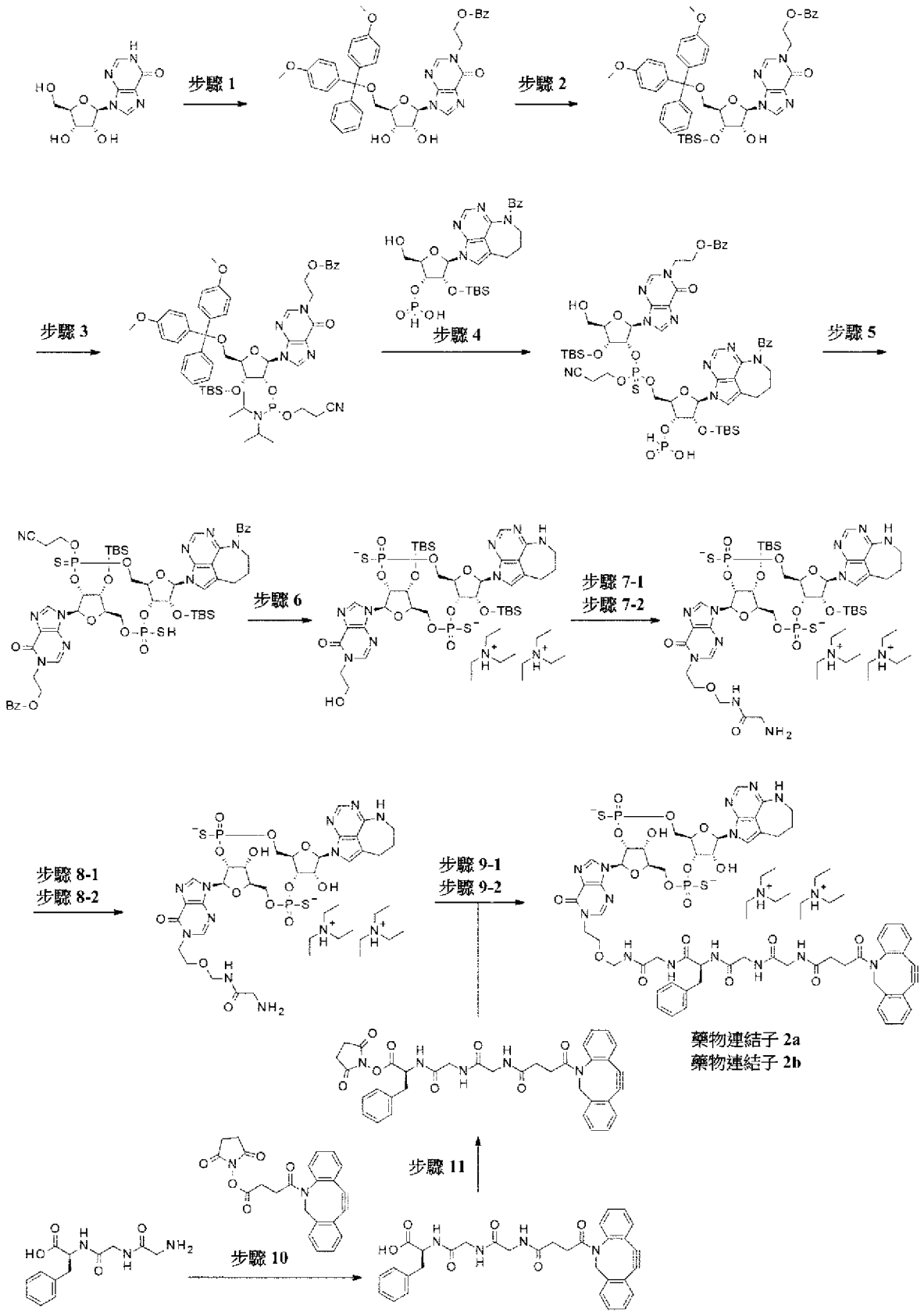
3.16-2.73(5H，m)，2.40-2.23(2H，m)，2.06-1.94(4H，m)，1.29(18H，t，J=7.3Hz).

【0618】

實施例 22：藥物連接子 2 之合成

[合成流程圖]

【0619】


步驟 1
步驟 2
步驟 3
步驟 4
步驟 5
步驟 6
步驟 7-1
步驟 7-2
步驟 8-1
步驟 8-2
步驟 9-1
步驟 9-2
步驟 10
步驟 11
藥物連結子 2a
藥物連結子 2b

【0620】

(步驟 1)

1-[2-(苄醯基氧基)乙基]-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]肌苷

於肌苷(10.0g)之吡啶(50mL)及 N,N-二甲基乙醯胺(50mL)溶液中，於 0℃添加 4,4'-二甲氧基三苯甲基氯(15.2g)後，於 4℃攪拌 64 小時。於反應液中添加甲醇(2mL)，攪拌 10 分鐘後濃縮至 50mL 左右為止。於殘留物中添加 2-溴乙基苯甲酸酯(7.02mL)及 2,3,4,6,7,8,9,10-八氫嘧啶并[1,2-a]吖呯(13.9mL)，並於室溫攪拌 1 日。於反應液中，添加飽和碳酸氫鈉水溶液及水，並以乙酸乙酯萃取。有機層以飽和食鹽水洗淨後，以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯/甲醇/0.1%三乙基胺]純化，獲得標題化合物(15.2g)。

MS(ESI)m/z：719$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.00(1H，s)，7.98(1H，s)，7.98-7.94(2H，m)，7.62-7.15(12H，m)，6.80-6.75(4H，m)，5.95(1H，d，J=5.4Hz)，4.82-4.79(1H，m)，4.72-4.64(3H，m)，4.55-4.34(5H，m)，3.77(6H，s)，3.43(1H，dd，J=10.6，3.9Hz)，3.34(1H，dd，J=10.6，3.6Hz).

【0621】

(步驟 2)

1-[2-(苄醯基氧基)乙基]-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]肌苷

使用於上述步驟 1 獲得的化合物(3.01g)，以與實施例 5 步驟 3 同樣之手法進行合成，獲得標題化合物(1.20g)及為標題化合物之位置異構物的 1-[2-(苄醯基氧基)乙基]-5'-O-[雙(4-甲

氧基苯基)(苯基)甲基]-2'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]肌苷(1.22g)。

MS(ESI)m/z：833$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.03(1H，s)，7.98-7.96(1H，m)，7.96(1H，s)，7.96-7.94(1H，m)，7.59-7.52(1H，m)，7.44-7.38(4H，m)，7.32-7.15(7H，m)，6.83-6.77(4H，m)，5.94(1H，d，J=4.8Hz)，4.69-4.63(2H，m)，4.59-4.35(4H，m)，4.16(1H，dd，J=3.8，1.9Hz)，3.77(6H，d，J=1.8Hz)，3.47(1H，dd，J=10.9，3.0Hz)，3.27(1H，dd，J=10.9，4.2Hz)，3.00(1H，d，J=6.7Hz)，0.87(9H，s)，0.06(3H，s)，-0.01(3H，s).

(2'-O-TBS 體)

MS(ESI)m/z：833$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.01(1H，s)，7.97-7.93(2H，m)，7.91(1H，s)，7.59-7.53(1H，m)，7.45-7.38(4H，m)，7.35-7.17(7H，m)，6.83-6.77(4H，m)，5.97(1H，d，J=6.0Hz)，4.84(1H，t，J=5.4Hz)，4.71-4.60(2H，m)，4.52-4.37(2H，m)，4.33-4.28(1H，m)，4.28-4.24(1H，m)，3.78(3H，s)，3.77(3H，s)，3.47(1H，dd，J=10.9，3.0Hz)，3.38(1H，dd，J=10.9，3.6Hz)，2.71(1H，d，J=3.0Hz)，0.80(9H，s)，-0.03(3H，s)，-0.19(3H，s).

【0622】

(步驟3)

1-[2-(苄醯基氧基)乙基]-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-2'-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}肌苷

使用於上述步驟 2 獲得的化合物(1.20g)，以與實施例 5 步驟 4 同樣之手法進行合成，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物(非鏡像異構物比=0.55：0.45)之標題化合物(1.41g)。

MS(ESI)m/z：1033$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.05(0.45H，s)，8.04(0.55H，s)，7.99-7.95(2H，m)，7.95(0.55H，s)，7.92(0.45H，s)，7.59-7.53(1H，m)，7.45-7.39(4H，m)，7.35-7.10(7H，m)，6.83-6.78(4H，m)，6.15(0.55H，d，J=5.4Hz)，6.08(0.45H，d，J=6.0Hz)，4.86-4.49(3H，m)，4.49-4.35(3H，m)，4.25-4.10(1H，m)，3.78(6H，s)，3.72-3.41(5H，m)，3.35-3.25(1H，m)，2.47(1H，t，J=6.7Hz)，2.32(1H，t，J=6.3Hz)，1.33-1.24(6H，m)，1.13-1.03(6H，m)，0.84(4.05H，s)，0.84(4.95H，s)，0.08(1.35H，s)，0.05(1.65H，s)，0.00(1.35H，s)，-0.01(1.65H，s).

【0623】

(步驟 4)

以與實施例 1 步驟 7 相同方式，將反應以下列之規模實施(原料：1.40g)。使用獲得的化合物之乙腈溶液及於上述步驟 3 獲得的化合物(1.41g)，以與實施例 1 步驟 8 同樣之手法進行反應。將獲得的粗生成物直接用於之後的反應。

【0624】

(步驟 5)

2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-10-(2-氰基乙氧基)-2-側氧

基-2-氫 硫 基-10-亞 碸 基 八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基}乙基 苯甲酸酯

使用上述步驟 4 所獲得的粗生成物，以與實施例 1 步驟 9 同樣之手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(778mg)。

MS(ESI)m/z：1264(M＋H)$^+$.

【0625】

(步驟 6)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側 氧 基-1,6-二 氫-9H-嘌 呤-9-基]-2,10-二 側 氧 基-14-(6,7,8,9-四 氫-2H-2,3,5,6-四 氮 苯 并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於上述步驟 5 獲得的化合物(778mg)，以與實施例 1 步驟 10 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物之非鏡像異構物 1(255mg)及非鏡像異構物 2(含有雜質)。將非鏡像異構物 2 以製備性 HPLC[水/0.2%含有三乙基胺之乙腈，0.2%含有三乙基胺之乙腈：5%-50%(0 分-40 分)]再次純化，獲得標題化合物之非鏡像異構物 2(94.6mg)。

非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：1003(M＋H)$^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.66(1H，s)，8.21(1H，s)，8.04(1H，s)，7.33(1H，s)，6.27(1H，d，J=5.1Hz)，6.25(1H，d，J=3.6Hz)，

5.39-5.29(1H，m)，5.18-5.11(1H，m)，4.85-4.81(1H，m)，4.79-4.74(1H，m)，4.71-4.66(1H，m)，4.50-4.42(1H，m)，4.36-4.21(2H，m)，4.09-3.98(2H，m)，3.85-3.78(2H，m)，3.78-3.69(2H，m)，3.55-3.46(2H，m)，3.17(12H，q，J=7.3Hz)，2.98-2.75(2H，m)，2.05-1.88(2H，m)，1.28(18H，t，J=7.3Hz)，0.98(9H，s)，0.85(9H，s)，0.31(3H，s)，0.27(3H，s)，0.25(3H，s)，0.09(3H，s).

非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：1003$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.50(1H，s)，8.22(1H，s)，8.07(1H，s)，7.20(1H，s)，6.33(1H，d，J=7.3Hz)，6.26(1H，d，J=9.1Hz)，5.59-5.44(1H，m)，5.38-5.32(1H，m)，5.21-5.11(1H，m)，4.99-4.89(2H，m)，4.68-4.54(2H，m)，4.25-4.12(3H，m)，4.09-4.03(1H，m)，3.90-3.80(3H，m)，3.59-3.51(2H，m)，3.20(12H，q，J=7.3Hz)，2.96-2.89(2H，m)，2.07-1.98(2H，m)，1.30(18H，t，J=7.3Hz)，0.99(9H，s)，0.74(9H，s)，0.27(3H，s)，0.27(3H，s)，0.20(3H，s)，-0.05(3H，s).

【0626】

(步驟 7-1)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-7-(1-{2-[(甘胺醯基胺基)甲氧基]乙基}-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基)-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

於上述步驟 6 獲得的化合物(非鏡像異構物 1)(30mg)之四氫呋喃(0.5mL)溶液中，添加[(N-{[(9H-芴-9-基)甲氧基]羰基}甘胺醯基)胺基]甲基 乙酸酯(91.7mg)及對甲苯磺酸 1 水合物(11.8mg)，並於室溫攪拌 6 小時。於反應液中添加 N,N-二甲基甲醯胺(0.5mL)及 1,8-二氮雙環[5.4.0]-7-十一烯(56μL)，並於室溫攪拌 3 小時。於反應液中添加 10mM 乙酸三乙基銨水溶液，並以C18矽膠管柱層析[10mM乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]純化，獲得含有呈雜質之原料的標題化合物(25.6mg)。

MS(ESI)m/z：1089$(M+H)^+$.

【0627】

(步驟 7-2)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-7-(1-{2-[(甘胺醯基胺基)甲氧基]乙基}-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基)-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

使用於上述步驟 6 獲得的化合物(非鏡像異構物 2)(84.6mg)，以與上述步驟 7-1 同樣之手法進行反應，獲得含有呈雜質之原料的標題化合物(70.9mg)。

MS(ESI)m/z：1089$(M+H)^+$.

【0628】

(步驟 8-1)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(1-{2-[(甘胺醯基胺基)甲氧基]乙基}-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)非鏡像異構物 1

於上述步驟 7-1 獲得的化合物(25.6mg)中添加三乙基胺三氫氟酸鹽(2mL)，並於 45℃攪拌 3 小時。室溫下，於反應液中添加冰冷的 1M 碳酸氫三乙基銨溶液(10mL)及三乙基胺(2mL)之混合液。減壓濃縮反應液後，以 C18 矽膠管柱層析(10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈)純化，獲得標題化合物(16.6mg：含有源自步驟 7-1 之原料的雜質)。

MS(ESI)m/z：861(M＋H)$^+$.

【0629】

(步驟 8-2)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(1-{2-[(甘胺醯基胺基)甲氧基]乙基}-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

使用於上述步驟 7-2 獲得的化合物(70.9mg)，以與上述步驟 8-1 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(51.7mg：含有源自步驟 7-2 之原料的雜質)。

MS(ESI)m/z：861(M＋H)$^+$.

【0630】

(步驟 9-1)

雙(N,N-二乙基乙銨) N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯基-N-[(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-2,10-二硫醚-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基}乙氧基)甲基]甘胺醯胺

(藥物連接子 2a：非鏡像異構物 1)

於上述步驟 8-1 獲得的化合物(16.6mg)之 N,N-二甲基甲醯胺(0.5mL)溶液中，添加三乙基胺(6μL)及後述之步驟 11 獲得的化合物(15.5mg)，並於室溫攪拌 3 小時。於反應液中添加苄基胺(3μL)，並於室溫攪拌 1 小時。添加 10mM 乙酸三乙基銨水溶液及甲醇，並以 C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：10%-45%(0 分-30 分)]純化，獲得標題化合物(5.1mg)。

MS(ESI)m/z：1409(M＋H)$^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.66-8.60(1H，m)，8.17(1H，s)，8.02(1H，s)，7.65-7.48(2H，m)，7.43-7.36(3H，m)，7.31-7.13(8H，m)，7.11(1H，s)，6.30-6.21(2H，m)，5.46-5.37(1H，m)，5.23-5.16(1H，m)，5.08-4.99(1H，m)，4.86-4.81(1H，m)，4.80-4.75(1H，m)，4.70-4.40(7H，m)，4.40-4.20(3H，

m)，4.10-3.97(3H，m)，3.86-3.58(8H，m)，3.51-3.43(3H，m)，3.18(12H，q，J=7.3Hz)，3.01-2.93(1H，m)，2.85-2.72(3H，m)，2.37-2.15(2H，m)，2.01-1.93(2H，m)，1.29(18H，t，J=7.3Hz).(僅記載能觀測到的波峰)

【0631】

(步驟 9-2)

雙(N,N-二乙基乙銨) N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯 基-N-[(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二羥 基-2,10-二 側 氧 基-2,10-二 硫 醚-14-(6,7,8,9-四 氫-2H-2,3,5,6-四 氮 苯 并[cd]茚-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基}乙氧基)甲基]甘胺醯胺

(藥物連接子 2b：非鏡像異構物 2)

使用於上述步驟 8-2 獲得的化合物(51.7mg)，以與上述步驟 9-1 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]進行純化，獲得標題化合物(33.7mg)。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]、製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：10%-50%(0 分-30 分)]。

MS(ESI)m/z：1409$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.73(1H，d，J=6.7Hz)，8.19(1H，d，J=3.0Hz)，8.02(1H，s)，7.66-7.50(2H，m)，7.43-7.37(3H，m)，7.33-7.13(8H，m)，7.11(1H，s)，6.33-6.23(2H，m)，5.51-5.38(2H，m)，5.04(1H，t，J=13.6Hz)，4.83-4.77(1H，

m)，4.64-4.55(2H，m)，4.52-4.26(6H，m)，4.25-3.97(2H，m)，3.93-3.45(13H，m)，3.19(12H，q，J=7.3Hz)，3.17-3.11(1H，m)，3.02-2.92(1H，m)，2.91-2.73(3H，m)，2.40-2.24(2H，m)，2.07-1.95(3H，m)，1.30(18H，t，J=7.3Hz).

【0632】

(步驟 10)

N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯丙胺酸

於市售(BACHEM)之(2S)-2-[[2-[(2-胺基乙醯基)胺基]乙醯基]胺基]-3-苯基丙酸(2.86g)之 N,N-二甲基甲醯胺(51.2mL)溶液中，添加三乙基胺(2.56mL)及市售(Click Chemistry Tools)之 1-{[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]氧基}吡咯啶-2,5-二酮(3.69g)，並於室溫攪拌 24 小時。於反應液中添加檸檬酸一水合物(24.0g)之水(500mL)溶液，以乙酸乙酯萃取。有機層以無水硫酸鈉乾燥後，濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。使殘留物溶解於乙酸乙酯/乙腈混合溶液後，以二異丙基醚使其析出而濾取，獲得標題化合物(4.30g)。

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：12.8(1H，brs)，8.15-7.95(3H，m)，7.68-7.17(13H，m)，5.01(1H，d，J=14.2Hz)，4.41-4.37(1H，m)，3.74-3.57(5H，m)，3.05-3.01(1H，m)，2.87(1H，dd，J=14.2，9.3Hz)，2.68-2.59(1H，m)，2.32-2.25(1H，m)，2.09-2.03(1H，m)，1.82-1.76(1H，m).

【0633】

(步驟 11)

2,5-二側氧基吡咯啶-1-基 N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺酸酯

於上述步驟 10 獲得的化合物(2.10g)之 N,N-二甲基甲醯胺(75.9mL)溶液中，添加 N-羥基琥珀醯亞胺(961mg)及 1-乙基-3-(3-二甲基胺基丙基)碳二亞胺鹽酸鹽(1.60g)，氮環境下，於室溫攪拌 21 小時。反應液以二氯甲烷稀釋，以冰水洗淨 3 次後，以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。於殘留物中添加甲苯，再次減壓濃縮。將殘留物溶解於乙腈，以 C18 矽膠管柱層析[乙腈：100%]純化。將含目的物的流份減壓濃縮後，於殘留物中添加二異丙基醚而作成漿液狀。濾取獲得的固體，而獲得標題化合物(2.59g)。

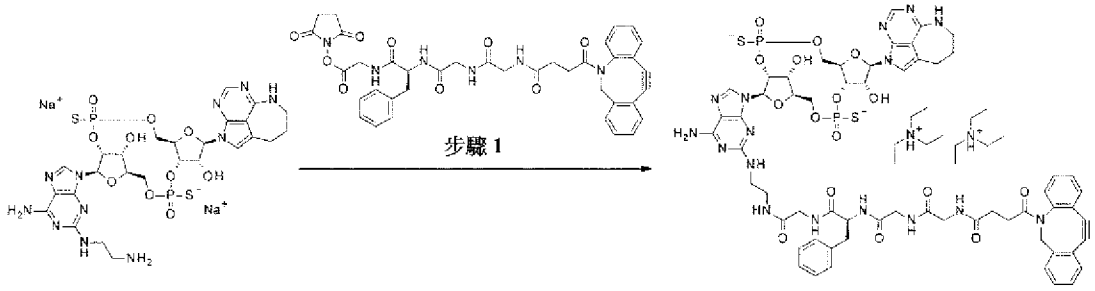
^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：8.58-8.51(1H，m)，8.17-8.00(2H，m)，7.66-7.20(13H，m)，5.02-4.98(1H，m)，4.90-4.85(1H，m)，3.78-3.57(5H，m)，3.24-3.19(1H，m)，3.06-3.00(1H，m)，2.82(4H，brs)，2.67-2.58(1H，m)，2.32-2.23(1H，m)，2.09-2.02(1H，m)，1.82-1.75(1H，m).

【0634】

實施例 23：藥物連接子 3 之合成

[合成流程圖]

【0635】



藥物連結子 3

【0636】

(步驟 1)

雙(N,N-二乙基乙銨) N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯 基-N-[2-({6-胺 基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-2,10-二硫醚-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四 氮 苯 并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-9H-嘌呤-2-基}胺基)乙基]甘胺醯胺

(藥物連接子 3)

於實施例 8 步驟 8-2 獲得的化合物(4.8mg)之 N,N-二甲基甲醯胺(0.29mL)溶液中，添加三乙基胺(1.9μL)及於實施例 21 步驟 3 獲得的化合物(5.2mg)，氮環境下，於室溫攪拌 1.5 小時。添加苄基胺(3.2μL)而停止反應後，以製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：20%-40%(0 分-30 分)]純化，獲得標題化合物(8.0mg)。

MS(ESI)m/z：1393$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.35(1H，brs)，8.02(1H，s)，7.61-7.15(14H，m)，6.33(1H，dd，J=6.0，3.0Hz)，6.15-6.09(1H，m)，5.49-5.37(2H，m)，5.05(1H，dd，J=13.9，12.1Hz)，

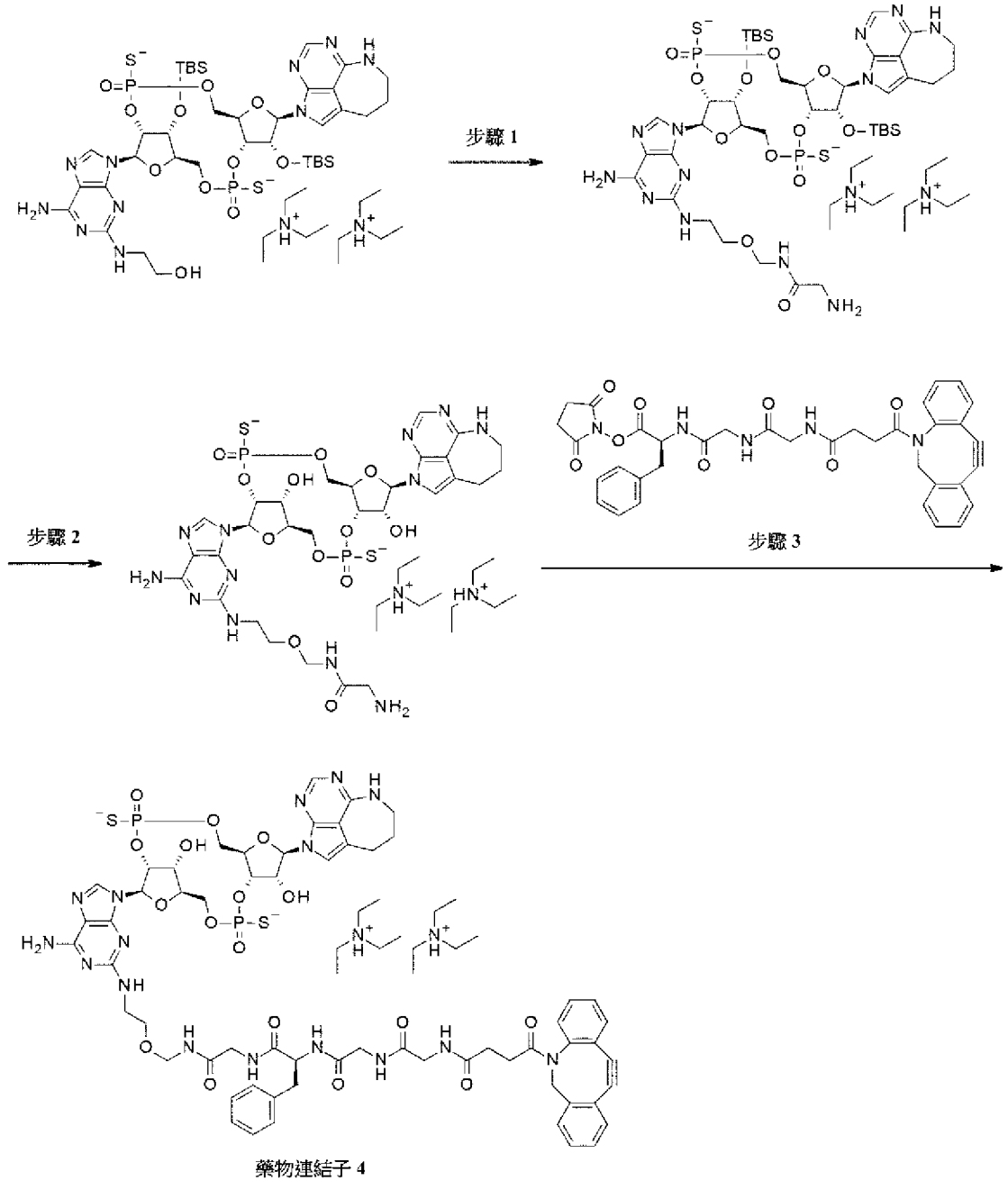
4.85-4.79(1H，m)，4.53-4.21(6H，m)，4.06-3.61(8H，m)，3.51-3.13(6H，m)，3.16(12H，q，J=7.3Hz)，3.06-2.65(7H，m)，2.35-1.94(4H，m)，1.28(18H，t，J=7.6Hz).

【0637】

實施例 24：藥物連接子 4 之合成

[合成流程圖]

【0638】



【0639】

(步驟 1)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-[6-胺基-2-({2-[(甘胺醯基胺基)甲氧基]乙基}胺基)-9H-嘌呤-9-基]-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於實施例 9 步驟 1-2 獲得的化合物(17.6mg)，以與實施例 22 步驟 7-1 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(8.3mg)。

MS(ESI)m/z：1103$(M+H)^+$.

【0640】

(步驟 2)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[6-胺基-2-({2-[(甘胺醯基胺基)甲氧基]乙基}胺基)-9H-嘌呤-9-基]-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於上述步驟 1 獲得的化合物(10.7mg)，以與實施例 22 步驟 8-1 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(7.6mg)。

MS(ESI)m/z：875$(M+H)^+$.

(步驟 3)

雙(N,N-二乙基乙銨) N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯基-N-{[2-({6-胺基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-2,10-二硫醚-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-9H-嘌呤-2-基}胺基)乙氧基]甲基}甘胺醯胺

(藥物連接子 4)

使用於上述步驟 2 獲得的化合物(7.6mg),以與實施例 22 步驟 9-1 同樣之手法進行反應。以下列之[純化條件]進行純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物(7.6mg)。

[純化條件]製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：20%-40%(0 分-30 分)]。

MS(ESI)m/z：1423(M＋H)$^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ： 8.37(1H，brs)，8.01(1H，d，J=2.4Hz)，7.63-7.11(14H，m)，6.33(1H，d，J=6.7Hz)，6.17(1H，d，J=7.3Hz)，5.51-5.36(2H，m)，5.09-5.03(1H，m)，4.84-4.80(1H，m)，4.63-4.25(8H，m)，4.07-3.58(9H，m)，3.50-3.41(4H，m)，3.28-2.72(8H，m)，3.18(12H，q，J=7.3Hz)，2.45-1.96(4H，m)，1.29(18H，t，J=7.3Hz).

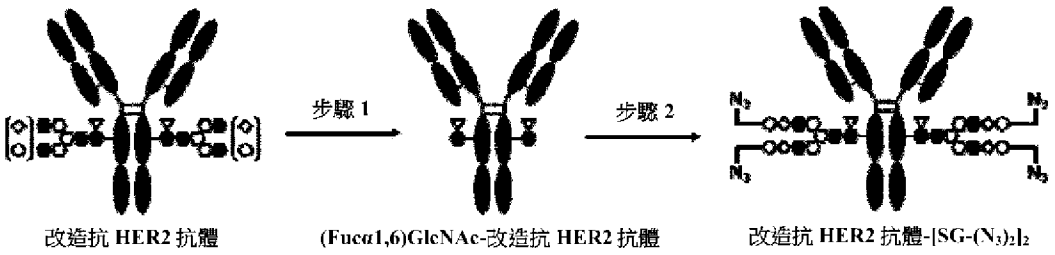
【0641】

實施例 25：糖鏈重塑抗體 1 之合成

改造抗 HER2 抗體-[SG-(N_3)$_2$]$_2$ 之合成

[合成流程圖]

【0642】



【0643】

(步驟 1)

(Fucα1,6)GlcNAc-改造抗 HER2 抗體之調製

於按照參考例 1 調製的改造抗 HER2 抗體之磷酸緩衝生理食鹽水溶液(20mL，12.6mg/mL，pH6.0)中，添加野生型 EndoS 之磷酸緩衝生理食鹽水溶液(0.147mL，7.70mg/mL，pH6.0)，並於 37℃振盪 2 小時 15 分鐘。反應之進行狀況以 Experion electrophoresis station(BIO-RAD 製)確認。反應結束後，按照以下之方法，進行利用親和性層析法的純化及利用羥磷灰石管柱層析法的純化。

(1)利用親和性層析法的純化

純化裝置：AKTA avant 25(GE Healthcare 製)

管柱：HiTrap rProtein A FF(5mL)(GE Healthcare 製)

流速：5mL/min(注入時為 1.25mL/min)

將於上述所獲得的反應液分 2 次純化。於對管柱之結合時，將反應液添加至管柱，將結合緩衝液[20mM 磷酸緩衝液(pH6.0)]以 1.25mL/min，2CV 流入，再以 5mL/min，5CV 流入。於中間洗淨時，將洗淨溶液[20mM 磷酸緩衝液(pH7.0)，0.5M 氯化鈉溶液]以 15CV 流入。於溶析時，將溶析緩衝液(ImmunoPure IgG Elution buffer、PIERCE 製)以 6CV 流入。將溶析液立即以 1MTris 緩衝液(pH9.0)中和。按照共通操作 C

記載之方法，將含目的物的流份進行交換為 5mM 磷酸緩衝液，50mM 2-味啉乙磺酸(MES)溶液(pH6.8)的緩衝液交換。按照共通操作 B 記載之方法，測定獲得的緩衝溶液之抗體濃度，獲得粗純化的標題抗體溶液(26.57mg/mL，9.0mL)。

(2)利用羥磷灰石層析法的純化

純化裝置：AKTA avant 25(GE Healthcare 製)

管柱：Bio-Scale Mini CHT Type I 筒(5mL)(BIO-RAD 製)

流速：5mL/min(注入時為 1.25mL/min)

將上述(1)所獲得的溶液添加至管柱，以 1.25mL/min 2CV 流入 A 液[5mM 磷酸緩衝液，50mM MES 溶液(pH6.8)]，進一步以 5mL/min 3CV 流入。之後，使用 A 液及 B 液[5mM 磷酸緩衝液，50mM MES 溶液(pH6.8)、2M 氯化鈉溶液]而溶析。溶析條件係 A 液：B 液=100：0~0：100(5CV)。再者，將洗淨溶液[500mM 磷酸緩衝液(pH6.5)]作 5CV 流入。按照共通操作 C 記載之方法，將含目的物的流份進行對 20mM 磷酸緩衝液(pH6.0)的緩衝液交換。按照共通操作 B 記載之方法測定獲得的緩衝溶液之抗體濃度，而獲得標題抗體溶液(17.29mg/mL，約 13mL)。

【0644】

(步驟 2)

改造抗 HER2 抗體-[SG-$(N_3)_2$]$_2$之調製

於上述步驟 1 所獲得的抗體之 20mM 磷酸緩衝溶液(17.29mg/mL，13mL，pH6.0)中，添加[N_3-PEG(3)]$_2$-SG(10)Ox(WO2018/003983 之化合物 1-10)(52mg)之 20mM

磷酸緩衝溶液(pH6.0)(3.0mL＋洗滌 1.0mL)及EndoS(D233Q/Q303L)之磷酸緩衝生理食鹽水溶液(0.698mL，5.8mg/mL，pH6.0)，並於30℃振盪4小時。將反應液於-80℃保存15小時後，於30℃解凍，追加[N_3-PEG(3)]$_2$-SG(10)Ox(7.4mg)及EndoS(D233Q/Q303L)之磷酸緩衝生理食鹽水溶液(0.155mL，5.8mg/mL，pH6.0)，而於30℃振盪2小時。以Experion electrophoresis station(BIO-RAD製)確認反應之進行狀態。反應結束後，與上述步驟1同樣地進行利用親和性層析法的純化及利用羥磷灰石層析法的純化。含目的物的流份(合計7份)分成前面4份及後面3份，各自按照共通操作C記載之方法，進行對磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)的緩衝液交換。按照共通操作B記載之方法測定獲得的緩衝溶液之抗體濃度，各自獲得標題抗體溶液(前面4份：14.99mg/mL，10mL)及標題抗體溶液(後面3份：10.97mg/mL，6.2mL)。

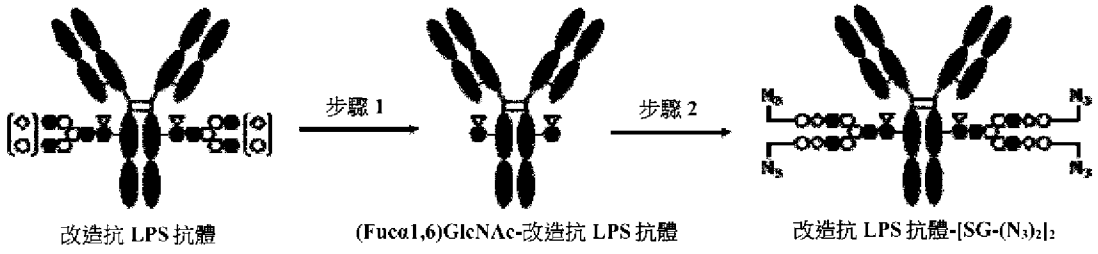
【0645】

實施例26：糖鏈重塑抗體2之合成

改造抗LPS抗體-[SG-(N_3)$_2$]$_2$之調製

[合成流程圖]

【0646】



【0647】

(步驟 1)

(Fucα1,6)GlcNAc-改造抗 LPS 抗體之調製

使用按照參考例 2 調製的改造抗 LPS 抗體之磷酸緩衝生理食鹽水溶液(8.5mL，10.96mg/mL，pH6.0)，進行與實施例 25 步驟 1 同樣之操作，獲得標題抗體之 20mM 磷酸緩衝溶液(11.70mg/mL，7.5mL，pH6.0)。

【0648】

(步驟 2)

改造抗 LPS 抗體-[SG-$(N_3)_2$]$_2$ 之調製

使用上述步驟 1 所獲得的抗體之 20mM 磷酸緩衝溶液(11.70mg/mL，7.5mL，pH6.0)及[N_3-PEG(3)]$_2$-SG(10)Ox(20.3mg)，進行與實施例 25 步驟 2 同樣之操作，獲得標題抗體之磷酸緩衝生理食鹽水溶液(10.55mg/mL，7.5mL，pH6.0)。

【0649】

實施例 27：抗體藥物結合物 1 之合成(抗 HER2 抗體-CDN 結合物 1 之合成)

將糖鏈重塑抗體 1 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(10.97mg/mL，0.500mL)以丙二醇(0.250mL)稀釋。於此溶液中添加藥物連接子 3 之二甲亞碸溶液(10mM，0.0907mL，相對於 1 分子抗體為 24 當量)與丙二醇(0.159mL)之混合液，並使用試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而使於室溫反應 2 日。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS(10mM 乙酸鹽緩衝液，5% 山梨糖醇，pH5.5)溶液(3.5mL)。

按照共通操作 E 及 G 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：0.97mg/mL

抗體產量：3.41mg(62%)

藥物平均結合數：3.6

【0650】

實施例 28：抗體藥物結合物 2 之合成(抗 HER2 抗體-CDN 結合物 2 之合成)

將糖鏈重塑抗體 1 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(10.97mg/mL，0.500mL)以丙二醇(0.250mL)稀釋。於此溶液中添加藥物連接子 4 之二甲亞碸溶液(10mM，0.0907mL，相對於 1 分子抗體為 24 當量)與丙二醇(0.159mL)之混合液，並使用試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而使於室溫反應 2 日。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(3.5mL)。

按照共通操作 E 及 G 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：1.08mg/mL

抗體產量：3.78mg(69%)

藥物平均結合數：3.2

【0651】

實施例 29：抗體藥物結合物 3 之合成(抗 HER2 抗體-CDN 結合物 3 之合成)

將糖鏈重塑抗體 1 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(10.97mg/mL，0.500mL)以丙二醇(0.250mL)稀釋。於此溶液

中添加藥物連接子 2a 之二甲亞碸溶液(10mM，0.0907mL，相對於 1 分子抗體為 24 當量)與丙二醇(0.159mL)之混合液，並使用試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而於室溫使反應 47 小時。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(3.5mL)。

按照共通操作 E 及 G 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：0.91mg/mL

抗體產量：3.17mg(58%)

藥物平均結合數：3.6

【0652】

實施例 30：抗體藥物結合物 4 之合成(抗 LPS 抗體-CDN 結合物 1 之合成)

將糖鏈重塑抗體 2 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(10.55mg/mL，1.00mL)以丙二醇(0.500mL)稀釋。於此溶液中添加藥物連接子 3 之二甲亞碸溶液(10mM，0.174mL，相對於 1 分子抗體為 24 當量)與丙二醇(0.326mL)之混合液，並使用試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而使於室溫反應 2 日。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(6.5mL)。

按照共通操作 E 及 G 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：1.11mg/mL

抗體產量：7.23mg(69%)

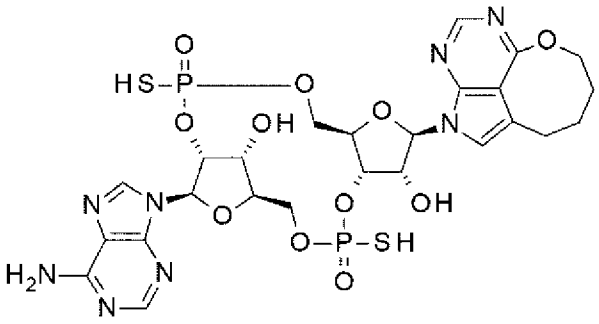
藥物平均結合數：3.9

【0653】

實施例 31：CDN21 之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-胺基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二羥基-2,10-雙(氫硫基)-14-(7,8,9,10-四氫-2H-6-氧-2,3,5-三氮環辛烷[1,2,3-cd]茚-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0654】



21

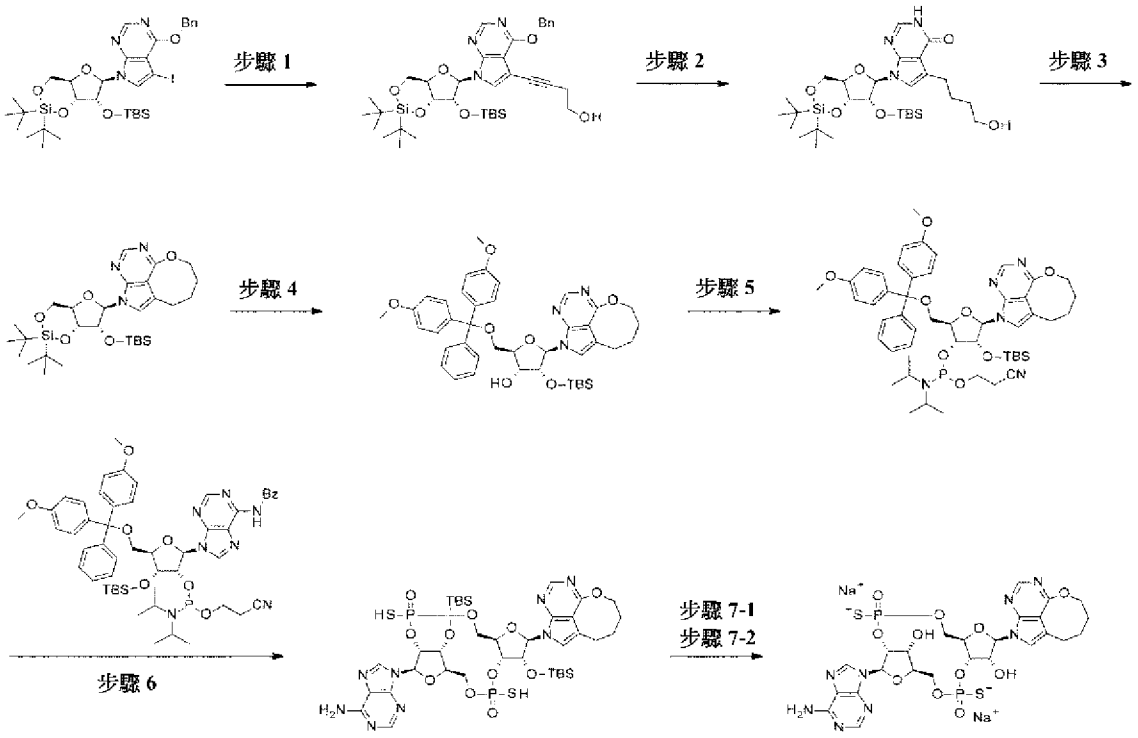
21a (非鏡像異構物 1)

21b (非鏡像異構物 2)

【0655】

[合成流程圖]

【0656】



【0657】

(步驟 1)

4-(苄基氧基)-7-{2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3,5-O-(二-三級丁基次矽基)-β-D-核呋喃糖基}-5-(4-羥基丁-1-炔-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶

使用於實施例 20 步驟 2 獲得的化合物(3.37g)及 3-丁炔-1-醇(1.72mL)，將反應溫度設在室溫，以與實施例 1 步驟 2 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(2.74g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.44(1H，s)，7.58-7.53(2H，m)，7.42-7.31(3H，m)，7.16(1H，s)，6.16(1H，s)，5.61(2H，dd，J=14.9，12.5Hz)，4.47(1H，dd，J=9.2，4.9Hz)，4.42(1H，d，J=4.7Hz)，4.26(1H，dd，J=9.4,4.7Hz)，4.17(1H，td，J=9.9，4.8Hz)，4.01(1H，t，J=9.6Hz)，3.71-3.64(2H，m)，2.65(2H，t，J=6.1Hz)，1.87(1H，t，J=6.5Hz)，1.08(9H，s)，1.04(9H，s)，0.91(9H，s)，0.11(3H，s)，0.10(3H，s).

【0658】

(步驟 2)

7-{2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3,5-O-(二-三級丁基次矽基)-β-D-核呋喃糖基}-5-(4-羥基丁基)-3,7-二氫-4H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-酮

使用於上述步驟 1 獲得的化合物(2.74g)，將反應溶劑作成甲醇(30mL)-四氫呋喃(30mL)混合溶劑，以與實施例 19 步驟 7 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(2.21g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：11.55(1H，brs)，7.90(1H，s)，6.63(1H，s)，6.09(1H，s)，4.47(1H，dd，J=9.0，5.1Hz)，4.38(1H，d，J=4.7Hz)，4.24(1H，dd，J=9.4,4.7Hz)，4.19-4.11(1H，m)，4.01(1H，t，J=9.8Hz)，3.82-3.74(2H，m)，2.88(1H，brs)，2.83-2.74(2H，m)，1.85-1.75(2H，m)，1.71-1.62(2H，m)，1.09(9H，s)，1.04(9H，s)，0.90(9H，s)，0.102(3H，s)，0.099(3H，s).

【0659】

(步驟 3)

2-{2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3,5-O-(二-三級丁基次矽基)-β-D-核呋喃糖基}-7,8,9,10-四氫-2H-6-氧-2,3,5-三氮環辛烷[1,2,3-cd]茚

使用於上述步驟 2 獲得的化合物(1.89g)，以與實施例 20 步驟 5 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(1.40g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.41(1H，s)，6.84(1H，s)，6.21(1H，s)，4.54-4.43(4H，m)，4.31(1H，dd，J=9.6，4.9Hz)，4.17(1H，td，J=10.0，5.1Hz)，4.00(1H，dd，J=10.4，9.2Hz)，2.87-

2.73(2H，m)，2.05-1.87(4H，m)，1.10(9H，s)，1.05(9H，s)，0.91(9H，s)，0.12(3H，s)，0.10(3H，s).

【0660】

(步驟 4)

2-{5-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-β-D-核呋喃糖基}-7,8,9,10-四氫-2H-6-氧-2,3,5-三氮環辛烷[1,2,3-cd]茚

使用於上述步驟 3 獲得的化合物(1.61g)，以與實施例 1 之步驟 5 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(1.95g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.40(1H，s)，7.49-7.43(2H，m)，7.38-7.20(8H，m)，6.86-6.78(4H，m)，6.38(1H，d，J=5.5Hz)，4.70(1H，t，J=5.3Hz)，4.54-4.45(2H，m)，4.38-4.31(1H，m)，4.26-4.18(1H，m)，3.79(3H，s)，3.79(3H，s)，3.53(1H，dd，J=10.6，2.3Hz)，3.37(1H，dd，J=10.6，3.1Hz)，2.81(1H，d，J=3.9Hz)，2.56-2.45(2H，m)，2.00-1.91(2H，m)，1.86-1.76(2H，m)，0.82(9H，s)，-0.04(3H，s)，-0.17(3H，s).

【0661】

(步驟 5)

2-(5-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}-β-D-核呋喃糖基)-7,8,9,10-四氫-2H-6-氧-2,3,5-三氮環辛烷[1,2,3-cd]茚

使用於上述步驟 4 獲得的化合物(1.95g)，以與實施例 5 步驟 4 同樣地操作，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物(非鏡像異構物比=6：4)之標題化合物(2.20g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.39(0.4H，s)，8.37(0.6H，s)，7.51-7.45(2H，m)，7.40-7.20(8H，m)，6.86-6.78(4H，m)，6.37(0.6H，d，J=6.7Hz)，6.32(0.4H，d，J=6.3Hz)，4.83-4.78(0.6H，m)，4.77-4.70(0.4H，m)，4.56-4.44(2H，m)，4.42-4.33(1.4H，m)，4.29-4.24(0.6H，m)，4.07-3.86(1H，m)，3.82-3.75(6H，m)，3.70-3.46(4H，m)，3.32-3.24(1H，m)，2.76-2.65(1H，m)，2.63-2.49(2H，m)，2.32(1H，t，J=6.7Hz)，2.01-1.90(2H，m)，1.87-1.74(2H，m)，1.23-1.12(8.4H，m)，1.03(3.6H，d，J=6.7Hz)，0.74(3.6H，s)，0.72(5.4H，s)，-0.04(1.2H，s)，-0.08(1.8H，s)，-0.21(1.2H，s)，-0.23(1.8H，s).

【0662】

(步驟 6)

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-胺基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-2,10-雙(氫硫基)-14-(7,8,9,10-四氫-2H-6-氧-2,3,5-三氮環辛烷[1,2,3-cd]茚-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

使用於上述步驟 5 獲得的化合物(1.18g)，以與實施例 1 步驟 7 同樣之手法進行反應，獲得 2-{2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3-O-[羥基(側氧基)-λ^5-磷烷基]-β-D-核呋喃糖基}-7,8,9,10-四氫-2H-6-氧-2,3,5-三氮環辛烷[1,2,3-cd]茚之乙腈溶液。使用此乙腈溶液與市售(Cool Pharm)之 N-苄醯基-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-2'-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}腺苷

(1.49g)，以與實施例 1 步驟 8、步驟 9、及步驟 10 同樣之手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物。將此混合物以 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：25%-60%(0 分-35 分)]純化，獲得標題化合物之非鏡像異構物 1(50mg)及非鏡像異構物 2(34mg)。

非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：973$(M+H)^+$.

非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：973$(M+H)^+$.

【0663】

(步驟 7-1)

二 鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-胺 基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(7,8,9,10-四 氫-2H-6-氧-2,3,5-三 氮 環 辛 烷[1,2,3-cd]茚-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

使用於上述步驟 6 獲得的化合物(非鏡像異構物 1)(50mg)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以 Sep-Pak(註冊商標) C18[0.1%三乙基胺水溶液/乙腈=5：1]純化，獲得標題化合物之三乙基胺鹽。

將獲得的三乙基胺鹽以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(33mg)。

MS(ESI)m/z：745$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.73(1H，s)，8.30(1H，s)，8.17(1H，s)，7.40(1H，s)，6.39(1H，d，J=4.3Hz)，6.34(1H，d，J=8.6Hz)，5.40-5.36(1H，m)，5.22-5.17(1H，m)，4.87-4.84(1H，m)，4.80(1H，t，J=4.5Hz)，4.64-4.31(6H，m)，4.11-4.03(2H，m)，2.82(1H，dd，J=16.4，8.6Hz)，2.68(1H，dd，J=16.2，8.8Hz)，2.06-1.71(4H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：58.1(s)，54.2(s).

【0664】

(步驟 7-2)

二 鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-胺 基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(7,8,9,10-四 氫-2H-6-氧-2,3,5-三 氮 環 辛 烷[1,2,3-cd]茚-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

使用於上述步驟 6 獲得的化合物(非鏡像異構物 2)(34mg)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以 Sep-Pak(註冊商標) C18[0.1%三乙基胺水溶液/乙腈=5：1]純化，獲得標題化合物之三乙基胺鹽。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(21mg)。

MS(ESI)m/z：745$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.81(1H，s)，8.30(1H，s)，8.17(1H，s)，7.40(1H，s)，6.43(1H，d，J=6.7Hz)，6.34(1H，d，J=8.6Hz)，5.55-5.42(2H，m)，4.87-4.84(1H，m)，4.59-4.28(7H，m)，

4.06-3.99(1H，m)，3.94-3.86(1H，m)，2.96-2.81(2H，m)，2.07-1.94(2H，m)，1.93-1.80(2H，m).

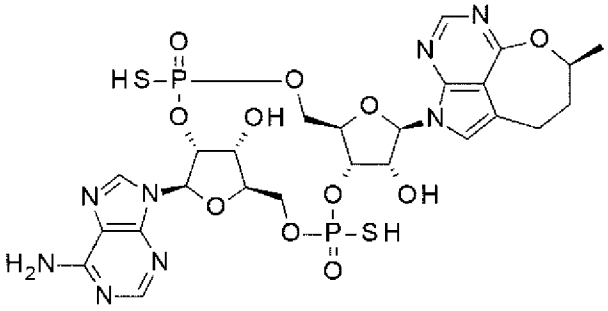
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：63.1(s)，60.5(s).

【0665】

實施例 32：CDN22 之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-胺基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二羥基-14-[(7S)-7-甲基-8,9-二氫-6-氧-2,3,5-三氮苯并[cd]薁-2(7H)-基]-2,10-雙(氫硫基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0666】



22

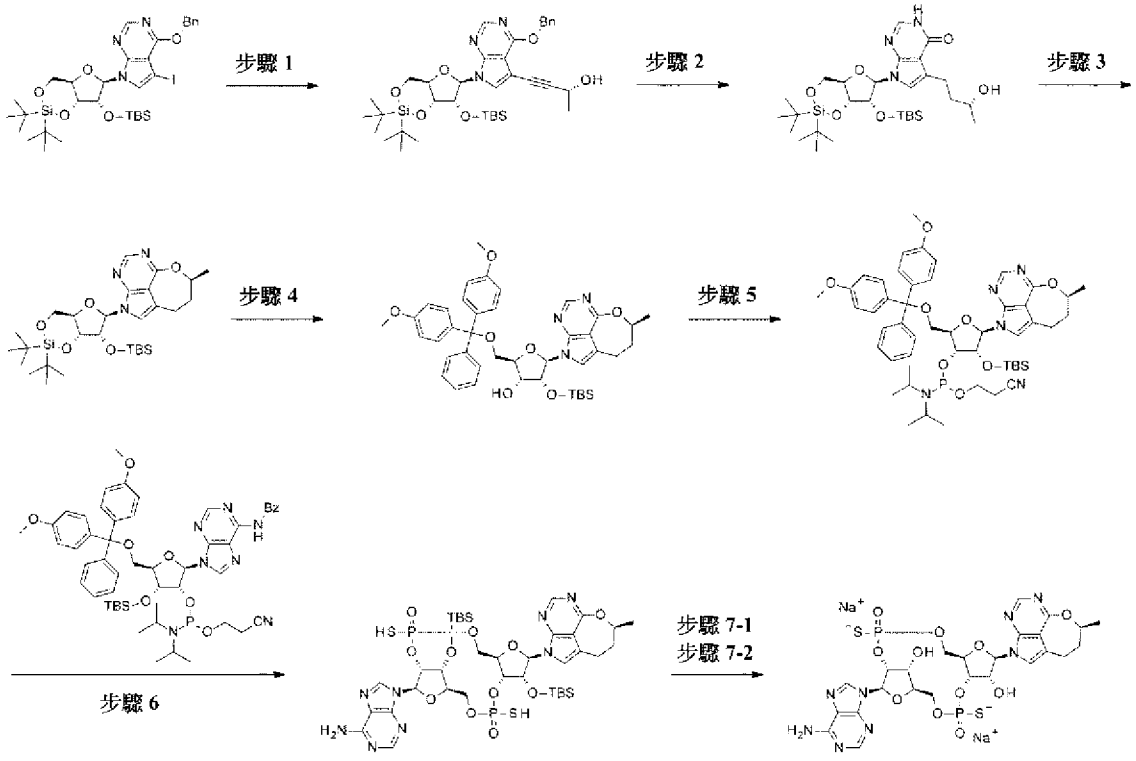
22a (非鏡像異構物 1)

22b (非鏡像異構物 2)

【0667】

[合成流程圖]

【0668】



【0669】

(步驟 1)

4-(苄基氧基)-7-{2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3,5-O-(二-三級丁基次矽基)-β-D-核呋喃糖基}-5-[(3R)-3-羥基丁-1-炔-1-基]-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶

使用於實施例 20 步驟 2 獲得的化合物(2.54g)及(R)-(+)-3-丁炔-2-醇(1.36mL)，將反應溫度設在室溫，以與實施例 1 步驟 2 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(1.85g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.46(1H，s)，7.57(2H，d，J=7.0Hz)，7.44-7.32(3H，m)，7.20(1H，s)，6.16(1H，s)，5.58(1H，d，J=12.9Hz)，5.55(1H，d，J=13.7Hz)，4.71-4.63(1H，m)，4.48(1H，dd，J=9.2，4.9Hz)，4.42(1H，d，J=4.7Hz)，4.26(1H，dd，J=9.4,4.7Hz)，4.23-4.14(1H，m)，4.01(1H，t，J=9.6Hz)，1.70(1H，d，J=5.5Hz)，1.42(3H，d，J=6.7Hz)，1.09(9H，s)，1.04(9H，s)，0.91(9H，s)，0.12(3H，s)，0.11(3H，s).

【0670】

(步驟 2)

7-{2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3,5-O-(二-三級丁基次矽基)-β-D-核呋喃糖基}-5-[(3R)-3-羥基丁基]-3,7-二氫-4H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-酮

使用於上述步驟 1 獲得的化合物(1.85g)，將反應溶劑作成甲醇(15mL)-四氫呋喃(15mL)混合溶劑，以與實施例 19 步驟 7 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(1.34g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：11.81(1H，s)，7.89(1H，s)，6.68(1H，s)，6.12(1H，s)，4.49(1H，dd，J=9.2，4.5Hz)，4.34(1H，d，J=4.3Hz)，4.27-4.14(3H，m)，4.03(1H，t，J=9.6Hz)，3.77-3.65(1H，m)，3.17-3.06(1H，m)，2.85-2.74(1H，m)，1.84-1.73(1H，m)，1.71-1.61(1H，m)，1.15(3H，d，J=6.3Hz)，1.09(9H，s)，1.04(9H，s)，0.90(9H，s)，0.10(6H，s).

【0671】

(步驟 3)

(7S)-2-{2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3,5-O-(二-三級丁基次矽基)-β-D-核呋喃糖基}-7-甲基-2,7,8,9-四氫-6-氧-2,3,5-三氮苯并[cd]薁

使用於上述步驟 2 獲得的化合物(1.34g)，以與實施例 20 步驟 5 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(0.70g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.43(1H，s)，6.82(1H，s)，6.19(1H，s)，4.58-4.43(3H，m)，4.33(1H，dd，J=9.6，5.0Hz)，4.17(1H，td，J=10.0，5.0Hz)，4.00(1H，dd，J=10.4，9.2Hz)，3.06-2.97(1H，m)，2.89-2.79(1H，m)，2.23-2.08(2H，m)，1.60(3H，

d，J=6.3Hz)，1.10(9H，s)，1.05(9H，s)，0.91(9H，s)，0.12(3H，s)，0.11(3H，s).

【0672】

(步驟 4)

(7S)-2-{5-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-β-D-核呋喃糖基}-7-甲基-2,7,8,9-四氫-6-氧-2,3,5-三氮苯并[cd]薁

使用於上述步驟 3 獲得的化合物(0.70g)，以與實施例 1 之步驟 5 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(0.82g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.41(1H，s)，7.49-7.43(2H，m)，7.37-7.20(7H，m)，7.16(1H，s)，6.85-6.78(4H，m)，6.35(1H，d，J=5.5Hz)，4.72(1H，t，J=5.3Hz)，4.57-4.47(1H，m)，4.36(1H，dd，J=9.0，3.9Hz)，4.22(1H，q，J=3.1Hz)，3.79(3H，s)，3.79(3H，s)，3.52(1H，dd，J=10.6，2.7Hz)，3.37(1H，dd，J=10.6，3.1Hz)，2.81(1H，d，J=3.9Hz)，2.78-2.58(2H，m)，2.16-2.07(2H，m)，1.59(3H，d，J=6.7Hz)，0.83(9H，s)，-0.03(3H，s)，-0.15(3H，s).

【0673】

(步驟 5)

(7S)-2-(5-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}-β-D-核呋喃糖基)-7-甲基-2,7,8,9-四氫-6-氧-2,3,5-三氮苯并[cd]薁

使用於上述步驟 4 獲得的化合物(0.82g)，與實施例 5 之步驟 4 同樣地操作，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物(非鏡像異構物比=6：4)之標題化合物(0.85g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.40(0.4H，s)，8.38(0.6H，s)，7.50-7.43(2H，m)，7.39-7.16(8H，m)，6.86-6.78(4H，m)，6.34(0.6H，d，J=6.7Hz)，6.30(0.4H，d，J=5.9Hz)，4.86-4.80(0.6H，m)，4.79-4.74(0.4H，m)，4.55-4.46(1H，m)，4.44-4.35(1.4H，m)，4.29-4.24(0.6H，m)，4.05-3.85(1H，m)，3.82-3.75(6H，m)，3.69-3.47(4H，m)，3.31-3.24(1H，m)，2.82-2.61(3H，m)，2.31(1H，t，J=6.7Hz)，2.17-2.07(2H，m)，1.58-1.55(3H，m)，1.22-1.13(8.4H，m)，1.03(3.6H，d，J=6.7Hz)，0.75(3.6H，s)，0.74(5.4H，s)，-0.03(1.2H，s)，-0.07(1.8H，s)，-0.19(1.2H，s)，-0.21(1.8H，s).

【0674】

(步驟 6)

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-胺基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-14-[(7S)-7-甲基-8,9-二氫-6-氧-2,3,5-三氮苯并[cd]薁-2(7H)-基]-2,10-雙(氫硫基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

使用於上述步驟 5 獲得的化合物(0.85g)，以與實施例 1 步驟 7 同樣之手法進行反應，獲得(7S)-2-{2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3-O-[羥基(側氧基)-λ^5-磷烷基]-β-D-核呋喃糖基}-7-甲基-2,7,8,9-四氫-6-氧-2,3,5-三氮苯并[cd]薁之乙腈溶液。使用此乙腈溶液及市售(Cool Pharm)之 N-苄醯基-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-2'-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}腺苷(1.12g)，以與實施例 1 步驟 8、步驟 9、及步驟 10 同樣之手法進行反應，獲

得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物。將此混合物以 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：25%-60%(0分-35 分)]純化，獲得標題化合物之非鏡像異構物 1(95mg)及非鏡像異構物 2(44mg) (HPLC 之滯留時間：非鏡像異構物 1＞2)。

非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：973$(M+H)^+$.

非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：973$(M+H)^+$.

【0675】

(步驟 7-1)

二鈉 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-胺基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二羥基-14-[(7S)-7-甲基-8,9-二氫-6-氧-2,3,5-三氮苯并[cd]薁-2(7H)-基]-2,10-二側氧基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

使用於上述步驟 6 獲得的化合物(非鏡像異構物 1)(95mg)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以 Sep-Pak(註冊商標) C18[0.1%三乙基胺水溶液/乙腈=5：1]純化，獲得標題化合物之三乙基胺鹽。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(57mg)。

MS(ESI)m/z：745$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.72(1H，s)，8.30(1H，s)，8.17(1H，s)，7.35(1H，s)，6.37(1H，d，J=4.3Hz)，6.34(1H，d，J=8.2Hz)，

5.40-5.35(1H，m)，5.22-5.17(1H，m)，4.85-4.81(2H，m)，4.66-4.58(1H，m)，4.53-4.40(2H，m)，4.39-4.30(2H，m)，4.12-4.01(2H，m)，3.02-2.93(1H，m)，2.80-2.68(1H，m)，2.23-2.14(1H，m)，2.12-2.00(1H，m)，1.57(3H，d，J=6.3Hz).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：58.1(s)，54.3(s).

【0676】

(步驟 7-2)

二 鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-胺 基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二 羥 基-14-[(7S)-7-甲 基-8,9-二 氫-6-氧-2,3,5-三 氮 苯 并[cd]薁-2(7H)-基]-2,10-二 側 氧 基 八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

使用於上述步驟 6 獲得的化合物(非鏡像異構物 2)(44mg)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以 Sep-Pak(註冊商標) C18[0.1%三乙基胺水溶液/乙腈=5：1]純化，獲得標題化合物之三乙基胺鹽。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(30mg)。

MS(ESI)m/z：745$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.81(1H，s)，8.30(1H，s)，8.17(1H，s)，7.36(1H，s)，6.41(1H，d，J=6.7Hz)，6.34(1H，d，J=8.6Hz)，5.55-5.42(2H，m)，4.87-4.84(1H，m)，4.65-4.57(1H，m)，4.55-4.28(5H，m)，4.06-3.99(1H，m)，3.93-3.86(1H，m)，3.11-3.01(1H，m)，2.95-2.83(1H，m)，2.29-2.19(1H，m)，2.16-2.03(1H，m)，1.57(3H，d，J=6.3Hz).

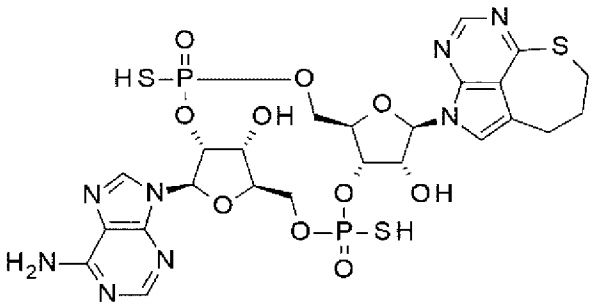
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：63.7(s)，61.2(s).

【0677】

實施例 33：CDN23 之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-胺基-9H-嘌呤-9-基)-14-(8,9-二氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁-2(7H)-基)-15,16-二羥基-2,10-雙(氫硫基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0678】



23

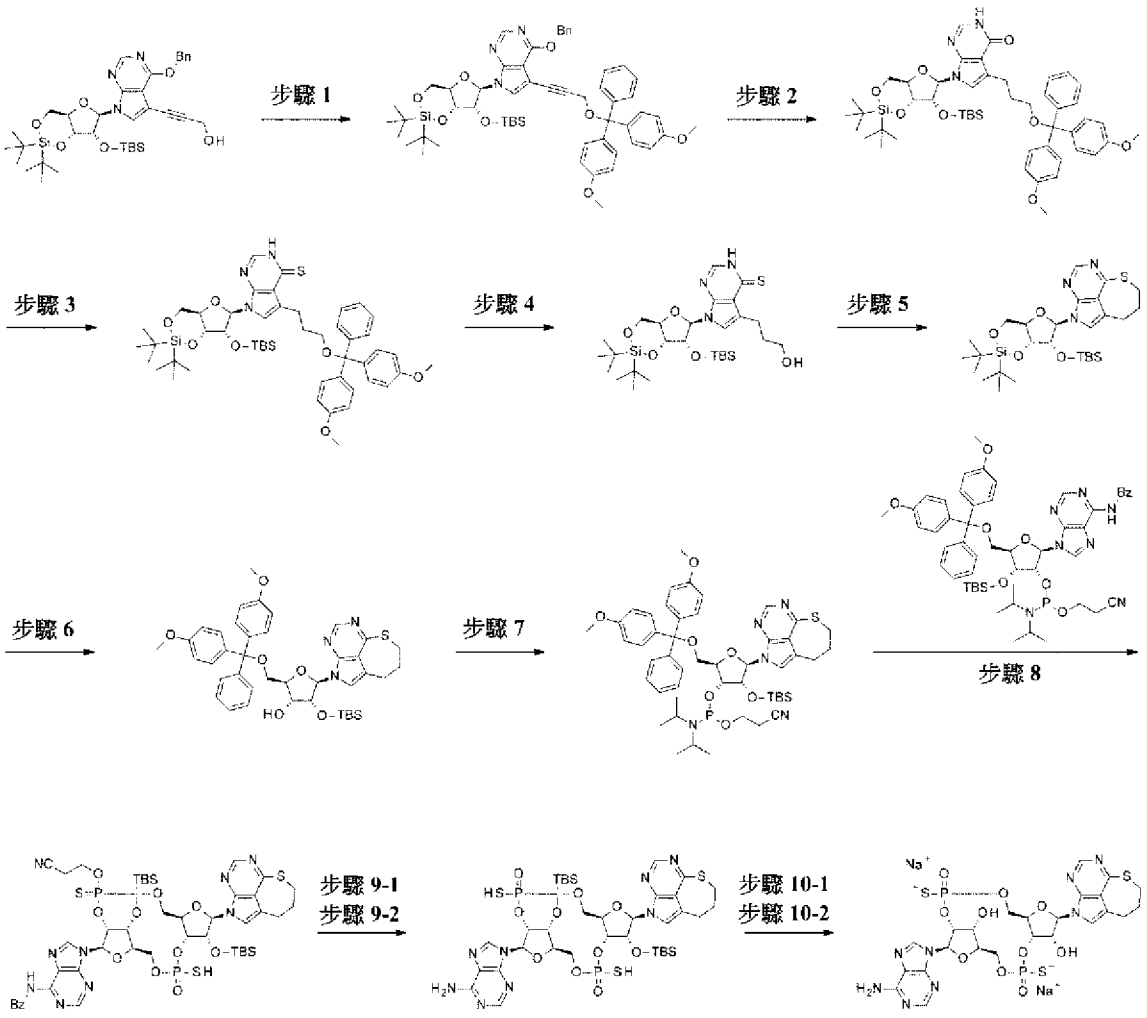
23a (非鏡像異構物 1)

23b (非鏡像異構物 2)

【0679】

[合成流程圖]

【0680】



【0681】

(步驟 1)

4-(苄基氧基)-5-{3-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基]丙-1-炔-1-基}-7-{2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3,5-O-(二-三級丁基次矽基)-β-D-核呋喃糖基}-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶

使用於實施例 20 步驟 3 獲得的化合物(4.17g)，將反應溶劑作成二氯甲烷(40mL)-吡啶(40mL)混合溶劑，以與實施例 11 步驟 1 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(5.70g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.44(1H，s)，7.53-7.47(4H，m)，7.41-7.35(4H，m)，7.33-7.11(7H，m)，6.86-6.79(4H，m)，6.17(1H，s)，5.61(1H，d，J=13.7Hz)，5.58(1H，d，J=13.7Hz)，

4.49(1H，dd，J=9.0，5.0Hz)，4.44(1H，d，J=4.8Hz)，4.29(1H，dd，J=9.6，5.0Hz)，4.23-4.15(1H，m)，4.04(1H，t，J=9.8Hz)，3.98(2H，s)，3.78(6H，s)，1.10(9H，s)，1.05(9H，s)，0.91(9H，s)，0.12(3H，s)，0.11(3H，s).

【0682】

(步驟 2)

5-{3-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基]丙基}-7-{2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3,5-O-(二-三級丁基次矽基)-β-D-核呋喃糖基}-3,7-二氫-4H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-酮

於上述步驟 1 獲得的化合物(5.70g)之甲醇(100mL)-四氫呋喃(50mL)混合溶液中，添加甲酸銨(3.71g)及 10%鈀碳(AD)濕重(2g)，於室溫攪拌 3 小時。濾除觸媒後，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(4.56g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：11.61(1H，brs)，7.75(1H，s)，7.48-7.44(2H，m)，7.37-7.14(7H，m)，6.84-6.79(4H，m)，6.57(1H，s)，6.05(1H，s)，4.45(1H，dd，J=9.2，4.9Hz)，4.35(1H，d，J=5.1Hz)，4.23(1H，dd，J=9.6，4.9Hz)，4.16-4.10(1H，m)，3.97(1H，t，J=9.8Hz)，3.78(6H，s)，3.19-3.08(2H，m)，2.90(2H，t，J=7.8Hz)，2.07-1.98(2H，m)，1.09(9H，s)，1.04(9H，s)，0.89(9H，s)，0.09(3H，s)，0.08(3H，s).

【0683】

(步驟 3)

5-{3-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基]丙基}-7-{2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3,5-O-(二-三級丁基次矽基)-β-D-核呋喃糖基}-3,7-二氫-4H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-硫酮

於上述步驟 2 獲得的化合物(1.01g)之二氯甲烷(10mL)溶液中，添加吡啶(0.461mL)，於冰冷下滴加三氟甲磺酸酐(0.385mL)並攪拌 30 分鐘。於相同溫度下於反應液中添加一硫化氫鈉 n 水合物(2.54g)之 N,N-二甲基甲醯胺(25mL)懸浮液，並於室溫攪拌 2 小時。於反應液中添加飽和碳酸氫鈉水溶液及乙酸乙酯，以矽藻土(Celite)過濾後，以乙酸乙酯萃取。有機層以飽和食鹽水洗淨，以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(0.51g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：10.83(1H，s)，7.83(1H，s)，7.50-7.44(2H，m)，7.39-7.14(7H，m)，6.87-6.79(4H，m)，6.72(1H，s)，6.07(1H，s)，4.48-4.42(1H，m)，4.31(1H，d，J=4.3Hz)，4.21-4.09(2H，m)，3.99-3.92(1H，m)，3.79(6H，s)，3.19-3.09(4H，m)，2.09-1.98(2H，m)，1.08(9H，s)，1.04(9H，s)，0.90(9H，s)，0.09(3H，s)，0.09(3H，s).

【0684】

(步驟 4)

7-{2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3,5-O-(二-三級丁基次矽基)-β-D-核呋喃糖基}-5-(3-羥基丙基)-3,7-二氫-4H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-硫酮

於上述步驟 3 獲得的化合物(2.79g)之二氯甲烷(80mL)溶液中，添加蒸餾水(4mL)，於冰冷下滴加二氯乙酸(1.28mL)並攪拌 30 分鐘。於相同溫度下於反應液中添加吡啶(2.50mL)後，減壓濃縮。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(0.96g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：11.16(1H，s)，7.89(1H，s)，6.83(1H，s)，6.11(1H，s)，4.51-4.45(1H，m)，4.36-4.29(1H，m)，4.22-4.13(2H，m)，4.06-3.97(1H，m)，3.68(2H，t，J=6.1Hz)，3.27-3.09(2H，m)，2.25-2.13(1H，brm)，2.00-1.93(2H，m)，1.08(9H，s)，1.04(9H，s)，0.90(9H，s)，0.10(6H，s).

【0685】

(步驟 5)

2-{2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3,5-O-(二-三級丁基次矽基)-β-D-核呋喃糖基}-2,7,8,9-四氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁

使用於上述步驟 4 獲得的化合物(0.35g)，以與實施例 20 步驟 5 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(0.25g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.53(1H，s)，6.92(1H，s)，6.21(1H，s)，4.50-4.44(2H，m)，4.30(1H，dd，J=9.6，4.9Hz)，4.17(1H，td，J=10.0，5.0Hz)，4.00(1H，dd，J=10.4，9.2Hz)，3.18-3.12(2H，m)，3.06-3.00(2H，m)，2.39-2.30(2H，m)，1.09(9H，s)，1.05(9H，s)，0.91(9H，s)，0.12(3H，s)，0.11(3H，s).

【0686】

(步驟 6)

2-{5-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-β-D-核呋喃糖基}-2,7,8,9-四氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁

使用於上述步驟 5 獲得的化合物(0.41g)，以與實施例 1 步驟 5 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(0.46g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.52(1H，s)，7.48-7.42(2H，m)，7.37-7.20(8H，m)，6.85-6.78(4H，m)，6.36(1H，d，J=5.1Hz)，4.70(1H，t，J=5.1Hz)，4.37(1H，dd，J=8.8，4.1Hz)，4.23-4.19(1H，m)，3.79(3H，s)，3.79(3H，s)，3.53(1H，dd，J=10.6，2.7Hz)，3.38(1H，dd，J=10.6，3.1Hz)，3.16-3.09(2H，m)，2.78(1H，d，J=4.1Hz)，2.76-2.70(2H，m)，2.30-2.22(2H，m)，0.83(9H，s)，-0.03(3H，s)，-0.14(3H，s).

【0687】

(步驟 7)

2-(5-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}-β-D-核呋喃糖基)-2,7,8,9-四氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁

使用於上述步驟 6 獲得的化合物(0.46g)，以與實施例 5 步驟 4 同樣地操作，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物(非鏡像異構物比=6：4)之標題化合物(0.48g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.51(0.4H，s)，8.49(0.6H，s)，7.50-7.43(2H，m)，7.38-7.23(8H，m)，6.86-6.78(4H，m)，6.36(0.6H，d，J=6.7Hz)，6.32(0.4H，d，J=5.5Hz)，4.83-4.78(0.6H，m)，4.76-4.71(0.4H，m)，4.45-4.35(1.4H，m)，4.29-4.24(0.6H，m)，4.04-3.84(1H，m)，3.82-3.75(6H，m)，3.70-3.48(4H，m)，3.32-3.25(1H，m)，3.16-3.09(2H，m)，2.84-2.73(2H，m)，2.73-2.61(1H，m)，2.36-2.20(3H，m)，1.22-1.13(8.4H，m)，1.03(3.6H，d，J=7.0Hz)，0.76(3.6H，s)，0.75(5.4H，s)，-0.03(1.2H，s)，-0.07(1.8H，s)，-0.18(1.2H，s)，-0.20(1.8H，s).

【0688】

(步驟 8)

N-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-10-(2-氰基乙氧基)-14-(8,9-二氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁-2(7H)-基)-2-側氧基-2-氫硫基-10-亞銃基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-9H-嘌呤-6-基}苯甲醯胺

使用於上述步驟 7 獲得的化合物(0.48g)，以與實施例 1 步驟 7 同樣之手法進行反應，獲得 2-{2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3-O-[羥基(側氧基)-λ^5-磷烷基]-β-D-核呋喃糖基}-2,7,8,9-四氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁之乙腈溶液。使用此乙腈溶液及市售(Cool Pharm)之 N-苄醯基-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-2'-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}腺苷(0.61g)，以與實施例 1 步驟 8、步驟 9 同樣之手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物。將此混合物以 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：40%-90%(0 分-35 分)]純化，各自獲得標題化合物之非鏡像異構物 1(40mg)及非鏡像異構物 2(18mg)。

非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：1132$(M+H)^+$.

非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：1132$(M+H)^+$.

【0689】

(步驟 9-1)

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-胺基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-14-(8,9-二氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁-2(7H)-基)-2,10-雙(氫硫基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

使用於上述步驟 8 獲得的化合物(非鏡像異構物 1)(40mg)，以與實施例 1 步驟 10 同樣之手法進行反應後，以製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：30%-60%(0 分-35 分)]純化，獲得標題化合物(35mg)。

MS(ESI)m/z：975(M＋H)$^+$.

【0690】

(步驟 9-2)

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-胺基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-14-(8,9-二氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁-2(7H)-基)-2,10-雙(氫硫基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

使用於上述步驟 8 獲得的化合物(非鏡像異構物 2)(18mg)，以與實施例 1 步驟 10 同樣之手法進行反應後，以製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：25%-50%(0 分-35 分)]純化，獲得標題化合物(15mg)。

MS(ESI)m/z：975(M＋H)$^+$.

【0691】

(步驟 10-1)

二鈉 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-胺基-9H-嘌呤-9-基)-14-(8,9-二氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁-2(7H)-基)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

使用上述步驟 9-1 獲得的化合物(35mg)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以 Sep-Pak(註冊商標) C18[0.1%三乙基胺水溶液/乙腈=5：1]純化，獲得標題化合物之三乙基胺鹽。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(18mg)。

MS(ESI)m/z：747$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.73(1H，s)，8.41(1H，s)，8.17(1H，s)，7.48(1H，s)，6.40(1H，d，J=4.3Hz)，6.34(1H，d，J=8.6Hz)，5.40-5.35(1H，m)，5.23-5.17(1H，m)，4.86-4.79(2H，m)，4.54-4.41(2H，m)，4.39-4.31(2H，m)，4.12-4.01(2H，m)，3.23-3.16(2H，m)，3.05-2.86(2H，m)，2.36-2.20(2H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：58.1(s)，54.2(s).

【0692】

(步驟 10-2)

二鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-胺基-9H-嘌呤-9-基)-14-(8,9-二氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁-2(7H)-基)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基八氫-2H,10H,12H-

5,8-甲橋-2λ⁵,10λ⁵-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

使用於上述步驟 9-2 獲得的化合物(15mg)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以 Sep-Pak(註冊商標) C18[0.1%三乙基胺水溶液/乙腈=5：1]純化，獲得標題化合物之三乙基胺鹽。

將獲得的三乙基胺鹽以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(8.1mg)。

MS(ESI)m/z：747$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.81(1H，s)，8.41(1H，s)，8.17(1H，s)，7.49(1H，s)，6.43(1H，d，J=6.7Hz)，6.34(1H，d，J=8.2Hz)，5.55-5.41(2H，m)，4.87-4.82(1H，m)，4.57-4.27(5H，m)，4.07-3.99(1H，m)，3.94-3.86(1H，m)，3.24-3.16(2H，m)，3.12-3.03(2H，m)，2.39-2.25(2H，m).

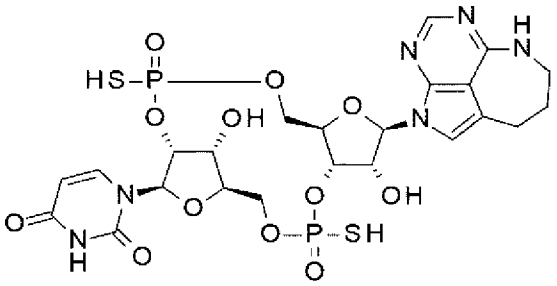
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：63.0(s)，60.5(s).

【0693】

實施例 34：CDN24 之合成

1-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ⁵,10λ⁵-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮

【0694】



24

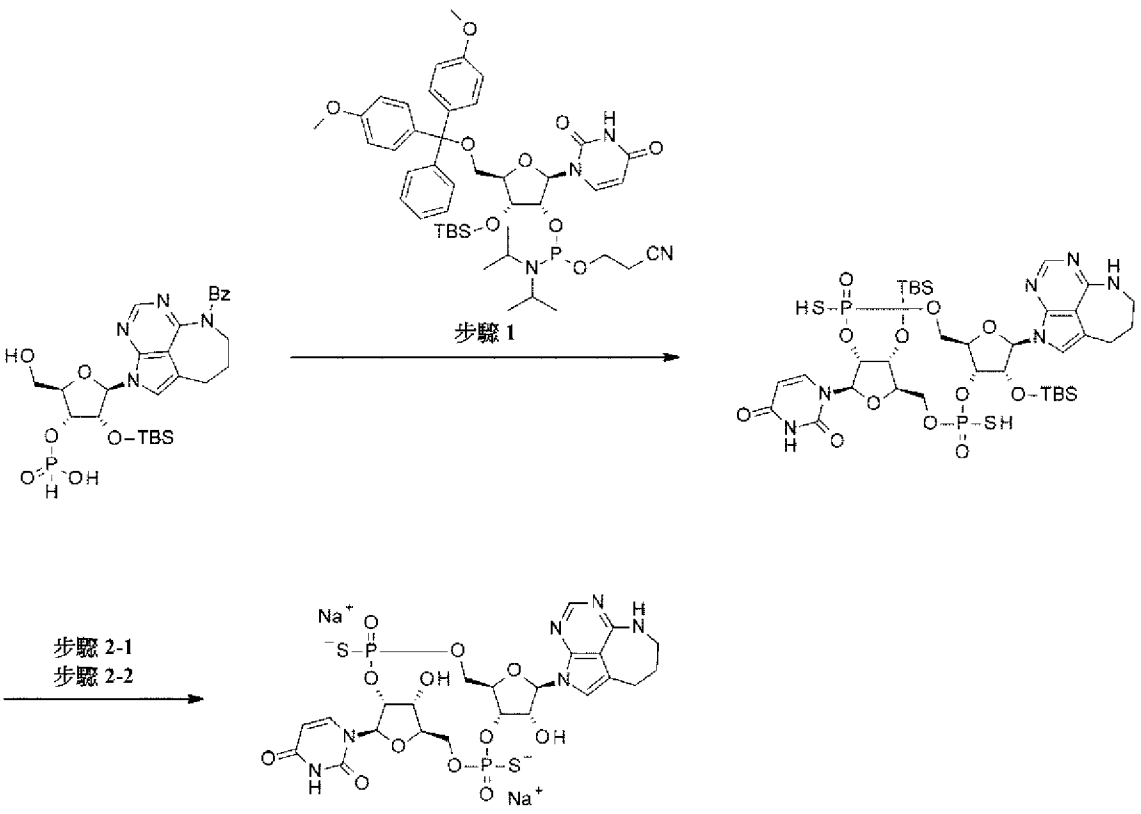
24a (非鏡像異構物 1)

24b (非鏡像異構物 2)

【0695】

[合成流程圖]

【0696】



【0697】

(步驟 1)

1-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-2,10-二側氧基-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-

2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮

將實施例 1 步驟 7 之反應以下列之規模實施(原料：1.01g)。使用獲得的化合物之乙腈溶液及市售(ANGENE)之 5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-2'-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}尿苷(1.03g)，以與實施例 1 之步驟 8、步驟 9、及步驟 10 同樣之手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物。將此混合物以 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：25%-60%(0 分-35 分)]純化，獲得標題化合物之非鏡像異構物 1(50mg)及非鏡像異構物 2(23mg)。

非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：935$(M+H)^+$.

非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：935$(M+H)^+$.

【0698】

(步驟 2-1)

二鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(2,4-二側氧基-3,4-二氫嘧啶-1(2H)-基)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

使用於上述步驟 1 獲得的化合物(非鏡像異構物 1)(50mg)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以 Sep-Pak(註冊

商標) C18[0.1%三乙基胺水溶液/乙腈=5：1]純化，獲得標題化合物之三乙基胺鹽。

將獲得的三乙基胺鹽以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(30mg)。

MS(ESI)m/z：707$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.09(1H，d，J=8.2Hz)，8.03(1H，s)，7.16(1H，s)，6.32(1H，d，J=8.6Hz)，6.28(1H，d，J=4.3Hz)，5.82(1H，d，J=8.2Hz)，5.08-5.01(1H，m)，4.93-4.84(1H，m)，4.73(1H，t，J=4.5Hz)，4.68(1H，d，J=3.9Hz)，4.48-4.38(2H，m)，4.33-4.24(1H，m)，4.23(1H，d，J=2.3Hz)，4.09-3.99(2H，m)，3.56-3.46(2H，m)，2.96-2.83(2H，m)，2.07-1.95(2H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：58.3(s)，54.6(s).

【0699】

(步驟 2-2)

二鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(2,4-二側氧基-3,4-二氫嘧啶-1(2H)-基)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

使用於上述步驟 1 獲得的化合物(非鏡像異構物 2)(23mg)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以 Sep-Pak(註冊商標) C18[0.1%三乙基胺水溶液/乙腈=5：1]純化，獲得標題化合物之三乙基胺鹽。

將獲得的三乙基胺鹽以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(11mg)。

MS(ESI)m/z：707(M＋H)$^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.08(1H，d，J=7.8Hz)，8.01(1H，s)，7.16(1H，s)，6.35(1H，d，J=8.6Hz)，6.31(1H，d，J=6.7Hz)，5.85(1H，d，J=7.8Hz)，5.38-5.33(1H，m)，5.04-4.96(1H，m)，4.75(1H，dd，J=6.5，4.5Hz)，4.50-4.34(3H，m)，4.33-4.26(1H，m)，4.22-4.17(1H，m)，4.04-3.97(1H，m)，3.91-3.84(1H，m)，3.53-3.46(2H，m)，2.97-2.87(2H，m)，2.05-1.95(2H，m).

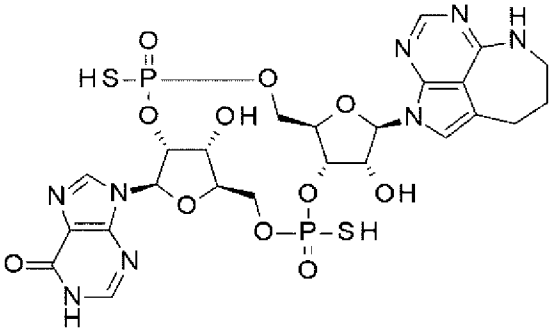
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：63.2(s)，60.2(s).

【0700】

實施例 35：CDN25 之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二羥基-7-(6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基)-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0701】



25

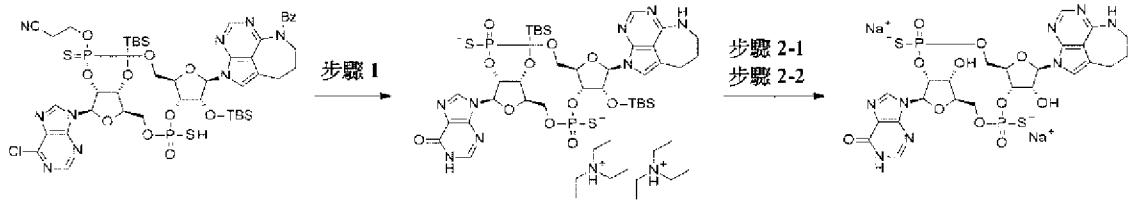
25a (非鏡像異構物 1)

25b (非鏡像異構物 2)

【0702】

[合成流程圖]

【0703】



【0704】

(步驟 1)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-2,10-二側氧基-7-(6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

於實施例 13 步驟 4 獲得的化合物(313mg)之四氫呋喃(5.0mL)溶液中，添加 N-[(E)-(吡啶-2-基)次甲基]羥基胺(337mg)及 N,N,N',N'-四甲基胍(0.346mL)，於室溫攪拌 1 日。於反應液中添加甲醇(5.0mL)及 28%氨水(5.0mL)，並於 50℃攪拌 5 小時。減壓濃縮反應液後，殘留物以 C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]純化，獲得標題化合物之非鏡像異構物 1(106mg：含有雜質)及非鏡像異構物 2(105mg：含有雜質)。

非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：959(M+H)$^+$.

非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：959(M+H)$^+$.

【0705】

(步驟 2-1)

二鈉 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-7-(6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基)-14-(6,7,8,9-四 氫-2H-2,3,5,6-四 氮 苯 并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

使用於上述步驟 1 獲得的化合物(非鏡像異構物 1)(106mg:含有雜質),以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後,以下列之[純化條件]純化,獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈-甲醇溶液(1:1),乙腈-甲醇溶液(1:1):7%-50%(0 分-40 分)]。

將獲得的三乙基胺鹽以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換,獲得標題化合物(43.4mg)。

MS(ESI)m/z:731$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ:8.66(1H,s),8.02(2H,s),7.09(1H,s),6.30(1H,d,J=6.8Hz),6.28(1H,d,J=4.8Hz),5.45-5.38(1H,m),5.20-5.13(1H,m),4.82(1H,d,J=4.2Hz),4.77(1H,t,J=4.5Hz),4.52-4.41(2H,m),4.36-4.27(2H,m),4.08-3.97(2H,m),3.53-3.46(2H,m),2.88-2.80(2H,m),2.04-1.95(2H,m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ:57.7(s),54.6(s).

【0706】

(步驟 2-2)

二鈉 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-7-(6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基)-14-(6,7,8,9-四 氫-2H-2,3,5,6-四 氮 苯 并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

使用於上述步驟 1 獲得的化合物(非鏡像異構物 2)(105mg:含有雜質),以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後,以下列之[純化條件]純化,獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈-甲醇溶液(1:1),乙腈-甲醇溶液(1:1):7%-45%(0 分-40 分)]。

將獲得的三乙基胺鹽,以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換,獲得標題化合物(21.5mg)。

MS(ESI)m/z:731(M+H)$^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ:8.72(1H,s),8.03(1H,s),8.02(1H,s),7.11(1H,s),6.32(1H,d,J=6.0Hz),6.30(1H,d,J=8.0Hz),5.49-5.40(2H,m),4.77(1H,dd,J=6.7,4.2Hz),4.49(1H,d,J=4.5Hz),4.47-4.29(4H,m),4.07-4.01(1H,m),3.93-3.86(1H,m),3.52-3.47(2H,m),2.90(2H,t,J=5.4Hz),2.05-1.97(2H,m).

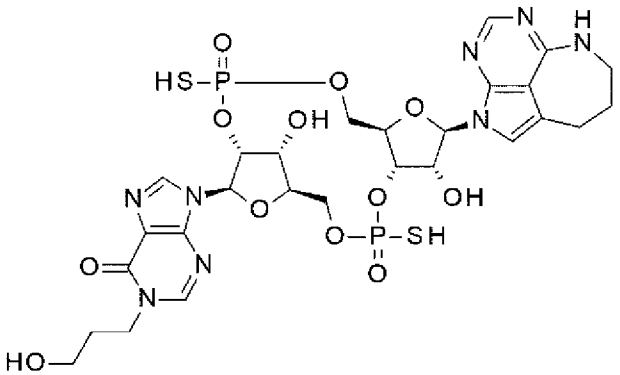
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ:62.9(s),60.0(s).

【0707】

實施例 36：CDN26 之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二羥基-7-[1-(3-羥基丙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0708】



26

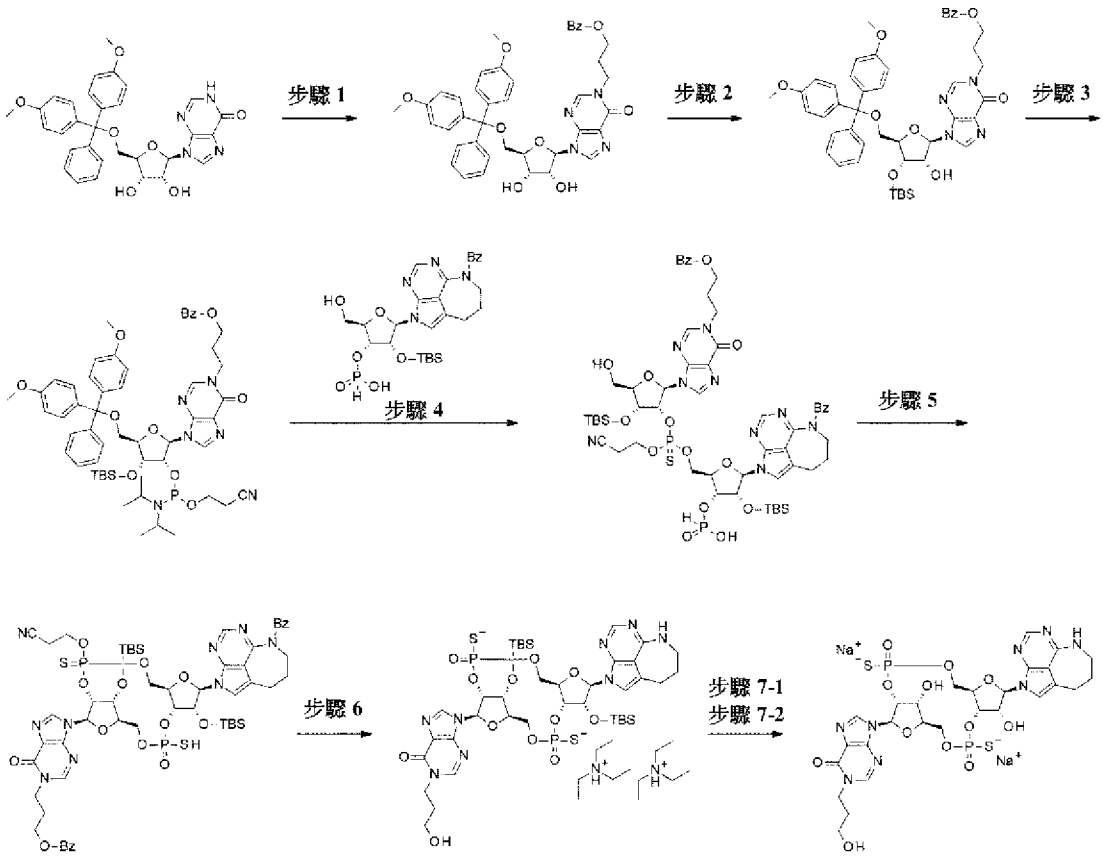
26a (非鏡像異構物 1)

26b (非鏡像異構物 2)

【0709】

[合成流程圖]

【0710】



【0711】

(步驟 1)

1-[3-(苄醯基氧基)丙基]-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]肌苷

於 3-溴丙烷-1-醇(1.14mL)之四氫呋喃(25mL)溶液中，添加三乙基胺(1.83mL)及苯甲醯氯(1.43mL)，於室溫攪拌 6 小時。將反應溶液過濾，以四氫呋喃洗淨，減壓濃縮濾液。於殘留物之脫水 N,N-二甲基乙醯胺(25mL)溶液中，添加市售(Aamdis Chemical)之 5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]肌苷(5.0g)及 1,8-二氮雙環[5.4.0]-7-十一烯(2.75mL)，並於室溫攪拌 3 日。於反應液中，添加水，以乙酸乙酯萃取。有機層以飽和食鹽水洗淨後，以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯/甲醇]純化，獲得標題化合物(4.41g)。

MS(ESI)m/z：733$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.00-7.98(1H，m)，7.98-7.96(1H，m)，7.97(1H，s)，7.96(1H，s)，7.58-7.52(1H，m)，7.46-7.39(2H，m)，7.35-7.30(2H，m)，7.26-7.16(7H，m)，6.81-6.75(4H，m)，5.87(1H，d，J=6.0Hz)，4.85(1H，d，J=3.6Hz)，4.67-4.62(1H，m)，4.43-4.34(3H，m)，4.30-4.16(2H，m)，3.78-3.75(1H，m)，3.77(6H，s)，3.42(1H，dd，J=10.3,3.6Hz)，3.33(1H，dd，J=10.3,3.6Hz)，3.02(1H，d，J=2.4Hz)，2.32(2H，dd，J=11.8，5.7Hz).

【0712】

(步驟 2)

1-[3-(苄醯基氧基)丙基]-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]肌苷

使用於上述步驟 1 獲得的化合物(4.41g)，以與實施例 5 步驟 3 同樣的手法進行反應，獲得標題化合物(1.60g)及為標題化合物之位置異構物的 1-[3-(苄醯基氧基)丙基]-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]肌苷(1.70g)。

MS(ESI)m/z：847$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.01(1H，d，J=1.2Hz)，8.00(1H，s)，7.99(1H，d，J=1.2Hz)，7.93(1H，s)，7.60-7.52(1H，m)，7.46-7.38(4H，m)，7.33-7.16(7H，m)，6.83-6.77(4H，m)，5.90(1H，d，J=4.8Hz)，4.58-4.52(1H，m)，4.50-4.46(1H，m)，4.39(2H，t，J=6.0Hz)，4.28-4.12(3H，m)，3.78(3H，s)，3.77(3H，s)，3.46(1H，dd，J=10.6，3.9Hz)，3.26(1H，

dd，J=10.6，3.9Hz)，2.99(1H，d，J=6.7Hz)，2.30(2H，dd，J=13.3,6.0Hz)，0.88(9H，s)，0.07(3H，s)，0.00(3H，s).

位置異構物(2'-O-TBS 體)

MS(ESI)m/z：847$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.01(1H，d，J=1.8Hz)，7.99(1H，d，J=1.8Hz)，7.98(1H，s)，7.87(1H，s)，7.59-7.54(1H，m)，7.47-7.40(4H，m)，7.36-7.17(7H，m)，6.84-6.78(4H，m)，5.94(1H，d，J=5.4Hz)，4.84(1H，t，J=5.4Hz)，4.41-4.35(2H，m)，4.33-4.28(1H，m)，4.28-4.19(3H，m)，3.78(3H，s)，3.78(3H，s)，3.48(1H，dd，J=10.9，3.0Hz)，3.37(1H，dd，J=10.9，3.0Hz)，2.68(1H，d，J=3.6Hz)，2.34-2.26(2H，m)，0.84(9H，s)，0.01(3H，s)，-0.13(3H，s).

【0713】

(步驟 3)

1-[3-(苄醯基氧基)丙基]-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-2'-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}肌苷

使用於上述步驟 2 獲得的化合物(1.60g)，以與實施例 5 步驟 4 同樣的手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物(非鏡像異構物比=67：33)之標題化合物(1.91g)。

MS(ESI)m/z：1047$(M+H)^+$.

1H-NMR(CDCl3)δ：8.04-8.00(0.33H，m)，8.03(1H，s)，8.02(1H，s)，7.91(0.67H，d，J=14.5Hz)，7.60-7.53(1H，m)，7.49-7.40(4H，m)，7.35-7.17(7H，m)，6.84-6.78(4H，m)，6.14(0.67H，d，J=5.1Hz)，6.06(0.33H，d，J=6.0Hz)，

4.86-4.78(0.33H，m)，4.68-4.61(0.67H，m)，4.44-4.35(2H，m)，4.29-4.09(4H，m)，3.78(6H，s)，3.65-3.42(6.33H，m)，3.34-3.24(0.67H，m)，2.76(1.34H，t，J=6.6Hz)，2.50(0.66H，t，J=6.6Hz)，2.38(1.34H，t，J=6.6Hz)，2.30(0.66H，t，J=6.6Hz)，1.30-1.24(6H，m)，1.15-1.07(4.02H，m)，0.95(1.98H，d，J=6.6Hz)，0.84(9H，s)，0.09(0.99H，s)，0.05(2.01H，s)，0.00(3H，s).

【0714】

(步驟 4)

以與實施例 1 步驟 7 相同方式，將反應以下列之規模實施(原料：981mg)。使用獲得的化合物之乙腈溶液及於上述步驟 3 獲得的化合物(1.03g)，以與實施例 1 步驟 8 同樣之手法進行反應，將獲得的粗生成物直接用於之後的反應。

【0715】

(步驟 5)

3-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-10-(2-氰基乙氧基)-2-側氧基-2-氫 硫 基-10-亞 碸 基 八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基}丙基苯甲酸酯

使用上述步驟 4 所獲得的粗生成物，以與實施例 1 步驟 9 同樣之手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(774mg)。

MS(ESI)m/z：1278$(M+H)^+$.

【0716】

(步驟 6)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-7-[1-(3-羥基丙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於上述步驟 5 獲得的化合物(774mg)，使用與實施例 1 步驟 10 同樣之手法而進行反應，以 C18 矽膠管柱層析[0.2%三乙基胺水溶液/乙腈]純化，獲得標題化合物之非鏡像異構物 1(101mg：含有雜質)及非鏡像異構物 2(90.8mg：含有雜質)。

非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：1017(M＋H)$^+$.

非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：1017(M＋H)$^+$.

【0717】

(步驟 7-1)

二鈉 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二羥基-7-[1-(3-羥基丙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

使用於上述步驟 6 獲得的化合物(非鏡像異構物 1)(101mg：含有雜質)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(48.8mg)。

MS(ESI)m/z：789$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.65(1H，s)，8.28(1H，s)，8.03(1H，s)，7.09(1H，s)，6.28(1H，s)，6.27(1H，d，J=4.8Hz)，5.46-5.38(1H，m)，5.21-5.13(1H，m)，4.83-4.80(1H，m)，4.79-4.75(1H，m)，4.52-4.39(2H，m)，4.36-4.28(2H，m)，4.26-4.17(1H，m)，4.17-4.08(1H，m)，4.08-3.97(2H，m)，3.59(2H，t，J=5.7Hz)，3.49(2H，t，J=4.8Hz)，2.91-2.74(2H，m)，2.02-1.92(4H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：57.6(s)，54.6(s).

【0718】

(步驟 7-2)

二 鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二 羥基-7-[1-(3-羥 基 丙 基)-6-側 氧 基-1,6-二 氫-9H-嘌 呤-9-基]-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

使用於上述步驟6獲得的化合物(非鏡像異構物2)(90.8mg:含有雜質)，以與實施例1步驟11同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18矽膠管柱層析[10mM乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性HPLC[10mM乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：3%-20%(0分-40分)]。

將獲得的三乙基胺鹽以與實施例1步驟11記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(22.3mg)。

MS(ESI)m/z：789$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.71(1H，s)，8.29(1H，s)，8.02(1H，s)，7.11(1H，s)，6.32(1H，d，J=6.7Hz)，6.28(1H，d，J=8.5Hz)，5.48-5.38(2H，m)，4.80-4.74(1H，m)，4.51-4.47(1H，m)，4.47-4.28(4H，m)，4.27-4.14(2H，m)，4.07-4.01(1H，m)，3.92-3.86(1H，m)，3.60(2H，t，J=6.0Hz)，3.53-3.47(2H，m)，2.93-2.87(2H，m)，2.06-1.94(4H，m).

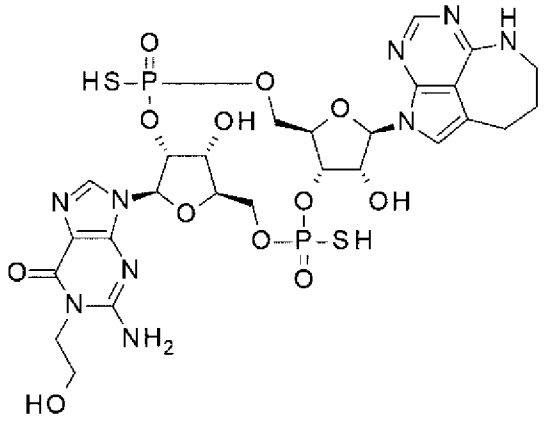
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：62.8(s)，59.9(s).

【0719】

實施例37：CDN27之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[2-胺基-1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-15,16-二羥基-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0720】



27

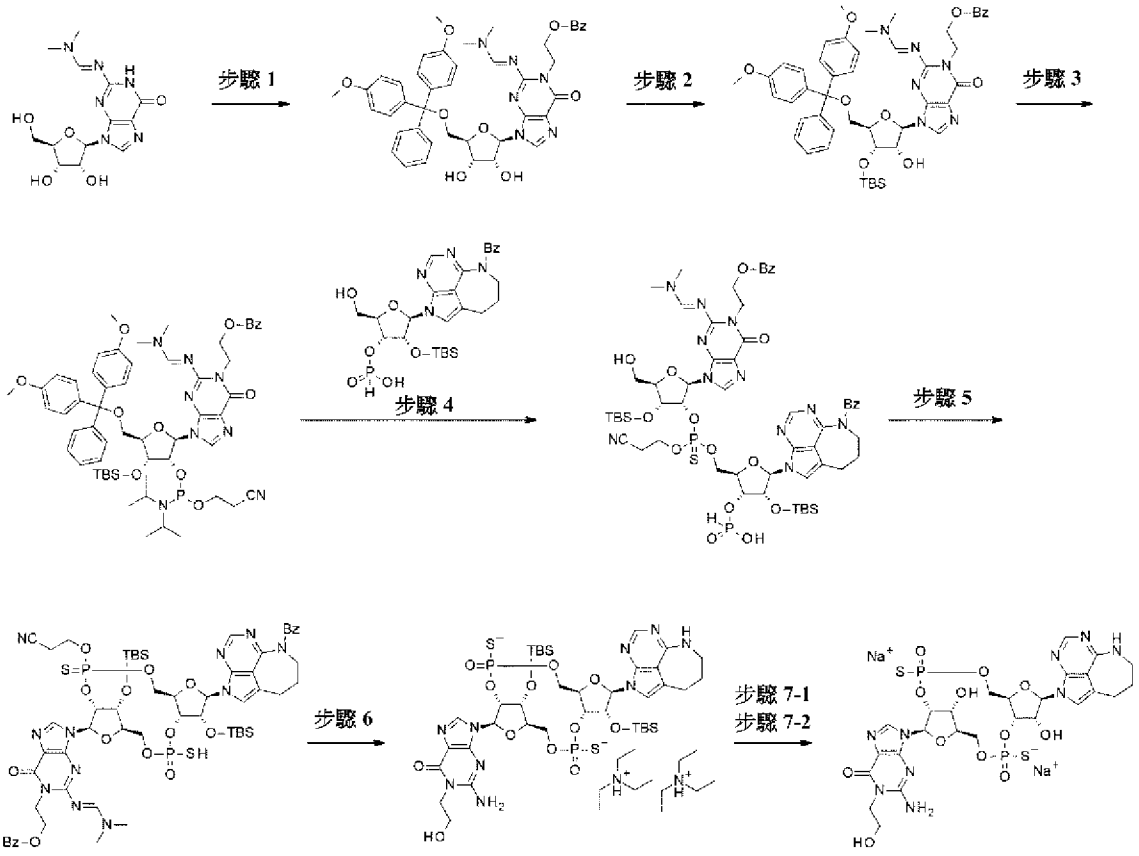
27a (非鏡像異構物 1)

27b (非鏡像異構物 2)

【0721】

[合成流程圖]

【0722】



【0723】

(步驟 1)

1-[2-(苄醯基氧基)乙基]-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-N-[(二甲基胺基)次甲基]鳥苷

於文獻已知(Journal of Organic Chemistry，1994,59，7243-7248)之 N-[(二甲基胺基)次甲基]鳥苷(10.0g)之 N,N-二甲基乙醯胺(50mL)-吡啶(50mL)混合溶液中，於 0℃添加 4,4'-二甲氧基三苯甲基氯(10.5g)，並於 4℃攪拌 16 小時。於反應液中添加苯甲酸 2-溴乙酯(6.54mL)及 1,8-二氮雙環[5.4.0]-7-十一烯(11.0mL)，於室溫攪拌 2 日。於反應液中添加飽和碳酸氫鈉水溶液及水，以乙酸乙酯萃取。有機層以飽和食鹽水洗淨，以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯/甲醇]純化，獲得呈與三苯基膦氧化物之混合物(16.7g)之標題化合物。

MS(ESI)m/z：789$(M+H)^+$.

1H-NMR(CDCl3)δ：8.17(1H，s)，7.93-7.89(2H，m)，7.55(1H，s)，7.54-7.48(1H，m)，7.42-7.36(4H，m)，7.31-7.26(4H，m)，7.25-7.19(2H，m)，7.16-7.11(1H，m)，6.82-6.76(4H，m)，5.96(1H，d，J=6.7Hz)，4.79-4.70(1H，m)，4.70-4.61(2H，m)，4.60-4.52(1H，m)，4.52-4.45(1H，m)，4.41-4.38(1H，m)，4.34-4.30(1H，m)，3.75(3H，s)，3.75(3H，s)，3.39-3.36(2H，m)，2.89(3H，s)，2.80(3H，s).

【0724】

(步驟 2)

1-[2-(苄醯基氧基)乙基]-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-N-[(二甲基胺基)次甲基]鳥苷

使用於上述步驟 1 獲得的化合物(15.7g)，以與實施例 5 步驟 3 同樣的手法進行反應，獲得標題化合物(4.82g)及為標題化合物之位置異構物的 1-[2-(苄醯基氧基)乙基]-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-N-[(二甲基胺基)次甲基]鳥苷(6.01g)。

MS(ESI)m/z：903$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.24(1H，s)，7.99-7.95(2H，m)，7.85(1H，s)，7.56-7.50(1H，m)，7.44-7.38(4H，m)，7.34-7.27(6H，m)，7.24-7.18(1H，m)，6.84-6.79(4H，m)，5.98(1H，d，J=4.2Hz)，4.87-4.77(2H，m)，4.72-4.61(2H，m)，4.41-4.36(2H，m)，4.16-4.09(1H，m)，3.78(3H，s)，3.78(3H，s)，3.45(1H，dd，J=10.6，3.9Hz)，3.25(1H，dd，J=10.6，3.9Hz)，3.05(1H，d，J=5.4Hz)，2.91(3H，s)，2.78(3H，s)，0.86(9H，s)，0.05(3H，s)，-0.04(3H，s).

位置異構物(2'-O-TBS 體)

MS(ESI)m/z：903$(M+H)^+$.

1H-NMR(CDCl3)δ：8.23(1H，s)，7.97-7.91(2H，m)，7.82(1H，s)，7.56-7.50(1H，m)，7.45-7.36(4H，m)，7.35-7.26(6H，m)，7.25-7.19(1H，m)，6.85-6.79(4H，m)，5.98(1H，d，J=5.4Hz)，4.88-4.77(2H，m)，4.73-4.62(3H，m)，4.32-4.27(1H，m)，4.23-4.19(1H，m)，3.79(3H，s)，3.79(3H，s)，3.47(1H，dd，J=10.9，3.6Hz)，3.37(1H，dd，J=10.9，3.6Hz)，2.90(3H，s)，2.76(1H，d，J=2.5Hz)，2.75(3H，s)，0.84(9H，s)，0.02(3H，s)，-0.15(3H，s).

【0725】

(步驟 3)

1-[2-(苄醯基氧基)乙基]-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-2'-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}-N-[(二甲基胺基)次甲基]鳥苷

使用於上述步驟 2 獲得的化合物(4.81g)，以與實施例 5 步驟 4 同樣的手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物(非鏡像異構物比=7：3)之標題化合物(5.41g)。

MS(ESI)m/z：1103$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.33(0.7H，s)，8.31(0.3H，s)，7.98-7.94(2H，m)，7.87(0.3H，s)，7.80(0.7H，s)，7.56-7.50(1H，m)，7.46-7.37(4H，m)，7.35-7.27(6H，m)，7.24-7.18(1H，m)，6.85-6.80(4H，m)，6.14(0.7H，d，J=6.0Hz)，6.13(0.3H，d，J=5.4Hz)，4.92-4.59(4H，m)，4.55-4.48(0.7H，m)，4.33-4.29(0.3H，m)，4.25-4.21(0.6H，m)，4.17-4.13(1.4H，m)，3.79(3H，s)，3.79(3H，s)，3.60-3.38(5H，m)，3.33-3.23(1H，m)，2.93(2.1H，s)，2.92(0.9H，s)，2.82(2.1H，s)，2.81(0.9H，s)，2.47-2.42(0.6H，m)，2.34-2.27(1.4H，m)，1.09(4.2H，d，J=6.7Hz)，1.07(1.8H，d，J=7.3Hz)，1.05(4.2H，d，J=6.7Hz)，0.91(1.8H，d，J=7.3Hz)，0.84(9H，s)，0.07(0.9H，s)，0.04(2.1H，s)，-0.02(3H，s).

【0726】

(步驟 4)

以與實施例 1 步驟 7 相同方式，將反應以下列之規模實施(原料：1.68g)。使用獲得的化合物之乙腈溶液及於上述步驟 3 獲得的化合物(1.81g)，以與實施例 1 步驟 8 同樣之手法進行反應，將獲得的粗生成物直接用於之後的反應。

【0727】

(步驟 5)

2-(9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-10-(2-氰基乙氧基)-2-側氧基-2-氫 硫 基-10-亞 巯 基 八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-2-{(E)-[(二甲基胺基)次甲基]胺基}-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基)乙基 苯甲酸酯

使用上述步驟 4 所獲得的粗生成物，以與實施例 1 步驟 9 同樣之手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(1.15g)。

MS(ESI)m/z：1334$(M+H)^+$.

【0728】

(步驟 6)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-[2-胺 基-1-(2-羥 基 乙 基)-6-側 氧 基-1,6-二 氫-9H-嘌 呤-9-基]-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四 氫-2H-2,3,5,6-四 氮 苯 并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於上述步驟 5 獲得的化合物(1.15g)，使用與實施例 1 步驟 10 同樣之手法而進行反應，獲得標題化合物之非鏡像異構物 1(134mg：含有雜質)及非鏡像異構物 2(127mg：含有雜質)。

非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：1018$(M+H)^+$.

非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：1018$(M+H)^+$.

【0729】

(步驟 7-1)

二鈉 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[2-胺基-1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

使用於上述步驟 6 獲得的化合物(非鏡像異構物 1)(134mg：含有雜質)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：5%-25%(0 分-40 分)]。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(36.0mg)。

MS(ESI)m/z：790$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.01(1H，s)，7.99(1H，s)，7.17(1H，s)，6.23(1H，d，J=2.4Hz)，5.96(1H，d，J=8.5Hz)，5.67-5.58(1H，m)，5.29-5.22(1H，m)，4.95-4.85(1H，m)，4.83-4.79(1H，m)，4.48-4.40(2H，m)，4.39-4.31(2H，m)，4.22-

4.09(3H，m)，3.73-3.66(2H，m)，3.56-3.50(1H，m)，3.50-3.44(2H，m)，2.80-2.68(1H，m)，2.48-2.35(1H，m)，2.00-1.88(1H，m)，1.87-1.77(1H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：57.6(s)，53.1(s).

【0730】

(步驟 7-2)

二鈉 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[2-胺基-1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

使用於上述步驟 6 獲得的化合物(非鏡像異構物 2)(127mg：含有雜質)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：3%-20%(0 分-40 分)]。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(20.1mg)。

MS(ESI)m/z：790$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.20(1H，s)，8.02(1H，s)，7.19(1H，s)，6.31(1H，d，J=6.0Hz)，6.05(1H，d，J=8.5Hz)，5.62-5.52(1H，m)，5.47-5.40(1H，m)，4.80-4.75(1H，m)，4.51-4.47(1H，m)，4.47-4.21(5H，m)，4.16-4.09(1H，m)，3.99-

3.89(2H，m)，3.84-3.78(2H，m)，3.52-3.46(2H，m)，2.93-2.83(1H，m)，2.82-2.72(1H，m)，2.03-1.92(2H，m).

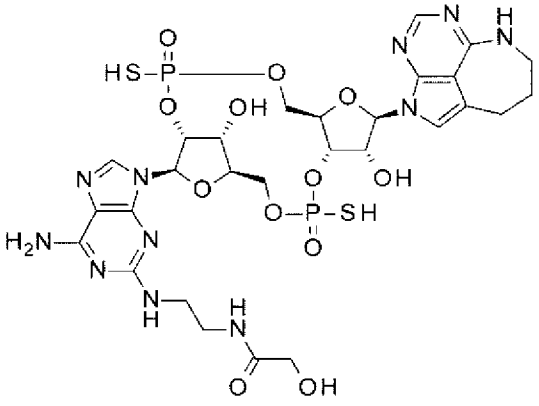
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：61.6(s)，59.6(s).

【0731】

實施例 38：CDN28 之合成

N-[2-({6-胺　基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-9H-嘌呤-2-基}胺基)乙基]-2-羥基乙醯胺

【0732】



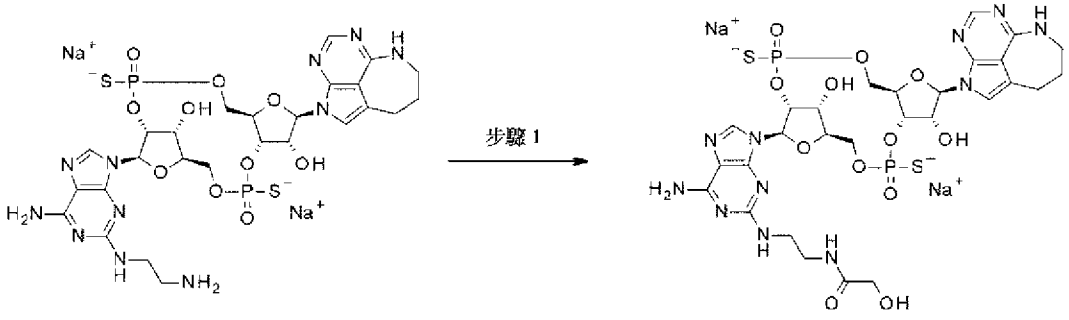
28

28a (非鏡像異構物 I)

【0733】

[合成流程圖]

【0734】



【0735】

(步驟 1)

二 鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-胺 基-2-{[2-(2-羥基乙醯胺)乙基]胺基}-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二羥基-2,10-二 側 氧 基-14-(6,7,8,9-四 氫-2H-2,3,5,6-四 氮 苯 并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於實施例 8 步驟 8-2 獲得的化合物(6.6mg)，以與實施例 7 步驟 1-1 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：2%-30%(0 分-30 分)]。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(2.9mg)。

MS(ESI)m/z：846(M＋H)$^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.33(1H，s)，8.02(1H，s)，7.16(1H，s)，6.33(1H，d，J=6.0Hz)，6.18(1H，d，J=8.5Hz)，5.53-5.45(2H，m)，4.79(1H，t，J=5.1Hz)，4.50-4.25(5H，m)，4.10(1H，d，J=11.5Hz)，3.97(2H，s)，3.94-3.89(1H，m)，3.53-3.39(6H，m)，2.88(2H，t，J=5.7Hz)，2.04-1.98(2H，m).

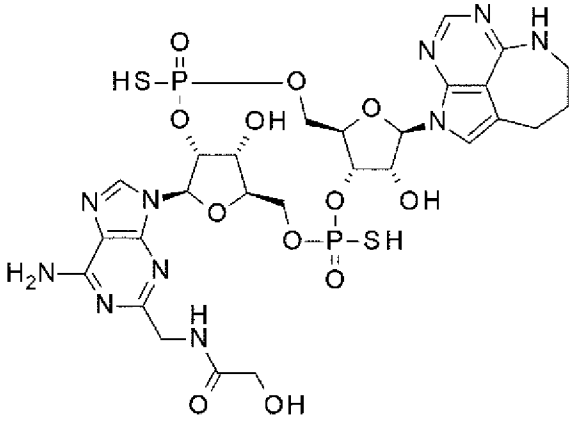
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：62.6，60.1.

【0736】

實施例 39：CDN29 之合成

N-({6-胺 基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-9H-嘌呤-2-基}甲基)-2-羥基乙醯胺

【0737】



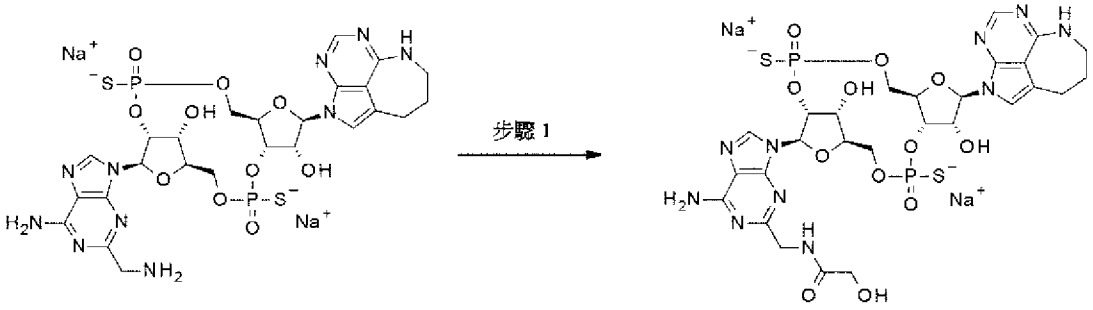
29

29a (非鏡像異構物 1)

【0738】

[合成流程圖]

【0739】



【0740】

(步驟 1)

二 鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{6-胺 基-2-[(2-羥基乙醯胺)甲基]-9H-嘌呤-9-基}-15,16-二羥基-2,10-

二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ⁵,10λ⁵-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於實施例 11 步驟 9-2 獲得的化合物(4.6mg)，以與實施例 7 步驟 1-1 同樣之手法進行反應後，以製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：2%-30%(0 分-30 分)]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

【0741】將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(4.0mg)。

MS(ESI)m/z：817$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.75(1H，s)，8.02(1H，s)，7.12(1H，s)，6.36(1H，d，J=8.5Hz)，6.33(1H，d，J=6.7Hz)，5.49-5.41(2H，m)，4.80(1H，dd，J=6.7，4.8Hz)，4.50-4.29(7H，m)，4.07(2H，s)，4.05-4.01(1H，m)，3.92-3.87(1H，m)，3.51-3.49(2H，m)，2.93-2.90(2H，m)，2.03-1.99(2H，m).

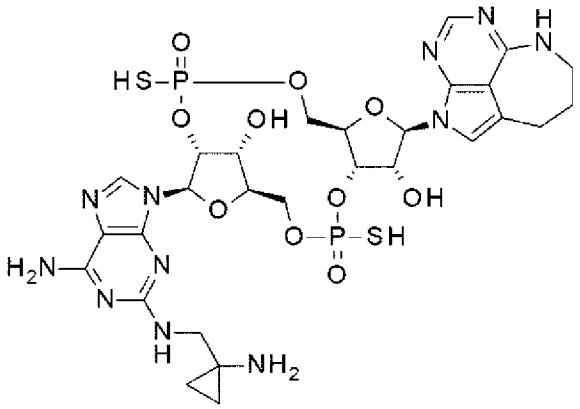
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：63.2,60.3.

【0742】

實施例 40：CDN30 之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-胺基-2-{[(1-胺基環丙基)甲基]胺基}-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二羥基-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ⁵,10λ⁵-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0743】



30

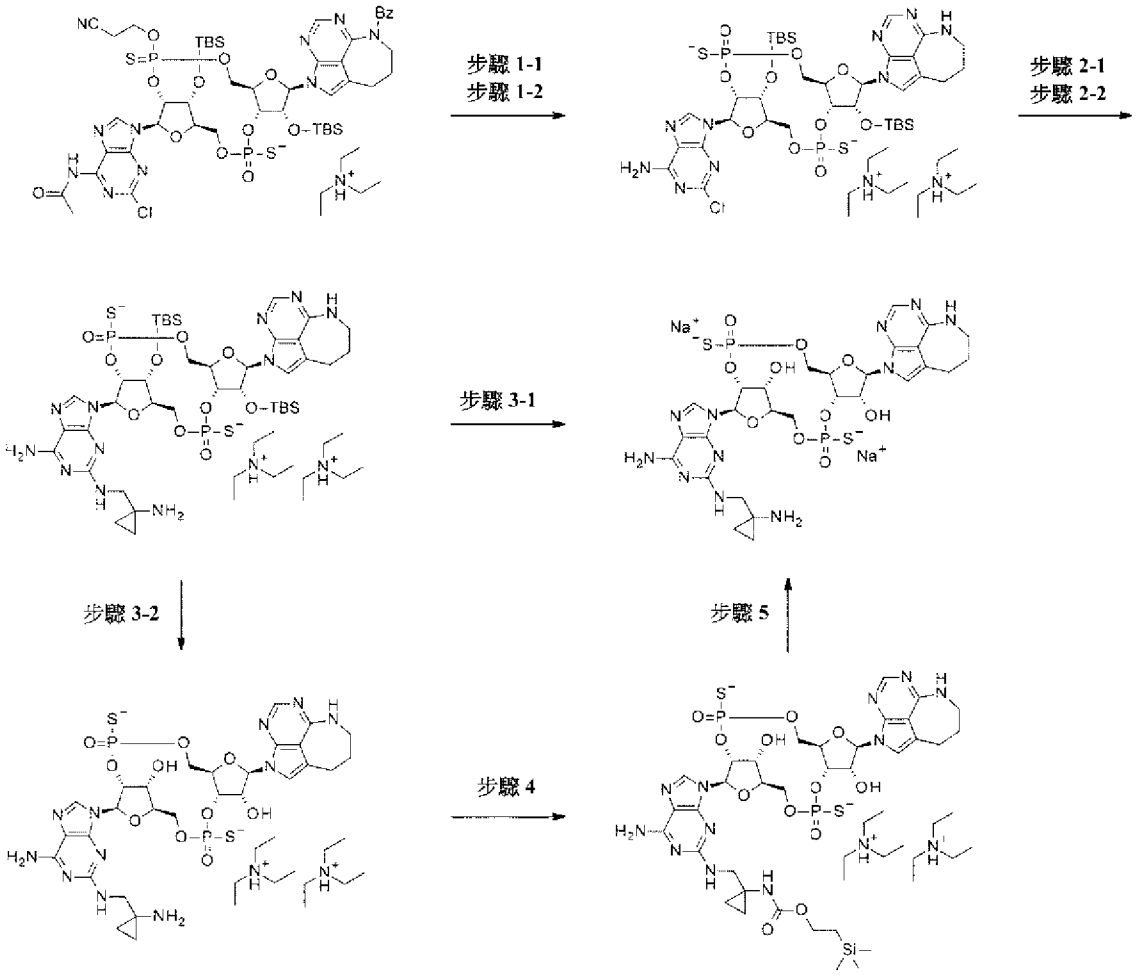
30a (非鏡像異構物 1)

30b (非鏡像異構物 1)

【0744】

[合成流程圖]

【0745】



【0746】

(步驟 1-1)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-胺基-2-氯-9H-嘌呤-9-基)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於實施例 8 步驟 6 獲得的化合物(非鏡像異構物 1)(590mg)，以與實施例 1 步驟 10 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(420mg)。

MS(ESI)m/z：992$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.76(1H，s)，7.97(1H，s)，7.30(1H，s)，6.23(1H，d，J=4.8Hz)，6.22(1H，d，J=7.9Hz)，5.43-5.37(1H，m)，5.19-5.15(1H，m)，4.85-4.77(3H，m)，4.44-4.31(2H，m)，4.22(1H，brs)，4.08-4.00(2H，m)，3.52-3.48(2H，m)，3.14(12H，q，J=7.3Hz)，2.84-2.81(2H，m)，2.02-1.92(2H，m)，1.26(18H，t，J=7.3Hz)，1.00(9H，s)，0.85(9H，s)，0.33(3H，s)，0.28(3H，s)，0.27(3H，s)，0.10(3H，s).

【0747】

(步驟 1-2)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-胺基-2-氯-9H-嘌呤-9-基)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋

喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於實施例 8 步驟 6 獲得的化合物(非鏡像異構物 2)(710mg)，以與實施例 1 步驟 10 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(452mg)。

MS(ESI)m/z：992$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.55(1H，s)，8.01(1H，s)，7.07(1H，s)，6.34(1H，d，J=7.3Hz)，6.20(1H，d，J=8.5Hz)，5.52-5.44(1H，m)，5.38-5.36(1H，m)，5.17-5.10(1H，m)，4.98-4.95(2H，m)，4.67-4.57(2H，m)，4.25(1H，brs)，4.11-4.07(1H，m)，3.89-3.84(1H，m)，3.52-3.49(2H，m)，3.18(12H，q，7.3Hz)，2.93-2.91(2H，m)，2.03-1.99(2H，m)，1.30(18H，t，J=7.3Hz)，1.00(9H，s)，0.74(9H，s)，0.27(6H，s)，0.20(3H，s)，-0.28(3H，s).

【0748】

(步驟 2-1)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-胺基-2-{[(1-胺基環丙基)甲基]胺基}-9H-嘌呤-9-基)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

於 1-(胺基甲基)環丙烷-1-胺・2HCl(309mg)之甲醇(40mL)溶液中，添加 MP-Carbonate 樹脂(5.45g)，並於室溫攪拌二小時。濾除樹脂，減壓濃縮濾液。將殘留物之甲醇(0.837mL)

溶液，添加至於上述步驟 1-1 獲得的化合物(30.0mg)，使用微波反應裝置，於 120℃使反應 4 小時。減壓濃縮反應液後，將殘留物以製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：30%-60%(0 分-30 分)]純化，獲得包含標題化合物的混合物。獲得的混合物直接用於下一步驟。

MS(ESI)m/z：1042$(M+H)^+$.

【0749】

(步驟 2-2)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-胺基-2-{[(1-胺基環丙基)甲基]胺基}-9H-嘌呤-9-基)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於上述步驟 1-2 獲得的化合物(58.6mg)，藉由與上述步驟 2-1 同樣之手法而獲得含有標題化合物的混合物。獲得的混合物直接用於下一反應。

MS(ESI)m/z：1042$(M+H)^+$.

【0750】

(步驟 3-1)

二鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-胺基-2-{[(1-胺基環丙基)甲基]胺基}-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

使用上述步驟 2-1 所獲得的混合物，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：2%-20%(0 分-30 分)]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(2.0mg)。

MS(ESI)m/z：812$(M-2Na+1H)^-$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.25(1H，s)，8.01(1H，s)，7.04(1H，s)，6.28(1H，d，J=4.2Hz)，6.12(1H，d，J=7.9Hz)，5.43-5.35(1H，m)，5.15-5.11(1H，m)，4.75(1H，t，J=4.2Hz)，4.65-4.56(1H，m)，4.49-4.43(2H，m)，4.37-4.31(2H，m)，4.15-4.01(2H，m)，3.73-3.59(1H，m)，3.50-3.47(2H，m)，3.22-3.15(1H，m)，2.85-2.68(2H，m)，2.00-1.93(2H，m)，0.87-0.80(4H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：57.7(s)，54.3(s).

【0751】

(步驟 3-2)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-胺基-2-{[(1-胺基環丙基)甲基]胺基}-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用上述步驟 2-2 所獲得的混合物，藉由與實施例 1 步驟 11 同樣之手法，獲得含有標題化合物的混合物。獲得的混合物直接用於下一反應。

【0752】

(步驟 4)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[6-胺基-2-({[1-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)環丙基]甲基}胺基)-9H-嘌呤-9-基]-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

於上述步驟 3-2 所獲得的混合物之 N,N-二甲基甲醯胺(1.0mL)溶液中，添加三乙基胺(40.8μL)及 2,5-二側氧基吡咯啶-1-基(2-(三甲基矽基)乙基)碳酸酯(39.5mg)，於室溫攪拌 1 小時。於反應液中添加水而驟冷(quench)後，以製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：10%-50%(0 分-30 分)]純化，獲得標題化合物(11.0mg)。

MS(ESI)m/z：958(M＋H)$^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.40(1H，s)，8.03(1H，s)，7.12(1H，s)，6.32(1H，d，J=6.7Hz)，6.18(1H，d，J=8.5Hz)，5.53-5.49(1H，m)，5.46-5.39(1H，m)，4.83(1H，dd，J=6.3,4.5Hz)，4.53-4.30(4H，m)，4.26-4.24(1H，m)，4.13-4.08(2H，m)，4.04-4.00(1H，m)，3.93-3.88(1H，m)，3.60(1H，d，J=13.9Hz)，3.52-3.49(2H，m)，3.40(1H，d，J=13.9Hz)，3.04(12H，q，7.3Hz)，2.93-2.90(2H，m)，2.04-1.99(2H，

m)，1.23(18H，t，J=7.3Hz)，0.96-0.92(2H，m)，0.84-0.80(2H，m)，0.76-0.73(2H，m)，0.02(9H，s).

【0753】

(步驟 5)

二 鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-胺 基-2-{[(1-胺基環丙基)甲基]胺基}-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

於上述步驟 4 獲得的化合物(11.0mg)之四氫呋喃(474μL)溶液中，添加氟化四丁基銨之四氫呋喃溶液(約 1M，237μL)，氮環境下，於 40℃攪拌 3 小時。於反應液中添加 10mM 乙酸三乙基銨水溶液而驟冷後，以製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：2%-30%(0 分-30 分)]及 Sep-Pak(註冊商標)C18[水/乙腈/0.1%三乙基胺]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

獲得的三乙基胺鹽以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，而獲得標題化合物(4.1mg)。

MS(ESI)m/z：812(M-2Na＋1H)$^-$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.34(1H，s)，8.01(1H，s)，7.14(1H，s)，6.32(1H，d，J=6.0Hz)，6.16(1H，d，J=8.5Hz)，5.43-5.37(2H，m)，4.78(1H，t，J=5.4Hz)，4.50-4.28(5H，m)，4.12-4.08(1H，m)，3.95-3.89(1H，m)，3.69-3.64(1H，m)，3.51-3.48(2H，m)，3.26(1H，d，J=14.5)，2.89-2.86(2H，m)，2.03-1.98(2H，m)，0.83-0.79(4H，m).

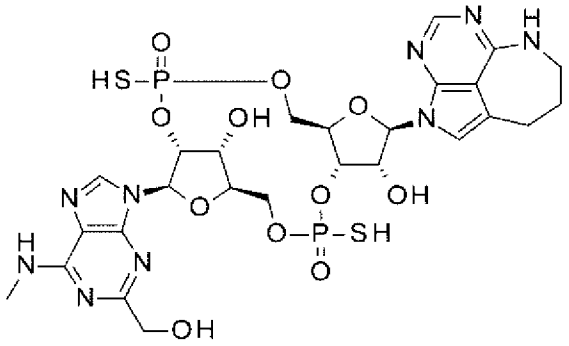
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：62.3(s)，60.0(s).

【0754】

實施例41：CDN31之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二羥基-7-[2-(羥基甲基)-6-(甲基胺基)-9H-嘌呤-9-基]-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0755】



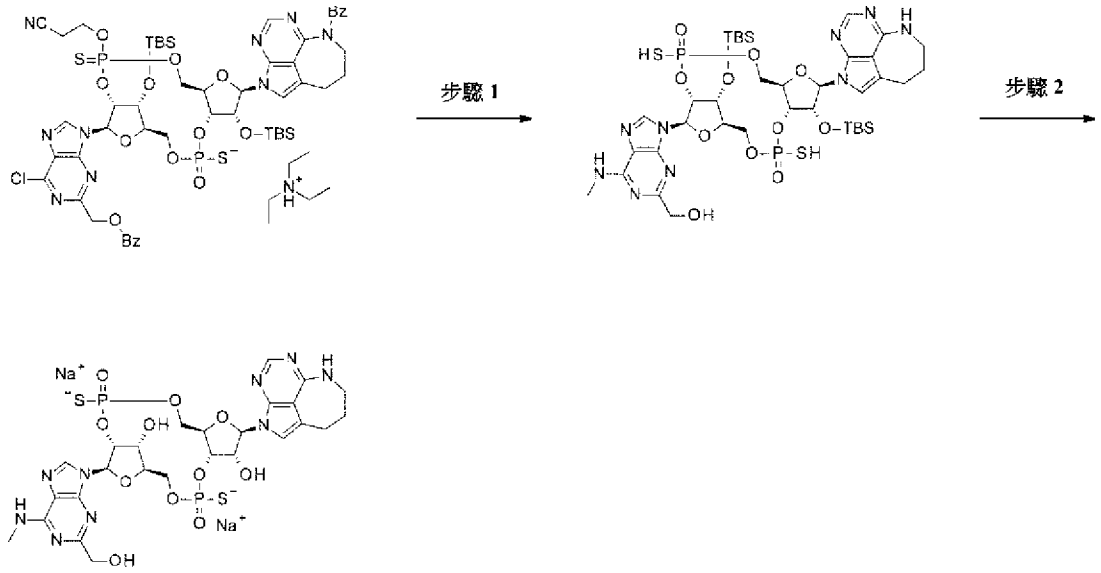
31

31a (非鏡像異構物1)

【0756】

[合成流程圖]

【0757】



【0758】

(步驟 1)

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-7-[2-(羥基甲基)-6-(甲基胺基)-9H-嘌呤-9-基]-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ⁵,10λ⁵-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

於實施例 12 步驟 7 所獲得的非鏡像異構物 2(高極性)(56.5mg)之甲醇(1.00mL)溶液中，添加 40%甲基胺水溶液(1.00mL)，封管中於 60℃攪拌 3 小時。將反應液減壓濃縮而獲得含有標題化合物的混合物。將獲得的混合物直接用於下一反應。

MS(ESI)m/z：1002$(M+H)^+$.

【0759】

(步驟 2)

二鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二羥基-7-[2-(羥基甲基)-6-(甲基胺基)-9H-嘌呤-9-基]-2,10-二側

氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用上述步驟1所獲得的混合物，以與實施例1步驟11同樣之手法進行反應後，以製備性HPLC[10mM乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：2%-20%(0分-30分)]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例1步驟11記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(16.0mg)。

MS(ESI)m/z：774(M+H)$^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.70(1H，s)，8.02(1H，s)，7.13(1H，s)，6.38(1H，d，J=9.1Hz)，6.33(1H，d，J=7.3Hz)，5.49-5.42(2H，m)，4.80(1H，dd，J=6.7，4.2Hz)，4.60(2H，s)，4.50-4.28(5H，m)，4.05-4.00(1H，m)，3.92-3.87(1H，m)，3.52-3.49(2H，m)，3.14(3H，brs)，2.91(2H，t，J=5.4Hz)，2.04-1.99(2H，m).

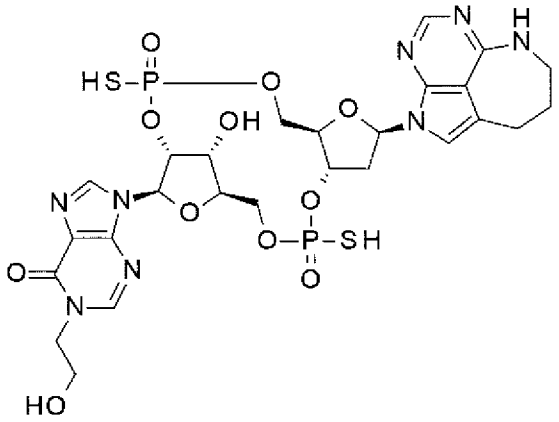
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：63.1(s)，60.3(s).

【0760】

實施例42：CDN32之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15aS,16R)-16-羥基-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0761】



32

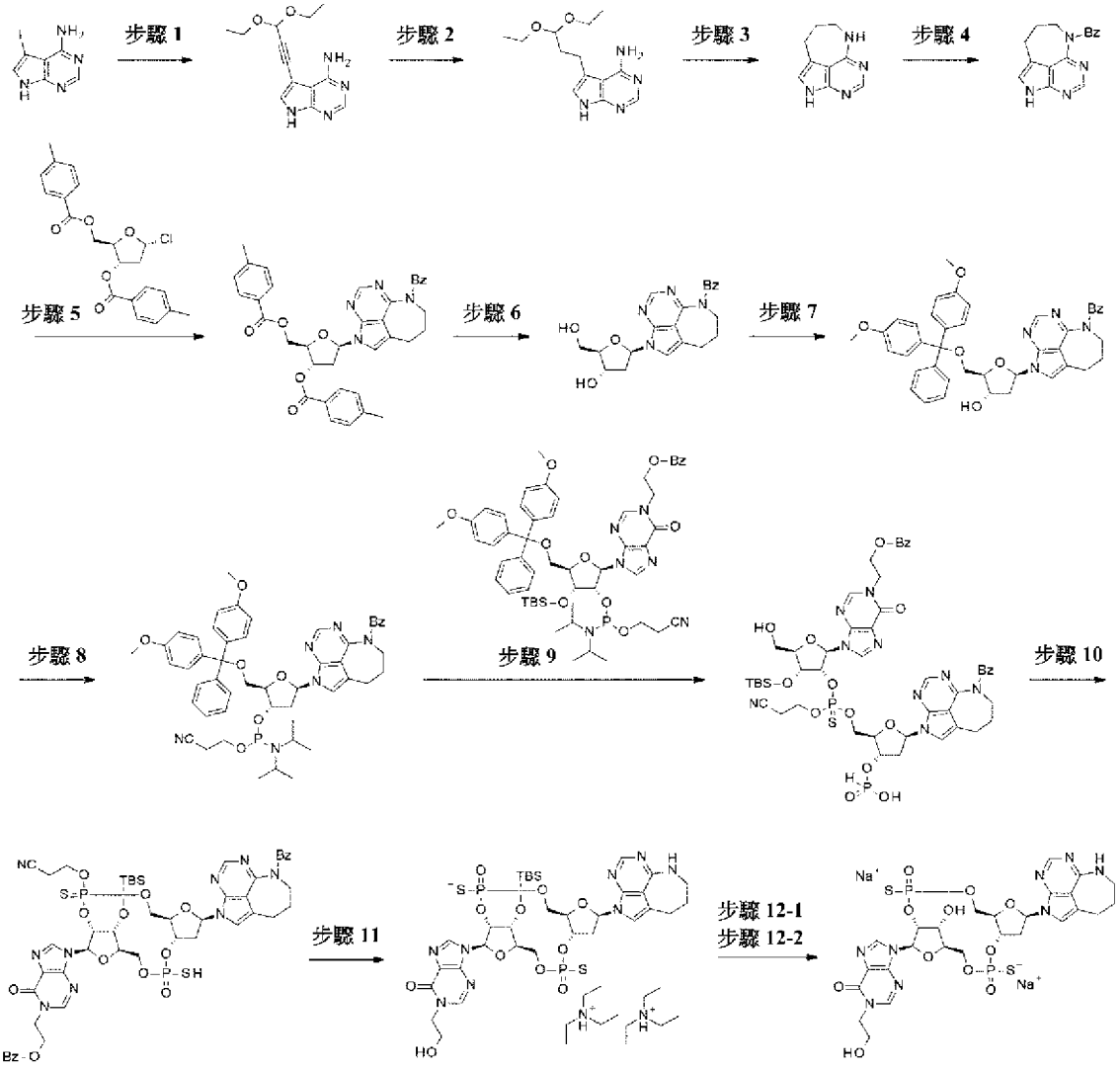
32a (非鏡像異構物 1)

32b (非鏡像異構物 2)

【0762】

[合成流程圖]

【0763】



【0764】

(步驟 1)

5-(3,3-二乙氧基丙-1-炔-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺

於市售(PharmaBlock)之 5-碘基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺(22g)之 N,N-二甲基甲醯胺(70mL)溶液中，添加碘化銅(1.61g)、雙(三苯基膦)鈀二氯化物(5.94g)、及三乙基胺(35mL)。歷經 2 小時添加炔丙醛二乙基縮醛(22mL)，於室溫攪拌整夜。於反應液中添加氯仿(350mL)，並以水洗淨 2 次。有機層以硫酸鎂乾燥後，濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。於殘留物中添加乙酸乙酯(350mL)，並攪拌整夜。濾取析出的固體，而獲得標題化合物(9.60g)。

MS(ESI)m/z：261$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：12.04(1H，brs)，8.11(1H，brs)，7.57(1H，s)，6.56(2H，brs)，5.59(1H，s)，3.68(2H，m)，3.57(2H，m)，1.17(6H，t，J=7.3Hz).

【0765】

(步驟 2)

5-(3,3-二乙氧基丙基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺

於上述步驟 1 獲得的化合物(17.9g)之四氫呋喃(160mL)-乙醇(80mL)混合溶液中，添加 10%鈀碳(M)濕重(25.0g)，氫環境下，於室溫攪拌整夜。以矽藻土將觸媒濾除，減壓濃縮濾液，獲得標題化合物(17.0g)之粗製體。

MS(ESI)m/z：265$(M+H)^+$.

【0766】

(步驟 3)

6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁

將於上述步驟 2 獲得的化合物(50.21g)溶解於 90%乙酸水溶液(344mL)，於 50℃攪拌整夜。確認原料消失後，於反應液中添加鈀碳(M)濕重(60g)，氫環境下，於 40℃攪拌整夜。以矽藻土將觸媒濾除，減壓濃縮濾液。添加飽和碳酸氫鈉水溶液(350mL)至殘留物，以氯仿/甲醇(9：1)萃取 7 次。減壓濃縮有機層後，將殘留物以矽膠管柱層析[氯仿/甲醇]純化，獲得標題化合物(18.47g)。

MS(ESI)m/z：175$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：11.26(1H，brs)，7.97(1H，s)，7.37(1H，brs)，6.86(1H，brs)，3.35(2H，m)，2.80(2H，t，J=5.4Hz)，1.88(2H，m).

【0767】

(步驟 4)

苯基(2,7,8,9-四氫-6H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-6-基)甲酮

於上述步驟 3 獲得的化合物(8.47g)之二氯甲烷(120mL)懸浮液中，依序添加脫水吡啶(39.2mL)、N,N-二甲基胺基吡啶(2.38g)、及苯甲醯氯(22.6mL)，並於室溫攪拌 1 小時。減壓濃縮反應液後，於殘留物中添加氯仿(150mL)、甲醇(60mL)、及三乙基胺(50mL)，並於室溫攪拌 3 小時。將反應液注入至氯仿與水之二層中，以氯仿萃取。有機層以 25w/v%硫酸氫鉀水溶液洗淨 2 次，以無水硫酸鎂乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。於殘留物中依序添加乙酸乙酯(50mL)及己烷(125mL)而作成漿液狀後，攪拌 1 小時。濾取析出的固體，而獲得標題化合物(9.89g)。

MS(ESI)m/z：279$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：10.07(1H，brs)，8.11(1H，s)，7.39-7.21(5H，m)，7.12(1H，s)，4.32(2H，m)，3.06(2H，m)，2.26(2H，m).

【0768】

(步驟 5)

6-苄醯基-2-[2-去氧-3,5-雙-O-(4-甲基苄醯基)-β-D-赤型-呋喃戊糖基]-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁

於上述步驟 4 獲得的化合物(7.10g)之乙腈(80mL)懸浮液中，氮環境下，添加粉末狀之氫氧化鉀(2.9g)及參[2-(2-甲氧基乙氧基)乙基]胺(0.41mL)，並於室溫攪拌 15 分鐘。冰冷下，添加文獻已知(Synlett 2004(2)：335-337)之 2-去氧-3,5-雙-O-(4-甲基苄醯基)-α-D-赤型-呋喃戊糖基氯化物(10.12g)及乙腈(60mL)，升溫至室溫為止，攪拌整夜。於反應液中添加飽和氯化銨水溶液而停止反應。濾取析出的固體後，以水洗淨，獲得標題化合物(9.70g)。

MS(ESI)m/z：631$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.10(1H，s)，8.00-7.96(4H，m)，7.37-7.22(9H，m)，7.10(1H，s)，6.88(1H，dd，J=8.5,5.4Hz)，5.76(1H，m)，4.77(1H，dd，J=11.8，3.9Hz)，4.65-4.57(2H，m)，4.32(1H，m)，4.20(1H，m)，2.90-2.78(3H，m)，2.73(1H，ddd，J=2.1，5.7，8.5Hz)，2.44(6H，s)，2.19(2H，m).

【0769】

(步驟 6)

6-苄醯基-2-(2-去氧-β-D-赤型-呋喃戊糖基)-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁

於上述步驟 5 獲得的化合物(8.69g)之甲醇(45mL)-四氫呋喃(135mL)混合溶液中，於-10℃歷經 20 分鐘滴加 2N 氫氧化鈉水溶液(27.6mL)。於相同溫度下攪拌 2 小時後，添加 1N 鹽酸(58mL)而停止反應。減壓濃縮反應液後，將殘留物以矽膠管柱層析[氯仿/甲醇]純化，獲得標題化合物(4.09g)。

MS(ESI)m/z：395$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.04(1H，s)，7.39-7.23(5H，m)，7.05(1H，s)，6.27(1H，dd，J=9.7，5.4Hz)，6.00(1H，d，J=10.9Hz)，4.77(1H，d，J=4.8Hz)，4.41(1H，dd，J=14.5，7.9Hz)，4.19(1H，s)，4.15(1H，dd，J=14.5，7.9Hz)，3.94(1H，d，J=12.7Hz)，3.74(1H，m)，3.16-2.95(3H，m)，2.30-2.14(3H，m)，1.96(1H，s).

【0770】

(步驟 7)

6-苄醯基-2-{5-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2-去氧-β-D-赤型-呋喃戊糖基}-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁

使用於上述步驟 6 獲得的化合物(4.55g)，以與實施例 11 步驟 1 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(6.38g)。

MS(ESI)m/z：697$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.08(1H，s)，7.43(2H，d，J=7.9Hz)，7.36-7.19(13H，m)，6.84-6.76(5H，m)，4.66(1H，brs)，4.31(1H，m)，4.21(1H，m)，4.07(1H，m)，3.79(6H，s)，

3.44(1H，dd，J=10.0，3.9Hz)，3.38(1H，dd，J=10.3,4.8Hz)，2.85(2H，t，J=6.3Hz)，2.66(1H，m)，2.47(1H，ddd，J=4.1,6.5,13.9Hz)，2.18(2H，m).(僅記載能觀測到的波峰)

【0771】

(步驟 8)

6-苄醯基-2-(5-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}-2-去氧-β-D-赤型-呋喃戊糖基)-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁

使用於上述步驟 7 獲得的化合物(6.37g)，以與實施例 1 步驟 6 同樣的手法進行反應，獲得呈非鏡像異構物混合物(非鏡像異構物比=1：1)之標題化合物(6.05g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.09(0.5H，s)，8.08(0.5H，s)，7.46-7.41(2H，m)，7.35-7.19(13H，m)，6.84-6.75(5H，m)，4.82-4.76(1H，m)，4.35-4.19(3H，m)，3.89-3.54(4H，m)，3.79(1.5H，s)，3.79(1.5H，s)，3.78(1.5H，s)，3.78(1.5H，s)，3.42(1H，td，J=9.8，3.8Hz)，3.38-3.30(1H，m)，2.81(2H，t，J=6.3Hz)，2.74-2.66(1H，m)，2.63-2.49(1H，m)，2.62(1H，t，J=6.0Hz)，2.45(1H，t，J=6.3Hz)，2.21-2.14(2H，m)，1.20-1.17(9H，m)，1.11(3H，d，J=6.7Hz).

【0772】

(步驟 9)

使用於上述步驟 8 獲得的化合物(868mg)，以與實施例 1 步驟 7 同樣之手法進行反應，而獲得 6-苄醯基-2-{2-去氧-3-O-[羥基(側氧基)-λ^5-磷烷基]-β-D-赤型-呋喃戊糖基}-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁之乙腈溶液。使用此乙腈溶液及於

實施例 22 步驟 3 獲得的化合物(1.00g)，以與實施例 1 步驟 8 同樣之手法進行反應，將獲得的粗生成物直接用於之後的反應。

【0773】

(步驟 10)

2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15aS,16R)-14-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-16-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-10-(2-氰基乙氧基)-2-側氧基-2-氫硫基-10-亞硫基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基}乙基 苯甲酸酯

使用上述步驟 9 所獲得的粗生成物，以與實施例 1 步驟 9 同樣之手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(702mg)。

MS(ESI)m/z：1134$(M+H)^+$.

【0774】

(步驟 11)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15aS,16R)-16-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於上述步驟 10 獲得的化合物(702mg)，使用與實施例 1 步驟 10 同樣之手法而進行反應，獲得標題化合物之非鏡像異構物 1(119mg：含有雜質)及非鏡像異構物 2(113mg：含有雜質)。

非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：873$(M+H)^+$.

非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：873$(M+H)^+$.

【0775】

(步驟 12-1)

二鈉 (5R,7R,8R,12aR,14R,15aS,16R)-16-羥基-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

使用於上述步驟 11 獲得的化合物(非鏡像異構物 1)(119mg：含有雜質)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：5%-30%(0 分-40 分)]。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(51.8mg)。

MS(ESI)m/z：759$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.69(1H，s)，8.24(1H，s)，8.02(1H，s)，7.09(1H，s)，6.68(1H，t，J=7.0Hz)，6.29(1H，d，J=8.5Hz)，5.36-5.27(2H，m)，4.75-4.71(1H，m)，4.41-4.30(3H，m)，

4.28-4.12(3H，m)，4.06-4.00(1H，m)，3.94-3.84(1H，m)，3.82(2H，t，J=4.8Hz)，3.52-3.47(2H，m)，2.91-2.69(4H，m)，2.04-1.96(2H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：57.3(s)，54.9(s).

【0776】

(步驟 12-2)

二鈉 (5R,7R,8R,12aR,14R,15aS,16R)-16-羥基-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

使用於上述步驟 11 獲得的化合物(非鏡像異構物 2)(113mg：含有雜質)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：5%-25%(0 分-40 分)]。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(65.4mg)。

MS(ESI)m/z：759$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.78(1H，s)，8.24(1H，s)，8.02(1H，s)，7.08(1H，s)，6.73(1H，dd，J=9.1，5.4Hz)，6.29(1H，d，J=8.5Hz)，5.59-5.52(1H，m)，5.45-5.37(1H，m)，4.45(1H，

d，J=4.2Hz)，4.40-4.16(6H，m)，4.01(1H，d，J=12.7Hz)，3.87-3.75(3H，m)，3.53-3.46(2H，m)，2.93-2.88(2H，m)，2.87-2.65(2H，m)，2.06-1.96(2H，m).

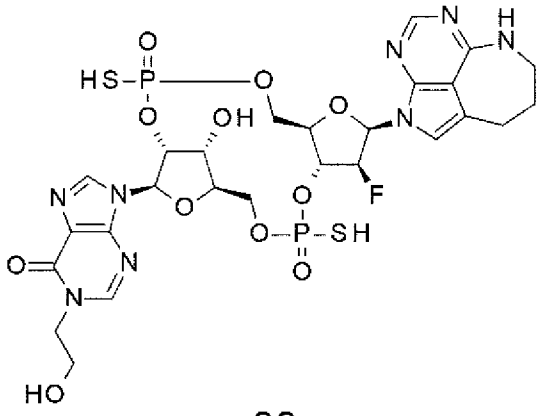
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：63.1(s)，57.3(s).

【0777】

實施例43：CDN33之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16R)-15-氟-16-羥 基-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0778】



33

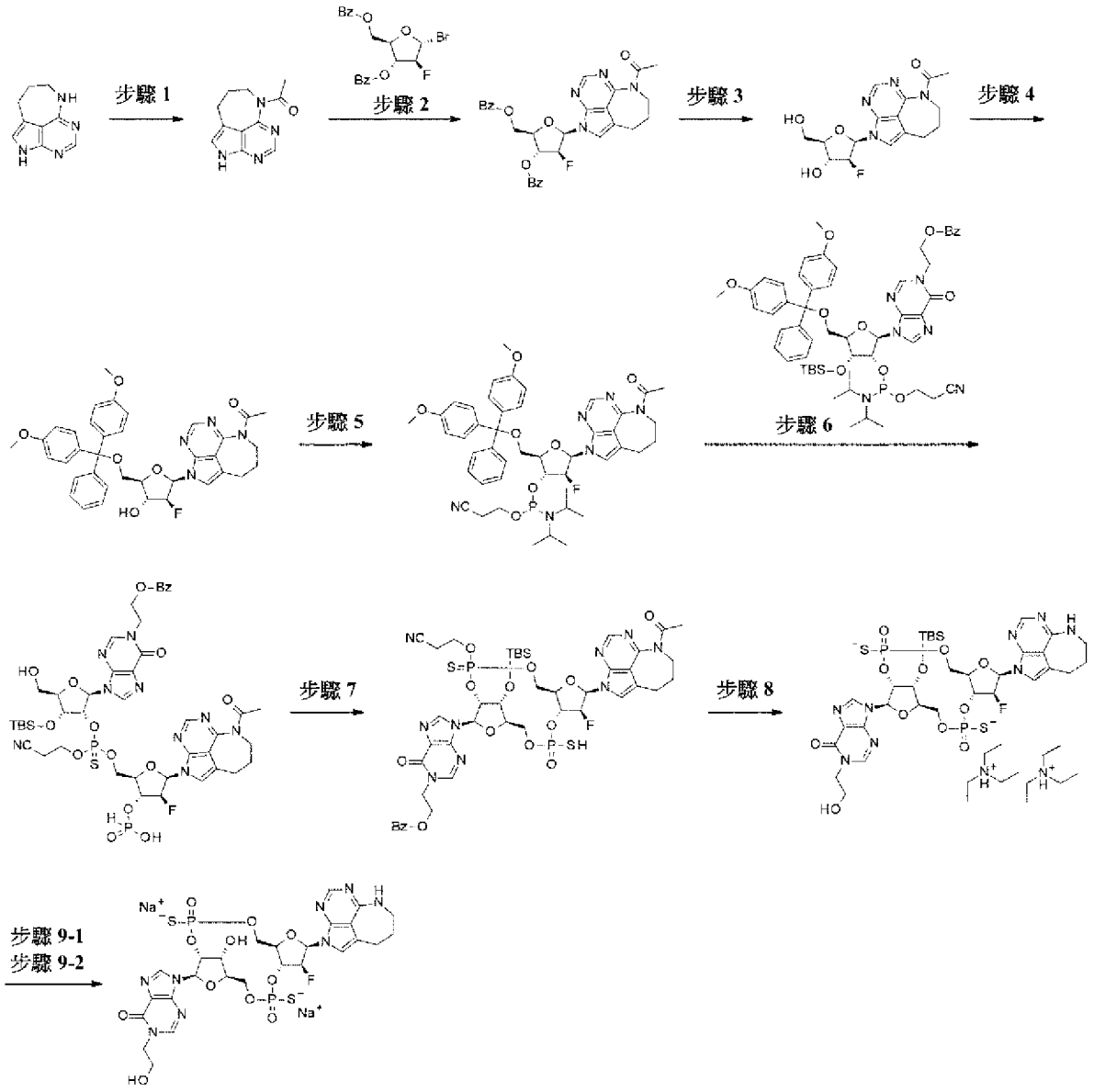
33a (非鏡像異構物 1)

33b (非鏡像異構物 2)

【0779】

[合成流程圖]

【0780】



【0781】

(步驟 1)

1-(2,7,8,9-四氫-6H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-6-基)乙烷-1-酮

將實施例 42 步驟 3 獲得的化合物(6.88g)溶解於乙酸酐(48mL)，於 90℃攪拌。將反應液減壓濃縮，將殘留物溶解於氯仿(100mL)-甲醇(50mL)-三乙基胺(30mL)之混合液。於室溫攪拌 4 小時後，將反應液注入氯仿與水的二層中，以氯仿萃取。有機層以硫酸鎂乾燥後，濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。於殘留物中

添加己烷/乙酸乙酯(1：2)而作成漿液狀後，濾取固體，獲得標題化合物(7.18g)。

MS(ESI)m/z：217$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.47(1H，s)，7.21(1H，s)，4.11(2H，d，J=8.5Hz)，2.97(2H，t，J=6.3Hz)，2.46(3H，s)，2.06(2H，m).

【0782】

(步驟 2)

6-乙醯基-2-(3,5-二-O-苄醯基-2-去氧-2-氟-β-D-阿拉伯呋喃糖基)-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁

使用於上述步驟 1 獲得的化合物(6.00g)及市售(CARBOSYNTH)之[(2R,3R,4S,5R)-3-苄醯基氧基-5-溴-4-氟-四氫呋喃-2-基]甲基 苯甲酸酯(14.1g)，以與實施例 42 步驟 5 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(11.45g)。

MS(ESI)m/z：559$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.58(1H，s)，8.12(4H，t，J=7.3Hz)，7.69-7.44(6H，m)，7.28(1H，d，J=2.4Hz)，6.92(1H，dd，J=23.3,2.7Hz)，5.77(1H，dd，J=17.5，3.0Hz)，5.34(1H，dd，J=50.2,3.0Hz)，4.83(2H，dd，J=11.8，4.5Hz)，4.76(2H，dd，J=11.8，5.1Hz)，4.56(1H，m)，4.14(2H，m)，2.90(2H，t，J=6.7Hz)，2.07(3H，s).

【0783】

(步驟 3)

6-乙醯基-2-(2-去氧-2-氟-β-D-阿拉伯呋喃糖基)-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁

於上述步驟 2 獲得的化合物(8.70g)之甲醇(58mL)-四氫呋喃(117mL)混合溶液中，於-20℃歷經 12 分鐘滴加 2N 氫氧化鈉水溶液(32mL)。於相同溫度下攪拌 3 小時後，添加 1N 鹽酸(66mL)而停止反應。減壓濃縮反應液後，將殘留物以矽膠管柱層析[氯仿/甲醇]純化，獲得標題化合物(3.27g)。

MS(ESI)m/z：351$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.54(1H，s)，7.20(1H，d，J=1.8Hz)，6.68(1H，dd，J=17.5，4.2Hz)，5.16(1H，ddd，J=52.0，2.4，1.2Hz)，4.75(1H，ddd，J=19.2，2.6，1.3Hz)，4.16(1H，m)，4.08(2H，m)，3.99(1H，dd，J=12.1,3.6Hz)，3.92(1H，dd，J=12.1,4.2Hz)，2.93(2H，m)，2.52(3H，s)，2.07(2H，m).(僅記載能觀測到的波峰)

【0784】

(步驟 4)

6-乙醯基-2-{5-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2-去氧-2-氟-β-D-阿拉伯呋喃糖基}-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁

使用於上述步驟 3 獲得的化合物(3.95g)，以與實施例 11 步驟 1 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(5.66g)。

MS(ESI)m/z：653$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.56(1H，s)，7.50-7.20(10H，m)，6.85-6.78(5H，m)，5.07(1H，dt，J=51.8，3.2Hz)，4.59(1H，brd，J=18.1Hz)，4.21-4.02(3H，m)，3.80(3H，s)，3.79(3H，s)，3.50(1H，dd，J=10.3,5.4Hz)，3.44(1H，dd，J=10.0，5.1Hz)，2.88(2H，m)，2.54(3H，s)，2.42(1H，brs)，2.07(2H，m).

【0785】

(步驟 5)

6-乙醯基-2-(5-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}-2-去氧-2-氟-β-D-阿拉伯呋喃糖基)-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁

使用於上述步驟 4 獲得的化合物(5.68g)，以與實施例 1 步驟 6 同樣的手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物(非鏡像異構物比=1：1)之標題化合物(5.08g)。

MS(ESI)m/z：853$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.58(0.5H，s)，8.57(0.5H，s)，7.51-7.20(10H，m)，6.85-6.76(5H，m)，5.24-5.02(1H，m)，4.76-4.60(1H，m)，4.21-4.05(3H，m)，3.91-3.74(1H，m)，3.80(1.5H，s)，3.79(1.5H，s)，3.79(1.5H，s)，3.79(1.5H，s)，3.69-3.55(3H，m)，3.49-3.37(2H，m)，2.95-2.80(2H，m)，2.61(1H，t，J=6.3Hz)，2.54(3H，s)，2.43(1H，t，J=6.7Hz)，2.11-2.03(2H，m)，1.21-1.17(9H，m)，1.11(3H，d，J=7.3Hz).

【0786】

(步驟 6)

使用於上述步驟 5 獲得的化合物(1.00g)，以與實施例 1 步驟 7 同樣之手法進行反應，獲得 6-乙醯基-2-{2-去氧-2-氟-3-O-[羥基(側氧基)-λ^5-磷烷基]-β-D-阿拉伯呋喃糖基}-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁之乙腈溶液。使用此乙腈溶液及於實施例 22 步驟 3 獲得的化合物(1.21g)，以與實施例 1 步驟 8 同樣之手法而進行反應，將獲得的粗生成物直接用於之後的反應。

【0787】

(步驟 7)

2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(6-乙醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-16-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-10-(2-氰基乙氧基)-15-氟-2-側氧基-2-氫硫基-10-亞巯基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基}乙基 苯甲酸酯

使用上述步驟 6 所獲得的粗生成物，以與實施例 1 步驟 9 同樣之手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(757mg)。

MS(ESI)m/z：1090(M＋H)$^+$.

【0788】

(步驟 8)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16R)-16-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-15-氟-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於上述步驟 7 獲得的化合物(757mg)，使用與實施例 1 步驟 10 同樣之手法而進行反應，獲得標題化合物之非鏡像異構物 1(113mg：含有雜質)及非鏡像異構物 2(108mg：含有雜質)。

非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：891(M＋H)$^+$.

非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：891$(M+H)^+$.

【0789】

(步驟 9-1)

二 鈉 (5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16R)-15-氟-16-羥基-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ⁵,10λ⁵-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

使用於上述步驟 8 獲得的化合物(非鏡像異構物 1)(113mg：含有雜質)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：5%-30%(0 分-30 分)]。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(28.8mg)。

MS(ESI)m/z：777$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.67(1H，s)，8.24(1H，s)，8.04(1H，s)，7.05(1H，s)，6.73(1H，dd，J=23.9，2.7Hz)，6.28(1H，d，J=8.5Hz)，5.43-5.24(3H，m)，4.77-4.72(1H，m)，4.51-4.32(4H，m)，4.26-4.12(2H，m)，4.06-3.91(2H，m)，3.82(2H，t，J=5.1Hz)，3.50(2H，t，J=5.1Hz)，2.92-2.85(2H，m)，2.06-1.97(2H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：57.8(s)，54.7(s).

【0790】

(步驟 9-2)

二 鈉 (5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16R)-15-氟-16-羥基-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

使用於上述步驟 8 獲得的化合物(非鏡像異構物 2)(108mg：含有雜質)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：5%-20%(0 分-30 分)]。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(3.2mg)。

MS(ESI)m/z：777$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.76(1H，s)，8.23(1H，s)，8.04(1H，s)，7.06(1H，s)，6.73(1H，dd，J=24.5，2.1Hz)，6.28(1H，d，J=8.5Hz)，5.53-5.45(1H，m)，5.43-5.27(2H，m)，4.62-4.49(1H，m)，4.45-4.41(1H，m)，4.40-4.27(2H，m)，4.27-4.15(3H，m)，4.03-3.92(2H，m)，3.87-3.78(2H，m)，3.51(2H，t，J=5.6Hz)，2.90(2H，t，J=5.6Hz)，2.08-1.96(2H，m).

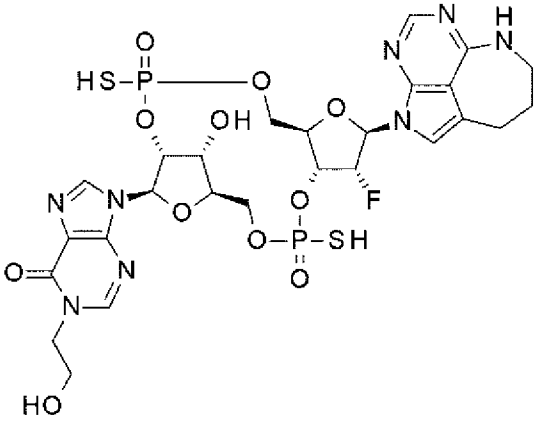
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：63.0(s)，57.8(s).

【0791】

實施例 44：CDN34 之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-氟-16-羥 基-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ⁵,10λ⁵-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0792】



34

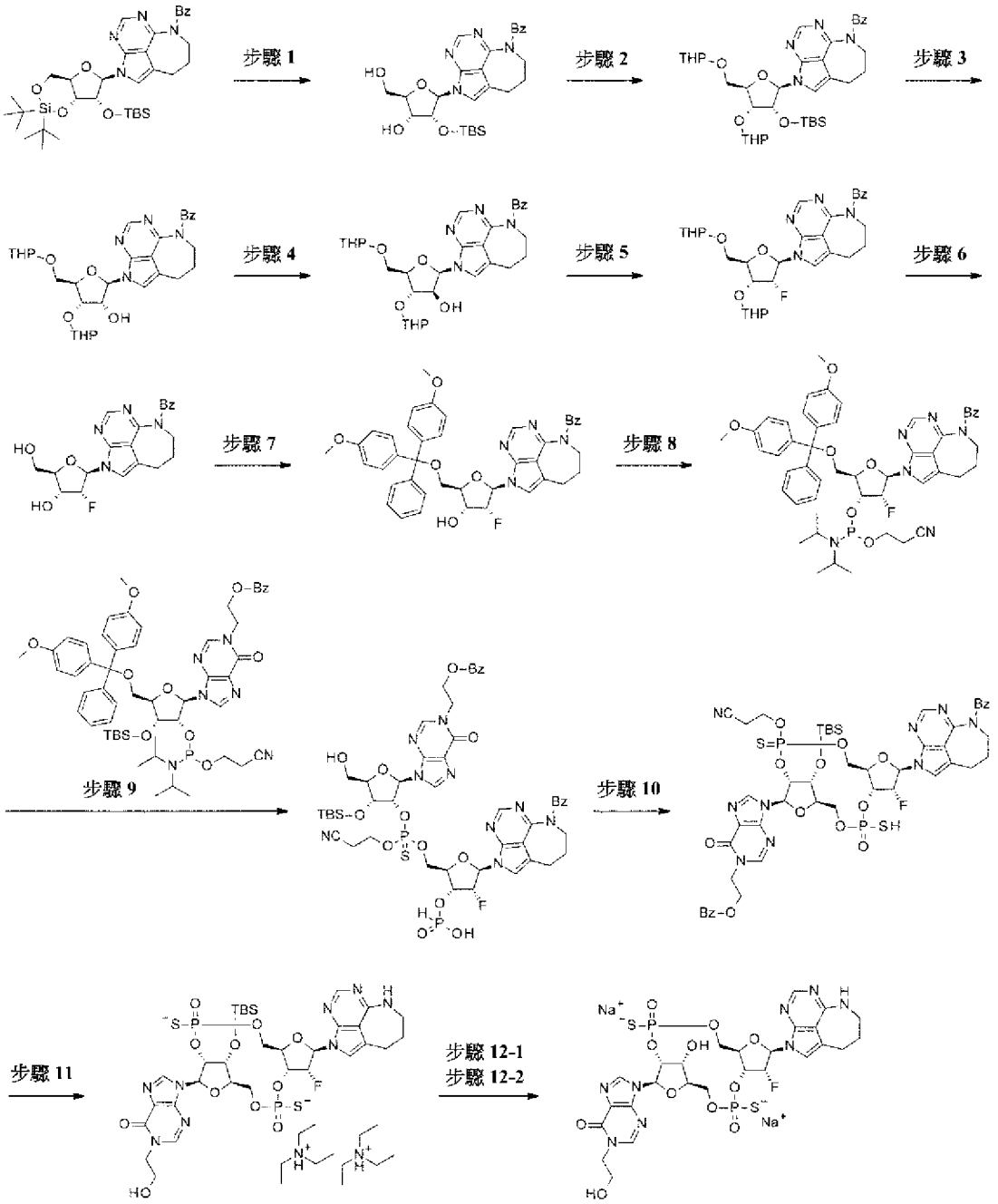
34a (非鏡像異構物 1)

34b (非鏡像異構物 2)

【0793】

[合成流程圖]

【0794】



【0795】

(步驟 1)

6-苄醯基-2-{2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-β-D-核呋喃糖基}-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁

於實施例 1 步驟 4 獲得的化合物(35.80g)之二氯甲烷(322mL)-吡啶(35mL)混合溶液中，冰冷下歷經 5 分鐘添加氟化氫-吡啶(6.33g)之二氯甲烷(36mL)溶液，並於相同溫度下攪拌 3

小時。於反應液中依序添加飽和碳酸氫鈉水溶液(268mL)及飽和食鹽水(143mL)而停止反應，以乙酸乙酯萃取。有機層以無水硫酸鈉乾燥後，濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。於殘留物中添加己烷/乙酸乙酯(1：1)(108mL)而作成漿液狀後，於50℃30分鐘攪拌，追加己烷(161mL)而進一步攪拌2小時。濾取析出的固體，以己烷/乙酸乙酯(4：1)(143mL)洗淨，而獲得標題化合物(26.81g)。

MS(ESI)m/z：525$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：7.98(1H，s)，7.65(1H，s)，7.39(1H，m)，7.26-7.20(4H，m)，6.19(1H，d，J=6.5Hz)，5.15(1H，t，J=5.6Hz)，5.00(1H，d，J=4.8Hz)4.48(1H，t，J=5.6Hz)，4.27(1H，m)，4.11-4.02(2H，m)，3.97(1H，m)，3.67-3.57(2H，m)，2.99(2H，m)，2.23-2.07(2H，m)，0.68(9H，s)，-0.11(3H，s)，-0.26(3H，s).

【0796】

(步驟2)

6-苄醯基-2-{2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3,5-雙-O-(氧環己烷-2-基)-β-D-核呋喃糖基}-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁

於上述步驟1獲得的化合物(19.93g)與3,4-二氫-2H-哌喃(35mL)之N,N-二甲基甲醯胺(200mL)溶液中，冰冷下添加對甲苯磺酸一水合物(7.25g)，並於室溫攪拌3小時。冰冷下於反應液中添加飽和碳酸氫鈉水溶液而將反應停止，以乙酸乙酯萃取。有機層依序以水及飽和食鹽水洗淨，以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(24.73g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.10-8.07(1H，m)，7.59-7.35(1H，m)，7.35-7.27(3H，m)，7.25-7.17(2H，m)，6.44-6.36(1H，m)，4.90-3.36(13H，m)，3.06-2.96(2H，m)，2.31-2.15(2H，m)，2.01-1.43(12H，m)，0.84-0.73(9H，m)，0.04-(-0.35)(6H，m).

【0797】

(步驟 3)

6-苄醯基-2-[3,5-雙-O-(氧環己烷-2-基)-β-D-核呋喃糖基]-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁

於上述步驟 2 獲得的化合物(24.73g)及乙酸(3.1mL)之四氫呋喃(250mL)溶液中，冰冷下添加氟化四丁基銨之四氫呋喃溶液(約 1M，55mL)，並於室溫攪拌整夜。將反應液減壓濃縮，將乙酸乙酯加至殘留物，依序以水及飽和食鹽水洗淨。有機層以無水硫酸鈉乾燥後，濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(18.74g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.12-8.09(1H，m)，7.49-7.30(4H，m)，7.28-7.20(2H，m)，6.41-6.30(1H，m)，4.83-4.18(7H，m)，4.12-3.50(7H，m)，3.06-2.97(2H，m)，2.31-2.17(2H，m)，1.96-1.47(12H，m).

【0798】

(步驟 4)

6-苄醯基-2-[3,5-雙-O-(氧環己烷-2-基)-β-D-阿拉伯呋喃糖基]-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁

於上述步驟 3 獲得的化合物(18.74g)及吡啶(13.1mL)之二氯甲烷(300mL)溶液中，冰冷下滴加三氟甲磺酸酐(11mL)並攪

拌 10 分鐘。添加飽和食鹽水至反應液中而停止反應，以二氯甲烷萃取，有機層以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物溶解於四氫呋喃(300mL)，冰冷下滴加亞硝酸四丁基銨(28.34g)之四氫呋喃(150mL)溶液，並於室溫攪拌整夜。將反應液減壓濃縮，將乙酸乙酯加至殘留物，依序以水及飽和食鹽水洗淨。有機層以無水硫酸鈉乾燥後，濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(10.46g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.13-8.06(1H，m)，7.63-7.30(4H，m)，7.29-7.18(2H，m)，6.79-6.55(1H，m)，4.93-3.45(14H，m)，3.11-2.95(2H，m)，2.32-2.14(2H，m)，1.98-1.44(12H，m).

【0799】

(步驟 5)

6-苄醯基-2-[2-去氧-2-氟-3,5-雙-O-(氧環己烷-2-基)-β-D-核呋喃糖基]-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁

於上述步驟 4 獲得的化合物(10.46g)及吡啶(7.3mL)之二氯甲烷(200mL)溶液中，冰冷下滴加三氟甲磺酸酐(6.1mL)並攪拌 10 分鐘。於反應液中添加飽和食鹽水而停止反應，以二氯甲烷萃取，有機層以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物溶解於四氫呋喃(200mL)，冰冷下添加氟化四丁基銨之四氫呋喃溶液(約 1M，150mL)，並於相同溫度下攪拌 3 小時。於反應液中添加飽和氯化銨水溶液，並以乙酸乙酯萃取。有機層以飽和食鹽水洗淨，以無水硫酸鈉乾燥後，濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(7.65g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.13-8.08(1H，m)，7.53-7.31(4H，m)，7.26-7.22(2H，m)，6.68-6.53(1H，m)，5.42-5.08(1H，m)，4.93-4.18(6H，m)，4.10-3.76(3H，m)，3.71-3.47(3H，m)，3.06-2.96(2H，m)，2.29-2.18(2H，m)，1.96-1.47(12H，m).

【0800】

(步驟 6)

6-苄醯基-2-(2-去氧-2-氟-β-D-核呋喃糖基)-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁

於上述步驟 5 獲得的化合物(7.65g)之乙醇(150mL)溶液中，添加對甲苯磺酸吡啶鹽(6.62g)，並於 50℃攪拌 3 小時。將反應液減壓濃縮，將乙酸乙酯加至殘留物，依序以飽和碳酸氫鈉水溶液及飽和食鹽水洗淨。有機層以無水硫酸鈉乾燥後，濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(3.55g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.05(1H，s)，7.41-7.35(3H，m)，7.30-7.24(2H，m)，7.06(1H，s)，6.07-6.00(2H，m)，5.85(1H，ddd，J=52.8，6.7，4.7Hz)，4.66(1H，d，J=3.9Hz)，4.42-4.31(2H，m)，4.20(1H，m)，3.93(1H，dd，J=12.9，1.6Hz)，3.74(1H，td，J=12.3，1.6Hz)，3.12-2.96(2H，m)，2.51(1H，s)，2.33-2.15(2H，m).

【0801】

(步驟 7)

6-苄醯基-2-{5-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2-去氧-2-氟-β-D-核呋喃糖基}-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁

使用於上述步驟 6 獲得的化合物(3.55g)，以與實施例 11 步驟 1 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(5.77g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.09(1H，s)，7.45-7.41(2H，m)，7.36-7.17(13H，m)，6.85-6.79(4H，m)，6.53(1H，dd，J=17.2，2.3Hz)，5.40(1H，ddd，J=53.2,4.8，2.3Hz)，4.83-4.72(1H，m)，4.32-4.21(2H，m)，4.19-4.14(1H，m)，3.79(3H，s)，3.79(3H，s)，3.59(1H，dd，J=11.0，2.7Hz)，3.45(1H，dd，J=11.0，3.5Hz)，2.79(2H，t，J=6.3Hz)，2.45(1H，s)，2.24-2.11(2H，m).

【0802】

(步驟 8)

6-苄醯基-2-(5-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}-2-去氧-2-氟-β-D-核呋喃糖基)-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁

使用於上述步驟 7 獲得的化合物(5.77g)，以與實施例 1 之步驟 6 同樣之手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物(非鏡像異構物比=1：1)之標題化合物(5.95g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.10(0.5H，s)，8.09(0.5H，s)，7.45-7.12(15H，m)，6.84-6.75(4H，m)，6.57-6.46(1H，m)，5.61-5.33(1H，m)，5.07-4.83(1H，m)，4.34-4.18(3H，m)，3.93-3.72(7H，m)，3.69-3.49(4H，m)，3.38-3.27(1H，m)，2.87-2.68(2H，m)，2.61(1H，td，J=6.3，1.6Hz)，2.40(1H，td，J=6.4，2.1Hz)，2.21-2.12(2H，m)，1.21-1.13(9H，m)，1.03(3H，d，J=6.7Hz).

【0803】

(步驟 9)

使用於上述步驟 8 獲得的化合物(1.02g)，以與實施例 1 步驟 7 同樣之手法進行反應，獲得 6-苄醯基-2-{2-去氧-2-氟-3-O-[羥基(側氧基)-λ^5-磷烷基]-β-D-核呋喃糖基}-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁之乙腈溶液。使用獲得的乙腈溶液及於實施例 22 步驟 3 獲得的化合物(1.15g)，以與實施例 1 步驟 8 同樣之手法而進行反應，將獲得的粗生成物直接用於之後的反應。

【0804】

(步驟 10)

2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-16-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-10-(2-氰基乙氧基)-15-氟-2-側氧基-2-氫硫基-10-亞巯基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基}乙基 苯甲酸酯

使用上述步驟 9 所獲得的粗生成物，以與實施例 1 步驟 9 同樣之手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(818mg：含有雜質)。

MS(ESI)m/z：1152(M＋H)$^+$.

【0805】

(步驟 11)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-16-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-15-氟-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-二側氧基-14-

(6,7,8,9-四 氫-2H-2,3,5,6-四 氮 苯 并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ5,10λ5-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於上述步驟 10 獲得的化合物(818mg)，使用與實施例 1 步驟 10 同樣之手法而進行反應，獲得標題化合物之非鏡像異構物 1(107mg：含有雜質)及非鏡像異構物 2(101mg：含有雜質)。

非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：891$(M+H)^+$.

非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：891$(M+H)^+$.

【0806】

(步驟 12-1)

二 鈉 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-氟-16-羥基-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

使用於上述步驟 11 獲得的化合物(非鏡像異構物 1)(107mg：含有雜質)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：5%-30%(0 分-30 分)]。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(29.1mg)。

MS(ESI)m/z：777$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.58(1H，m)，8.11(1H，m)，8.03(1H，s)，7.11(1H，s)，6.47(1H，d，J=17.5Hz)，6.26(1H，d，J=8.5Hz)，5.53-5.36(2H，m)，5.29-5.17(1H，m)，4.77(1H，d，J=4.2Hz)，4.54-4.46(1H，m)，4.44-4.38(1H，m)，4.35-4.32(1H，m)，4.30-4.25(2H，m)，4.25-4.16(1H，m)，4.06-3.99(1H，m)，3.96-3.85(1H，m)，3.82-3.71(2H，m)，3.54-3.42(2H，m)，2.77-2.68(1H，m)，2.66-2.55(1H，m)，2.02-1.81(2H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：57.5(s)，53.0(s).

【0807】

(步驟 12-2)

二鈉 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-氟-16-羥基-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

使用於上述步驟 11 獲得的化合物(非鏡像異構物 2)(101mg：含有雜質)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：5%-20%(0 分-30 分)]。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(11.2mg)。

MS(ESI)m/z：777$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.61(1H，m)，8.16(1H，m)，8.02(1H，m)，7.36(1H，s)，6.49(1H，dd，J=16.0，2.1Hz)，6.28(1H，d，J=8.5Hz)，5.56-5.33(3H，m)，4.58-4.49(2H，m)，4.45-4.37(2H，m)，4.31-4.27(1H，m)，4.25-4.16(1H，m)，4.10-3.98(3H，m)，3.80(2H，t，J=5.1Hz)，3.48(2H，dd，J=6.7，3.6Hz)，2.90-2.72(2H，m)，2.00-1.90(2H，m).

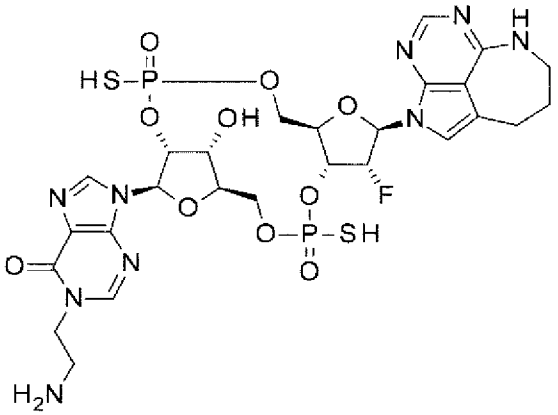
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：59.5(s)，57.7(s).

【0808】

實施例 45：CDN35 之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-[1-(2-胺基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-15-氟-16-羥基-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0809】



35

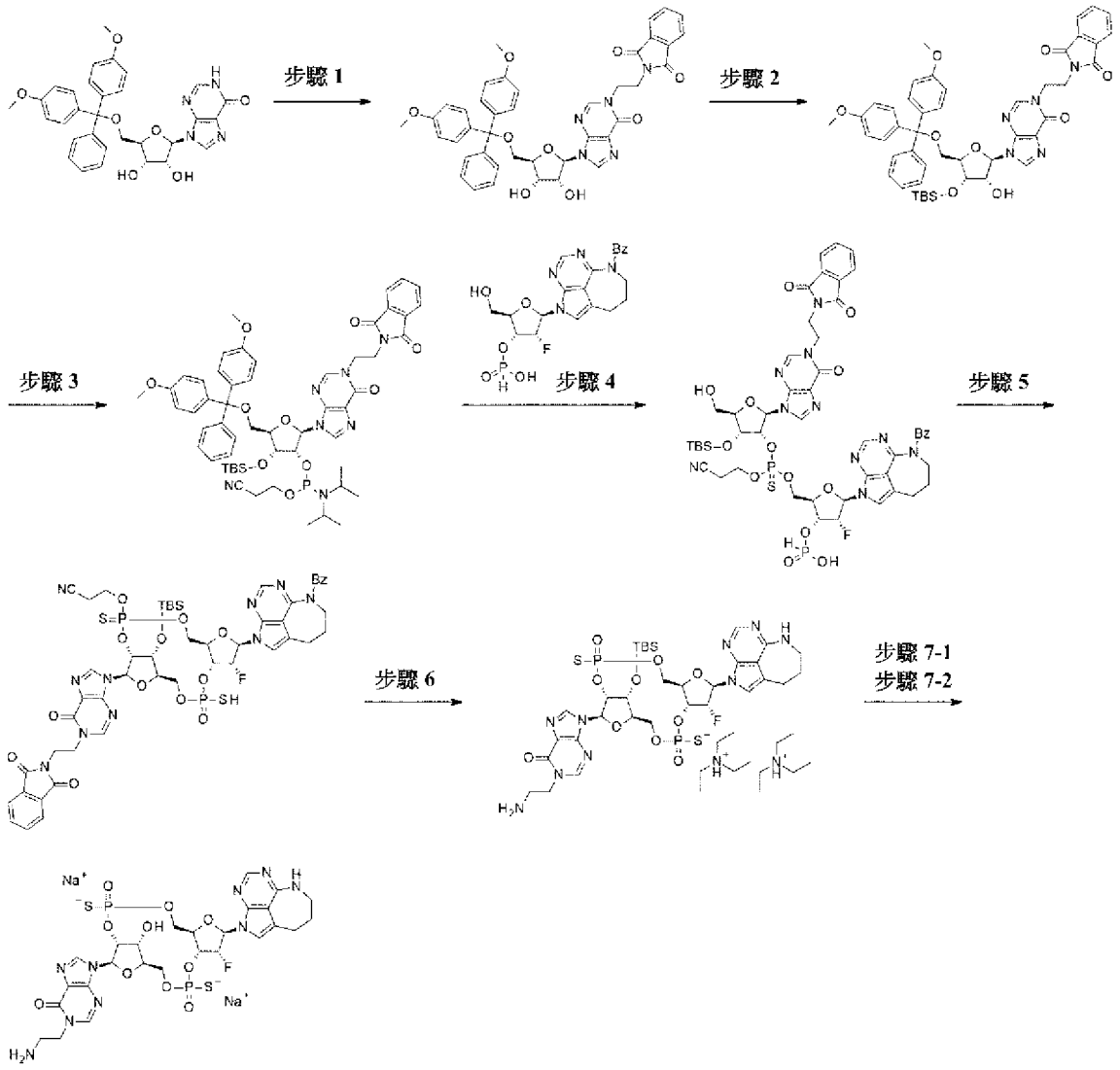
35a (非鏡像異構物 1)

35b (非鏡像異構物 2)

【0810】

[合成流程圖]

【0811】



【0812】

(步驟 1)

5’-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-1-[2-(1,3-二側氧基-1,3-二氫-2H-異吲哚-2-基)乙基]肌苷

於市售(Aamdis Chemical)之 5’-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]肌苷(13.0g)之 N,N-二甲基乙醯胺(60mL)懸浮液中，添加 N-(2-溴乙基)酞醯亞胺(7.02g)及 1,8-二氮雙環[5.4.0]-7-十一烯(4.1mL)，並於室溫攪拌整夜。追加 N-(2-溴乙基)酞醯亞胺(1.75g)及 1,8-二氮雙環[5.4.0]-7-十一烯(1.1mL)，進一步攪拌 1 日。於反應液中添加水而停止反應，以二氯甲烷萃取。有機層以無水硫酸鈉乾燥後，濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[乙酸乙酯/甲醇]純化，獲得標題化合物(12.4g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：7.83(1H，s)，7.76-7.67(4H，m)，7.64(1H，s)，7.35-7.33(2H，m)，7.25-7.11(7H，m)，6.74-6.70(4H，m)，5.93(1H，d，J=5.1Hz)，5.68(1H，d，J=3.9Hz)，4.71(1H，q，J=4.8Hz)，4.43(1H，m)，4.37-4.18(3H，m)，4.10-4.06(2H，m)，3.730(3H，s)，3.728(3H，s)，3.51(1H，m)，3.36(1H，dd，J=10.6，3.9Hz)，3.32(1H，dd，J=11.0，5.5Hz).

【0813】

(步驟 2)

5’-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3’-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-1-[2-(1,3-二側氧基-1,3-二氫-2H-異吲哚-2-基)乙基]肌苷

使用於上述步驟 1 獲得的化合物(12.4g)，以與實施例 5 步驟 3 同樣的手法進行反應，獲得標題化合物(4.18g)及為標題化合物之位置異構物的 5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-1-[2-(1,3-二側氧基-1,3-二氫-2H-異吲哚-2-基)乙基]肌苷(6.31g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.00(1H，s)，7.82-7.77(2H，m)，7.74(1H，s)，7.72-7.67(2H，m)，7.41-7.39(2H，m)，7.32-7.19(7H，m)，6.83-6.78(4H，m)，5.90(1H，d，J=5.1Hz)，4.53-4.41(3H，m)，4.32-4.25(1H，m)，4.19-4.11(3H，m)，3.79(3H，s)，3.78(3H，s)，3.46(1H，dd，J=10.6，3.1Hz)，3.24(1H，dd，J=10.8，4.1Hz)，2.98(1H，d，J=6.7Hz)，0.85(9H，s)，0.04(3H，s)，-0.03(3H，s).

位置異構物(2'-O-TBS 體)

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：7.97(1H，s)，7.82-7.78(2H，m)，7.73-7.69(2H，m)，7.66(1H，s)，7.44-7.41(2H，m)，7.33-7.18(7H，m)，6.81(4H，d，J=7.8Hz)，5.91(1H，d，J=5.9Hz)，4.82(1H，t，J=5.5Hz)，4.43(1H，m)，4.34-4.23(3H，m)，4.18-4.08(2H，m)，3.79(6H，s)，3.46(1H，dd，J=10.6，2.7Hz)，3.36(1H，dd，J=10.6，3.5Hz)，2.70(1H，d，J=3.1Hz)，0.83(9H，s)，-0.04(3H，s)，-0.19(3H，s).

【0814】

(步驟 3)

5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-2'-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}-1-[2-(1,3-二側氧基-1,3-二氫-2H-異吲哚-2-基)乙基]肌苷

使用於上述步驟 2 獲得的化合物(8.89g)，以與實施例 1 步驟 6 同樣的手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物(非鏡像異構物比=1：1)之標題化合物(9.45g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.01(0.5H，s)，8.00(0.5H，s)，7.82-7.77(2H，m)，7.74(0.5H，s)，7.72-7.67(2.5H，m)，7.42(2H，d，J=7.8Hz)，7.33-7.18(7H，m)，6.81(4H，d，J=8.6Hz)，6.10(0.5H，d，J=5.5Hz)，6.04(0.5H，d，J=5.1Hz)，4.75(0.5H，m)，4.60(0.5H，m)，4.49-4.41(1H，m)，4.38-4.23(2H，m)，4.22-4.05(3H，m)，3.79(6H，s)，3.78-3.65(1H，m)，3.62-3.39(4H，m)，3.33-3.23(1H，m)，2.49(1H，t，J=6.3Hz)，2.34(1H，t，J=6.7Hz)，1.12-1.08(9H，m)，0.91(3H，d，J=7.0Hz)，0.82(9H，s)，0.06(1.5H，s)，0.03(1.5H，s)，-0.03(3H，s).

【0815】

(步驟 4)

使用於實施例 44 步驟 8 獲得的化合物(1.30g)，以與實施例 1 步驟 7 同樣之手法進行反應，獲得 6-苄醯基-2-{2-去氧-2-氟-3-O-[羥基(側氧基)-λ^5-磷烷基]-β-D-核呋喃糖基}-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁之乙腈溶液。使用獲得的乙腈溶液及於上述步驟 3 獲得的化合物(1.50g)，以與實施例 1 步驟 8 同樣之手法進行反應，將獲得的粗生成物直接用於之後的反應。

【0816】

(步驟 5)

3-{[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-16-{[三

級丁基(二甲基)矽基]氧基}-7-{1-[2-(1,3-二側氧基-1,3-二氫-2H-異吲哚-2-基)乙基]-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基}-15-氟-2-側氧基-2-氫硫基-10-亞巯基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ⁵,10λ⁵-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-10-基]氧基}丙腈

使用上述步驟 4 所獲得的粗生成物，以與實施例 1 步驟 9 同樣之手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(828mg)。

MS(ESI)m/z：1177(M＋H)⁺.

【0817】

(步驟 6)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-[1-(2-胺基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-16-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-15-氟-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ⁵,10λ⁵-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

於上述步驟 5 獲得的化合物(828mg)之乙醇(5.0mL)-四氫呋喃(5.0mL)混合溶液中，添加肼一水合物(0.342mL)，並於 50℃攪拌 6 小時。減壓濃縮反應液後，殘留物以 C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]純化，獲得標題化合物之非鏡像異構物 1(90.9mg：含有雜質)及非鏡像異構物 2(91.1mg：含有雜質)。

非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：890(M＋H)⁺.

非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：890(M＋H)$^+$.

【0818】

(步驟 7-1)

二鈉 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-[1-(2-胺基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-15-氟-16-羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

使用於上述步驟 6 獲得的化合物(非鏡像異構物 1)(90.9mg：含有雜質)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈-甲醇溶液(1：1)，乙腈-甲醇溶液(1：1)：10%-50%(0 分-40 分)]。

獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(20.2mg)。

MS(ESI)m/z：776(M＋H)$^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.54(1H，s)，8.03(1H，s)，7.99(1H，s)，7.13(1H，s)，6.44(1H，d，J=18.1Hz)，6.22(1H，d，J=7.9Hz)，5.56-5.38(2H，m)，5.33-5.21(1H，m)，4.72(1H，d，J=4.2Hz)，4.58-4.49(1H，m)，4.41-4.24(4H，m)，4.24-4.17(1H，m)，4.05-3.98(1H，m)，3.86-3.76(1H，m)，3.50-3.42(2H，m)，3.27-3.16(2H，m)，2.78-2.68(1H，m)，2.59-2.49(1H，m)，1.98-1.80(2H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：57.5(s)，53.1(s).

【0819】

(步驟 7-2)

二鈉 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-[1-(2-胺基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-15-氟-16-羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

使用於上述步驟 6 獲得的化合物(非鏡像異構物 2)(91.1mg：含有雜質)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈-甲醇溶液(1：1)，乙腈-甲醇溶液(1：1)：10%-45%(0 分-40 分)]。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(26.3mg)。

MS(ESI)m/z：776$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.56(1H，s)，8.08(1H，s)，8.02(1H，s)，7.37(1H，s)，6.48(1H，d，J=16.2Hz)，6.23(1H，d，J=7.9Hz)，5.58-5.32(3H，m)，4.65-4.27(6H，m)，4.07-3.96(3H，m)，3.48-3.42(2H，m)，3.38-3.23(2H，m)，2.85-2.75(1H，m)，2.69-2.59(1H，m)，1.99-1.81(2H，m).

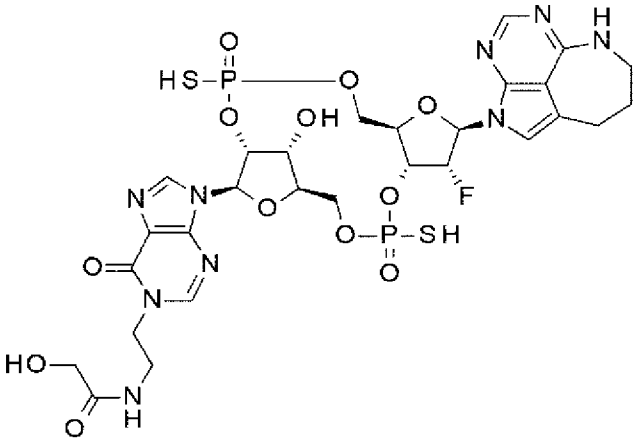
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：59.0(s)，57.6(s).

【0820】

實施例 46：CDN36 之合成

N-(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-氟-16-羥基-2,10-二側氧基-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ⁵,10λ⁵-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基}乙基)-2-羥基乙醯胺

【0821】



36

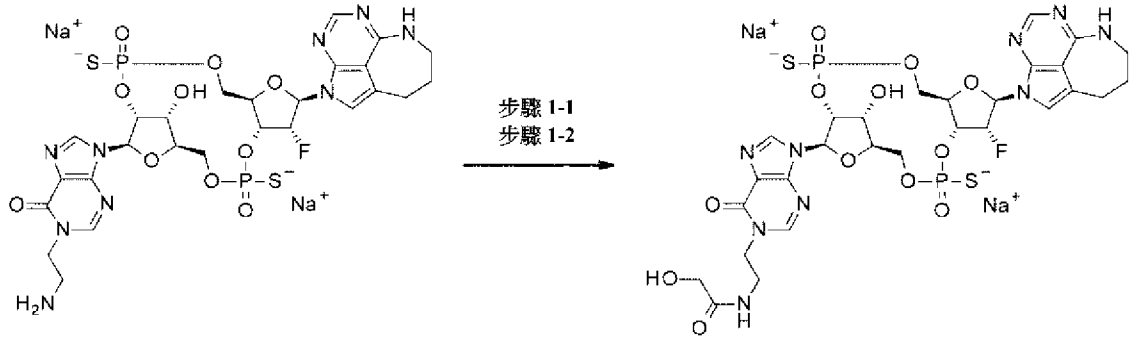
36a (非鏡像異構物 1)

36b (非鏡像異構物 2)

【0822】

[合成流程圖]

【0823】



【0824】

(步驟 1-1)

二鈉 (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,16R)-16-氟-15-羥基-7-{1-[2-(2-羥基乙醯胺)乙基]-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基}-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

使用於實施例 45 步驟 7-1 獲得的化合物(15.0mg)，以與實施例 7 步驟 1-1 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈-甲醇溶液(1：1)，乙腈-甲醇溶液(1：1)：10%-45%(0 分-40 分)]。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(10.3mg)。

MS(ESI)m/z：834$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.46(1H，brm)，8.04(1H，s)，7.82(1H，brm)，7.15(1H，brm)，6.43(1H，d，J=16.9Hz)，6.17(1H，dd，J=9.1,4.5Hz)，5.70-5.24(3H，m)，4.81-4.75(1H，m)，4.52-4.44(1H，m)，4.43-4.26(4H，m)，4.24-3.94(2H，m)，3.89-3.84(2H，m)，3.72-3.37(5H，m)，2.75-2.65(1H，m)，2.48-2.32(1H，m)，1.98-1.76(2H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：57.0(s)，53.0(s).

【0825】

(步驟 1-2)

二鈉 (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,16R)-16-氟-15-羥基-7-{1-[2-(2-羥基乙醯胺)乙基]-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基}-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)
(非鏡像異構物 2)

使用於實施例 45 步驟 7-2 獲得的化合物(15.0mg)，以與實施例 7 步驟 1-1 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈-甲醇溶液(1：1)，乙腈-甲醇溶液(1：1)：10%-45%(0 分-40 分)]。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(10.6mg)。

MS(ESI)m/z：834$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.54(1H，brs)，8.03(1H，s)，7.97(1H，brs)，7.35(1H，brs)，6.48(1H，d，J=15.7Hz)，6.23(1H，d，J=8.5Hz)，5.65-5.39(3H，m)，4.57-4.47(2H，m)，4.46-4.36(2H，m)，4.31-4.19(2H，m)，4.07-3.96(2H，m)，3.95-3.78(3H，m)，3.67-3.43(4H，m)，2.85-2.75(1H，m)，2.71-2.59(1H，m)，2.00-1.84(2H，m).

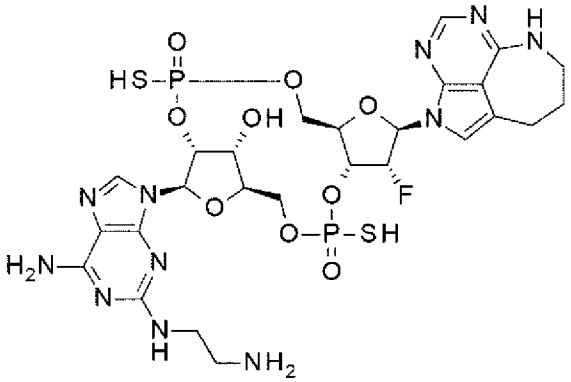
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：59.1(s)，57.5(s).

【0826】

實施例 47：CDN37 之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{6-胺基-2-[(2-胺基乙基)胺基]-9H-嘌呤-9-基}-15-氟-16-羥基-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0827】



37

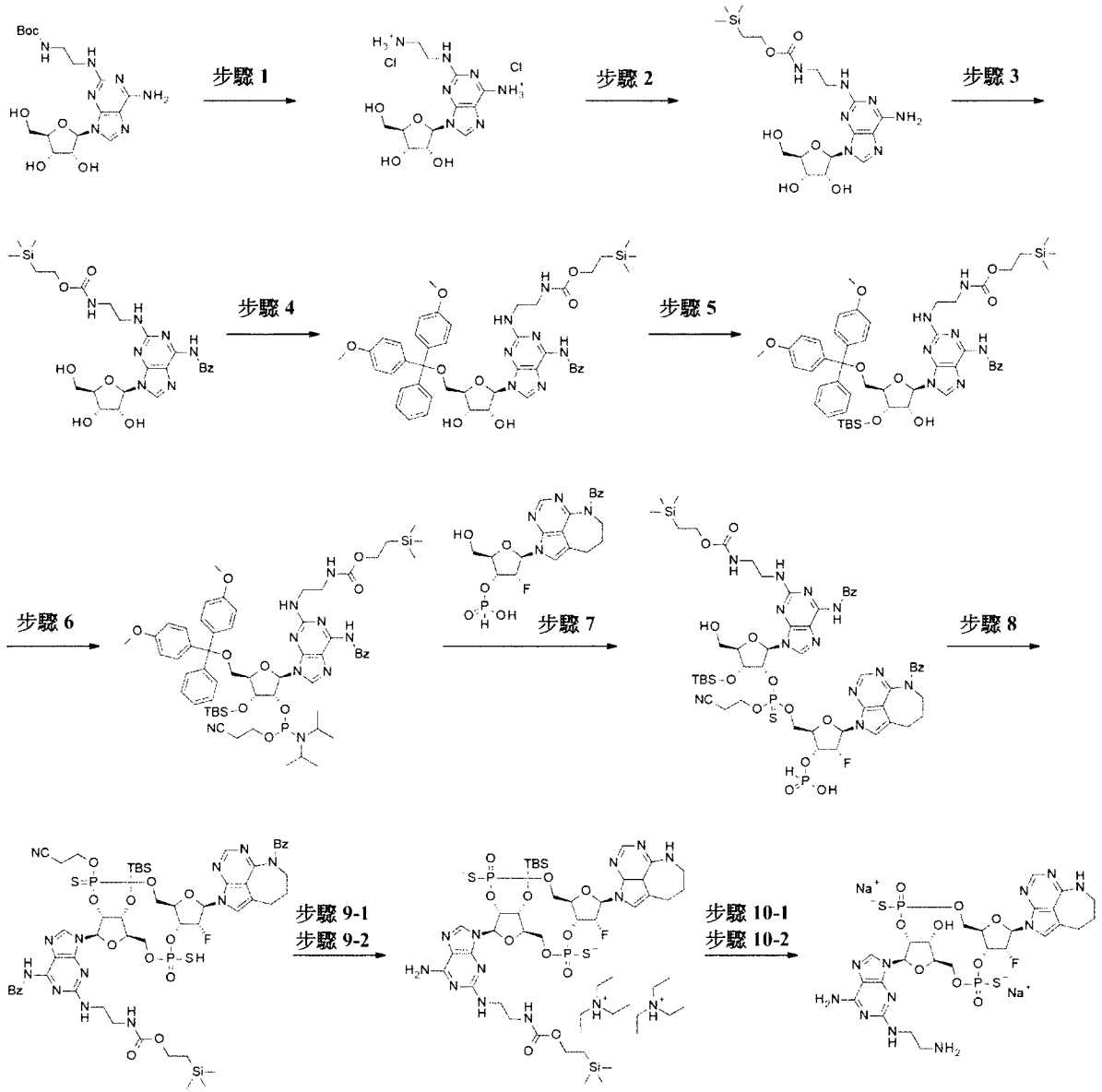
37a (非鏡像異構物 1)

37b (非鏡像異構物 2)

【0828】

[合成流程圖]

【0829】



【0830】

(步驟 1)

2-[(2-銨基乙基)胺基]腺苷二氯化物(2-[(2-azaniumylethyl)amino]adenosine dichloride)

於文獻已知(WO2012/159072)之 2-({2-[(三級丁氧基羰基)胺基]乙基}胺基)腺苷(28.7g)之甲醇(240mL)溶液中，添加氯化氫之二噁烷溶液(約 4M，240mL)，並於室溫攪拌整夜。將反應液減壓濃縮至 50mL 左右後，以二乙基醚使析出的固體懸浮而濾取，獲得標題化合物(28.8g)。

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.32(1H，s)，5.98(1H，d，J=6.0Hz)，4.51(1H，t，J=5.4Hz)，4.30(1H，dd，J=5.1,3.3Hz)，4.14-4.11(1H，m)，3.86-3.72(4H，m)，3.23(2H，t，J=6.0Hz).

【0831】

(步驟 2)

2-{[2-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)乙基]胺基}腺苷

於上述步驟 1 獲得的化合物(28.8g)之四氫呋喃(330mL)-水(70mL)混合液中，添加三乙基胺(37mL)及 1-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}氧基)吡咯啶-2,5-二酮(18.4g)，並於室溫攪拌 3 小時。將反應液減壓濃縮，以甲苯共沸。使殘留物懸浮於甲苯而濾取固體。使獲得的固體溶解於二氯甲烷及甲醇，並減壓濃縮。於殘留物中添加四氫呋喃，濾除析出的固體，並減壓濃縮濾液。使殘留物溶解於二氯甲烷及甲醇，並減壓濃縮。使析出的固體懸浮於二氯甲烷而濾取，獲得標題化合物(22.5g)。

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：7.92(1H，s)，5.83(1H，d，J=6.0Hz)，4.77(1H，t，J=5.4Hz)，4.33(1H，dd，J=4.8，3.0Hz)，4.14-4.10(3H，m)，3.87(1H，dd，J=12.4，2.7Hz)，3.73(1H，dd，J=12.1,3.0Hz)，3.50-3.42(2H，m)，3.32-3.29(2H，m)，0.98-0.86(2H，m)，0.03(9H，s).

【0832】

(步驟 3)

N-苄醯基-2-{[2-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)乙基]胺基}腺苷

使用於上述步驟 2 獲得的化合物(24.7g)，以與實施例 11 步驟 3 同樣之手法進行反應，而獲得標題化合物(22.1g)。

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.19(1H，s)，8.05(2H，d，J=7.9Hz)，7.63(1H，t，J=7.6Hz)，7.54(2H，t，J=7.6Hz)，5.95(1H，d，J=5.4Hz)，4.75(1H，t，J=5.4Hz)，4.36(1H，t，J=4.5Hz)，4.11-4.07(3H，m)，3.86(1H，dd，J=12.4，3.3Hz)，3.75(1H，dd，J=12.1,3.6Hz)，3.59-3.47(2H，m)，3.36-3.33(2H，m)，0.92(2H，t，J=8.2Hz)，0.00(9H，s).

【0833】

(步驟 4)

N-苄醯基-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2-{[2-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)乙基]胺基}腺苷

使用於上述步驟 3 獲得的化合物(22.1g)，以與實施例 11 步驟 1 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(29.5g)。

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：10.7(1H，s)，8.09(1H，s)，8.01-7.99(2H，m)，7.64-7.60(1H，m)，7.52(2H，t，J=7.6Hz)，7.36-7.34(2H，m)，7.26-7.17(7H，m)，7.05-7.02(1H，m)，6.95-6.92(1H，m)，6.85-6.80(4H，m)，5.88(1H，d，J=4.8Hz)，5.53(1H，d，J=5.4Hz)，5.20(1H，d，J=5.4Hz)，4.72-4.63(1H，m)，4.34-4.26(1H，m)，4.05-3.99(3H，m)，3.72-3.71(6H，m)，3.31-3.10(6H，m)，0.89(2H，t，J=8.5Hz)，0.00(9H，s).

【0834】

(步驟 5)

N-苄醯基-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-2-{[2-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)乙基]胺基}腺苷

使用於上述步驟 4 獲得的化合物(29.5g)，以與實施例 5 步驟 3 同樣的手法進行反應，獲得標題化合物(6.85g)。

^{1}H-NMR(DMSO-d_6, 90℃)δ：10.3(1H，brs)，8.02(1H，s)，7.99(2H，d，J=7.3Hz)，7.60(1H，t，J=7.3Hz)，7.51(2H，t，J=7.6Hz)，7.37(2H，d，J=7.3Hz)，7.28-7.20(7H，m)，6.85-6.82(4H，m)，6.69-6.53(2H，m)，5.86(1H，d，J=5.4Hz)，5.07-5.04(1H，m)，4.80-4.74(1H，m)，4.36-4.33(1H，m)，4.08-3.99(3H，m)，3.74(6H，s)，3.37-3.15(6H，m)，0.89(2H，t，J=7.9Hz)，0.86(9H，s)，0.09(3H，s)，0.04(3H，s)，0.01(9H，s).

【0835】

(步驟 6)

N-苄醯基-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-2'-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}-2-{[2-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)乙基]胺基}腺苷

使用於上述步驟 5 獲得的化合物(6.22g)，以與實施例 1 步驟 6 同樣的手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物(非鏡像異構物比=1：1)之標題化合物(6.18g)。

^{1}H-NMR(CD_3Cl)δ：8.82(1H，s)，8.00-7.97(2H，m)，7.88(0.5H，s)，7.85(0.5H，s)，7.59(1H，t，J=7.0Hz)，7.51(2H，t，J=7.6Hz)，7.43(2H，d，J=7.3Hz)，7.33-7.20(7H，

m)，6.81(4H，d，J=8.5Hz)，6.08-6.01(1H，m)，5.19-4.88(2H，m)，4.51-4.42(1H，m)，4.20-4.08(3H，m)，3.82-3.24(11H，m)，3.78(6H，s)，2.52(1H，5，J=6.3Hz)，2.38-2.34(1H，m)，1.14-1.09(9H，m)，0.90-0.85(2H，m)，0.87(9H，s)，0.12(1.5H，s)，0.09(1.5H，s)，0.03(3H，s)，-0.01(9H，s).

【0836】

(步驟 7)

使用於實施例 44 步驟 8 獲得的化合物(1.03g)，以與實施例 1 步驟 7 同樣之手法進行反應，獲得 6-苄醯基-2-{2-去氧-2-氟-3-O-[羥基(側氧基)-λ^5-磷烷基]-β-D-核呋喃糖基}-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁之乙腈溶液。使用獲得的乙腈溶液及於上述步驟 6 獲得的化合物(999mg)，以與實施例 1 步驟 8 同樣之手法進行反應，將獲得的粗生成物直接用於之後的反應。

【0837】

(步驟 8)

2-(三甲基矽基)乙基 [2-({6-苯甲醯胺-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-16-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-10-(2-氰基乙氧基)-15-氟-2-側氧基-2-氫硫基-10-亞巯基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-9H-嘌呤-2-基}胺基)乙基]胺甲酸酯

使用上述步驟 7 所獲得的混合物，以與實施例 1 步驟 9 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物之非鏡像異構物 1(370mg：含有雜質)及非鏡像異構物 2(201mg：含有雜質)。

非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：1307$(M-H)^-$.

非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：1307$(M-H)^-$.

【0838】

(步驟 9-1)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-胺基-2-{[2-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)乙基]胺基}-9H-嘌呤-9-基)-16-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-15-氟-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於上述步驟 8 獲得的化合物(非鏡像異構物 1)(370mg：含有雜質)，以與實施例 1 步驟 10 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(134mg：含有雜質)。

MS(ESI)m/z：1048$(M+H)^+$.

【0839】

(步驟 9-2)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-胺基-2-{[2-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)乙基]胺基}-9H-嘌呤-9-基)-16-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-15-氟-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於上述步驟 8 獲得的化合物(非鏡像異構物 2)(201mg：含有雜質)，以與實施例 1 步驟 10 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(49.1mg：含有雜質)。

MS(ESI)m/z：1048$(M+H)^+$.

【0840】

(步驟 10-1)

二鈉 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{6-胺基-2-[(2-胺基乙基)胺基]-9H-嘌呤-9-基}-15-氟-16-羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ⁵,10λ⁵-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

使用於上述步驟 9-1 獲得的化合物(134mg)而以與實施例 40 步驟 5 同樣之手法進行反應後，以 C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(22mg)。

MS(ESI)m/z：790$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.04(1H，brs)，8.01(1H，s)，7.06(1H，s)，6.43(1H，d，J=16.9Hz)，6.00(1H，d，J=7.3Hz)，5.78-5.55(1H，m)，5.39(1H，dd，J=51.7，3.9Hz)，5.31-5.18(1H，m)，4.80(1H，d，J=3.6Hz)，4.50-4.44(1H，m)，4.40-4.32(4H，m)，4.14-4.10(1H，m)，3.52-3.40(2H，m)，3.35-3.23(2H，m)，3.06-2.90(2H，m)，2.63-2.53(1H，m)，2.40-2.20(1H，m)，1.99-1.76(2H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：57.2(s)，52.6(s).

【0841】

(步驟 10-2)

二鈉 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{6-胺基-2-[(2-胺基乙基)胺基]-9H-嘌呤-9-基}-15-氟-16-羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

使用於上述步驟 9-2 獲得的化合物(49.1mg：含有雜質)，以與實施例 40 步驟 5 同樣之手法進行反應後，以 C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(21mg)。

MS(ESI)m/z：790$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.02(1H，brs)，8.01(1H，s)，7.40(1H，s)，6.48(1H，d，J=16.3Hz)，6.01(1H，d，J=7.9Hz)，5.80-5.63(1H，m)，5.45-5.28(2H，m)，4.54-4.48(2H，m)，4.41-4.36(2H，m)，4.28-4.20(2H，m)，4.08-4.03(1H，m)，3.54-3.41(2H，m)，3.40-2.52(6H，m)，2.03-1.84(2H，m).

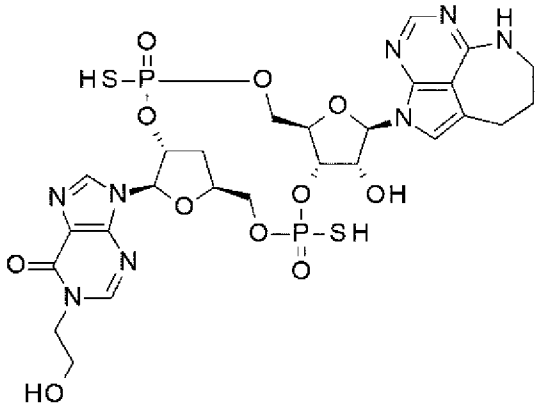
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：57.8(s).

【0842】

實施例 48：CDN38 之合成

(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS)-15-羥基-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0843】



38

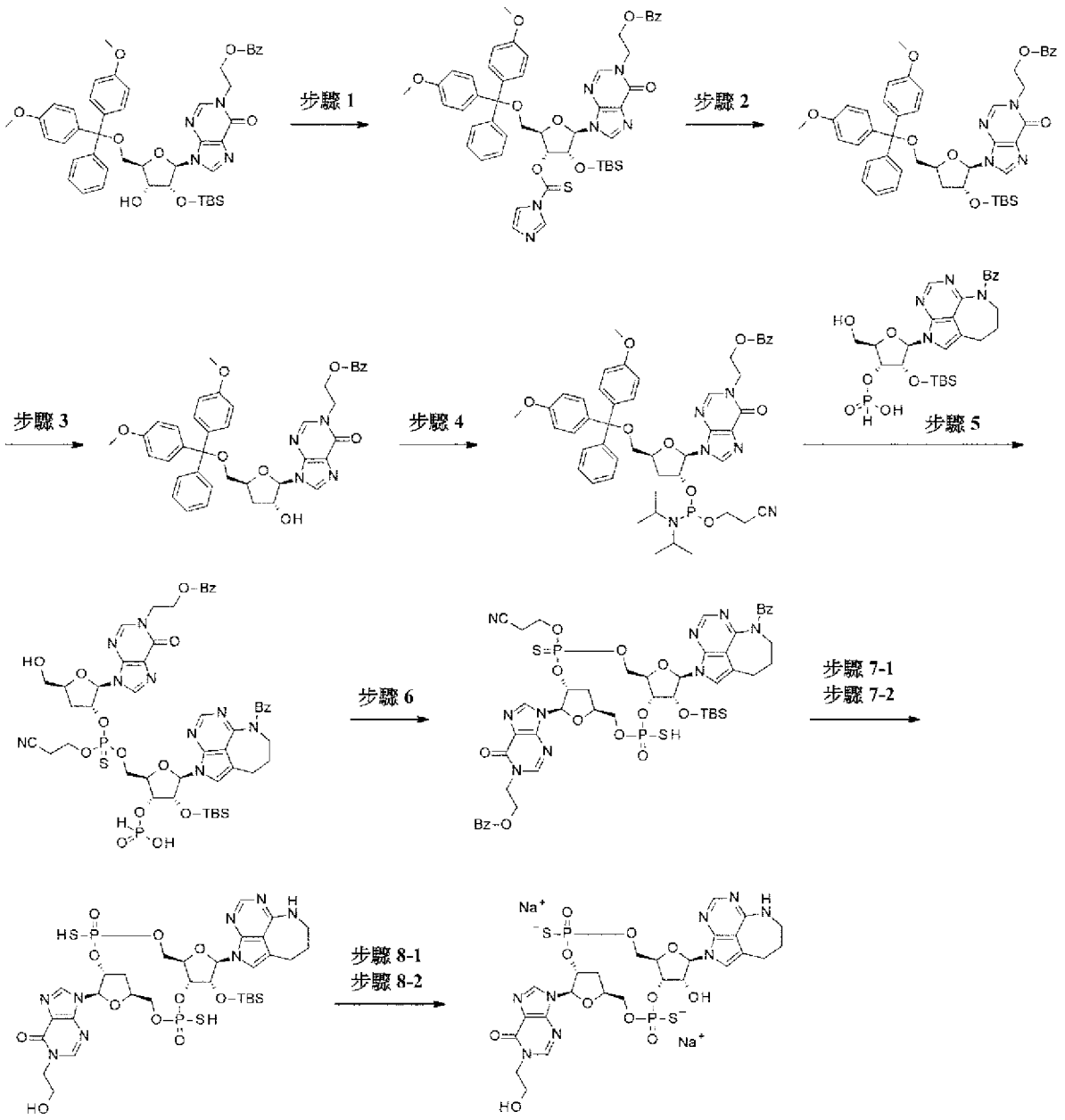
38a (非鏡像異構物 1)

38b (非鏡像異構物 2)

【0844】

[合成流程圖]

【0845】



【0846】

(步驟 1)

1-[2-(苄醯基氧基)乙基]-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3'-O-(1H-咪唑-1-硫代甲醯基)肌苷

於實施例 22 步驟 2 獲得的化合物(2'-O-TBS 體)(1.45g)之 N,N-二甲基甲醯胺(8.7mL)溶液中，於室溫添加 N,N-二甲基-4-胺基吡啶(213mg)及二(1H-咪唑-1-基)甲硫酮(1.55g)，並攪拌

20小時。反應液以乙酸乙酯稀釋，依序以飽和碳酸氫鈉水溶液及飽和食鹽水洗淨。有機層以無水硫酸鈉乾燥後，濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(1.58g)。

MS(ESI)m/z：943$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.38(1H，s)，8.05(1H，s)，8.02-7.94(3H，m)，7.93(1H，s)，7.66-7.65(1H，m)，7.60-7.52(1H，m)，7.46-7.18(10H，m)，7.08(1H，s)，6.83-6.80(4H，m)，6.07(1H，dd，J=5.4，3.0Hz)，6.02(1H，d，J=6.0Hz)，5.20(1H，dd，J=6.7，5.4Hz)，4.72-4.63(2H，m)，4.55-4.38(3H，m)，3.78(3H，s)，3.77(3H，s)，3.57-3.56(2H，m)，0.65(9H，s)，-0.11(3H，s)，-0.26(3H，s).

【0847】

(步驟2)

1-[2-(苄醯基氧基)乙基]-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3'-去氧肌苷

於上述步驟1獲得的化合物(1.69g)之苯(10mL)溶液中，於室溫添加氫化三丁基錫(1.42mL)及 2,2'-偶氮雙(異丁腈)(29.4mg)，並於80℃攪拌4小時。將反應液減壓濃縮，殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(1.12g)。

MS(ESI)m/z：817$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：7.99-7.96(4H，m)，7.60-7.55(1H，m)，7.46-7.19(11H，m)，6.83-6.81(4H，m)，5.94(1H，d，J=1.2Hz)，4.68-4.60(4H，m)，4.52-4.39(2H，m)，3.79(6H，

s)，3.42-3.34(2H，m)，2.15-2.08(1H，m)，1.94-1.89(1H，m)，0.86(9H，s)，0.06(3H，s)，0.04(3H，s).

【0848】

(步驟 3)

1-[2-(苄醯基氧基)乙基]-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-去氧肌苷

於上述步驟 2 獲得的化合物(1.75g)之四氫呋喃(11mL)溶液中，於 0℃添加氟化四丁基銨之四氫呋喃溶液(約 1M，2.6mL)，並於室溫攪拌 3 小時。將反應液減壓濃縮，殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(1.29g)。

MS(ESI)m/z：703$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：7.99-7.95(4H，m)，7.60-7.55(1H，m)，7.45-7.37(4H，m)，7.29-7.17(7H，m)，6.81-6.78(4H，m)，5.88(1H，d，J=3.0Hz)，4.76-4.63(4H，m)，4.52-4.40(2H，m)，3.78(6H，s)，3.36(1H，dd，J=10.3,3.0Hz)，3.29(1H，dd，J=10.3,4.8Hz)，2.30-2.23(1H，m)，2.18-2.12(1H，m).(僅記載能觀測到的波峰)

【0849】

(步驟 4)

1-[2-(苄醯基氧基)乙基]-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2'-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}-3'-去氧肌苷

使用於上述步驟 3 獲得的化合物(1.28g)，以與實施例 5 步驟 4 同樣的手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物(非鏡像異構物比=1：1)之標題化合物(1.47g)。

MS(ESI)m/z：820($M-C_6H_{14}N+OH+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：7.99-7.94(4H，m)，7.59-7.56(1H，m)，7.46-7.42(4H，m)，7.33-7.18(7H，m)，6.81(4H，d，J=8.5Hz)，6.13(0.5H，br s)，6.07(0.5H，br s)，4.84-4.39(6H，m)，3.84-3.52(10H，m)，3.42-3.34(2H，m)，2.59(1H，t，J=6.3Hz)，2.52(1H，t，J=6.3Hz)，2.30-2.07(2H，m)，1.18-1.07(12H，m).

【0850】

(步驟 5)

以與實施例 1 步驟 7 相同方式，將反應以下列之規模實施(原料：836mg)。使用獲得的化合物之乙腈溶液及於上述步驟 4 獲得的化合物(735mg)，以與實施例 1 步驟 8 同樣之手法進行反應，將獲得的粗生成物直接用於之後的反應。

【0851】

(步驟 6)

2-{9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR)-14-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-15-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-10-(2-氰基乙氧基)-2-側氧基-2-氫硫基-10-亞巯基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基}乙基 苯甲酸酯

使用上述步驟 5 所獲得的粗生成物，以與實施例 1 步驟 9 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物之非鏡像異構物 1(67.6mg)及非鏡像異構物 2(91.6mg)(HPLC 之滯留時間：非鏡像異構物 1＞2)。

非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：1134$(M+H)^+$.

非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：1134$(M+H)^+$.

【0852】

(步驟 7-1)

(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR)-15-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

使用於上述步驟 6 獲得的化合物(非鏡像異構物 1)(67.6mg)，使用與實施例 1 步驟 10 同樣之手法而進行反應，以製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：0%-50%(0 分-30 分)]純化，獲得標題化合物(34.9mg)。

MS(ESI)m/z：873$(M+H)^+$.

【0853】

(步驟 7-2)

(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR)-15-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

使用於上述步驟 6 獲得的化合物(非鏡像異構物 2)(91.6mg)，使用與實施例 1 步驟 10 同樣之手法而進行反應，

以製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：0%-50%(0 分-30 分)]純化，獲得標題化合物(44.2mg)。

MS(ESI)m/z：873$(M+H)^+$.

【0854】

(步驟 8-1)

二鈉 (5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS)-15-羥基-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

使用於上述步驟 7-1 獲得的化合物(34.9mg)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以 Sep-Pak(註冊商標) C18[0.1%三乙基胺水溶液/乙腈]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(21.9mg)。

MS(ESI)m/z：759$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.34(1H，brs)，8.23(1H，s)，8.02(1H，s)，7.24(1H，brs)，6.28(1H，d，J=3.6Hz)，6.15(1H，d，J=3.0Hz)，5.37-5.32(1H，m)，4.99-4.93(1H，m)，4.74-4.58(3H，m)，4.36-4.29(2H，m)，4.24-4.13(3H，m)，4.00-3.91(1H，m)，3.82(2H，t，J=4.8Hz)，3.51-3.49(2H，m)，3.00-2.90(3H，m)，2.57-2.51(1H，m)，2.02-1.97(2H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：59.7(s)，56.2(s).

【0855】

(步驟 8-2)

二 鈉 (5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS)-15-羥 基-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

使用於上述步驟 7-2 獲得的化合物(44.2mg),以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後,以 Sep-Pak(註冊商標) C18[0.1%三乙基胺水溶液/乙腈]純化,獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

將獲得的三乙基胺鹽,以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換,獲得標題化合物(26.5mg)。

MS(ESI)m/z:759(M+H)$^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ:8.48-8.46(1H,brm),8.24(1H,s),8.03(1H,s),7.41-7.38(1H,brm),6.32(1H,d,J=4.8Hz),6.15(1H,d,J=4.2Hz),5.46-5.41(1H,m),5.21-5.17(1H,m),4.68-4.65(1H,m),4.59-4.54(2H,m),4.50-4.44(1H,m),4.35-4.32(1H,m),4.21-4.18(2H,m),4.02-3.92(2H,m),3.84-3.81(2H,m),3.52-3.50(2H,m),2.96-2.83(3H,m),2.54-2.48(1H,m),2.03-1.98(2H,m).

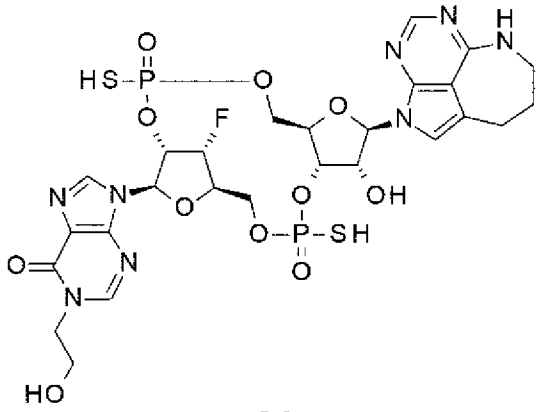
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ:60.3(s),59.1(s).

【0856】

實施例 49:CDN39 之合成

(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,16R)-16-氟-15-羥 基-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0857】



39

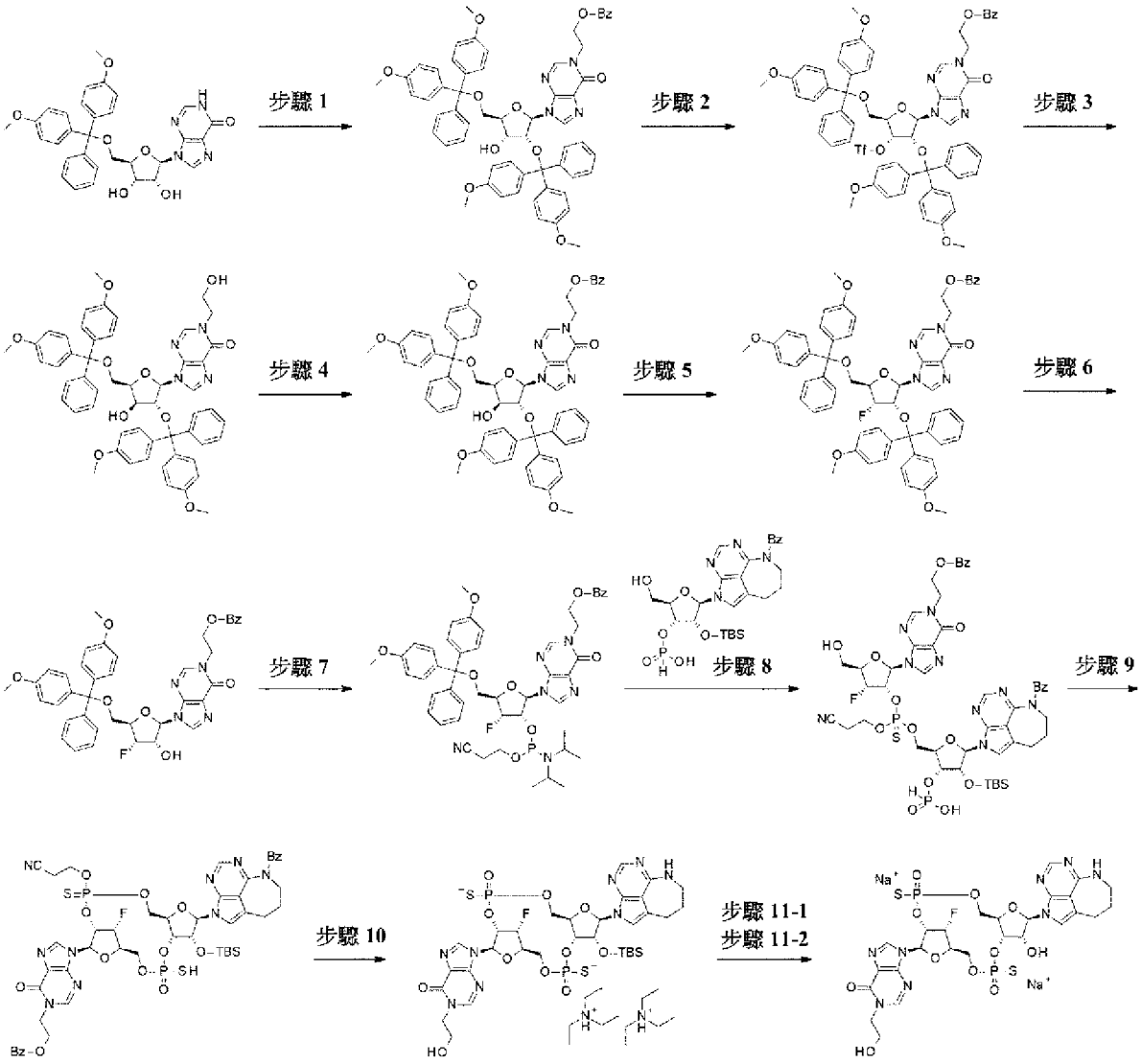
39a (非鏡像異構物 1)

39b (非鏡像異構物 2)

【0858】

[合成流程圖]

【0859】



【0860】

(步驟 1)

1-[2-(苄醯基氧基)乙基]-2',5'-雙-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]肌苷

於市售(Amadis Chemical)之 5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]肌苷(20.0g)之吡啶(50mL)-N,N-二甲基乙醯胺(70.1mL)混合溶液中，添加 4,4'-二甲氧基三苯甲基氯(12.5g)、2-溴乙基苯甲酸酯(6.60mL)、及 1,8-二氮雙環[5.4.0]-7-十一烯(13.1mL)，並於室溫攪拌 20 小時。於反應液中添加飽和碳酸氫鈉水溶液及水而停止反應後，以乙酸乙酯萃取。有機層以飽和食

鹽水洗淨，以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯/0.1%三乙基胺]純化，獲得標題化合物(24.1g：含有雜質)。

MS(ESI)m/z：1121$(M+H)^+$.

【0861】

(步驟 2)

1-[2-(苄醯基氧基)乙基]-2',5'-雙-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-O-(三氟甲烷磺醯基)肌苷

於上述步驟 1 獲得的化合物(24.1g)之二氯甲烷(120mL)溶液中，添加吡啶(19.0mL)後，於 0℃緩緩滴加三氟甲磺酸酐(5.96mL)，於相同溫度下攪拌 1 小時。於反應液中添加飽和碳酸氫鈉水溶液及水而停止反應後，以二氯甲烷萃取，有機層以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯/0.1%三乙基胺]純化，獲得標題化合物(19.7g：含有雜質)。

MS(ESI)m/z：1153$(M+H)^+$.

【0862】

(步驟 3)

9-{2,5-雙-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-β-D-呋喃木糖基}-1-(2-羥基乙基)-1,9-二氫-6H-嘌呤-6-酮

於上述步驟 2 獲得的化合物(19.7g)之 N,N-二甲基甲醯胺(85.4mL)溶液中，添加乙酸銫(8.20g)，並於室溫攪拌 16 小時。於反應液中添加甲醇(85.4mL)及碳酸鉀(4.72g)，並於室溫攪拌 2 小時。於反應液中添加水而將反應停止後，以乙酸乙酯萃取。有機層以飽和食鹽水洗淨，以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減

壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯/甲醇/0.1%三乙基胺]純化，獲得標題化合物(12.2g：含有雜質)。

MS(ESI)m/z：917$(M+H)^+$.

【0863】

(步驟4)

1-[2-(苄醯基氧基)乙基]-9-{2,5-雙-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-β-D-呋喃木糖基}-1,9-二氫-6H-嘌呤-6-酮

於上述步驟3獲得的化合物(12.2g)之二氯甲烷(48.8mL)溶液中，添加吡啶(1.61mL)及苯甲酸酐(3.16g)，並於室溫攪拌64小時。於反應液中添加飽和碳酸氫鈉水溶液及水而停止反應後，以乙酸乙酯萃取。有機層以飽和食鹽水洗淨後，以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯/甲醇/0.1%三乙基胺]純化，獲得標題化合物(7.36g：含有雜質)。

MS(ESI)m/z：1021$(M+H)^+$.

【0864】

(步驟5)

1-[2-(苄醯基氧基)乙基]-2',5'-雙-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-去氧-3'-氟肌苷

於上述步驟4獲得的化合物(7.36g)之二氯甲烷(37.0mL)溶液中，添加2,6-二甲吡啶(3.34mL)後，於-78℃添加三氟化N,N-二乙基胺基硫(1.42g)，氮環境下，緩緩升溫至室溫後，攪拌整夜。於反應液中緩緩添加飽和碳酸氫鈉水溶液而停止反應後，添加水，並以乙酸乙酯萃取。有機層以飽和食鹽水洗淨後，以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層

析[己烷/乙酸乙酯 0.1%三乙基胺]純化，獲得標題化合物(6.89g：含有雜質)。

MS(ESI)m/z：1023$(M+H)^+$.

【0865】

(步驟 6)

1-[2-(苄醯基氧基)乙基]-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-去氧-3'-氟肌苷

於上述步驟 5 獲得的化合物(6.89g)之二氯甲烷(25.0mL)溶液中，添加水(0.303mL)及二氯乙酸(1.39mL)，於室溫攪拌 63 小時。於反應液中添加吡啶(2.0mL)，並減壓濃縮。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯/甲醇]及 DIOL 矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]粗純化。於獲得的化合物之吡啶(25.0mL)溶液中，於 0℃添加 4,4'-二甲氧基三苯甲基氯(1.83g)，並於 4℃攪拌 21 小時。於反應液中添加甲醇(1.0mL)，於 4℃攪拌 1 小時後，減壓濃縮。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯/甲醇/0.1%三乙基胺]純化，獲得標題化合物(1.33g)。

MS(ESI)m/z：721$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：7.99(1H，s)，7.95(1H，d，J=1.2Hz)，7.93(1H，s)，7.93(1H，d，J=1.5Hz)，7.58-7.51(1H，m)，7.43-7.37(2H，m)，7.35-7.30(2H，m)，7.26-7.13(7H，m)，6.82-6.75(4H，m)，5.98(1H，d，J=7.3Hz)，5.13(1H，dd，J=54.7，4.1Hz)，5.05-4.92(1H，m)，4.63(2H，t，J=5.1Hz)，4.56-4.25(4H，m)，3.76(3H，s)，3.76(3H，s)，3.45(1H，dd，J=10.9，3.6Hz)，3.34(1H，dd，J=10.9，3.6Hz).

【0866】

(步驟 7)

1-[2-(苄醯基氧基)乙基]-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2'-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}-3'-去氧-3'-氟肌苷

使用於上述步驟 6 獲得的化合物(1.33g)，以與實施例 5 步驟 4 同樣的手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物(非鏡像異構物比=1：1)之標題化合物(1.49g)。

MS(ESI)m/z：921$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：7.99(0.5H，s)，7.98-7.93(3H，m)，7.88(0.5H，s)，7.58-7.52(1H，m)，7.45-7.37(4H，m)，7.33-7.18(7H，m)，6.85-6.77(4H，m)，6.14(0.5H，d，J=7.3Hz)，6.10(0.5H，d，J=7.9Hz)，5.27-5.01(2H，m)，4.70-4.61(2H，m)，4.57-4.30(3H，m)，3.78(3H，s)，3.77(3H，s)，3.62-3.33(6H，m)，2.56(1H，t，J=6.3Hz)，2.32(1H，t，J=6.3Hz)，1.12(6H，d，J=6.3Hz)，1.04(3H，d，J=6.3Hz)，0.76(3H，d，J=6.3Hz).

【0867】

(步驟 8)

以與實施例 1 步驟 7 相同方式，將反應以下列之規模實施(原料：948mg)。使用獲得的化合物之乙腈溶液及於上述步驟 7 獲得的化合物(850mg)，以與實施例 1 步驟 8 同樣之手法進行反應，將獲得的粗生成物直接用於之後的反應。

【0868】

(步驟 9)

2-{9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-15-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-10-(2-氰基乙氧基)-16-氟-2-側氧基-2-氫硫基-10-亞巯基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基}乙基 苯甲酸酯

使用上述步驟 8 所獲得的粗生成物，以與實施例 1 步驟 9 同樣之手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(709mg)。

MS(ESI)m/z：1152(M＋H)$^+$.

【0869】

(步驟 10)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-16-氟-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於上述步驟 9 獲得的化合物(709mg)，使用與實施例 1 步驟 10 同樣之手法而進行反應，獲得標題化合物之非鏡像異構物 1(108mg：含有雜質)及非鏡像異構物 2(102mg：含有雜質)。

非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：891(M＋H)$^+$.

非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：891(M＋H)$^+$.

【0870】

(步驟 11-1)

二鈉 (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,16R)-16-氟-15-羥基-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

使用於上述步驟 10 獲得的化合物(非鏡像異構物 1)(108mg：含有雜質)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：3%-30%(0 分-40 分)]。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(40.1mg)。

MS(ESI)m/z：777(M+H)$^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.66(1H，m)，8.26(1H，s)，8.02(1H，s)，7.09(1H，s)，6.29-6.24(2H，m)，5.68-5.45(2H，m)，5.26-5.18(1H，m)，4.78-4.73(1H，m)，4.62-4.42(3H，m)，4.26-3.98(5H，m)，3.85-3.78(2H，m)，3.53-3.47(2H，m)，2.91-2.84(2H，m)，2.04-1.96(2H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：58.0(s)，56.9(s).

【0871】

(步驟 11-2)

二鈉 (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,16R)-16-氟-15-羥基-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

使用於上述步驟 10 獲得的化合物(非鏡像異構物 2)(102mg：含有雜質)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：3%-25%(0 分-40 分)]。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(26.7mg)。

MS(ESI)m/z：777$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.73(1H，m)，8.25(1H，s)，8.02(1H，s)，7.10(1H，brs)，6.33(1H，d，J=6.7Hz)，6.28(1H，d，J=9.1Hz)，5.65-5.50(1H，m)，5.49-5.43(1H，m)，5.31(1H，dd，J=54.4，3.6Hz)，4.79(1H，dd，J=6.3,4.5Hz)，4.62-4.34(4H，m)，4.27-4.14(2H，m)，4.08-4.01(1H，m)，3.93-3.87(1H，m)，3.86-3.80(2H，m)，3.53-3.47(2H，m)，2.95-2.89(2H，m)，2.06-1.97(2H，m).

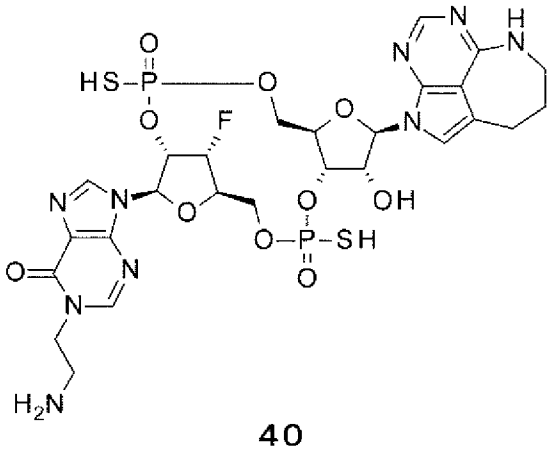
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：63.1(s)，59.7(s).

【0872】

實施例 50：CDN40 之合成

(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[1-(2-胺基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-16-氟-15-羥基-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ⁵,10λ⁵-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0873】



40

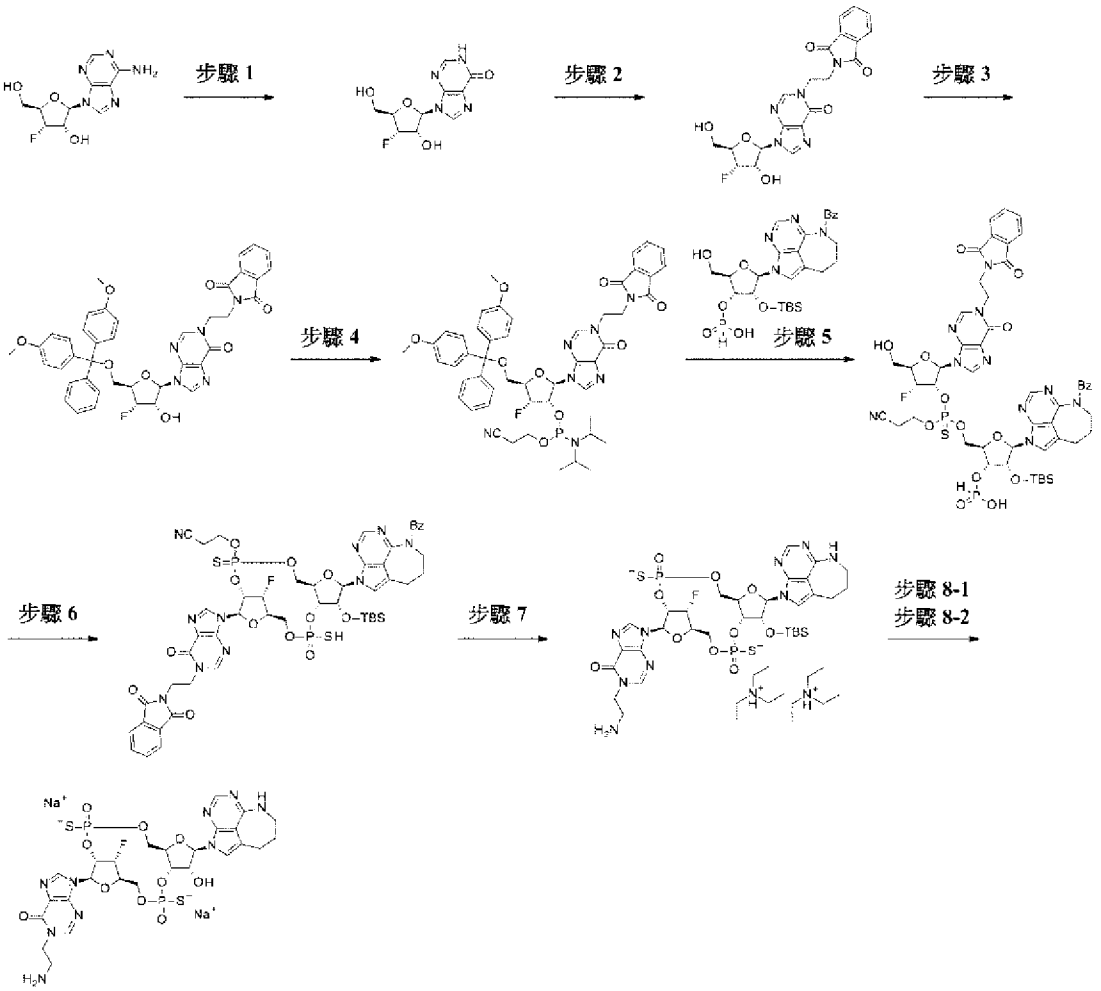
40a (非鏡像異構物 1)

40b (非鏡像異構物 2)

【0874】

[合成流程圖]

【0875】



【0876】

(步驟 1)

3’-去氧-3’-氟肌苷

於市售(Angene)之 3’-去氧-3’-氟腺苷(2.38g)之乙酸(120mL)溶液中，一點一點地添加亞硝酸鈉(6.10g)之水溶液(48mL)，並於室溫攪拌 43 小時。將反應溶液減壓濃縮，以甲苯共沸 2 次。將殘留物以矽膠管柱層析[二氯甲烷/甲醇]純化，獲得標題化合物(3.76g)。

MS(ESI)m/z：271$(M+H)^+$.

1H-NMR(CD_3OD)δ：8.30(1H，s)，8.05(1H，s)，6.03(1H，d，J=7.8Hz)，5.08(1H，dd，J=54.4,4.1Hz)，4.89-4.85(1H，m)，4.38(1H，dt，J=26.8，3.2Hz)，3.82-3.73(2H，m).

【0877】

(步驟 2)

3’-去氧-1-[2-(1,3-二側氧基-1,3-二氫-2H-異吲哚-2-基)乙基]-3’-氟肌苷

於上述步驟 1 獲得的化合物(3.76g)之 N,N-二甲基乙醯胺(37.6mL)溶液中，添加 2-(2-溴乙基)-1H-異吲哚-1,3(2H)-二酮(6.60mL)及 1,8-二氮雙環[5.4.0]-7-十一烯(3.12mL)，並於室溫攪拌 3 日。將反應液減壓濃縮，殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯/甲醇]純化，獲得標題化合物(3.51g：含有雜質)。

MS(ESI)m/z：444$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：7.87(1H，s)，7.84(1H，s)，7.81(2H，dd，J=5.4，3.0Hz)，7.73(2H，dd，J=5.4，3.0Hz)，5.83(1H，d，J=7.9Hz)，5.28(1H，dd，J=11.5，2.4Hz)，5.18(1H，dd，J=55.0，4.2Hz)，5.01-4.87(1H，m)，4.49(1H，d，J=28.4Hz)，4.43-4.28(2H，m)，4.19-4.08(2H，m)，3.95(1H，d，J=8.2Hz)，3.91-3.84(1H，m)，3.76(1H，d，J=13.3Hz).

【0878】

(步驟 3)

5’-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3’-去氧-1-[2-(1,3-二側氧基-1,3-二氫-2H-異吲哚-2-基)乙基]-3’-氟肌苷

使用於上述步驟 2 獲得的化合物(3.51g)，以與實施例 11 步驟 1 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(4.05g)。

MS(ESI)m/z：746$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：7.95(1H，s)，7.79(2H，dd，J=5.4，3.0Hz)，7.73(1H，s)，7.70(2H，dd，J=5.4，3.0Hz)，7.34-

7.29(2H，m)，7.25-7.18(7H，m)，6.81-6.76(4H，m)，5.92(1H，d，J=7.3Hz)，5.12(1H，dd，J=54.4,4.2Hz)，4.97-4.85(1H，m)，4.55-4.40(2H，m)，4.30-4.22(1H，m)，4.21-4.01(2H，m)，3.77(6H，s)，3.73(1H，d，J=10.3Hz)，3.43(1H，dd，J=10.9，3.6Hz)，3.32(1H，dd，J=10.9，3.6Hz).

【0879】

(步驟 4)

5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2'-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}-3'-去氧-1-[2-(1,3-二側氧基-1,3-二氫-2H-異吲哚-2-基)乙基]-3'-氟肌苷

使用於上述步驟 3 獲得的化合物(4.05g)，以與實施例 5 步驟 4 同樣的手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物(非鏡像異構物比=1：1)之標題化合物(4.35g)。

MS(ESI)m/z：946$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：7.95(0.5H，s)，7.94(0.5H，s)，7.84-7.78(2H，m)，7.73-7.68(2H，m)，7.65(1H，s)，7.43-7.41(2H，m)，7.32-7.15(7H，m)，6.84-6.77(4H，m)，6.09(0.5H，d，J=7.9Hz)，6.05(0.5H，d，J=7.9Hz)，5.31-5.16(1H，m)，5.15-4.98(1H，m)，4.51-4.21(3H，m)，4.20-4.05(2H，m)，3.793(1.5H，s)，3.789(3H，s)，3.784(1.5H，s)，3.66-3.55(2H，m)，3.50-3.30(4H，m)，2.56(1H，t，J=6.3Hz)，2.41(1H，t，J=6.3Hz)，1.16(3H，d，J=7.3Hz)，1.14(3H，d，J=7.3Hz)，1.10(3H，d，J=7.3Hz)，0.83(3H，d，J=7.3Hz).

【0880】

(步驟 5)

以與實施例 1 步驟 7 相同方式，將反應以下列之規模實施(原料：1.47g)。使用獲得的化合物之乙腈溶液及於上述步驟 4 獲得的化合物(1.35g)，以與實施例 1 步驟 8 同樣之手法進行反應，將獲得的粗生成物直接用於之後的反應。

【0881】

(步驟 6)

3-{[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-15-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-7-{1-[2-(1,3-二側氧基-1,3-二氫-2H-異吲哚-2-基)乙基]-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基}-16-氟-2-側氧基-2-氫硫基-10-亞巯基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-10-基]氧基}丙腈

使用上述步驟 5 所獲得的粗生成物，以與實施例 1 步驟 9 同樣之手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(1.25g)。

MS(ESI)m/z：1177$(M+H)^+$.

【0882】

(步驟 7)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-[1-(2-胺基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-15-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-16-氟-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ5,10λ5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

於上述步驟 6 獲得的化合物(1.25g)之乙醇(7.5mL)-四氫呋喃(7.5mL)混合溶液中，添加肼一水合物(0.599mL)，並於 50℃攪拌 6 小時。減壓濃縮反應液後，殘留物以 C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]純化，獲得標題化合物之非鏡像異構物 1(145mg：含有雜質)及非鏡像異構物 2(198mg：含有雜質)(HPLC 之滯留時間：非鏡像異構物 1＞2)。

非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：890$(M+H)^+$.

非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：890$(M+H)^+$.

【0883】

(步驟 8-1)

二鈉 (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[1-(2-胺基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-16-氟-15-羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

使用於上述步驟 7 獲得的化合物(非鏡像異構物 1)(145mg：含有雜質)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈-甲醇溶液(1：1)，乙腈-甲醇溶液(1：1)：5%-50%(0 分-40 分)]。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(70.7mg)。

MS(ESI)m/z：776$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.64(1H，s)，8.23(1H，s)，8.02(1H，s)，7.07(1H，s)，6.27(1H，d，J=4.5Hz)，6.25(1H，d，J=6.7Hz)，5.67-5.43(2H，m)，5.23-5.16(1H，m)，4.76(1H，t，J=5.1Hz)，4.63-4.45(3H，m)，4.31-4.03(5H，m)，3.51-3.46(2H，m)，3.31-3.26(2H，m)，2.90-2.83(2H，m)，2.03-1.94(2H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：57.9(s)，56.9(s).

【0884】

(步驟 8-2)

二鈉 (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[1-(2-胺基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-16-氟-15-羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

使用於上述步驟 7 獲得的化合物(非鏡像異構物 2)(198mg：含有雜質)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈-甲醇溶液(1：1)，乙腈-甲醇溶液(1：1)：5%-50%(0 分-40 分)]。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(69.7mg)。

MS(ESI)m/z：776(M+H)$^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.73(1H，s)，8.27(1H，s)，8.02(1H，s)，7.09(1H，s)，6.31(1H，d，J=6.7Hz)，6.26(1H，d，J=8.5Hz)，5.62-5.47(1H，m)，5.47-5.41(1H，m)，5.30(1H，dd，J=53.8，3.6Hz)，4.78(1H，dd，J=6.7，4.2Hz)，4.58(1H，d，J=26.0Hz)，4.51-4.41(2H，m)，4.40-4.23(3H，m)，4.11-4.05(1H，m)，3.93-3.86(1H，m)，3.53-3.46(2H，m)，3.36-3.28(2H，m)，2.90(2H，t，J=5.7Hz)，2.05-1.96(2H，m).

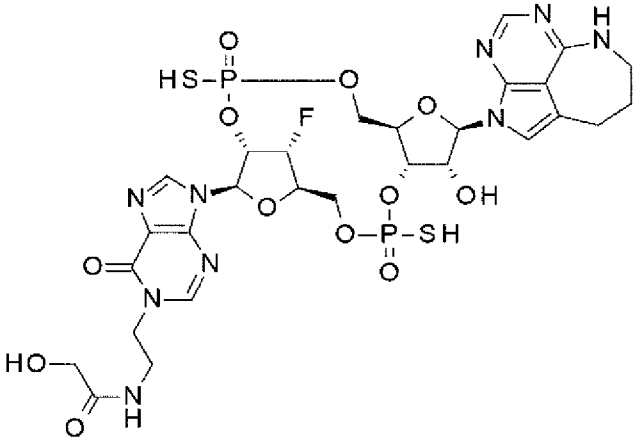
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：62.8(s)，59.4(s).

【0885】

實施例51：CDN41之合成

N-(2-{9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,16R)-16-氟-15-羥基-2,10-二側氧基-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基}乙基)-2-羥基乙醯胺

【0886】



41

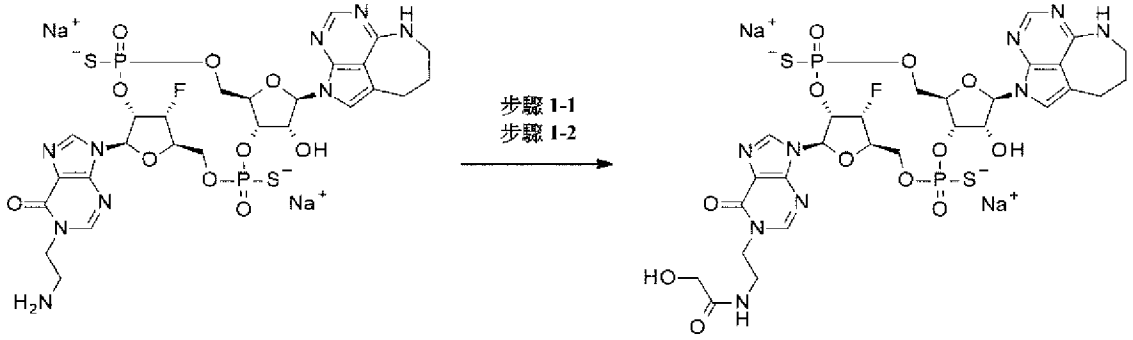
41a (非鏡像異構物1)

41b (非鏡像異構物2)

【0887】

[合成流程圖]

【0888】



【0889】

(步驟 1-1)

二鈉 (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,16R)-16-氟-15-羥基-7-{1-[2-(2-羥基乙醯胺)乙基]-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基}-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

使用於實施例 50 步驟 8-1 獲得的化合物(25.0mg)，以與實施例 7 步驟 1-1 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：5%-30%(0 分-40 分)]。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(18.6mg)。

MS(ESI)m/z：834(M+H)$^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.60(1H，m)，8.12(1H，m)，8.02(1H，s)，7.11(1H，brs)，6.27(1H，d，J=4.9Hz)，6.23(1H，d，J=9.1Hz)，5.75-5.58(1H，m)，5.54(1H，dd，J=53.5，3.0Hz)，5.28-5.20(1H，m)，4.75(1H，t，J=5.2Hz)，4.62-4.52(1H，m)，4.52-4.42(2H，m)，4.29-4.01(5H，m)，3.92(2H，s)，3.64-3.58(2H，m)，3.53-3.47(2H，m)，2.93-2.76(2H，m)，2.06-1.93(2H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：57.9(s)，56.7(s).

【0890】

(步驟 1-2)

二鈉 (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,16R)-16-氟-15-羥基-7-{1-[2-(2-羥基乙醯胺)乙基]-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基}-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

使用於實施例 50 步驟 8-2 獲得的化合物(非鏡像異構物 2)(15.0mg)，以與實施例 7 步驟 1-1 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：5%-30%(0 分-40 分)]。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(7.4mg)。

MS(ESI)m/z：834$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.69(1H，m)，8.16(1H，s)，8.02(1H，s)，7.11(1H，s)，6.32(1H，d，J=6.7Hz)，6.26(1H，d，J=8.6Hz)，5.67-5.51(1H，m)，5.48-5.43(1H，m)，5.29(1H，dd，J=54.0，3.7Hz)，4.77(1H，dd，J=6.4,4.6Hz)，4.62-4.33(2H，m)，4.25-4.17(2H，m)，4.08-4.01(1H，m)，3.94(2H，s)，3.93-3.85(1H，m)，3.70-3.56(2H，m)，3.52-3.46(2H，m)，2.93-2.86(2H，m)，2.04-1.97(4H，m).

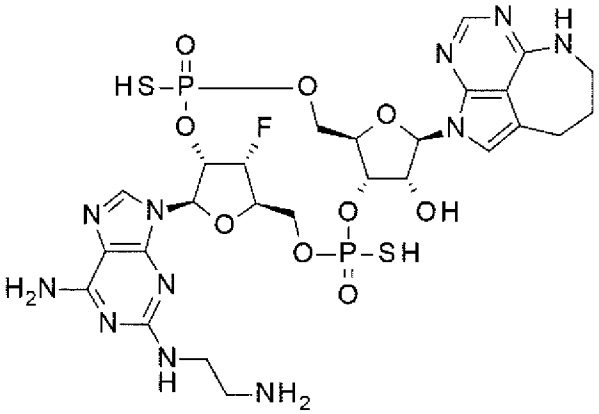
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：62.8(s)，59.5(s).

【0891】

實施例 52：CDN42 之合成

(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{6-胺基-2-[(2-胺基乙基)胺基]-9H-嘌呤-9-基}-16-氟-15-羥基-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0892】



42

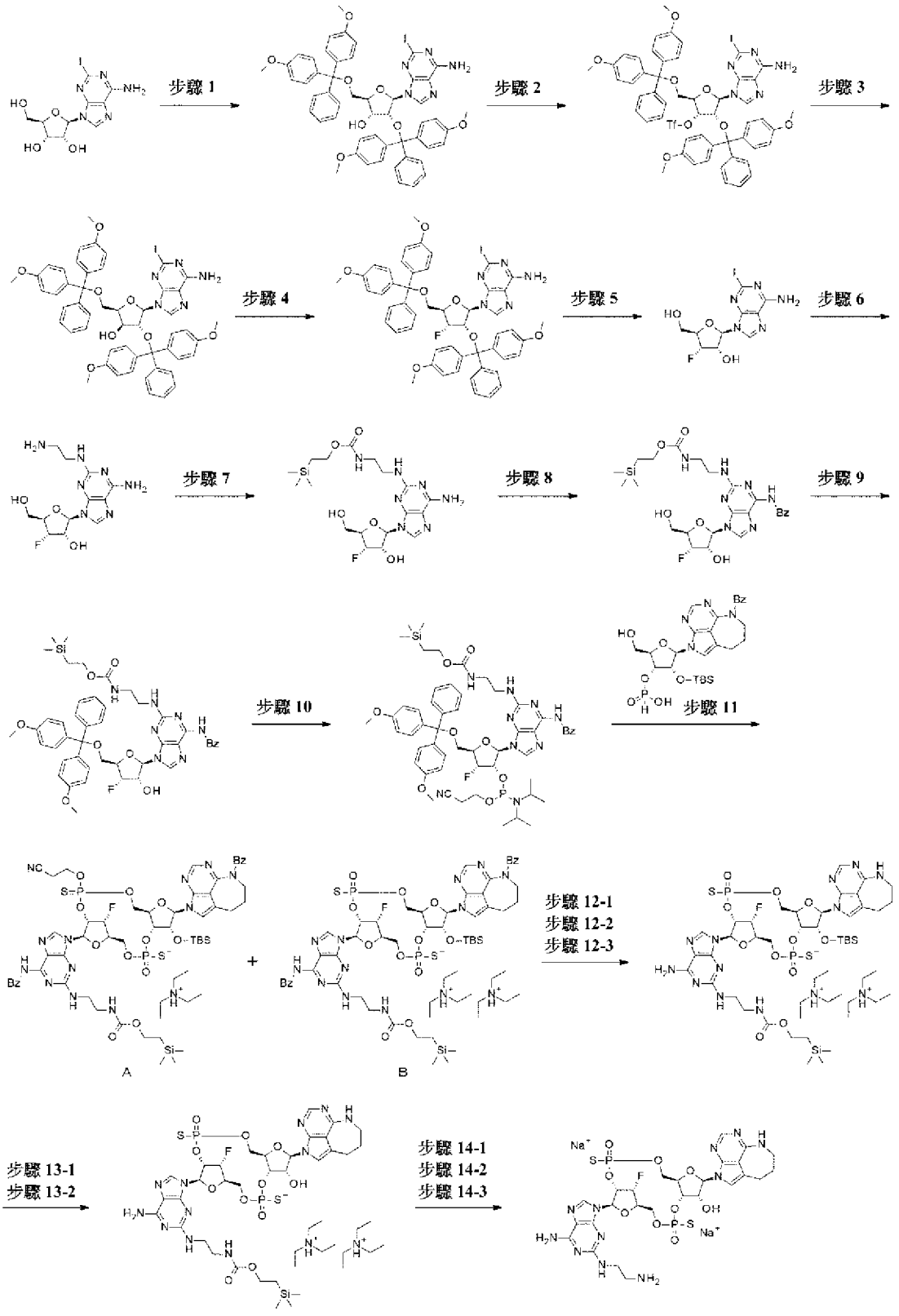
42a (非鏡像異構物 1)

42b (非鏡像異構物 1)

【0893】

[合成流程圖]

【0894】



【0895】

(步驟 1)

2',5'-雙-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2-碘腺苷

將市售(Amadis Chemical)之 2-碘腺苷(1.35g)以吡啶共沸 3 次。於殘留物之脫水吡啶(17.0mL)溶液中，添加 4,4'-二甲氧基三苯甲基氯(2.35g)，氮氣環境下，於室溫攪拌整夜。於反應液中添加甲醇(5.00mL)而停止反應後，減壓濃縮。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯/0.1%三乙基胺]純化，獲得標題化合物(1.96g：含有雜質)。

MS(ESI)m/z：998$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：7.88(1H，s)，7.29-7.12(18H，m)，6.73-6.60(8H，m)，6.31(1H，d，J=7.9Hz)，5.69(2H，brs)，5.13(1H，dd，J=7.6，4.5Hz)，4.07(1H，t，J=3.3Hz)，3.77(6H，s)，3.76(3H，s)，3.74(3H，s)，3.14(2H，d，J=3.6Hz)，2.87(1H，d，J=4.2Hz)，2.28(1H，s).

【0896】

(步驟 2)

2',5'-雙-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2-碘基-3'-O-(三氟甲烷磺醯基)腺苷

將於上述步驟 1 獲得的化合物(100mg)以甲苯共沸 3 次。於殘留物之脫水二氯甲烷(1.0mL)溶液中，氮環境下，於 0℃添加吡啶(0.20mL)及三氟甲磺酸酐(27.0μL)，並於相同溫度下攪拌 80 分鐘。追加三氟甲磺酸酐(27.0μL)，再攪拌 80 分鐘。於反應液中添加飽和碳酸氫鈉水溶液而停止反應後，以二氯甲烷萃取。有機層以無水硫酸鈉乾燥後，濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘

留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯/0.1%三乙基胺]純化，獲得標題化合物(57.2mg)。

MS(ESI)m/z：1130$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：7.73(1H，s)，7.32-7.09(18H，m)，6.79-6.70(6H，m)，6.60-6.56(2H，m)，6.19(1H，dd，J=8.2,3.9Hz)，6.01(1H，d，J=7.9Hz)，5.59(2H，brs)，4.05(1H，d，J=3.6Hz)，3.98(1H，t，J=6.7Hz)，3.78(3H，s)，3.77(3H，s)，3.71(3H，s)，3.70(3H，s)，3.39(1H，dd，J=10.9，6.0Hz)，3.17(1H，dd，J=10.6,7.0Hz).

【0897】

(步驟 3)

9-{2,5-雙-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-β-D-呋喃木糖基}-2-碘基-9H-嘌呤-6-胺

於上述步驟 2 獲得的化合物(2.76g)之 N,N-二甲基甲醯胺(24.4mL)溶液中添加乙酸銫(1.20g)，於室溫攪拌 3 小時。於反應液中添加甲醇(24.4mL)及碳酸鉀(675mg)，再攪拌 2 小時。於反應液中添加水而使固體析出後，減壓下餾除甲醇成分。濾取獲得的固體而獲得標題化合物(2.38g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.02(1H，s)，7.42-7.13(18H，m)，6.79-6.72(8H，m)，5.68(2H，brs)，5.55(1H，d，J=1.2Hz)，5.49(1H，d，J=9.1Hz)，4.48(1H，s)，4.41-4.37(1H，m)，4.06(1H，dd，J=9.1,3.6Hz)，3.77(9H，s)，3.76(3H，s)，3.56-3.48(2H，m).

【0898】

(步驟 4)

2',5'-雙-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-去氧-3'-氟-2-碘腺苷

於上述步驟3獲得的化合物(2.54g)之二氯甲烷(17.0mL)溶液中，添加吡啶(1.13mL)後，冰冷下添加三氟化N,N-二乙基胺基硫(0.397mL)，氮環境下，於室溫攪拌40分鐘。於反應液中添加飽和碳酸氫鈉水溶液而停止反應後，以二氯甲烷萃取。有機層以無水硫酸鈉乾燥後，濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯/0.1%三乙基胺]純化，獲得標題化合物(2.02g：含有雜質)。

MS(ESI)m/z：1000$(M+H)^+$.

【0899】

(步驟5)

3'-去氧-3'-氟-2-碘腺苷

於上述步驟4所獲得的混合物(2.02g)之二氯甲烷溶液(20.2mL)中，冰冷下，添加水(0.364mL)及二氯乙酸(0.996mL)，並於室溫攪拌15分鐘。於反應液中添加吡啶(1.95mL)而停止反應後，減壓濃縮。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(1.34g：含有雜質)。

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：5.94(1H，d，J=7.9Hz)，5.09(1H，dd，J=54.7，4.3Hz)，4.95-4.89(1H，m)，4.40(1H，d，J=27.3Hz)，3.87-3.76(2H，m).(僅記載能觀測到的波峰)

【0900】

(步驟6)

2-[(2-胺基乙基)胺基]-3'-去氧-3'-氟腺苷

於上述步驟 5 獲得的化合物(1.34g)中添加乙二胺(1.35mL)，於 110℃攪拌 1 小時。將反應液減壓濃縮，殘留物以 C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]純化，獲得標題化合物(543mg：含有雜質)。

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：7.94(1H，s)，5.88(1，d，J=7.9Hz)，5.09(1H，dd，J=54.7，4.5Hz)，4.95(1H，dq，J=25.1,4.2Hz)，4.38(1H，dt，J=27.6，2.7Hz)，3.84-3.76(2H，m)，3.56-3.53(2H，m)，3.01(2H，t，J=5.7Hz).

【0901】

(步驟 7)

3'-去氧-3'-氟-2-{[2-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)乙基]胺基}腺苷

於上述步驟 6 獲得的化合物(543mg)之四氫呋喃溶液(10mL)中，添加 1-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}氧基)吡咯啶-2,5-二酮(961mg)、N,N-二甲基甲醯胺(5.0mL)、及甲醇(5.0mL)，並於室溫攪拌 1.5 小時。追加 1-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}氧基)吡咯啶-2,5-二酮(800mg)，再攪拌 40 分鐘。減壓濃縮反應液後，殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(483mg)。

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：7.87(1H，s)，5.83(1H，d，J=7.9Hz)，5.15-4.96(2H，m)，4.35(1H，dt，J=27.4，2.7Hz)，4.11-4.04(2H，m)，3.84-3.73(2H，m)，3.48-3.38(2H，m)，2.96-2.83(2H，m)，0.95-0.83(2H，m)，0.00(9H，s).

【0902】

(步驟 8)

N-苄醯基-3'-去氧-3'-氟-2-{[2-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)乙基]胺基}腺苷

使用於上述步驟 7 獲得的化合物(483mg)，以與實施例 11 步驟 3 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(374mg)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：9.16-9.03(1H，m)，8.01(2H，d，J=7.3Hz)，7.63-7.33(4H，m)，5.85-5.60(2H，m)，5.21-4.91(2H，m)，4.45(1H，d，J=27.8Hz)，4.19-4.06(2H，m)，3.92(1H，d，J=12.7Hz)，3.77-3.34(6H，m)，1.05-0.87(2H，m)，-0.02(9H，s).(僅記載能觀測到的波峰)

【0903】

(步驟 9)

N-苄醯基-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-去氧-3'-氟-2-{[2-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)乙基]胺基}腺苷

使用於上述步驟 8 獲得的化合物(374mg)，以與實施例 11 步驟 1 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(398mg)。

MS(ESI)m/z：878$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.94(1H，brs)，8.01-7.98(2H，m)，7.88-7.81(1H，m)，7.62-7.49(3H，m)，7.40-7.20(9H，m)，6.83-6.78(4H，m)，6.12-5.48(2H，m)，5.22-4.98(2H，m)，4.52(1H，d，J=27.8Hz)，4.24-4.10(2H，m)，3.77(6H，s)，3.65-3.29(8H，m)，1.04-0.88(2H，m)，0.01(9H，brs).

【0904】

(步驟 10)

N-苄醯基-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2'-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}-3'-去氧-3'-氟-2-{[2-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)乙基]胺基}腺苷

使用於上述步驟9獲得的化合物(398mg)，以與實施例1步驟6同樣的手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物(非鏡像異構物比=1：1)之標題化合物(434mg)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.79-8.75(1H，m)，8.00-7.97(2H，m)，7.83(0.5H，s)，7.77(0.5H，s)，7.61-7.21(12H，m)，6.84-6.79(4H，m)，6.07-5.96(1H，m)，5.58-5.10(3H，m)，4.50-4.40(1H，m)，4.11-4.06(2H，m)，3.87-3.80(1H，m)，3.79(3H，s)，3.78(3H，s)，3.65-3.20(10H，m)，2.63-2.59(1H，m)，2.39(1H，t，J=6.3Hz)，1.17(3H，d，J=6.7Hz)，1.15(3H，d，J=6.7Hz)，1.10(3H，d，J=6.7Hz)，0.92-0.86(2H，m)，0.81(3H，d，J=6.7Hz)，-0.01(9H，s).

【0905】

(步驟11)

化合物A：

N,N-二乙基乙銨 (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-苯甲醯胺-2-{[2-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)乙基]胺 基}-9H-嘌 呤-9-基)-14-(6-苄 醯 基-6,7,8,9-四 氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-15-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-10-(2-氰基乙氧基)-16-氟-2-側氧基-10-亞硫基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2-硫醇鹽

化合物 B：

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-苯甲醯胺-2-{[2-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)乙基]胺 基}-9H-嘌 呤-9-基)-14-(6-苄 醯 基-6,7,8,9-四 氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-15-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧 基}-16-氟-2,10-二 側 氧 基 八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五 氧 二 磷 十 四 環-2,10-雙(硫醇鹽)

以與實施例 1 步驟 7 相同方式，將反應以下列之規模實施(原料：502mg)。使用獲得的化合物之乙腈溶液與於上述步驟 10 獲得的化合物(434mg)，以與實施例 1 步驟 8 及實施例 1 步驟 9 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物 A 之非鏡像異構物 1(43.9mg)及非鏡像異構物 2(27.0mg)，以及標題化合物 B 之非鏡像異構物 1(55.0mg)及非鏡像異構物 2(121mg)(各自含有雜質)。

化合物 A 之非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：1309(M＋H)$^+$.

化合物 A 之非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：1309(M＋H)$^+$.

化合物 B 之非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：1256(M＋H)$^+$.

化合物 B 之非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：1256(M＋H)$^+$.

【0906】

(步驟 12-1)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-胺基-2-{[2-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)乙基]胺基}-9H-嘌呤-9-基)-15-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-16-氟-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於上述步驟 11 獲得的化合物 A(非鏡像異構物 1)(43.9mg)，以與實施例 1 步驟 10 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物。

MS(ESI)m/z：1048(M+H)$^+$.

【0907】

(步驟 12'-1)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-胺基-2-{[2-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)乙基]胺基}-9H-嘌呤-9-基)-15-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-16-氟-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於上述步驟 11 獲得的化合物 B(非鏡像異構物 1)(55.0mg)，以與實施例 1 步驟 10 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物。

MS(ESI)m/z：1048(M+H)$^+$.

【0908】

(步驟 12-2)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-胺基-2-{[2-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)乙基]胺基}-9H-嘌呤-9-基)-15-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-16-氟-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於上述步驟 11 獲得的化合物 A(非鏡像異構物 2)(27.0mg：含有雜質)，以與實施例 1 步驟 10 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物。

MS(ESI)m/z：1048(M＋H)$^+$.

【0909】

(步驟 13-1)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-胺基-2-{[2-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)乙基]胺基}-9H-嘌呤-9-基)-16-氟-15-羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ5,10λ5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

合併於上述步驟 12-1 及 12'-1 獲得的化合物，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(36.4mg)。

MS(ESI)m/z：934(M＋H)$^+$.

【0910】

(步驟 13-2)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-胺基-2-{[2-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)乙基]胺

基}-9H-嘌 呤-9-基)-16-氟-15-羥 基-2,10-二 側 氧 基-14-(6,7,8,9-四 氫-2H-2,3,5,6-四 氮 苯 并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ5,10λ5-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於上述步驟 12-2 獲得的化合物，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(12.4mg)。

MS(ESI)m/z：934(M＋H)$^+$.

【0911】

(步驟 14-1)

二鈉 (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{6-胺基-2-[(2-胺基乙基)胺基]-9H-嘌呤-9-基}-16-氟-15-羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

使用於上述步驟 13-1 獲得的化合物(36.4mg)，以與實施例 40 步驟 5 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：2%-30%(0 分-40 分)]及 Sep-Pak(註冊商標) C18[水/乙腈/0.1%三乙基胺]。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(21.0mg)。

MS(ESI)m/z：790(M＋H)$^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.26(1H，brs)，8.01(1H，s)，7.04(1H，s)，6.27(1H，d，J=4.8Hz)，6.13(1H，d，J=7.9Hz)，5.69-5.50(1H，m)，5.57(1H，dd，J=53.5，2.7Hz)，5.14-5.10(1H，m)，4.73(1H，t，J=4.8Hz)，4.62-4.53(1H，m)，4.50-4.44(2H，m)，4.24-4.01(3H，m)，3.67-3.58(1H，m)，3.50-3.44(3H，m)，3.20-3.04(2H，m)，2.83-2.81(2H，m)，2.04-1.94(2H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：58.4(s)，56.5(s).

【0912】

(步驟 14-2)

雙(N,N,N-三丁基丁烷-1-胺鎓)(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{6-胺基-2-[(2-胺基乙基)胺基]-9H-嘌呤-9-基}-16-氟-15-羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於上述步驟 13-2 獲得的化合物(29.5mg)，以與實施例 40 步驟 5 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]純化，獲得標題化合物(24.2mg：含有雜質)。

[純化條件]製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：2%-30%(0 分-30 分)]、Sep-Pak(註冊商標) C18[水/乙腈/0.1%三乙基胺]、及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：10%-25%(0 分-30 分)]。

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.27(1H，s)，8.02(1H，s)，7.13(1H，s)，6.32(1H，d，J=6.0Hz)，6.15(1H，d，J=7.9Hz)，5.63-

5.51(1H，m)，5.39-5.35(1H，m)，5.30(1H，dd，J=54.4，3.6Hz)，4.77(1H，t，J=5.1Hz)，4.60-4.34(4H，m)，4.19-4.13(1H，m)，3.92-3.88(1H，m)，3.70-3.62(1H，m)，3.51-3.45(3H，m)，3.26-3.07(18H，m)，2.98-2.87(2H，m)，2.03-1.99(2H，m)，1.70-1.62(16H，m)，1.47-1.37(16H，m)，1.03(24H，t，J=7.3Hz).

【0913】

(步驟 14-2')

二鈉 (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{6-胺基-2-[(2-胺基乙基)胺基]-9H-嘌呤-9-基}-16-氟-15-羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

將於上述步驟 14-2 獲得的化合物(19.0mg：含有雜質)，以製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：10%-25%(0 分-30 分)]純化。

獲得的化合物以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，而獲得標題化合物(8.4mg)。

MS(ESI)m/z：790$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.27(1H，s)，8.01(1H，s)，7.12(1H，s)，6.31(1H，d，J=6.0Hz)，6.15(1H，d，J=8.5Hz)，5.65-5.49(1H，m)，5.38-5.34(1H，m)，5.30(1H，dd，J=55.0，3.0Hz)，4.77(1H，dd，J=5.7，4.5Hz)，4.60-4.34(4H，m)，4.19-4.13(1H，m)，3.92-3.88(1H，m)，3.68-3.61(1H，m)，

3.51-3.45(3H，m)，3.22-3.07(2H，m)，2.89-2.87(2H，m)，2.03-1.98(2H，m).

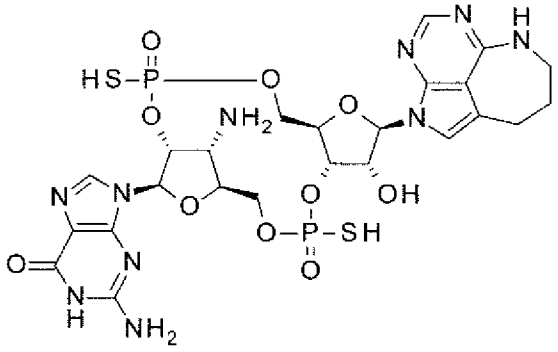
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：62.6(s)，59.5(s).

【0914】

實施例 53：CDN43 之合成

(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-16-胺 基-7-(2-胺基-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基)-15-羥基-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0915】



43

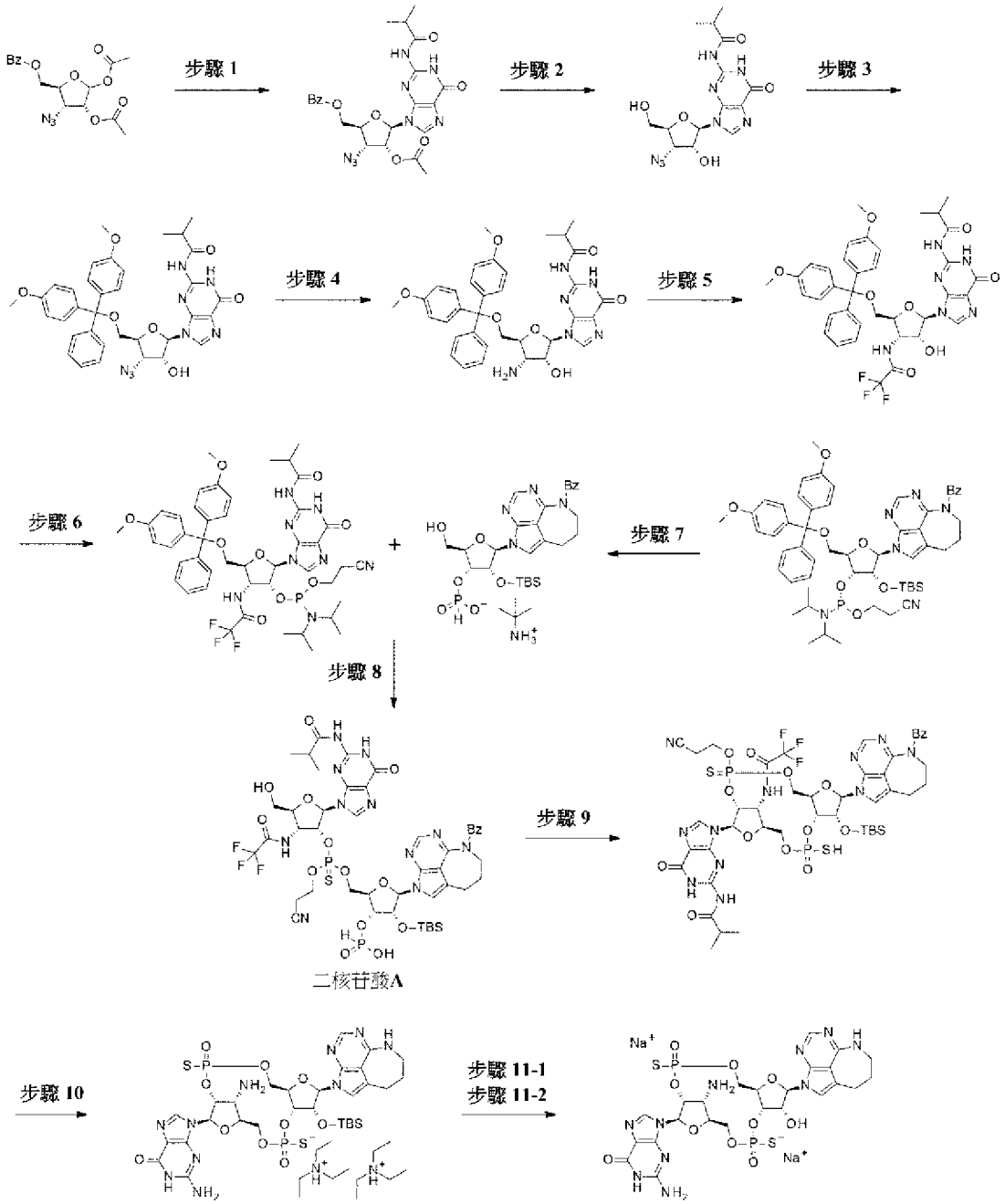
43a (非鏡像異構物 1)

43b (非鏡像異構物 2)

【0916】

[合成流程圖]

【0917】



【0918】

(步驟 1)

2'-O-乙醯基-3'-疊氮基-5'-O-苄醯基-3'-去氧-N-(2-甲基丙醯基)鳥苷

於文獻已知(Recl.Trav.Chim.Pay-Bas 1986，105,85-91)之 1,2-二-O-乙醯基-3-疊氮基-5-O-苄醯基-3-去氧-D-核呋喃糖(4.0g)之乙腈(60mL)溶液中，於室溫添加 N2-異丁醯鳥嘌呤

(3.65g)及 N,O-雙(三甲基矽基)乙醯胺(8.08mL)，並於 70℃攪拌 3 小時。於 70℃添加三甲基矽基三氟甲磺酸酯(2.98mL)，於相同溫度下攪拌 1 日。將反應液冷卻後，添加飽和碳酸氫鈉水溶液而停止反應，以乙酸乙酯萃取。有機層以飽和食鹽水洗淨，以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(4.82g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：12.2(1H，s)，9.42(1H，s)，8.02(2H，m)，7.71(1H，s)，7.63(1H，m)，7，48(2H，m)，5.97(1H，d，J=3.9Hz)，5.87(1H，dd，J=5.5，3.9Hz)，5.10(1H，dd，J=11.7，5.5Hz)，4.93(1H，t，J=5.9Hz)，4.66(1H，dd，J=11.7，5.5Hz)，4.14(1H，q，J=7.2Hz)，2.77(1H，m)，2.21(3H，s)，1.31(6H，m).

【0919】

(步驟 2)

3'-疊氮基-3'-去氧-N-(2-甲基丙醯基)鳥苷

於上述步驟 1 獲得的化合物(5.48g)之四氫呋喃(64mL)-甲醇(32mL)混合溶液中，於 0℃添加 5M 氫氧化鈉(17mL)，並攪拌 15 分鐘。於反應液中添加乙酸(5.08mL)而停止反應，減壓濃縮反應液。將殘留物以矽膠管柱層析[二氯甲烷/甲醇]純化，獲得標題化合物(3.8g)。

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.29(1H，s)，5.97(1H，d，J=5.7Hz)，4.86(1H，t，J=5.3Hz)，4.29(1H，t，J=5.3Hz)，4.10(1H，dt，J=5.9，2.4Hz)，3.87(1H，dd，J=12.1,3.1Hz)，3.76(1H，dd，J=12.3,3.3Hz)，2.74(1H，m)，1.24(6H，d，J=6.7Hz).

【0920】

(步驟 3)

3'-疊氮基-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-去氧-N-(2-甲基丙醯基)鳥苷

使用於上述步驟 2 獲得的化合物(3.8g)，以與實施例 11 步驟 1 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(5.78g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：11.9(1H，s)，7.68(2H，d，J=7.4Hz)，7.60(1H，s)，7.57(2H，d，J-8.6Hz)，7.51(2H，d，J=8.6Hz)，7.39-7.18(3H，m)，7.02(1H，d，J=4.7Hz)，6.95(2H，d，J=9.0Hz)，6.89(2H，d，J=9.0Hz)，5.84(1H，m)，5.63(1H，d，J=7.8Hz)，4.58(1H，dd，J=6.7，2.3Hz)，3.99(1H，m)，3.83(3H，s)，3.81(3H，s)，3.63(1H，dd，J=11.0，1.6Hz)，2.92(1H，dd，J=10.8，2.5Hz)，0.91(1H，m)，69(3H，d，J=6.7Hz)，0.21(3H，d，J=7.0Hz).

【0921】

(步驟 4)

3'-胺基-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-去氧-N-(2-甲基丙醯基)鳥苷

於上述步驟 3 獲得的化合物(5.17g)之甲醇(60mL)溶液中，添加三苯基膦(3.98g)，並於室溫攪拌 4 小時。將反應液減壓濃縮，殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(2.22g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：7.77(2H，d，J=6.7Hz)，7.49-7.17(8H，m)，6.86-6.77(4H，m)，5.93(1H，d，J=2.7Hz)，5.85(1H，d，J=3.5Hz)，5.02(1H，dd，J=6.7，2.7Hz)，4.74(1H，m)，4.32(1H，m)，4.06(1H，m)，3.79(3H，s)，3.78(3H，

s)，3.72(1H，t，J=5.9Hz)，3.49(1H，dd，J=10.4，3.3Hz)，3.33(1H，dd，J=10.4，3.7Hz)，2.26(1H，m)，1.21-0.95(6H，m).

【0922】

(步驟 5)

5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-去氧-N-(2-甲基丙醯基)-3'-(2,2,2-三氟乙醯胺)鳥苷

於上述步驟 4 獲得的化合物(2.22g)之 N,N-二甲基甲醯胺(20mL)溶液中，添加三氟乙酸乙酯(4.0mL)，並於 50℃攪拌 2 日。將反應液冷卻後，添加飽和碳酸氫鈉水溶液而停止反應，以乙酸乙酯萃取。有機層以飽和食鹽水洗淨後，以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[二氯甲烷/甲醇]純化，獲得標題化合物(2.06g)。

MS(ESI)m/z：751$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：12.0(1H，brs)，7.81(1H，brs)，7.65(1H，s)，7.59(2H，d，J=7.4Hz)，7.47(2H，d，J=9.0Hz)，7.43(2H，d，J=8.6Hz)，7.27-7.18(3H，m)，6.87(2H，d，J=9.0Hz)，6.82(2H，d，J=9.0Hz)，5.72(1H，d，J=6.3Hz)，5.67(1H，m)，5.02(1H，m)，4.33(1H，m)，3.80(3H，s)，3.78(3H，s)，3.60(1H，dd，J=10.6，1.6Hz)，3.29(1H，dd，J=10.6，2.7Hz)，1.36(1H，m)，0.82(3H，d，J=7.0Hz)，0.44(3H，d，J=6.7Hz).

【0923】

(步驟 6)

5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2'-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}-3'-去氧-N-(2-甲基丙醯基)-3'-(2,2,2-三氟乙醯胺)鳥苷

使用於上述步驟 5 獲得的化合物(1.0g)，以與實施例 5 步驟 4 同樣的手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(780mg)。

【0924】

(步驟 7)

2-甲基丙烷-2-胺鎓 6-苄醯基-2-{2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3-O-[氧基(oxide)(側氧基)-λ^5-磷烷基]-β-D-核呋喃糖基}-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁

於實施例 1 步驟 6 獲得的化合物(5.0g)之乙腈(30mL)溶液中，添加水(0.18mL)及三氟乙酸吡啶鹽(1.2g)，並於室溫攪拌 30 分鐘。於反應液中添加三級丁基胺(30mL)，並於室溫攪拌 30 分鐘。減壓濃縮反應液後，將殘留物以乙腈共沸 2 次。於殘留物之二氯甲烷(50mL)溶液中依序添加水(0.88mL)及二氯乙酸(3.2mL)之二氯甲烷(50mL)溶液，並於室溫攪拌 1 小時。添加甲醇(5mL)及吡啶(6.3mL)而停止反應後，減壓濃縮反應液。將殘留物以 DIOL 矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯→二氯甲烷/甲醇]純化，獲得標題化合物(3.0g)。

MS(ESI)m/z：589$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.01(1H，s)，7.65(1H，s)，7.44(1H，m)，7.34-7.26(4H，m)，7.02(1H，d，J=639.3Hz)，6.24(1H，s)，4.89(1H，m)，4.81(1H，ddd，J=10.6，5.1,1.6Hz)，4.43-4.27(3H，m)，3.90(2H，m)，3.14(2H，m)，2.30(2H，m)，1.42(9H，s)，0.80(9H，s)，-0.27(6H，s).

【0925】

(步驟 8)

二核苷酸 A

於上述步驟 7 獲得的化合物(543mg)之二氯甲烷(6.0mL)-乙腈(6.0mL)混合溶液中，添加分子篩 3A,1/16(500mg)及 4,5-二氰基咪唑(126mg)，並於室溫攪拌 15 分鐘。於反應液中添加於上述步驟 6 獲得的化合物(780mg)，5 小時攪拌後，添加 N,N-二甲基-N'-(3-亞硫基-3H-1,2,4-二噻唑-5-基)甲脒(219mg)，再攪拌 2 小時。自反應液濾除分子篩 3A，於濾液中添加飽和碳酸氫鈉水溶液，以乙酸乙酯萃取。有機層以無水硫酸鈉乾燥後，濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化。於獲得的化合物(740mg)之二氯甲烷(6.0mL)溶液中，依序添加水(0.086mL)及二氯乙酸(0.158mL)之二氯甲烷(6.0mL)溶液，並於室溫攪拌 1.5 小時。添加吡啶(0.31mL)而停止反應後，減壓濃縮反應液。將殘留物以矽膠管柱層析[二氯甲烷/甲醇]純化，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(520mg)。

MS(ESI)m/z：1168$(M+H)^+$.

【0926】

(步驟 9)

N-{9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-15-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-10-(2-氰基乙氧基)-2-側氧基-2-氫硫基-10-亞硫基-16-(2,2,2-三氟乙醯胺)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五

氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-2-基}-2-甲基丙醯胺

使用於上述步驟 8 獲得的化合物(270mg)，以與實施例 1 步驟 9 同樣之手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(110mg)。

MS(ESI)m/z：1182$(M+H)^+$.

【0927】

(步驟 10)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-16-胺基-7-(2-胺基-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基)-15-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ⁵,10λ⁵-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於上述步驟 9 獲得的化合物(110mg)，使用與實施例 1 步驟 10 同樣之手法而進行反應，獲得標題化合物之非鏡像異構物 1(34.2mg)及非鏡像異構物 2(19.3mg)。

非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：859$(M+H)^+$.

非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：859$(M+H)^+$.

【0928】

(步驟 11-1)

二鈉 (5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-16-胺基-7-(2-胺基-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基)-15-羥基-2,10-二

側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

使用於上述步驟 10 獲得的化合物(非鏡像異構物 1)(34.2mg)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以 C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(8.9mg)。

MS(ESI)m/z：745$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.01(1H，s)，7.93(1H，s)，7.01(1H，s)，6.20(1H，d，J=3.9Hz)，6.01(1H，d，J=8.6Hz)，5.65(1H，m)，5.19(1H，dt，J=9.5，4.0Hz)，4.68(1H，t，J=4.3Hz)，4.40-4.28(2H，m)，4.23(1H，m)，4.17(1H，m)，4.11-4.01(3H，m)，3.41(2H，m)，2.75-2.53(2H，m)，1.98-1.78(2H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：58.0(s)，54.3(s).

【0929】

(步驟 11-2)

二鈉 (5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-16-胺基-7-(2-胺基-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基)-15-羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

使用於上述步驟 10 獲得的化合物(非鏡像異構物 2)(19.3mg)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以 C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(5.6mg)。

MS(ESI)m/z：745$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：10.7(1H，s)，8.40(2H，brs)，8.09(1H，s)，8.03(1H，s)，7.74(1H，brs)，7.22(1H，s)，6.95(1H，brs)，6.53(2H，brs)，61.6(2H，t，J=8.2Hz)，5.57(1H，q，J=8.0Hz)，5.25(1H，dd，J=7.8，4.3Hz)，4.61(1H，dd，J=7.6，4.5Hz)，4.38(1H，s)，4.27-4.11(3H，m)，3.85-3.71(3H，m)，3.35(2H，m)，2.80(2H，m)，1.93(2H，m).

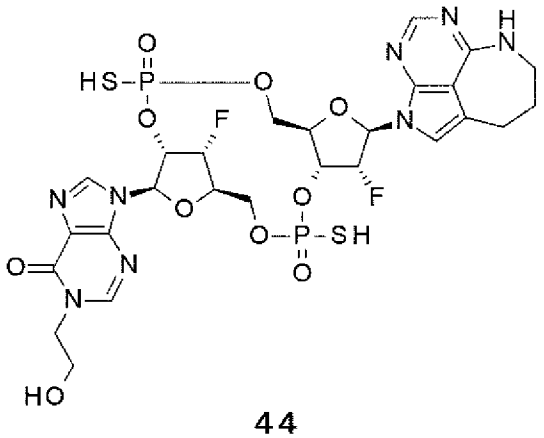
^{31}P-NMR(DMSO-d_6)δ：60.3(s)，58.3(s).

【0930】

實施例 54：CDN44 之合成

(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-二 氟-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0931】



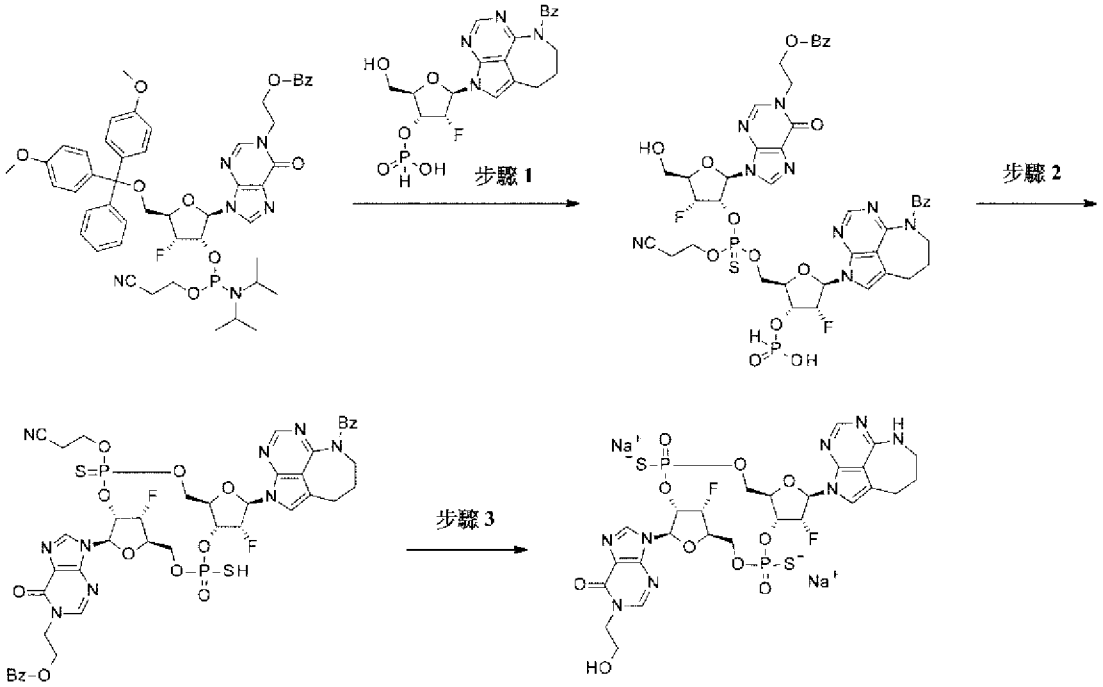
44

44a (非鏡像異構物 1)
44b (非鏡像異構物 2)

【0932】

[合成流程圖]

【0933】



【0934】

(步驟 1)

使用於實施例 44 步驟 8 獲得的化合物(636mg)，以與實施例 1 步驟 7 同樣之手法進行反應，獲得 6-苄醯基-2-{2-去氧-2-氟-3-O-[羥基(側氧基)-λ^5-磷烷基]-β-D-核呋喃糖基}-6,7,8,9-

四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁之乙腈溶液。使用獲得的乙腈溶液及實施例 49 步驟 7 獲得的化合物(640mg)，以與實施例 1 步驟 8 同樣之手法進行反應，將獲得的粗生成物直接用於之後的反應。

【0935】

(步驟 2)

2-{9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-10-(2-氰基乙氧基)-15,16-二氟-2-側氧基-2-氫硫基-10-亞巯基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基}乙基苯甲酸酯

使用於上述步驟 1 所獲得的粗生成物，以與實施例 1 步驟 9 同樣之手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(228mg：含有雜質)。

MS(ESI)m/z：1040$(M+H)^+$.

【0936】

(步驟 3)

二鈉 (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-二氟-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

將於上述步驟 2 獲得的化合物(228mg)溶解於甲醇(5mL)及28%氨水溶液(5mL)，於 60℃攪拌 12 小時。減壓濃縮反應液後，

依序以 C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]、製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：5%-30%(0 分-40 分)]、及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈-甲醇溶液(1：1)，乙腈-甲醇溶液(1：1)：7%-50%(0 分-40 分)]純化，各自呈三乙基胺鹽獲得標題化合物之非鏡像異構物 1 及非鏡像異構物 2(HPLC 之滯留時間：非鏡像異構物 1＞2)。

獲得的三乙基胺鹽以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，而獲得標題化合物之非鏡像異構物 1(12.5mg)及非鏡像異構物 2(15.8mg)。

非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：779$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.63(1H，s)，8.16(1H，s)，8.03(1H，s)，7.08(1H，s)，6.47(1H，dd，J=17.5,1.8Hz)，6.27(1H，d，J=7.9Hz)，5.64-5.36(3H，m)，5.31-5.20(1H，m)，4.62-4.50(2H，m)，4.44-4.39(1H，m)，4.32-4.12(3H，m)，4.10-4.03(1H，m)，3.99-3.91(1H，m)，3.83-3.72(2H，m)，3.52-3.46(2H，m)，2.78-2.72(2H，m)，2.04-1.85(2H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：57.5(s)，55.0(s).

非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：779$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.69(1H，s)，8.21(1H，s)，8.03(1H，s)，7.25(1H，s)，6.49(1H，dd，J=15.1,3.0Hz)，6.28(1H，d，J=9.1Hz)，5.64-5.28(4H，m)，4.61-4.39(4H，m)，4.26-4.17(1H，m)，4.13-3.95(3H，m)，3.84-3.77(2H，m)，3.53-

3.45(2H，m)，2.92-2.77(2H，m)，2.02-1.92(2H，m).

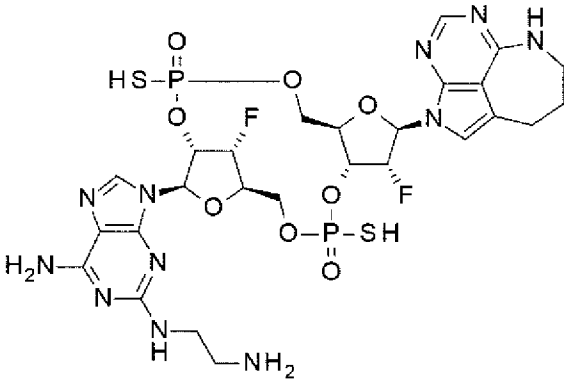
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：60.7(s)，57.4(s).

【0937】

實施例 55：CDN45 之合成

(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{6-胺 基-2-[(2-胺基乙基)胺基]-9H-嘌呤-9-基}-15,16-二氟-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0938】



45

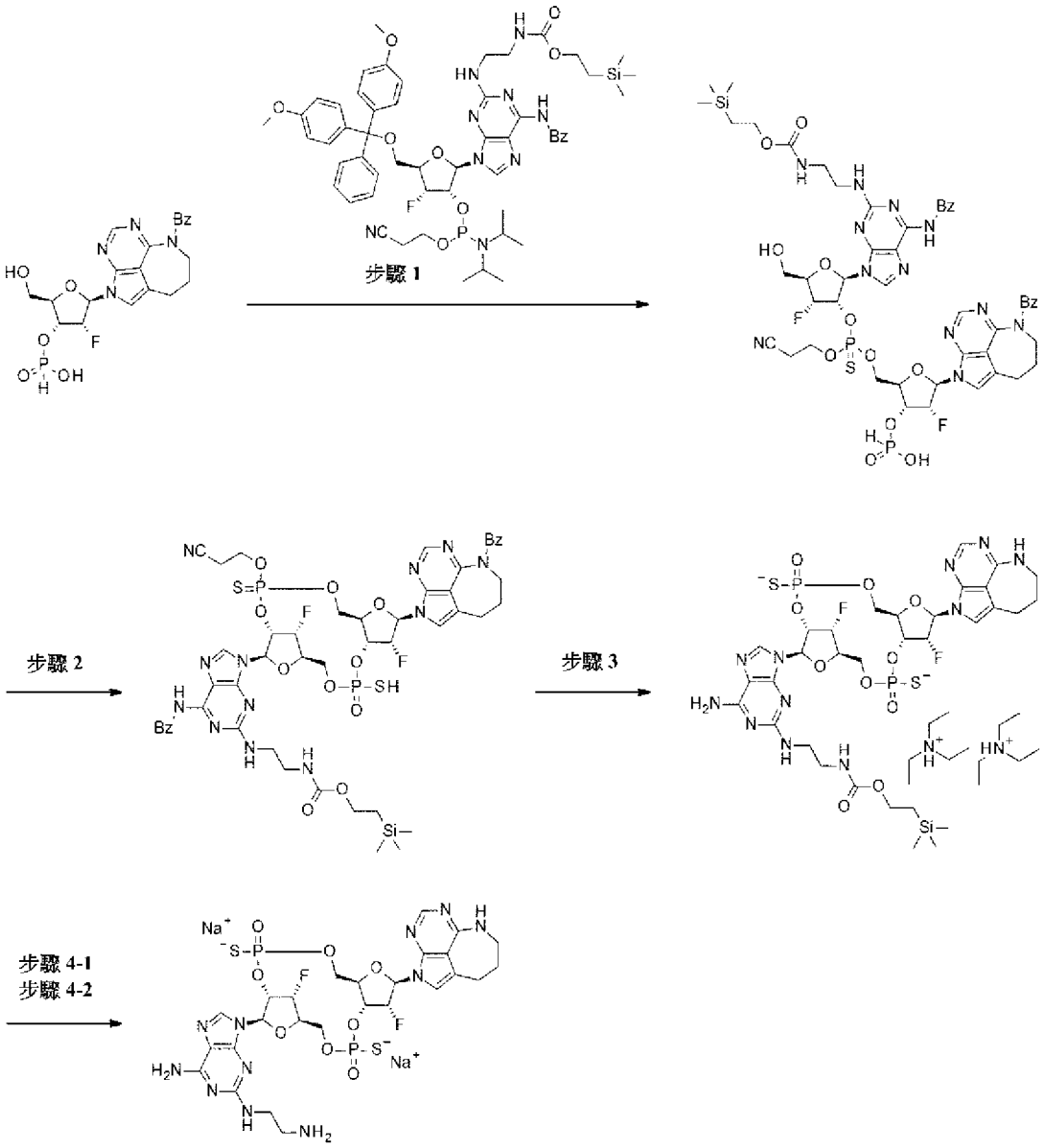
45a (非鏡像異構物 1)

45b (非鏡像異構物 2)

【0939】

[合成流程圖]

【0940】



【0941】

(步驟 1)

使用於實施例 44 步驟 8 獲得的化合物(696mg)，以與實施例 1 步驟 7 同樣之手法進行反應，獲得 6-苄醯基-2-{2-去氧-2-氟-3-O-[羥基(側氧基)-λ^5-磷烷基]-β-D-核呋喃糖基}-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁之乙腈溶液。使用獲得的乙腈溶液及於實施例 52 步驟 10 獲得的化合物(738mg)，以與實施例 1 步驟 8 同樣之手法進行反應，將獲得的粗生成物直接用於之後的反應。

【0942】

(步驟 2)

2-(三甲基矽基)乙基 [2-({6-苯甲醯胺-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-10-(2-氰基乙氧基)-15,16-二氟-2-側氧基-2-氫硫基-10-亞巯基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-9H-嘌呤-2-基}胺基)乙基]胺甲酸酯

使於上述步驟 1 所獲得的混合物，以與實施例 1 步驟 9 同樣之手法進行反應，獲得含標題化合物的混合物(1.31g)。獲得的混合物直接用於下一反應。

MS(ESI)m/z：1195(M-H)$^-$.

【0943】

(步驟 3)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-胺基-2-{[2-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)乙基]胺基}-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於上述步驟 2 所獲得的混合物(1.31g)，以與實施例 1 步驟 10 同樣之手法進行反應，各自獲得標題化合物之非鏡像異構物 1(249mg：含有雜質)及非鏡像異構物 2(344mg：含有雜質)。

非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：936(M＋H)$^+$.

非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：936(M＋H)$^+$.

【0944】

(步驟 4-1)

二鈉 (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{6-胺基-2-[(2-胺基乙基)胺基]-9H-嘌呤-9-基}-15,16-二氟-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

使用於上述步驟 3 獲得的化合物(非鏡像異構物 1)(249mg：含有雜質)，以與實施例 40 步驟 5 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：10%-40%(0 分-30 分)]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：0%-30%(0 分-30 分)]。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(9.2mg)。

MS(ESI)m/z：792(M＋H)$^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.17(1H，brs)，8.01(1H，s)，7.01(1H，s)，6.45(1H，d，J=17.5Hz)，6.07(1H，d，J=8.5Hz)，5.84-5.64(1H，m)，5.61(1H，dd，J=53.5，3.3Hz)，5.40(1H，dd，J=52.0，4.2Hz)，5.30-5.18(1H，m)，4.59-4.17(6H，m)，3.54-3.42(2H，m)，3.39-3.31(2H，m)，3.05-2.98(2H，m)，2.69-2.51(2H，m)，2.02-1.83(2H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：57.3(s)，54.8(s).

【0945】

(步驟 4-2)

二鈉 (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{6-胺基-2-[(2-胺基乙基)胺基]-9H-嘌呤-9-基}-15,16-二氟-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

使用於上述步驟 3 獲得的化合物(非鏡像異構物 2)(344mg：含雜質)，以與實施例 40 步驟 5 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：10%-40%(0 分-30 分)]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：10%-30%(0 分-30 分)]。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(4.7mg)。

MS(ESI)m/z：792$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.05(1H，brs)，8.01(1H，s)，7.35(1H，s)，6.50(1H，d，J=16.3Hz)，6.06(1H，d，J=8.5Hz)，5.98-5.75(1H，m)，5.48-5.28(3H，m)，4.59-4.28(3H，m)，4.29-4.22(1H，m)，4.04-3.98(1H，m)，3.56-3.42(2H，m)，3.36-2.61(6H，m)，2.05-1.86(2H，m).

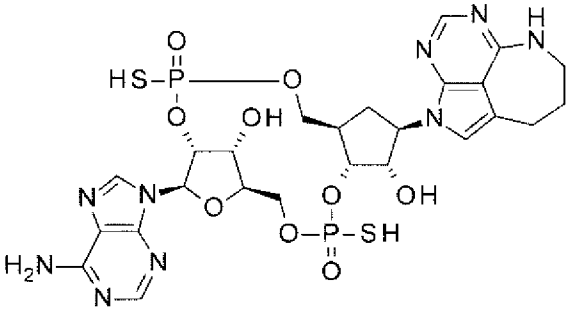
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：58.4(brs)，57.6(s).

【0946】

實施例 56：CDN46 之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16R)-7-(6-胺基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二羥基-2,10-雙(氫硫基)-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)十氫-2H,10H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-環戊[l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0947】



46

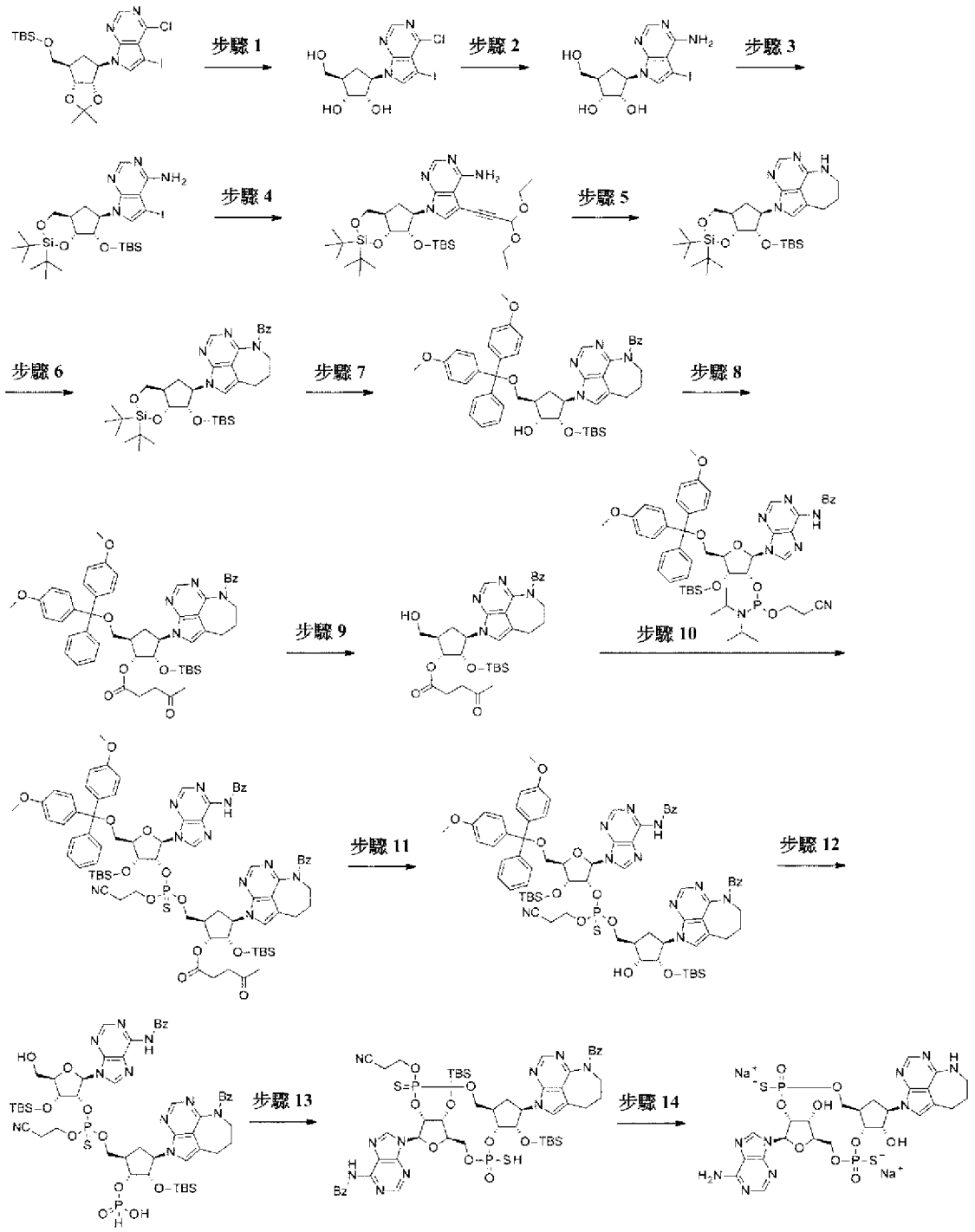
46a (非鏡像異構物 1)

46b (非鏡像異構物 1)

【0948】

[合成流程圖]

【0949】



【0950】

(步驟 1)

(1R,2S,3R,5R)-3-(4-氯-5-碘基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-5-(羥基甲基)環戊烷-1,2-二醇

於文獻已知(WO2015/199136)之 7-[(3aS,4R,6R,6aR)-6-({[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}甲基)-2,2-二甲基四氫-

2H,3aH-環戊[d][1,3]間二氧環戊烯-4-基]-4-氯-5-碘基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶(6.0g)中，依序添加三氟乙酸(36mL)及水(12mL)，並於室溫攪拌 3 小時。將反應液減壓濃縮，獲得標題化合物之粗製體。將獲得的粗生成物直接用於之後的反應。

【0951】

(步驟 2)

(1R,2S,3R,5R)-3-(4-胺基-5-碘基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-5-(羥基甲基)環戊烷-1,2-二醇

於上述步驟 1 獲得的化合物(4.4g)之 1,4-二噁烷(40mL)溶液中，添加 28%氨水(40mL)，並於 90℃攪拌 72 小時。減壓濃縮反應液後，殘留物以 C18 矽膠管柱層析[水/甲醇]純化，獲得標題化合物(3.4g)。

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.07(1H，s)，7.56(1H，s)，6.57(1H，brs)，4.89(1H，dd，J=19.2，8.6Hz)，4.79(1H，d， 6.7Hz)，4.70(1H，t，J=5.3Hz)，4.59(1H，d，J=4.3Hz)，4.15(1H，m)，3.78(1H，m)，3.45(2H，m)，2.14(1H，m)，2.03(1H，m)，1.48(1H，m).

【0952】

(步驟 3)

7-[(4aR,6R,7S,7aR)-2,2-二-三級丁基-7-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}六氫-2H-環戊[d][1,3,2]二氧矽-6-基]-5-碘基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺

使用於上述步驟 2 獲得的化合物(3.3g)，以與實施例 1 步驟 1 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(4.6g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.27(1H，s)，7.00(1H，s)，5.69(1H，brs)，4.92(1H，dt，J=9.0，1.2Hz)，4.32(3H，m)，3.98(1H，t，J=10.8Hz)，2.58(1H，m)，2.26(1H，m)，1.74(1H，brs)，1.49(1H，dt，J=12.5,8.6Hz)，1.13(9H，s)，1.09(9H，s)，0.86(9H，s)，0.06(3H，s)，0.00(3H，s).

【0953】

(步驟 4)

7-[(4aR,6R,7S,7aR)-2,2-二-三級丁基-7-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}六氫-2H-環戊[d][1,3,2]二氧矽-6-基]-5-(3,3-二乙氧基丙-1-炔-1-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺

使用於上述步驟 3 獲得的化合物(4.6g)，以與實施例 1 步驟 2 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(3.6g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.30(1H，s)，7.15(1H，s)，5.61(1H，brs)，5.55(1H，s)，4.90(1H，dt，J=9.0，1.2Hz)，4.32(3H，m)，3.97(1H，t，J=10.8Hz)，3.86(2H，m)，3.71(2H，m)，2.58(1H，m)，2.28(1H，m)，1.68(1H，s)，1.48(1H，m)，1.32(6H，t，J=7.0Hz)，1.13(9H，s)，1.09(9H，s)，0.86(9H，s)，0.05(3H，s)，0.04(3H，s).

【0954】

(步驟 5)

2-[(4aR,6R,7S,7aR)-2,2-二-三級丁基-7-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}六氫-2H-環戊[d][1,3,2]二氧矽-6-基]-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁

使用於上述步驟 4 獲得的化合物(3.60g)，以與實施例 1 步驟 3 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(2.44g)。

MS(ESI)m/z：589(M＋H)$^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.18(1H，s)，6.66(1H，s)，6.55(1H，brs)，4.94(1H，m)，4.36-4.25(3H，m)，3.97(1H，t，J=10.8Hz)，3.57(2H，m)，2.93(2H，t，J=5.5Hz)，2.58(1H，m)，2.27(1H，m)，2.09(1H，m)，1.46(1H，dt，J=12.5,8.6Hz)，1.29(1H，m)，1.12(9H，s)，1.08(9H，s)，0.86(9H，s)，0.04(3H，s)，0.03(3H，s).

【0955】

(步驟 6)

2-[(4aR,6R,7S,7aR)-2,2-二-三級丁基-7-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}六氫-2H-環戊[d][1,3,2]二氧矽-6-基]-2,7,8,9-四氫-6H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-6-基}(苯基)甲酮

使用於上述步驟 5 獲得的化合物(2.44g)，以與實施例 1 步驟 4 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(2.01g)。

MS(ESI)m/z：663(M＋H)$^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.12(1H，s)，7.42-7.25(5H，m)，6.97(1H，s)，5.04(1H，t，J=9.0Hz)，4.44(1H，m)，4.38(1H，dd，J=10.0，4.9Hz)，4.33-4.23(3H，m)，4.00(1H，t，J=10.8Hz)，3.06(2H，m)，2.60(1H，m)，2.29(3H，m)，1.57(1H，m)，1.14(9H，s)，1.10(9H，s)，0.84(9H，s)，0.06(3H，s)，0.05(3H，s).

【0956】

(步驟 7)

{2-[(1R,2S,3R,4R)-4-{[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基]甲基}-2-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-3-羥基環戊基]-2,7,8,9-四氫-6H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-6-基}(苯基)甲酮

使用於上述步驟 6 獲得的化合物(2.01g)，以與實施例 1 步驟 5 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(2.13g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.03(1H，s)，7.49(2H，m)，7.38-7.19(13H，m)，7.02(1H，s)，6.83(4H，m)，5.07(1H，m)，4.60(1H，dd，J=8.6，5.1Hz)，4.29(2H，m)，3.99(1H，m)，3.79(6H，s)，3.33(1H，dd，J=9.4，3.9Hz)，3.22(1H，dd，J=9.2,4.1Hz)，2.97(2H，t，J=6.5Hz)，2.68(1H，d，J=1.6Hz)，2.37-2.18(5H，m)，0.73 (9H，s)，-0.18(3H，s)，-0.47(3H，s).

【0957】

(步驟 8)

(1R,2S,3R,5R)-3-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-5-{[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基]甲基}-2-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}環戊基 4-側氧基戊酸酯

於 4-戊酮酸(2.96g)之四氫呋喃(20mL)溶液中，添加 N,N-二環己基碳二亞胺(2.63g)，並於室溫攪拌 12 小時。濾除析出物後，減壓濃縮濾液。於殘留物之二氯甲烷(20mL)溶液中，添加於上述步驟 7 獲得的化合物(2.10g)及 4-二甲基胺基吡啶(155mg)，於室溫攪拌 1 小時。於反應液中添加飽和碳酸氫鈉水溶液而停止反應後，以乙酸乙酯萃取，有機層以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(2.35g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.02(1H，s)，7.49(2H，m)，7.40-7.19(13H，m)，7.04(1H，s)，6.84(4H，m)，5.26(1H，dd，J=5.1,2.0Hz)，5.06(1H，q，J=9.0Hz)，4.61(1H，dd，J=8.8，

4.9Hz)，4.28(2H，m)，3.79(6H，s)，3.39(1H，dd，J=9.2,3.7Hz)，3.19(1H，dd，J=9.4，3.9Hz)，3.00-1.85(14H，m)，0.64(9H，s)，-0.13(3H，s)，-0.45(3H，s).

【0958】

(步驟 9)

(1R,2S,3R,5R)-3-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-2-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-5-(羥基甲基)環戊基-4-側氧基戊酸酯

於上述步驟 8 獲得的化合物(2.35g)之二氯甲烷(25mL)溶液中，依序添加水(0.24mL)及二氯乙酸(1.05mL)之二氯甲烷(25mL)溶液，並於室溫攪拌 1 小時。於反應液中添加甲醇(1.0mL)及飽和碳酸氫鈉水溶液而停止反應後，以乙酸乙酯萃取，有機層以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(1.15g)。

MS(ESI)m/z：621$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.05(1H，s)，7.38-7.17(5H，m)，7.04(1H，s)，5.19(1H，dd，J=4.5,1.4Hz)，4.82-4.69(2H，m)，4.47(1H，dd，J=14.5，7.4Hz)，4.31(1H，d，J=7.8Hz)，4.15-4.08(1H，m)，3.83(1H，m)，3.75(1H，d，J=10.8Hz)，3.11-2.95(2H，m)，2.90-2.51(4H，m)，2.47-2.32(2H，m)，2.32-2.11(3H.m)，2.22(3H，s)，0.68(9H，s)，-0.16(3H，s)，-0.50(3H，s).

【0959】

(步驟 10)

N-苄醯基-2'-O-[({(1R,2R,3S,4R)-4-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-3-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-2-[(4-側氧基戊醯基)氧基]環戊基}甲氧基)(2-氰基乙氧基)硫代磷醯基]-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]腺苷

於上述步驟9獲得的化合物(550mg)之乙腈(12mL)溶液中，添加分子篩 3A,1/16(500mg)及 N-苄醯基-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-2'-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}腺苷(1.23g)，並於室溫攪拌15分鐘。於反應液中添加4,5-二氰基咪唑而攪拌1小時後，添加3H-1,2-苯硫酚-3-酮 1,1-二氧化物(355mg)，再攪拌1小時。自反應液濾除分子篩 3A，於濾液中添加飽和碳酸氫鈉水溶液，以乙酸乙酯萃取。有機層以無水硫酸鈉乾燥後，濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(1.17g)。

MS(ESI)m/z：1539$(M+H)^+$.

【0960】

(步驟11)

N-苄醯基-2'-O-[{[(1R,2R,3S,4R)-4-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-3-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-2-羥基環戊基]甲氧基}(2-氰基乙氧基)硫代磷醯基]-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]腺苷

於上述步驟10獲得的化合物(1.22g)之乙腈(2.0mL)溶液中，添加肼一水合物(0.25mL)之乙酸(5.0mL)-吡啶(7.5mL)混

合溶液，並於室溫攪拌 30 分鐘。於反應液中添加水而停止反應後，以乙酸乙酯萃取，有機層以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(770mg)。

MS(ESI)m/z：1442$(M+H)^+$.

【0961】

(步驟 12)

N-苄醯基-2'-O-[{[(1R,2R,3S,4R)-4-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-3-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-2-{[羥基(側氧基)-λ^5-磷烷基]氧基}環戊基]甲氧基}(2-氰基乙氧基)硫代磷醯基]-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]腺苷

於上述步驟 11 獲得的化合物(770mg)之吡啶(8.0mL)溶液中，添加亞磷酸二苯酯(0.61mL)，並於室溫攪拌 2 小時。於反應液中添加水(20mL)、乙腈(8.0 mL)、及乙酸三乙基銨水溶液(2M，1.6mL)，攪拌 1 小時後，減壓濃縮反應液。於殘留物之二氯甲烷(5.0mL)溶液中，依序添加水(0.096mL)及二氯乙酸(0.22mL)之二氯甲烷(5.0mL)溶液，並攪拌 30 分鐘。添加吡啶(0.43mL)而停止反應後，減壓濃縮反應液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(400mg)。

MS(ESI)m/z：1203$(M+H)^+$.

【0962】

(步驟 13)

N-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-10-(2-氰基乙氧基)-2-側氧基-2-氫硫基-10-亞巯基十氫-2H,10H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-環戊[l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-9H-嘌呤-6-基}苯甲醯胺

使用於上述步驟 12 獲得的化合物(400mg)，以與實施例 1 步驟 9 同樣之手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(300mg)。

MS(ESI)m/z：1217$(M+H)^+$.

【0963】

(步驟 14)

二鈉 (5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16R)-7-(6-胺基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)十氫-2H,10H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-環戊烷[l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

於上述步驟 13 獲得的化合物(300mg)之甲醇(10mL)溶液中，添加 28%氨水(10mL)，並於室溫攪拌 12 小時。減壓濃縮反應液後，於殘留物中添加三乙基胺三氫氟酸鹽(3.0mL)，並於 45℃攪拌 2 小時。於冰冷的 1M 碳酸氫三乙基銨溶液(18mL)-三乙基胺(6.0mL)混合溶液中滴加反應液而停止反應。減壓濃縮反應液後，以 C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]純化，各自獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物之非鏡像異構物 1 及非鏡像異構物 2。

獲得的三乙基胺鹽以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，而獲得標題化合物之非鏡像異構物 1(45.6mg)及非鏡像異構物 2(12.6mg)。

非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：728$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.69(1H，s)，8.10(1H，s)，7.93(1H，s)，7.10(1H，s)，6.29(1H，d，J=8.2Hz)，5.38(1H，dq，J=9.7.2.7Hz)，4.99(2H，m)，4.79(1H，d，J=3.9Hz)，4.61(1H，dd，J=7.2,4.9Hz)，4.36(1H，m)，4.29(1H，m)，4.19(1H，m)，3.99(1H，m)，3.89(1H，q，J=9.9Hz)，3.47(2H，t，J=4.9Hz)，2.80(2H.q，J=5.7Hz)，2.72(1H，m)，2.37(1H，dt，J=16.4，6.7Hz)，1.94(2H，m)，1.61(1H，dt，J=16.4，6.7Hz).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：58.3(s)，54.0(s).

非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：728$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.74(1H，s)，8.10(1H，s)，7.95(1H，s)，7.09(1H，s)，6.26(1H，d，J=8.6Hz)， 5.44(1H，m)，5.24(1H，m)，5.06(1H，q，J=9.3Hz)，4.59(1H，dd，J=9.4,4.3Hz)，4.51(1H，d，J=4.3Hz)，4.34-4.21(3H，m)，3.94(1H，m)，3.74(1H，m)，3.47(2H，m)，2.85(2H，t，J=5.5Hz)，2.54(1H，m)，2.45(1H，dt，J=17.1,6.7Hz)，1.95(2H，m)，1.38(1H，ddd，J=14.6，8.3,5.0Hz).

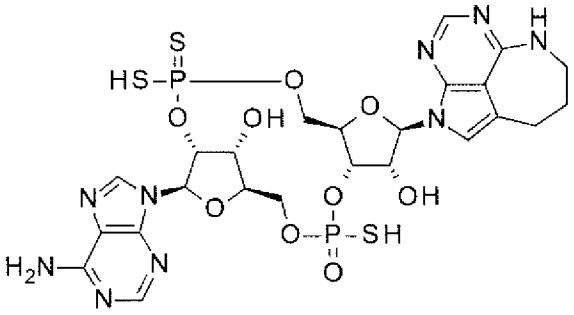
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：62.7(s)，60.1(s).

【0964】

實施例 57：CDN47 之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-胺基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二羥基-2,10-雙(氫硫基)-10-亞硫基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2-酮

【0965】



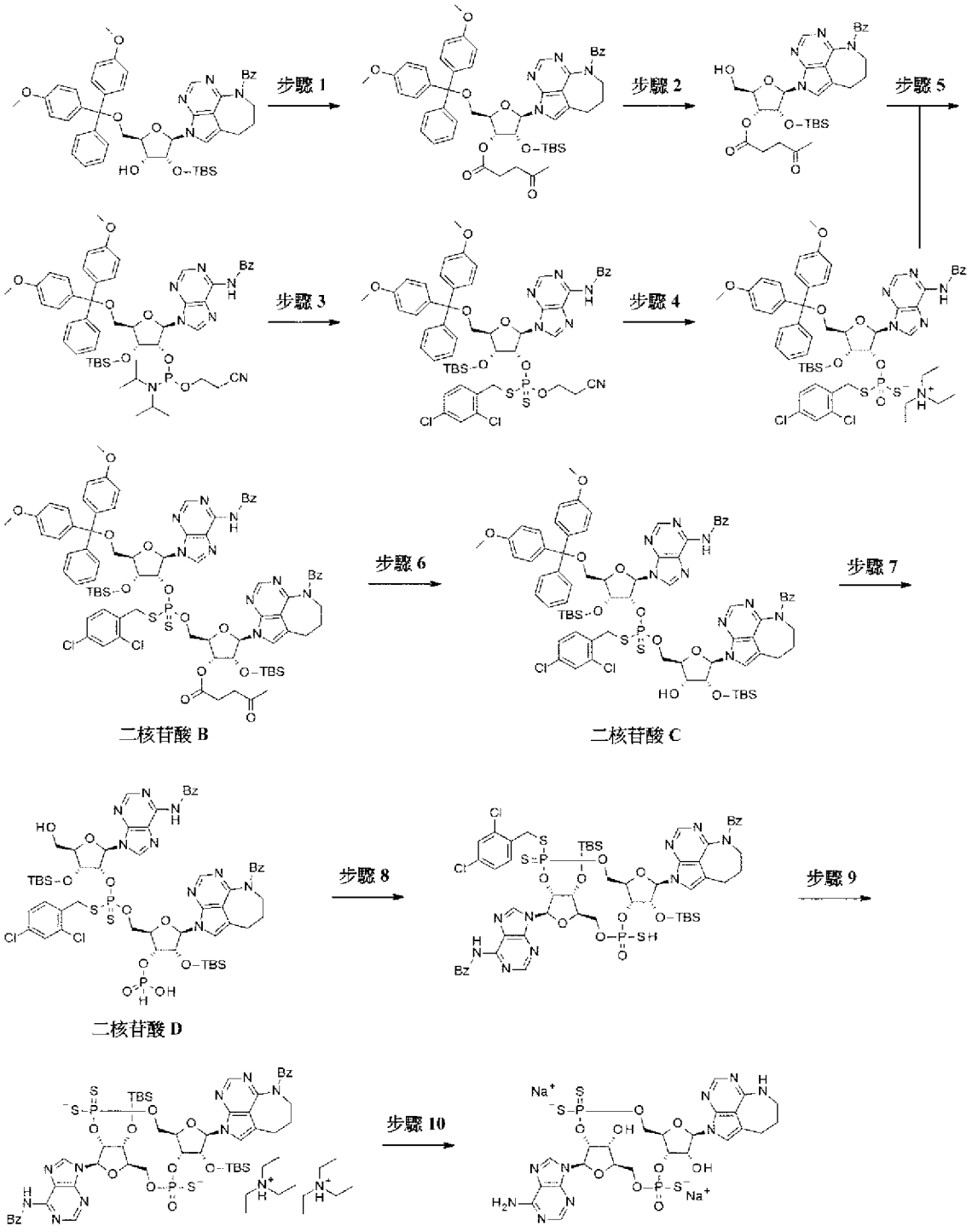
47

47a (非鏡像異構物 1)

【0966】

[合成流程圖]

【0967】



【0968】

(步驟 1)

6-苄醯基-2-{5-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3-O-(4-側氧基戊醯基)-β-D-核呋喃糖基}-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁

使用於實施例 1 步驟 5 獲得的化合物，以與實施例 56 步驟 8 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(2.8g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.08(1H，s)，7.48-7.19(15H，m)，6.37(4H，d，J=6.7Hz)，5.48(1H，dd，J=5.1,2.3Hz)，4.83(1H，dd，J=6.7，5.1Hz)，4.37-4.00(3H，m)，3.80(3H，s)，3.79(3H，s)，3.69(1H，m)，3.54(1H，dd，J=10.6，2.7Hz)，3.39(1H，dd，J=11.0，2.7Hz)，2.90-2.57(6H，m)，2.20(3H，s)，2.20-2.11(2H，m)，0.69(9H，s)，-0.03(3H，s)，-0.29(3H，s).

【0969】

(步驟 2)

6-苄醯基-2-{2-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-3-O-(4-側氧基戊醯基)-β-D-核呋喃糖基}-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁

使用於上述步驟 1 獲得的化合物(2.8g)，以與實施例 56 步驟 9 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(1.74g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.06(1H，s)，7.38-7.20(5H，m)，7.04(1H，s)，6.32(1H，dd，J=12.1,1.6Hz)，5.64(1H，d，J=7.8Hz)，5.47(1H，d，J=5.1Hz)，5.16(1H，dd，J=7.8，5.1Hz)，4.40(1H，m)，4.29(1H，s)，4.17(1H，m)，3.91(1H，m)，3.75(1H，m)，3.02(2H，m)，2.90-2.60(4H，m)，2.30-2.14(2H，m),2,22(3H，s)，0.68(9H，s)，-0.15(3H，s)，-0.46(3H，s).

【0970】

(步驟 3)

N-苄醯基-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-2'-O-[(2-氰基乙氧基){[(2,4-二氯苯基)甲基]氫硫基}硫代磷醯基]腺苷

於市售(ChemGenes)之 N-苄醯基-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-2'-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}腺苷(3.73g)之乙腈(30mL)溶液中，添加分子篩 3A,1/16(1.0g)及 2,4-二氯苄基硫醇(1.8mL)，並於室溫攪拌 10 分鐘。於反應液中添加咪唑過氯酸鹽(3.18g)而攪拌 2.5 小時後，添加硫(242mg)，再攪拌 1 小時。自反應液濾除分子篩 3A，於濾液中添加飽和碳酸氫鈉水溶液，以乙酸乙酯萃取。有機層以無水硫酸鈉乾燥後，濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(2.73g)。

MS(ESI)m/z：1111$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.89(1H，s)，8.74(1H，d，J=1.8Hz)，8.32(0.5H s)，8.26(0.5H，s)，8.02(2H，m)，7.64-7.61(15H，m)，6.82(4H，d，J=9.0)，6.45(0.5H，d，J=6.7Hz)，6.38(0.5H，d，J=6.3Hz)，5.88(0.5H，ddd，J=14.2,6.6，4.8Hz)，5.74(0.5H，ddd，J=14.4，6.4,4.8Hz)，4.75(0.5H，dd，J=4.7，2.7Hz)，4.64(0.5H，dd，J=4.7，2.3Hz)，4.22-3.82(5H，m)，3.78(6H，s)，3.58-3.53(2H，m)，3.34-3.29(2H，m)，2,57(1H，t，J=6.3Hz)，2.48(1H，t，J=6.3Hz)，0.90(4.5H，s)，0.88(4.5H，s)，0.16(1.5H，s)，0.11(1.5H，s)，0.07(1.5H，s)，0.04(1.5H，s).

【0971】

(步驟 4)

N,N-二乙基乙銨 N-苄醯基-5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-2'-O-[{[(2,4-二氯苯基)甲基]氫硫基}(硫醚)磷醯基]腺苷

於上述步驟 3 獲得的化合物(2.66g)之乙腈(30mL)溶液中，添加三乙基胺(30mL)，並於室溫攪拌 4 小時。將反應液減壓濃縮，殘留物以 DIOL 矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(2.5g)。

MS(ESI)m/z：1058$(M+H)^+$.

【0972】

(步驟 5)

二核苷酸 B

於上述步驟 4 獲得的化合物(2.5g)之二氯甲烷(10mL)溶液中，依序添加分子篩 4A，1/16(1.0g)、於上述步驟 2 獲得的化合物(930mg)、及 1-甲基咪唑(1.18mL)，並於室溫攪拌 20 分鐘。於反應液中添加 2,4,6-三異丙基苯磺醯氯(905mg)，再攪拌 4 小時。自反應液濾除分子篩 4A，於濾液中添加飽和碳酸氫鈉水溶液，以乙酸乙酯萃取。有機層以無水硫酸鈉乾燥後，濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(1.04g)。

MS(ESI)m/z：1662$(M+H)^+$.

【0973】

(步驟 6)

二核苷酸 C

使用於上述步驟 5 獲得的化合物(1.04g)，以與實施例 56 步驟 11 同樣之手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(820mg)。

MS(ESI)m/z：1564$(M+H)^+$.

【0974】

(步驟 7)

二核苷酸 D

使用於上述步驟 6 獲得的化合物(820mg)，以與實施例 56 步驟 12 同樣之手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(440mg)。

【0975】

(步驟 8)

N-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-10-{[(2,4-二氯苯基)甲基]氫硫基}-2-側氧基-2-氫硫基-10-亞巯基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-9H-嘌呤-6-基}苯甲醯胺

使用於上述步驟 7 獲得的化合物(440mg)，以與實施例 1 步驟 9 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(360mg)。

MS(ESI)m/z：1340$(M+H)^+$.

【0976】

(步驟 9)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-苯甲醯胺-9H-嘌呤-9-基)-14-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-

2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-2-側氧基-10-亞巯基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

於上述步驟 8 獲得的化合物(360mg)之二甲亞碸溶液中，添加 1-十二烷硫醇(434mg)及 1,8-二氮雙環[5.4.0]-7-十一烯(0.40mL)，並於室溫攪拌 6 小時。將反應液直接以 C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]純化，獲得標題化合物(130mg)。

MS(ESI)m/z：1182(M＋H)$^+$.

【0977】

(步驟 10)

二鈉 (2S，5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-胺基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二羥基-2-側氧基-10-亞巯基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用於上述步驟 9 獲得的化合物(130mg)，以與實施例 56 步驟 14 同樣之手法進行反應後，以 C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

獲得的三乙基胺鹽以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，而獲得標題化合物(62.8mg)。

MS(ESI)m/z：746(M＋H)$^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.70(1H，s)，8.07(1H，s)，8.03(1H，s)，7.25(1H，s)，6.26(1H，d，J=8.6Hz)，6.21(1H，d，J=5.9Hz)，5.52(1H，dq，J=14.1，5.2Hz)，5.36(1H，m)，4.70(1H，dd，J=5.7，4.5Hz)，4.42(1H，d，J=4.3Hz)，4.37-4.26(3H，m)，4.21(1H，m)，3.96(1H，m)，3.84(1H，m)，3.50(2H，m)，2.81(2H，m)，1.93(2H，m).

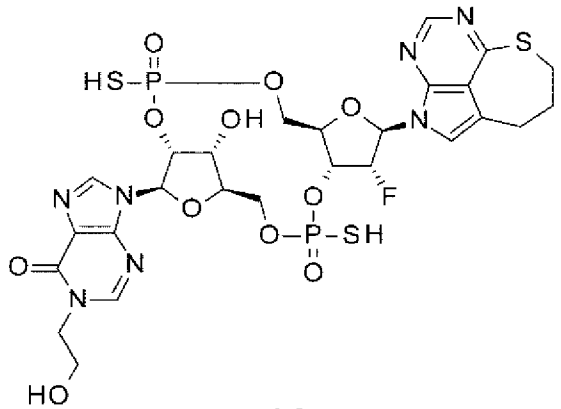
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：119.8(s)，59.4(s).

【0978】

實施例 58：CDN48 之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(8,9-二氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁-2(7H)-基)-15-氟-16-羥基-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-雙(氫硫基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【0979】



48

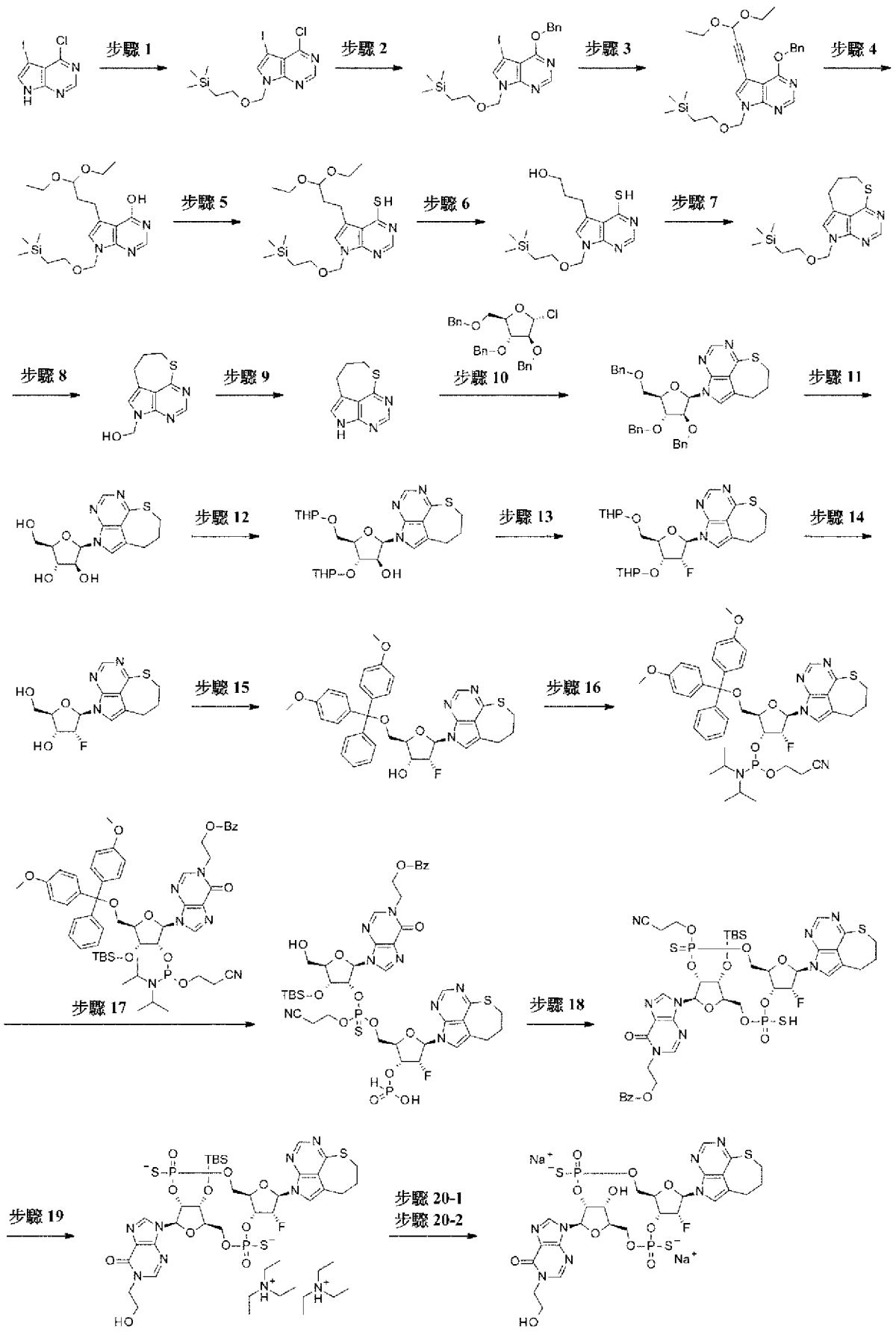
48a (非鏡像異構物 1)

48b (非鏡像異構物 2)

【0980】

[合成流程圖]

【0981】


步驟 1
步驟 2
步驟 3
步驟 4
步驟 5
步驟 6
步驟 7
步驟 8
步驟 9
步驟 10
步驟 11
步驟 12
步驟 13
步驟 14
步驟 15
步驟 16
步驟 17
步驟 18
步驟 19
步驟 20-1
步驟 20-2

【0982】

(步驟 1)

4-氯-5-碘基-7-{[2-(三甲基矽基)乙氧基]甲基}-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶

於市售(PharmaBlock)之 4-氯-5-碘基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶(73.8g)之 N,N-二甲基甲醯胺(10mL)溶液中，冰冷下添加氫化鈉(含有 45%礦物油)(13.3g)，一邊升溫至室溫為止一邊攪拌 40 分鐘。再度冰冷，歷經 10 分鐘添加[2-(氯甲氧基)乙基](三甲基)矽烷(51.0mL)後，於相同溫度下攪拌 30 分鐘。於大部分固化的反應液中一點一點添加水(260mL)而停止反應。濾取固體，而以水(1500mL)及己烷(600mL)洗淨後，減壓下於 40℃乾燥，獲得標題化合物(97.63g)。

MS(ESI)m/z：410$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.64(1H，s)，7.54(1H，s)，5.61(2H，s)，3.52(2H，t，J=8.3Hz)，0.92(2H，t，J=8.3Hz)，-0.04(9H，s).

【0983】

(步驟 2)

4-(苄基氧基)-5-碘基-7-{[2-(三甲基矽基)乙氧基]甲基}-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶

於苄基醇(27mL)之 N,N-二甲基甲醯胺(170mL)溶液中，冰冷下添加氫化鈉(含有 45%之礦物油)(12g)，一邊升溫至室溫為止一邊攪拌 40 分鐘。再次冰冷，歷經 40 分鐘添加上述步驟 1 獲得的化合物(97.63g)之 N,N-二甲基甲醯胺(360mL)懸浮液，於相同溫度下攪拌 35 分鐘。於反應液中添加碎冰及飽和氯化銨水

溶液而停止反應。將反應液注入至飽和氯化銨水溶液與乙酸乙酯之二層，以乙酸乙酯：甲苯(9：1)萃取。有機層以水及飽和食鹽水各洗淨 2 次後，以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(107.7g)。

MS(ESI)m/z：482$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.47(1H，s)，7.61(2H，d，J=7.3Hz)，7.41(2H，t，J=7.6Hz)，7.36-7.30(1H，m)，7.30(1H，s)，5.65(2H，s)，5.57(2H，s)，3.52(2H，t，J=8.3Hz)，0.91(2H，t，J=8.3Hz)，-0.05(9H，s).

【0984】

(步驟 3)

4-(苄基氧基)-5-(3,3-二乙氧基丙-1-炔-1-基)-7-{[2-(三甲基矽基)乙氧基]甲基}-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶

於上述步驟 2 獲得的化合物(113.4g)之乙腈(1000mL)-三乙基胺(98mL)混合溶液中，氮環境下，於室溫添加碘化銅(4.49g)、肆三苯基膦鈀(0)(8.17g)、及 3,3-二乙氧基丙-1-炔(104mL)，並於相同溫度下攪拌 4.5 小時。減壓濃縮反應液後，於殘留物中添加乙酸乙酯及己烷，並濾除析出的固體。將固體以乙酸乙酯：己烷(1：1)之混合液洗淨後，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(145.5g：含有雜質)。

MS(ESI)m/z：482$(M+H)^+$.

【0985】

(步驟 4)

5-(3,3-二乙氧基丙基)-7-{[2-(三甲基矽基)乙氧基]甲基}-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-醇

於上述步驟 3 獲得的化合物(145.5g)之乙醇(900mL)溶液中，添加 10%鈀碳觸媒(M)濕重(50.2g)，氫環境下，於室溫攪拌 5 小時。於反應液中添加二氯甲烷(500mL)，以矽藻土濾除觸媒，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化 2 次，獲得標題化合物(59.6g)。

MS(ESI)m/z：418$(M+Na)^+$，394$[M-H]^-$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：11.23(1H，brs)，7.85(1H，s)，6.79(1H，s)，5.47(2H，s)，4.58(1H，t，J=5.9Hz)，3.69(2H，m)，3.57-3.49(4H，m)，2.90(2H，t，J=7.8Hz)，2.07(2H，m)，1.23(6H，t，J=7.1Hz)，0.91(2H，t，J=8.1Hz)，-0.04(9H，s).

【0986】

(步驟 5)

5-(3,3-二乙氧基丙基)-7-{[2-(三甲基矽基)乙氧基]甲基}-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-硫醇

於上述步驟 4 獲得的化合物(59.6g)之脫水二氯甲烷(300mL)溶液中，氮環境下，添加 2,6-二甲吡啶(42mL)。將三氟甲磺酸酐(31mL)於-20℃歷經 20 分鐘滴加，於相同溫度下攪拌 20 分鐘。冰冷下添加 N,N-二甲基甲醯胺(500mL)及一硫化氫鈉 n 水合物(33.5g)，升溫至室溫為止後，攪拌 2.5 小時。將反應液減壓濃縮，餾除低沸點成分。將殘留物注入至乙酸乙酯與冰冷的飽和氯化銨水溶液之二層，以乙酸乙酯：甲苯(9：1)之混合液萃取。有機層以飽和氯化銨水溶液洗淨 1 次，以飽和食鹽水洗

淨 2 次後，以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物與 2,6-二甲吡啶之混合物。將獲得的混合物注入至乙酸乙酯與 1N 鹽酸之二層，以乙酸乙酯萃取 2 次。有機層以飽和食鹽水洗淨 3 次後，以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液，獲得標題化合物(57.6g)。

MS(ESI)m/z：410[M-H]$^-$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：11.69(1H，brs)，7.90(1H，s)，6.96(1H，s)，5.49(2H，s)，4.61(1H，t，J=5.9Hz)，3.71(2H，m)，3.55(2H，m)，3.49(2H，t，J=8.1Hz)，3.14(2H，t，J=7.8Hz)，2.08(2H，m)，1.23(6H，t，J=7.1Hz)，0.90(2H，t，J=8.3Hz)，-0.04(9H，s).

【0987】

(步驟 6)

3-(4-氫硫基-7-{[2-(三甲基矽基)乙氧基]甲基}-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-基)丙烷-1-醇

將於上述步驟 5 獲得的化合物(31.62g)溶解於 80%乙酸水溶液(300mL)，於室溫攪拌 30 分鐘。確認原料之消失後，冰冷，小心一點一點地添加硼氫化鈉(1.45g)，於相同溫度下攪拌 30 分鐘。接著，歷經 15 分鐘添加三乙醯氧基硼氫化鈉(24.4g)，於相同溫度下攪拌 1.5 小時。將反應液減壓濃縮至 5 分之 1 左右的量。於殘留物小心添加碳酸氫鈉(固體)而某程度中和後，以乙酸乙酯萃取。有機層依序以飽和碳酸氫鈉及飽和食鹽水洗淨，以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(17.93g)。

MS(ESI)m/z：340[M＋H]$^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：11.92(1H，brs)，7.95(1H，s)，7.01(1H，s)，5.51(2H，s)，3.70(2H，t，J=5.9Hz)，3.50(2H，t，J=8.1Hz)，3.23(2H，t，J=7.3Hz)，2.33(1H，brs)，1.99(2H，m)，0.91(2H，t，J=8.3Hz)，-0.04(9H，s).

【0988】

(步驟 7)

2-{[2-(三甲基矽基)乙氧基]甲基}-2,7,8,9-四氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁

於上述步驟 6 獲得的化合物(31.31g)之脫水四氫呋喃(600mL)溶液中，氮環境下，於 0℃添加三苯基膦(25.4g)及偶氮二甲酸二異丙酯(21.8g)，於相同溫度下攪拌 1 小時。減壓濃縮反應液後，將殘留物依序以矽膠管柱層析[二氯甲烷/乙酸乙酯]及矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(35.93g：含有雜質)。

MS(ESI)m/z：322[M＋H]$^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.57(1H，s)，7.08(1H，s)，5.58(2H，s)，3.52(2H，t，J=8.3Hz)，3.17(2H，m)，3.06(2H，t，J=5.6Hz)，2.36(2H，m)，0.92(2H，t，J=8.3Hz)，-0.05(9H，s).

【0989】

(步驟 8)

(8,9-二氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁-2(7H)-基)甲醇

於上述步驟 7 獲得的化合物(35.93g)之二氯甲烷(150mL)溶液中，於室溫添加三氟乙酸(150mL)，並於相同溫度下攪拌 1.5 小時。減壓濃縮反應液後，以甲苯共沸 4 次。於殘留物中添加二

氯甲烷：己烷(1：2)之混合液，濾取析出的固體(固體 1)。將濾液減壓濃縮後，將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯→乙酸乙酯/甲醇]純化，獲得固體 2。合併固體 1 及固體 2，而獲得標題化合物(20.13g)。

MS(ESI)m/z：222$[M+H]^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.60(1H，s)，7.19(1H，s)，5.71(2H，s)，3.21(2H，m)，3.07(2H，m)，2.38(2H，m).(僅記載能觀測到的波峰)

【0990】

(步驟 9)

2,7,8,9-四氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁

於上述步驟 8 獲得的化合物(20.13g)之甲醇(250mL)懸浮液中，添加 28%氨水溶液(150mL)，並於室溫攪拌 1.5 小時。將反應液於減壓下濃縮至一半左右的量。濾取析出的固體，而以乙醇洗淨，獲得固體 1。減壓濃縮濾液，以同樣之操作獲得固體 2。將濾液塗至矽膠後，以矽膠管柱層析[二氯甲烷/甲醇]純化。將含目的物的流份減壓濃縮，以乙醇漿化洗滌(slurry washing)後，濾取固體(固體 3)。合併固體 1、固體 2、及固體 3，而獲得標題化合物(12.36g)。

MS(ESI)m/z：192$[M+H]^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：10.53(1H，brs)，8.57(1H，s)，7.10(1H，s)，3.18(2H，m)，3.08(2H，t，J=5.6Hz)，2.37(2H，m).

【0991】

(步驟 10)

2-(2,3,5-三-O-苄基-β-D-阿拉伯呋喃糖基)-2,7,8,9-四氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁

於上述步驟 9 獲得的化合物(13.47g)之脫水乙腈(350mL)懸浮液中，氮環境下，添加粉末狀之氫氧化鉀(10.3g)及參[2-(2-甲氧基乙氧基)乙基]胺(1.13mL)，並於室溫攪拌 1.5 小時。冰冷下，一點一點地添加文獻已知的(J.Med.Chem.1976，19，6，814-816)之 2,3,5-三-O-苄基-α-D-阿拉伯呋喃糖基氯化物(40.2g)之乙腈(100mL)溶液後，升溫至室溫而攪拌 4 小時。濾除不溶物，以乙腈洗淨。減壓濃縮濾液，將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化 2 次，獲得標題化合物(26.19g)。

MS(ESI)m/z：594$[M+H]^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.51(1H，s)，7.37-7.17(14H，m)，6.86(2H，m)，6.82(1H，d，J=4.9Hz)，4.68(1H，d，J=11.7Hz)，4.59(1H，d，J=11.7Hz)，4.54(1H，d，J=13.2Hz)，4.52(1H，d，J=11.7Hz)，4.36-4.33(2H，m)，4.22(1H，d，J=11.7Hz)，4.14-4.08(2H，m)，3.77(1H，dd，J=10.7，3.9Hz)，3.72(1H，dd，J=10.5，4.1Hz)，3.13(2H，m)，2.81(2H，m)，2.27(2H，m).

【0992】

(步驟 11)

2-β-D-阿拉伯呋喃糖基-2,7,8,9-四氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁

於上述步驟 10 獲得的化合物(26.19g)之脫水二氯甲烷(300mL)溶液中，氮環境下，於-78℃添加三氯化硼之二氯甲烷溶液(1M，200mL)，於相同溫度下攪拌 2 小時後，升溫至 0℃而

進一步攪拌 4 小時。將反應液再次冷卻至-78℃，添加甲醇(80mL)之二氯甲烷(160mL)溶液，並一邊升溫至室溫為止一邊攪拌攪拌 30 分鐘。將反應液減壓濃縮，以乙醇共沸 2 次。於殘留物中添加乙醇(200mL)及二乙基醚(100mL)而作成漿液狀，並濾取固體(固體 1)。減壓濃縮濾液，將殘留物以矽膠管柱層析[二氯甲烷/甲醇]純化。將含目的物的流份減壓濃縮後，添加乙醇而作成漿液狀，濾取固體(固體 2)。合併固體 1 及固體 2 而獲得標題化合物(13.2g)。

MS(ESI)m/z：324[M＋H]$^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.73(1H，s)，7.96(1H，s)，6.70(1H，d，J=4.9Hz)，4.32(1H，t，J=4.6Hz)，4.25(1H，t，J=4.6Hz)，3.97(1H，m)，3.90(1H，dd，J=12.0，3.2Hz)，3.85(1H，dd，J=12.0，4.6Hz)，3.53(2H，m)，3.17(2H，m)，2.43(2H，m).

【0993】

(步驟 12)

2-[3,5-雙-O-(氧環己烷-2-基)-β-D-阿拉伯呋喃糖基]-2,7,8,9-四氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁

於上述步驟 11 獲得的化合物(15.35g)之脫水二甲亞碸(160mL)溶液中，於 0℃添加 3,4-二氫-2H-哌喃(17.2mL)及對甲苯磺酸一水合物(9.02g)，並於室溫攪拌 3 小時。追加 3,4-二氫-2H-哌喃(8.6mL)，攪拌 45 分鐘後，立即添加三乙基胺(13mL)而停止反應。將反應液注入至乙酸乙酯與飽和碳酸氫鈉水溶液之二層，以乙酸乙酯萃取。有機層以水洗淨 1 次，以飽和食鹽水洗淨 2 次後，以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得呈 4 種類之非鏡像異構物混合物之標題化合物(10.81g)。

MS(ESI)m/z：492[M＋H]$^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.548(0.2H，s)，8.546(0.3H，s)，8.54(0.3H，s)，8.53(0.2H，s)，7.54(0.2H，s)，7.53(0.3H，s)，7.51(0.2H，s)，7.44(0.3H，s)，6.75(0.2H，d，J=5.4Hz)，6.71(0.2H，d，J=5.9Hz)，6.57(0.3H，d，J=5.9Hz)，6.56(0.3H，d，J=5.9Hz)，4.87-4.69(2H，m)，4.55-3.54(10H，m)，3.18-3.12(2H，m)，3.10-2.96(2H，m)，2.40-2.30(2H，m)，1.92-1.51(12H，m).

【0994】

(步驟 13)

2-[2-去氧-2-氟-3,5-雙-O-(氧環己烷-2-基)-β-D-核呋喃糖基]-2,7,8,9-四氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁

於上述步驟 12 獲得的化合物(10.81g)之脫水二氯甲烷(150mL)溶液中，氮環境下，於 0℃添加吡啶(5.3mL)及三氟甲磺酸酐(5.6mL)，於相同溫度下攪拌 1 小時。於反應液中置入碎冰而停止反應後，將反應液注入至乙酸乙酯與飽和碳酸氫鈉水溶液之二層，以乙酸乙酯萃取。有機層以飽和食鹽水洗淨 2 次後，以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液，得到呈非晶形之三氟甲磺酸酯之粗製體。將獲得的三氟甲磺酸酯之粗製體溶解於脫水四氫呋喃(150mL)，冰冷下一點一點地添加氟化四丁基銨之四氫呋喃溶液(約 1M，154mL)，於相同溫度下攪拌整夜。於反應液中添加飽和氯化銨水溶液而停止反應。將反應液減壓濃縮至一半左右的量。將殘留物注入至乙酸乙酯與飽和氯化銨水溶液之二層，以乙酸乙酯萃取。有機層以飽和氯化銨水溶液洗淨 1 次，以飽和食鹽水洗淨 2 次。將水層以乙酸乙酯再次萃取，萃取液以

飽和食鹽水洗淨。合併有機層而以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液，獲得標題化合物(40.37g)之粗製體。

MS(ESI)m/z：494[M＋H]$^+$.

【0995】

(步驟 14)

2-(2-去 氧-2-氟-β-D-核 呋 喃 糖 基)-2,7,8,9-四 氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁

於上述步驟 13 獲得的化合物(40.37g)之甲醇(400mL)溶液中添加對甲苯磺酸一水合物(2.09g)，並於 60℃攪拌 4 小時。於反應液中添加三乙基胺(16mL)而停止反應。將反應液減壓濃縮，將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯→乙酸乙酯/甲醇]純化。減壓濃縮含目的物的流份至成為漿液狀為止，並濾取固體。將獲得的固體以己烷/乙酸乙酯(1：1)洗淨，並獲得固體 1。減壓濃縮濾液，將殘留物以矽膠管柱層析[二氯甲烷/甲醇]純化，並獲得固體 2。合併固體 1 及固體 2 而獲得標題化合物(5.32g)。

MS(ESI)m/z：326[M＋H]$^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.51(1H，s)，7.01(1H，s)，6.00(1H，dd，J=13.7，6.3Hz)，5.95(1H，dd，J=11.7，2.0Hz)，5.87(1H，ddd，J=52.7，6.3,4.9Hz)，4.69(1H，m)，4.32(1H，brs)，3.96(1H，d，J=12.7Hz)，3.77(1H，m)，3.17(2H，m)，3.04(2H，m)，2.41-2.31(3H，m).

【0996】

(步驟 15)

2-{5-O-[雙(4-甲 氧 基 苯 基)(苯 基)甲 基]-2-去 氧-2-氟-β-D-核呋喃糖基}-2,7,8,9-四氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁

使用上述步驟 14 獲得的化合物(5.32g)，使用與實施例 11 步驟 1 同樣之手法而進行反應，獲得標題化合物(10.1g)。

MS(ESI)m/z：628[M＋H]$^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.54(1H，s)，7.42(2H，d，J=7.3Hz)，7.32-7.21(8H，m)，6.81(4H，m)，6.52(1H，dd，J=17.3,2.2Hz)，5.37(1H，ddd，J=53.3,4.4，2.4Hz)，4.76(1H，m)，4.16(1H，m)，3.789(3H，s)，3.786(3H，s)，3.59(1H，dd，J=10.7，2.4Hz)，3.44(1H，dd，J=10.7，3.4Hz)，3.12(2H，m)，2.76(2H，t，J=5.6Hz)，2.27(2H，m)，2.18(1H，dd，J=7.8，2.9Hz).

【0997】

(步驟 16)

2-(5-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}-2-去氧-2-氟-β-D-核呋喃糖基)-2,7,8,9-四氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁

使用上述步驟 15 獲得的化合物(10.1g)，以與實施例 1 步驟 6 同樣的手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物(非鏡像異構物比=1：1)之標題化合物(12.6g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.53(1H，s)，7.40(2H，m)，7.34-7.17(8H，m)，6.84-6.74(4H，m)，6.53(0.5H，dd，J=17.3,2.2Hz)，6.48(0.5H，dd，J=17.6，1.5Hz)，5.50-5.31(1H，m)，4.99(0.5H，m)，4.85(0.5H，m)，4.31-4.26(1H，m)，3.93-3.76(1H，m)，3.792(1.5H，s)，3.789(1.5H，s)，3.779(1.5H，s)，3.776(1.5H，s)，3.67-3.51(4H，m)，3.34-3.30(1H，m)，3.13-3.10(2H，m)，2.76-2.69(2H，m)，2.61(1H，

td，J=6.3,2.4Hz)，2.39(1H，m)，2.28-2.21(2H，m)，1.19-1.15(9H，m)，1.03(3H，d，J=6.8Hz).

【0998】

(步驟 17)

使用上述步驟 16 獲得的化合物(740mg)，以與實施例 1 步驟 7 同樣之手法進行反應，獲得 2-{2-去氧-2-氟-3-O-[羥基(側氧基)-λ^5-磷烷基]-β-D-核呋喃糖基}-2,7,8,9-四氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁之乙腈溶液。使用獲得的乙腈溶液及於實施例 22 步驟 3 獲得的化合物(924mg)，以與實施例 1 步驟 8 同樣之手法進行反應，將獲得的粗生成物直接用於之後的反應。

【0999】

(步驟 18)

2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-16-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-10-(2-氰基乙氧基)-14-(8,9-二氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁-2(7H)-基)-15-氟-2-側氧基-2-氫硫基-10-亞巰基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基}乙基 苯甲酸酯

使用上述步驟 17 所獲得的粗生成物，以與實施例 1 步驟 9 同樣之手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(502mg：含有雜質)。

MS(ESI)m/z：1065(M＋H)$^+$.

【1000】

(步驟 19)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-16-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-14-(8,9-二氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁-2(7H)-基)-15-氟-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-二側氧基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用上述步驟 18 獲得的化合物(502mg)，使用與實施例 1 步驟 10 同樣之手法而進行反應，獲得標題化合物之非鏡像異構物 1(67.8mg：含有雜質)及非鏡像異構物 2(69.5mg：含有雜質)。

非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：908(M＋H)$^+$.

非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：908(M＋H)$^+$.

【1001】

(步驟 20-1)

二鈉 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(8,9-二氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁-2(7H)-基)-15-氟-16-羥基-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-二側氧基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

使用上述步驟 19 獲得的化合物(非鏡像異構物 1)(67.8mg：含有雜質)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]、製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈-甲醇溶液(1：1)，乙腈-甲醇溶液(1：1)：10%-45%(0 分-40 分)]、及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/甲醇，甲醇：25%-75%(0 分-40 分)]。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(21.2mg)。

MS(ESI)m/z：794$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.55(1H，brs)，8.41(1H，s)，8.09(1H，brs)，7.51(1H，s)，6.58(1H，d，J=16.9Hz)，6.25(1H，d，J=7.9Hz)，5.55-5.34(2H，m)，5.30-5.17(1H，m)，4.74(1H，d，J=4.2Hz)，4.55-4.47(1H，m)，4.46-4.40(1H，m)，4.37-4.30(2H，m)，4.28-4.16(2H，m)，4.05-3.99(1H，m)，3.90-3.70(3H，m)，3.28-3.20(1H，m)，3.18-3.10(1H，m)，2.91-2.82(1H，m)，2.76-2.64(1H，m)，2.33-2.22(1H，m)，2.21-2.09(1H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：57.6(s)，52.7(s).

【1002】

(步驟 20-2)

二鈉 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(8,9-二氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁-2(7H)-基)-15-氟-16-羥基-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-二側氧基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

使用上述步驟 19 獲得的化合物(非鏡像異構物 2)(69.5mg：含有雜質)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]、製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈-甲醇溶液(1：1)，乙腈-甲醇溶液(1：1)：10%-45%(0 分-40 分)]、及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/甲醇，甲醇：25%-75%(0 分-40 分)]。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(14.9mg)。

MS(ESI)m/z：794$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.60(1H，s)，8.41(1H，s)，8.16(1H，s)，7.72(1H，s)，6.60(1H，d，J=15.7Hz)，6.28(1H，d，J=7.9Hz)，5.61-5.33(3H，m)，4.59-4.49(2H，m)，4.48-4.39(2H，m)，4.34-4.27(1H，m)，4.25-4.16(1H，m)，4.11-3.99(3H，m)，3.86-3.75(2H，m)，3.25-3.11(2H，m)，3.05-2.90(2H，m)，2.35-2.17(2H，m).

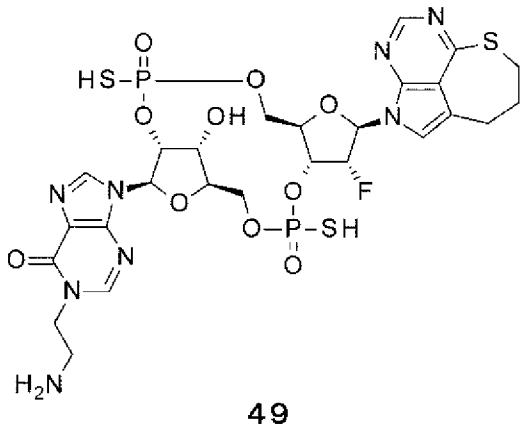
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：59.1(s)，57.9(s).

【1003】

實施例 59：CDN49 之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-[1-(2-胺基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-14-(8,9-二氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁-2(7H)-基)-15-氟-16-羥基-2,10-雙(氫硫基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【1004】



49

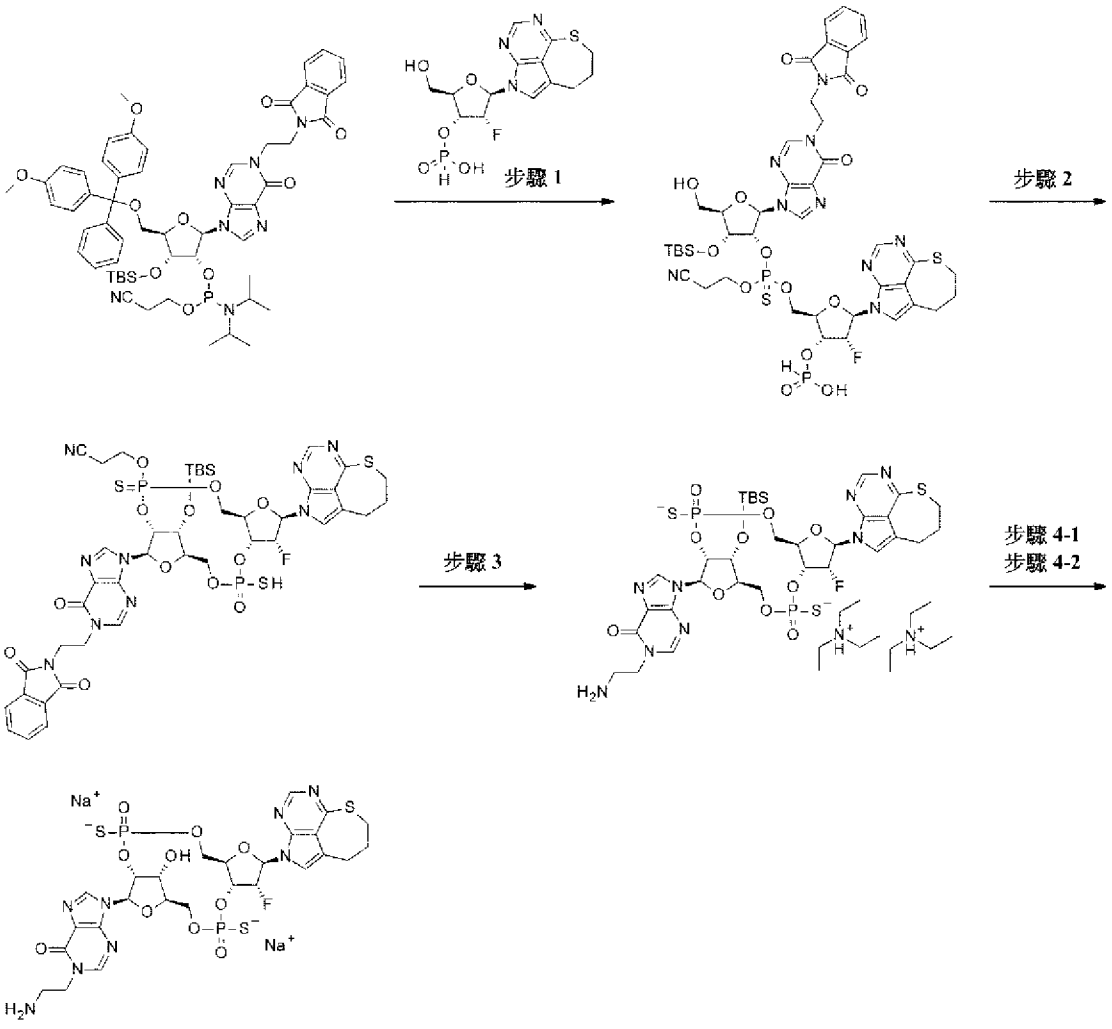
49a (非鏡像異構物 1)

49b (非鏡像異構物 1)

【1005】

[合成流程圖]

【1006】



【1007】

(步驟 1)

使用實施例 58 步驟 16 獲得的化合物(1.80g)，以與實施例 1 步驟 7 同樣之手法進行反應，獲得 2-{2-去氧-2-氟-3-O-[羥基(側氧基)-λ^5-磷烷基]-β-D-核呋喃糖基}-2,7,8,9-四氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁之乙腈溶液。使用獲得的乙腈溶液及實施例 45 步驟 3 獲得的化合物(2.30g)，以與實施例 1 步驟 8 同樣之手法進行反應，將獲得的粗生成物直接用於之後的反應。

【1008】

(步驟 2)

3-{[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-16-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-14-(8,9-二氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁-2(7H)-基)-7-{1-[2-(1,3-二側氧基-1,3-二氫-2H-異吲哚-2-基)乙基]-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基}-15-氟-2-側氧基-2-氫硫基-10-亞巯基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-10-基]氧基}丙腈

使用上述步驟 1 所獲得的粗生成物，以與實施例 1 步驟 9 同樣之手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(1.22g)。

MS(ESI)m/z：1090$(M+H)^+$.

【1009】

(步驟 3)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-[1-(2-胺基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-16-{[三

級丁基(二甲基)矽基]氧基}-14-(8,9-二氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁-2(7H)-基)-15-氟-2,10-二側氧基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用上述步驟 2 獲得的化合物(1.22g)，以與實施例 45 步驟 6 同樣之手法進行反應後，以 C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]純化，獲得標題化合物之非鏡像異構物 1(108mg：含有雜質)及非鏡像異構物 2(111mg：含有雜質)。

非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：907(M＋H)$^+$.

非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：907(M＋H)$^+$.

【1010】

(步驟 4-1)

二　鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-[1-(2-胺基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-14-(8,9-二氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁-2(7H)-基)-15-氟-16-羥基-2,10-二側氧基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

使用上述步驟 3 獲得的化合物(非鏡像異構物 1)(108mg:含有雜質)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈-甲醇溶液(1：1)，乙腈-甲醇溶液(1：1)：10%-50%(0 分-40 分)]。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(44.4mg)。

MS(ESI)m/z：793$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.50(1H，s)，8.42(1H，s)，7.92(1H，s)，7.56(1H，s)，6.56(1H，d，J=16.3Hz)，6.21(1H，d，J=6.0Hz)，5.57-5.40(2H，m)，5.35-5.22(1H，m)，4.73-4.67(1H，m)，4.58-4.49(1H，m)，4.45-4.26(4H，m)，4.24-4.15(1H，m)，4.05-3.96(1H，m)，3.78-3.51(1H，m)，3.26-3.06(4H，m)，2.93-2.82(1H，m)，2.70-2.51(1H，m)，2.29-2.07(2H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：57.5(s)，52.9(s).

【1011】

(步驟 4-2)

二　鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-[1-(2-胺基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-14-(8,9-二氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁-2(7H)-基)-15-氟-16-羥基-2,10-二側氧基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

使用上述步驟 3 獲得的化合物(非鏡像異構物 2)(111mg：含有雜質)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]、製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：5%-25%(0 分-40 分)]、及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/甲醇，甲醇：20%-60%(0 分-40 分)]。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(40.6mg)。

MS(ESI)m/z：793$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.57(1H，s)，8.41(1H，s)，8.13(1H，s)，7.72(1H，s)，6.59(1H，dd，J=15.7，1.8Hz)，6.26(1H，d，J=8.5Hz)，5.61-5.34(3H，m)，4.57-4.48(2H，m)，4.48-4.38(2H，m)，4.38-4.28(2H，m)，4.08-3.98(3H，m)，3.29-3.21(2H，m)，3.20-3.12(2H，m)，3.02-2.92(1H，m)，2.92-2.81(1H，m)，2.29-2.15(2H，m).

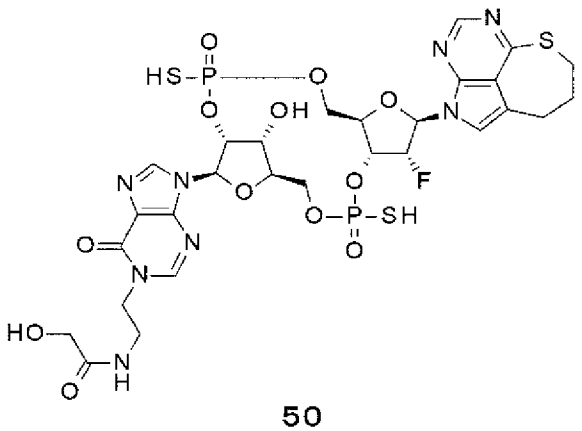
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：58.7(s)，57.8(s).

【1012】

實施例 60：CDN50 之合成

N-(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(8,9-二氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁-2(7H)-基)-15-氟-16-羥基-2,10-二側氧基-2,10-雙(氫硫基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基}乙基)-2-羥基乙醯胺

【1013】



50

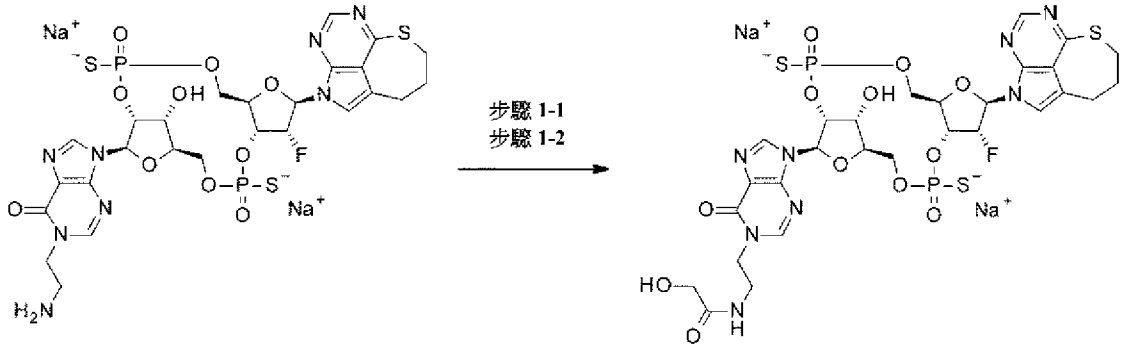
50a (非鏡像異構物 1)

50b (非鏡像異構物 1)

【1014】

[合成流程圖]

【1015】



【1016】

(步驟 1-1)

二　鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(8,9-二氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁-2(7H)-基)-15-氟-16-羥基-7-{1-[2-(2-羥基乙醯胺)乙基]-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基}-2,10-二側氧基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

使用實施例 59 步驟 4-1 獲得的化合物(20.0mg)，以與實施例 7 步驟 1-1 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：10%-30%(0 分-40 分)]。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(15.6mg)。

MS(ESI)m/z：851$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.43(1H，s)，8.40(1H，brs)，7.66(1H，brs)，7.58(1H，s)，6.53(1H，d，J=16.3Hz)，6.14(1H，d，J=8.5Hz)，5.73-5.64(1H，m)，5.59-5.42(1H，m)，5.42-5.29(1H，m)，4.80-4.74(1H，m)，4.53-4.26(5H，m)，4.21-4.12(1H，m)，3.99-3.92(1H，m)，3.83(2H，s)，3.66-3.56(1H，m)，3.43-3.26(2H，m)，3.23-3.06(2H，m)，2.89-2.79(1H，m)，2.49-2.33(1H，m)，2.27-2.15(1H，m)，2.15-2.02(1H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：57.0(s)，52.6(s).

【1017】

(步驟 1-2)

二 鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(8,9-二氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁-2(7H)-基)-15-氟-16-羥基-7-{1-[2-(2-羥基乙醯胺)乙基]-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基}-2,10-二側氧基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

使用實施例 59 步驟 4-2 獲得的化合物(10.0mg)，以與實施例 7 步驟 1-1 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：7%-25%(0 分-40 分)]。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(6.6mg)。

MS(ESI)m/z：851(M＋H)$^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.46(1H，s)，8.42(1H，s)，7.84(1H，s)，7.78(1H，s)，6.59(1H，d，J=15.1Hz)，6.20(1H，d，J=7.9Hz)，5.69-5.38(3H，m)，4.60-4.50(2H，m)，4.48-4.38(2H，m)，4.31-4.20(2H，m)，4.10-3.93(2H，m)，3.87(2H，s)，3.73-3.57(2H，m)，3.52-3.41(1H，m)，3.25-3.10(2H，m)，3.01-2.90(1H，m)，2.83-2.71(1H，m)，2.30-2.11(2H，m).

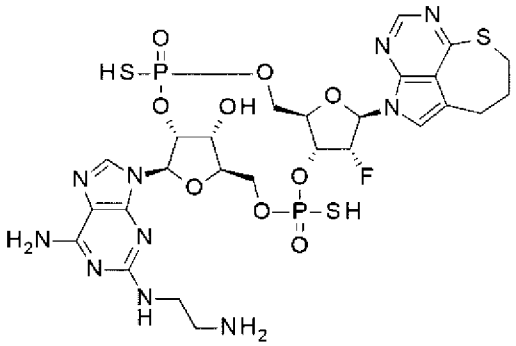
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：58.2(s)，57.6(s).

【1018】

實施例 61：CDN51 之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{6-胺 基-2-[(2-胺 基 乙 基)胺 基]-9H-嘌 呤-9-基}-14-(8,9-二 氫-6-硫-2,3,5-三 氮 苯 并[cd]薁-2(7H)-基)-15-氟-16-羥 基-2,10-雙(氫硫 基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【1019】



51

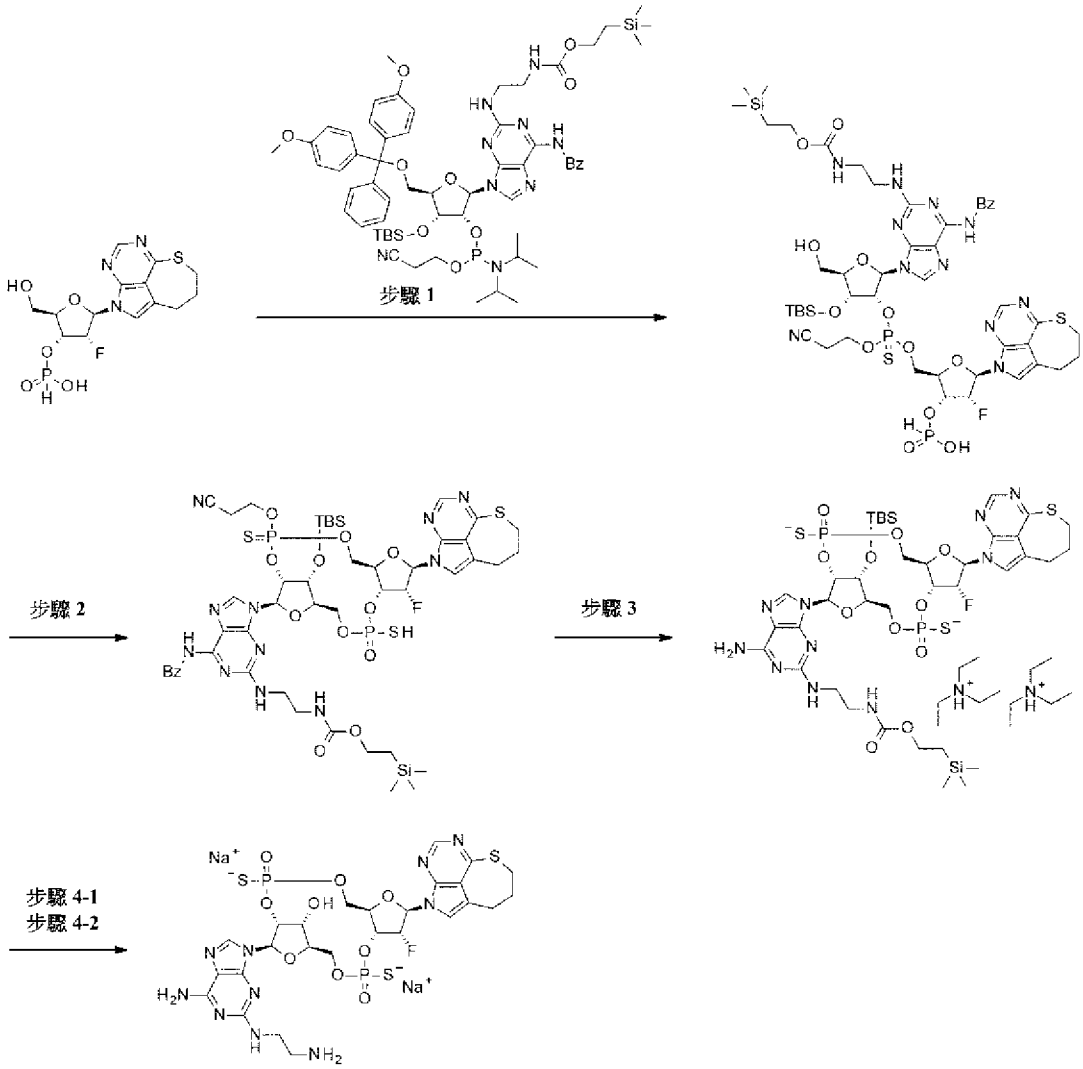
51a (非鏡像異構物 1)

51b (非鏡像異構物 2)

【1020】

[合成流程圖]

【1021】



【1022】

(步驟 1)

使用實施例 58 步驟 16 獲得的化合物(1.80g)，以與實施例 1 步驟 7 同樣之手法進行反應，獲得 2-{2-去氧-2-氟-3-O-[羥基(側氧基)-λ^5-磷烷基]-β-D-核呋喃糖基}-2,7,8,9-四氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁之乙腈溶液。使用獲得的乙腈溶液及於實施例 47 步驟 6 獲得的化合物(3.10g)，以與實施例 1 步驟 8 同樣之手法進行反應，將獲得的粗生成物直接用於之後的反應。

【1023】

(步驟 2)

2-(三甲基矽基)乙基 [2-({6-苯甲醯胺-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-16-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-10-(2-氰基乙氧基)-14-(8,9-二氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁-2(7H)-基)-15-氟-2-側氧基-2-氫硫基-10-亞硫基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-9H-嘌呤-2-基}胺基)乙基]胺甲酸酯

使用上述步驟 1 所獲得的粗生成物，以與實施例 1 步驟 9 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(1.83g：含有雜質)。

MS(ESI)m/z：1222(M＋H)$^+$.

【1024】

(步驟 3)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-胺基-2-{[2-({[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}胺基)乙基]胺基}-9H-嘌呤-9-基)-16-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-14-(8,9-二氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁-2(7H)-基)-15-氟-2,10-二側氧基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用上述步驟 2 所獲得的混合物(1.83g)，以與實施例 1 步驟 10 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物之非鏡像異構物 1(151mg：含有雜質)及非鏡像異構物 2(103mg：含有雜質)。

非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：1065(M＋H)$^+$.

非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：1065(M＋H)$^+$.

【1025】

(步驟 4-1)

二 鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{6-胺 基-2-[(2-胺 基 乙 基)胺 基]-9H-嘌 呤-9-基}-14-(8,9-二 氫-6-硫-2,3,5-三 氮 苯 并[cd]薁-2(7H)-基)-15-氟-16-羥 基-2,10-二 側氧 基 八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 1)

使用上述步驟 3 獲得的化合物(非鏡像異構物 1)(151mg：含有雜質)，以與實施例 40 步驟 5 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：2%-30%(0 分-30 分)]。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(10.6mg)。

MS(ESI)m/z：807(M＋H)$^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.39(1H，s)，7.97(1H，brs)，7.55(1H，s)，6.51(1H，d，J=16.3Hz)，6.00-5.92(1H，m)，5.83-5.65(1H，m)，5.44(1H，dd，J=52.0，3.6Hz)，5.34-5.20(1H，m)，4.77(1H，d，J=3.6Hz)，4.49-4.31(5H，m)，4.11-4.07(1H，m)，3.28-2.72(8H，m)，2.29-1.99(2H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：57.3(s)，52.3(s).

【1026】

(步驟 4-2)

二 鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{6-胺 基-2-[(2-胺 基 乙 基)胺 基]-9H-嘌 呤-9-基}-14-(8,9-二 氫-6-硫-2,3,5-三 氮 苯 并[cd]薁-2(7H)-基)-15-氟-16-羥 基-2,10-二 側氧 基 八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

(非鏡像異構物 2)

使用上述步驟 3 獲得的化合物(非鏡像異構物 2)(103mg:含有雜質),以與實施例 40 步驟 5 同樣之手法進行反應後,以下列之[純化條件]純化,獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈,乙腈:10%-30%(0 分-30 分)]。

將獲得的三乙基胺鹽,以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換,獲得標題化合物(12.1mg)。

MS(ESI)m/z:807$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ:8.39(1H,s),7.95(1H,brs),7.82(1H,s),6.58(1H,d,J=15.1Hz),6.00-5.95(1H,m),5.90-5.71(1H,m),5.40(1H,dd,J=51.7,3.3Hz),5.38-5.25(1H,m),4.53-4.39(4H,m),4.28-4.18(2H,m),4.10-4.05(1H,m),3.27-2.54(8H,m),2.34-2.10(2H,m).

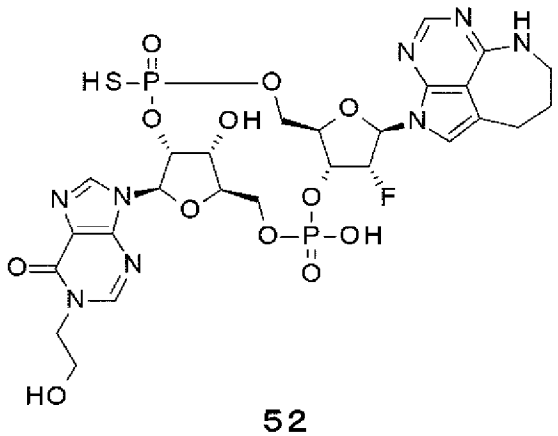
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ:57.9(s),57.3(s).

【1027】

實施例 62：CDN52 之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-氟-2,16-二羥基-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-10-氫硫基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【1028】



52

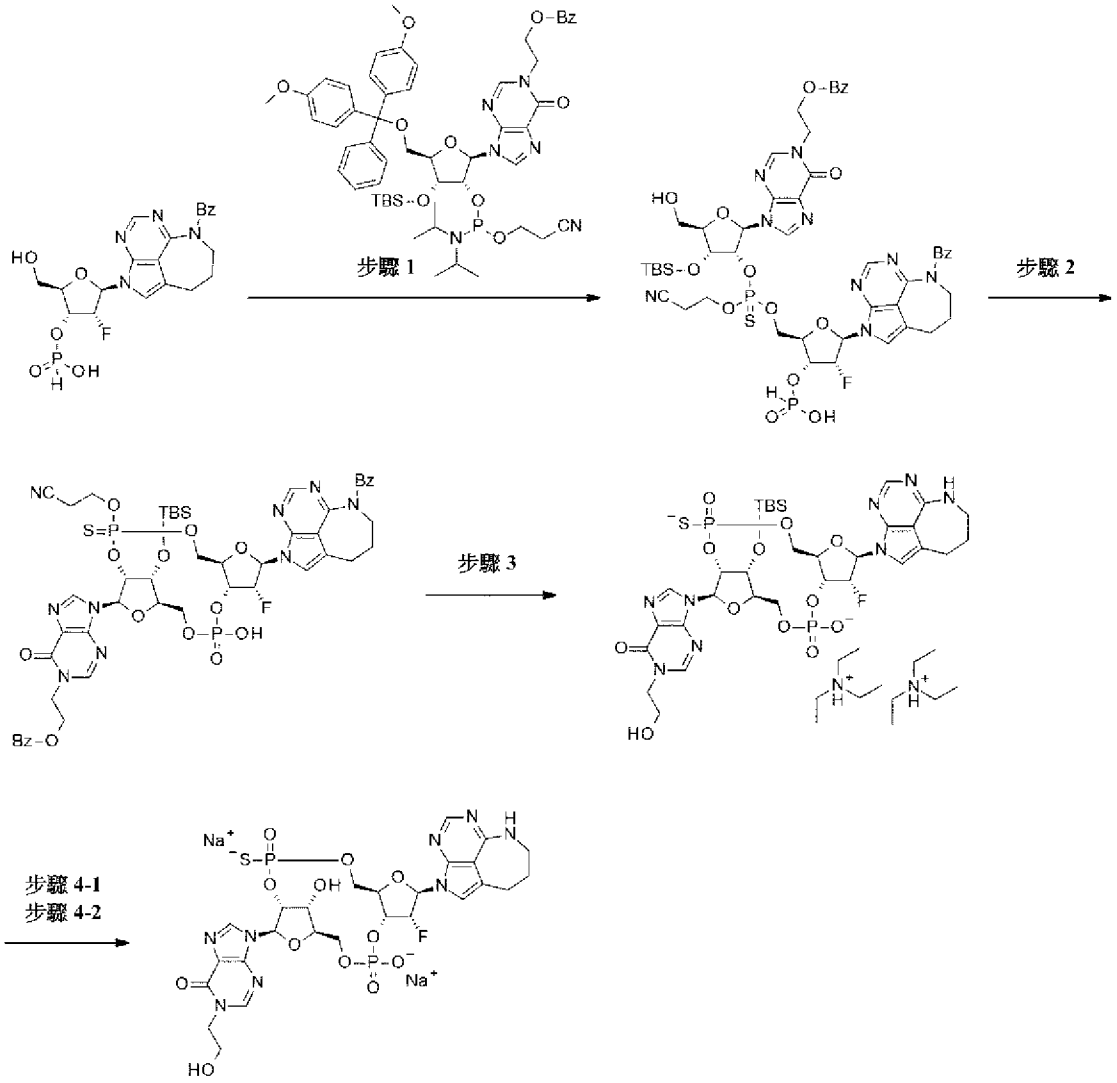
52a (非鏡像異構物 1)

52b (非鏡像異構物 1)

【1029】

[合成流程圖]

【1030】



【1031】

(步驟 1)

使用實施例 44 步驟 8 獲得的化合物(1.00g)，以與實施例 1 步驟 7 同樣之手法進行反應，獲得 6-苄醯基-2-{2-去氧-2-氟-3-O-[羥基(側氧基)-λ^5-磷烷基]-β-D-核呋喃糖基}-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁之乙腈溶液。使用獲得的乙腈溶液及於實施例 22 步驟 3 獲得的化合物(1.13g)，以與實施例 1 步驟 8 同樣之手法進行反應，將獲得的粗生成物直接用於之後的反應。

【1032】

(步驟 2)

2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-16-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-10-(2-氰基乙氧基)-15-氟-2-羥基-2-側氧基-10-亞巯基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基}乙基 苯甲酸酯

將上述步驟 1 所獲得的粗生成物之吡啶(32.5mL)溶液濃縮至 25mL 左右為止後，添加 2-氯-5,5-二甲基-1,3,2λ^5-二氧磷環己烷-2-酮(945mg)，並於室溫攪拌 30 分鐘。於反應液中添加碘(1.11g)，並攪拌 1 小時。將反應液注入至碳酸氫鈉(4.30g)之水溶液(150mL)，攪拌 30 分鐘後，以乙酸乙酯萃取。有機層以無水硫酸鈉乾燥後，濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯/甲醇]純化，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(671mg：含有雜質)。

MS(ESI)m/z：1136$(M+H)^+$.

【1033】

(步驟 3)

雙(N,N-二乙基乙銨)(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-16-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-15-氟-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-二側氧基-10-硫醚-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2-醇鹽

使用上述步驟 2 獲得的化合物(671mg)，以與實施例 1 步驟 10 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物之非鏡像異構物 1(55.6mg：含有雜質)及非鏡像異構物 2(65.7mg：含有雜質)。

非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：875(M＋H)$^+$.

非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：875(M＋H)$^+$.

【1034】

(步驟 4-1)

二鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-氟-16-羥基-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-二側氧基-10-硫醚-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2-醇鹽

(非鏡像異構物 1)

使用上述步驟 3 獲得的化合物(非鏡像異構物 1)(55.6mg：含有雜質)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：5%-25%(0 分-30 分)]。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(11.3mg)。

MS(ESI)m/z：761(M＋H)$^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.55(1H，m)，8.15(1H，m)，8.03(1H，s)，7.14(1H，d，J=4.8Hz)，6.46(1H，d，J=18.1Hz)，6.28(1H，d，J=7.9Hz)，5.50-5.29(2H，m)，5.16-5.04(1H，m)，4.74-4.69(1H，m)，4.40-4.18(6H，m)，4.13-4.07(1H，

m)，4.02-3.91(1H，m)，3.84-3.74(2H，m)，3.53-3.43(2H，m)，2.81-2.63(2H，m)，2.02-1.85(2H，m).

^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：53.4(s)，-0.86(s).

【1035】

(步驟 4-2)

二鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-氟-16-羥基-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-二側氧基-10-硫醚-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2-醇鹽

(非鏡像異構物 2)

使用上述步驟 3 獲得的化合物(非鏡像異構物 2)(65.7mg：含有雜質)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：3%-20%(0 分-30 分)]。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(23.5mg)。

MS(ESI)m/z：761$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.58(1H，d，J=3.0Hz)，8.19(1H，d，J=2.4Hz)，8.03(1H，s)，7.40(1H，s)，6.49(1H，dd，J=16.3，1.8Hz)，6.29(1H，d，J=8.5Hz)，5.51-5.22(3H，m)，4.59-4.55(1H，m)，4.43-4.17(5H，m)，4.14-4.01(3H，m)，3.85-3.78(2H，m)，3.51-3.44(2H，m)，2.90-2.75(2H，m)，1.99-1.90(2H，m).

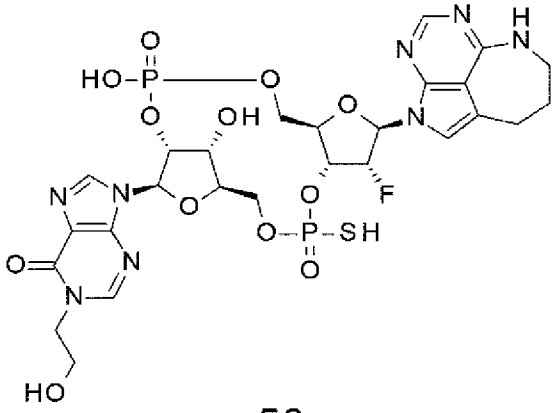
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：59.7(s)，-0.75(s).

【1036】

實施例 63：CDN53 之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-氟-10,16-二羥基-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2-氫硫基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【1037】



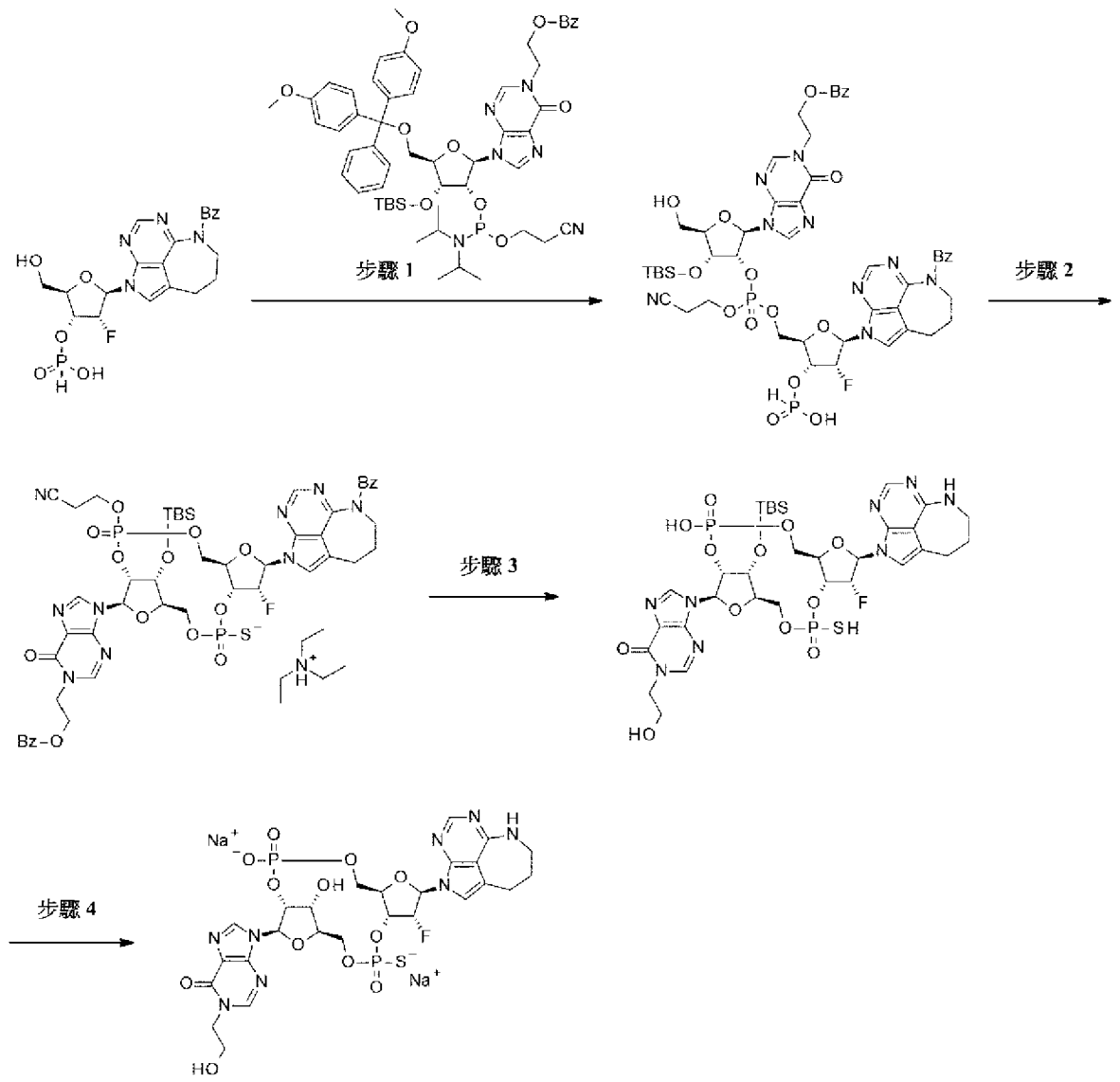
53

53a (非鏡像異構物 1)

【1038】

[合成流程圖]

【1039】



【1040】

(步驟 1)

使用實施例 44 步驟 8 獲得的化合物(1.02g)，以與實施例 1 步驟 7 同樣之手法進行反應，獲得 6-苄醯基-2-{2-去氧-2-氟-3-O-[羥基(側氧基)-λ^5-磷烷基]-β-D-核呋喃糖基}-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁之乙腈溶液(乙腈溶液 A)。將於實施例 22 步驟 3 獲得的化合物(1.23g)以脫水乙腈(10mL)共沸脫水 3 次。最後 1 次殘留 7mL 左右的乙腈，添加分子篩 3A,1/16(團塊狀者 5 粒)(乙腈溶液 B)。將乙腈溶液 A 及乙腈溶液 B 混合，

氮環境下，於室溫攪拌 15 分鐘。於反應液中添加氫過氧化三級丁基之癸烷溶液(5.5M，0.50mL)，攪拌 40 分鐘後，將反應液冰冷，添加硫代硫酸鈉 5 水合物(826mg)之水溶液(1.1mL)，並攪拌 10 分鐘。於反應液中添加水(20mL)，並以二氯甲烷-甲醇混合液萃取。有機層以無水硫酸鈉乾燥後，濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。於殘留物之二氯甲烷(15.9mL)溶液中依序添加水(0.200mL)及二氯乙酸(1.00mL)之二氯甲烷(15.9mL)溶液，並於室溫攪拌 15 分鐘。於反應液中添加吡啶(11.0mL)而停止反應後，減壓濃縮反應液。將獲得的粗生成物直接用於之後的反應。

【1041】

(步驟 2)

N,N-二乙基乙銨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{1-[2-(苄醯基氧基)乙基]-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基}-14-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-16-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-10-(2-氰基乙氧基)-15-氟-2,10-二側氧基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2-硫醇鹽

將上述步驟 1 所獲得的粗生成物，以與實施例 1 步驟 9 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(122mg：含有雜質)。

MS(ESI)m/z：1136$(M+H)^+$.

【1042】

(步驟 3)

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-16-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-15-氟-10-羥基-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2-氫硫基-14-(6,7,8,9-四氫-

2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

使用上述步驟 2 獲得的化合物(122mg，含有雜質)，以與實施例 1 步驟 10 同樣之手法進行反應，將獲得的粗生成物直接用於之後的反應。

MS(ESI)m/z：875(M＋H)$^+$.

【1043】

(步驟 4)

二鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-氟-16-羥基-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-二側氧基-2-硫醚-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-10-醇鹽

使用上述步驟 3 所獲得的粗生成物，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：2%-30%(0 分-30 分)]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(30mg)。

MS(ESI)m/z：761(M＋H)$^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.58(1H，s)，8.12(1H，s)，8.02(1H，s)，7.13(1H，s)，6.47(1H，d，J=18.1Hz)，6.27(1H，d，J=8.5Hz)，5.41(1H，dd，J=51.7，3.9Hz)，5.29-5.16(2H，m)，4.58-4.52(2H，m)，4.36-4.17(5H，m)，4.05-3.90(2H，

m)，3.82-3.71(2H，m)，3.52-3.43(2H，m)，2.76-2.63(2H，m)，2.02-1.85(2H，m).

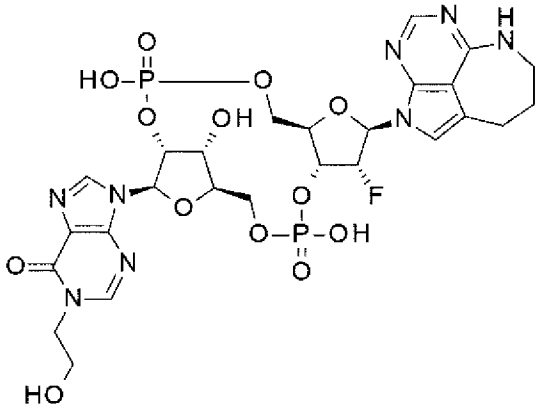
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：58.0(s)，-0.97(s).

【1044】

實施例 64：CDN54 之合成

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-氟-2,10,16-三羥基-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-二酮

【1045】

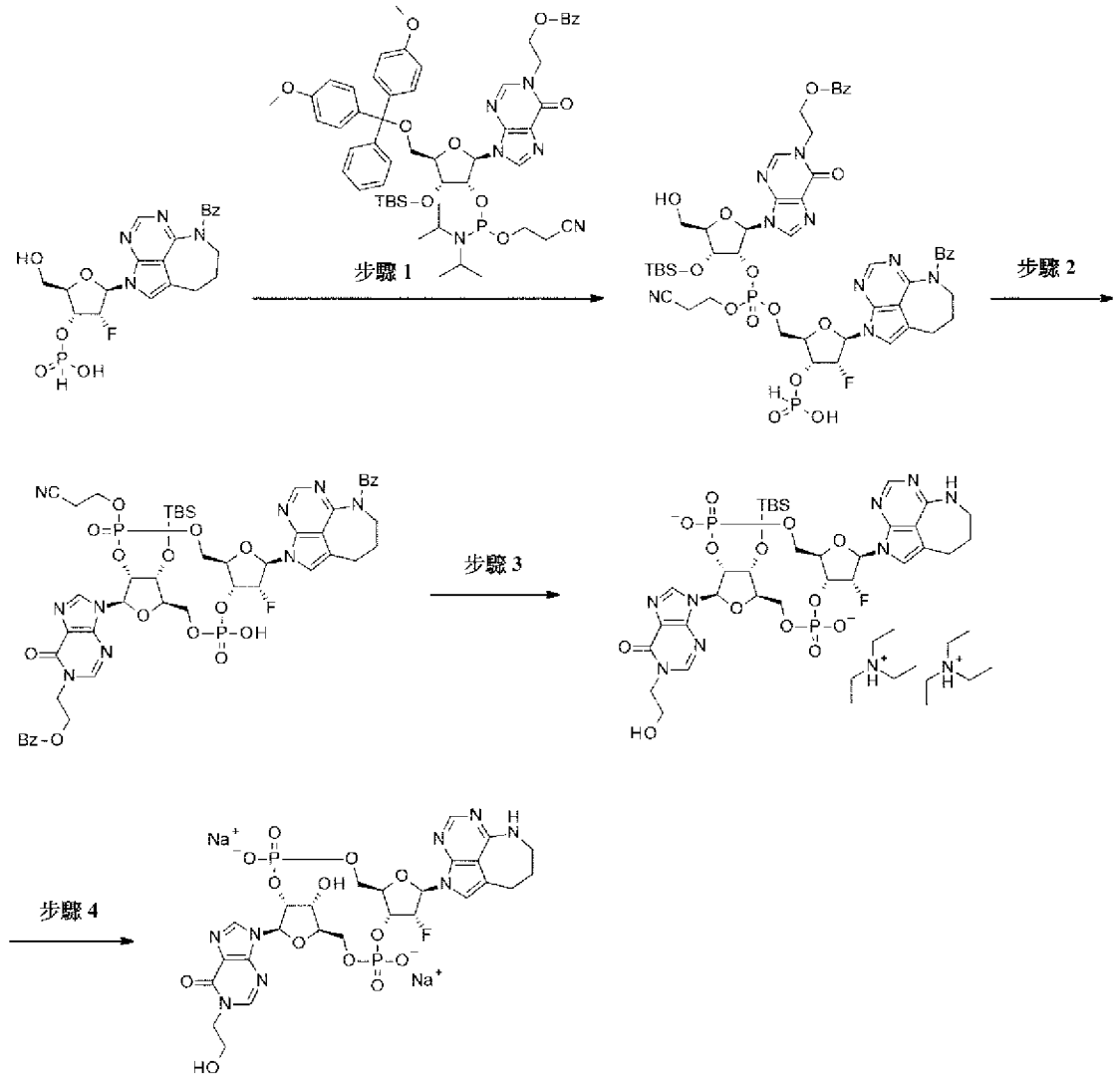


54

【1046】

[合成流程圖]

【1047】



【1048】

(步驟 1)

使用實施例 44 步驟 8 獲得的化合物(1.00g)及實施例 22 步驟 3 獲得的化合物(1.13g)，以與實施例 63 步驟 1 同樣之手法進行反應，將獲得的粗生成物直接用於之後的反應。

【1049】

(步驟 2)

2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-16-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-10-(2-氰基乙氧基)-15-氟-2-

羥基-2,10-二側氧基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ⁵,10λ⁵-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基}乙基 苯甲酸酯

使用上述步驟 1 所獲得的粗生成物，以與實施例 62 步驟 2 同樣之手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(602mg：含有雜質)。

MS(ESI)m/z：1120$(M+H)^+$.

【1050】

(步驟 3)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-16-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-15-氟-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ⁵,10λ⁵-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(醇鹽)

使用上述步驟 2 獲得的化合物(602mg)，以與實施例 1 步驟 10 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(90.8mg：含有雜質)。

MS(ESI)m/z：859$(M+H)^+$.

【1051】

(步驟 4)

二鈉(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-氟-16-羥基-7-[1-(2-羥基乙基)-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ⁵,10λ⁵-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(醇鹽)

使用上述步驟 3 獲得的化合物(90.8mg：含有雜質)，以與實施例 1 步驟 11 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]純化，獲得呈三乙基胺鹽之標題化合物。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：1%-20%(0 分-40 分)]。

將獲得的三乙基胺鹽，以與實施例 1 步驟 11 記載之[變換為鈉鹽]同樣的手法進行鹽交換，獲得標題化合物(40.4mg)。

MS(ESI)m/z：745$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.56(1H，s)，8.19(1H，s)，8.03(1H，s)，7.10(1H，s)，6.46(1H，d，J=18.7Hz)，6.31(1H，d，J=8.5Hz)，5.51-5.32(1H，m)，5.24-5.01(2H，m)，4.61-4.56(1H，m)，4.41-4.21(5H，m)，4.21-3.97(3H，m)，3.87-3.75(2H，m)，3.54-3.41(2H，m)，2.83-2.67(2H，m)，2.02-1.85(2H，m).

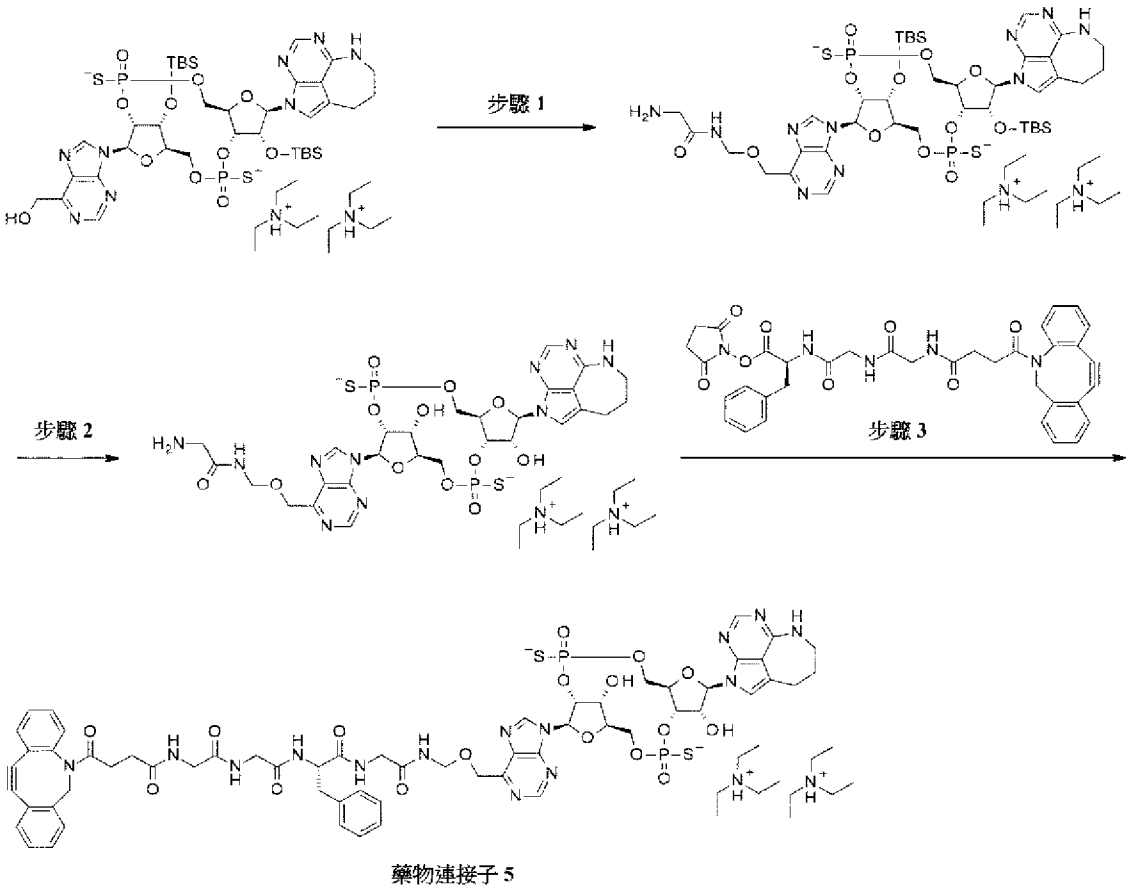
^{31}P-NMR(CD_3OD)δ：-0.59(s)，-0.81(s).

【1052】

實施例 65：藥物連接子 5 之合成

[合成流程圖]

【1053】



【1054】

(步驟 1)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-雙{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-7-(6-{[(甘胺醯基胺基)甲氧基]甲基}-9H-嘌呤-9-基)-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用實施例 17 步驟 7 獲得的化合物(非鏡像異構物 2)(80.6mg)，以與實施例 22 步驟 7-1 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(66.1mg：含有雜質)。

MS(ESI)m/z：1059(M＋H)$^+$.

【1055】

(步驟 2)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-{[(甘胺醯基胺基)甲氧基]甲基}-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲 橋-2λ^5,10λ^5-呋 喃 并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用上述步驟 1 獲得的化合物(66.1mg)，以與實施例 22 步驟 8-1 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(40.4mg：含有雜質)。

MS(ESI)m/z：831(M＋H)$^+$.

【1056】

(步驟 3)

雙(N,N-二乙基乙銨) N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯基-N-[({9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-2,10-二硫醚-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-9H-嘌呤-6-基}甲氧基)甲基]甘胺醯胺

(藥物連接子 5)

使用上述步驟 2 獲得的化合物(40.4mg)，以與實施例 22 步驟 9-1 同樣之手法進行反應後，以 C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：10%-45%(0 分-30 分)]純化，獲得標題化合物(5.0mg)。

MS(ESI)m/z：1379$(M+H)^+$.

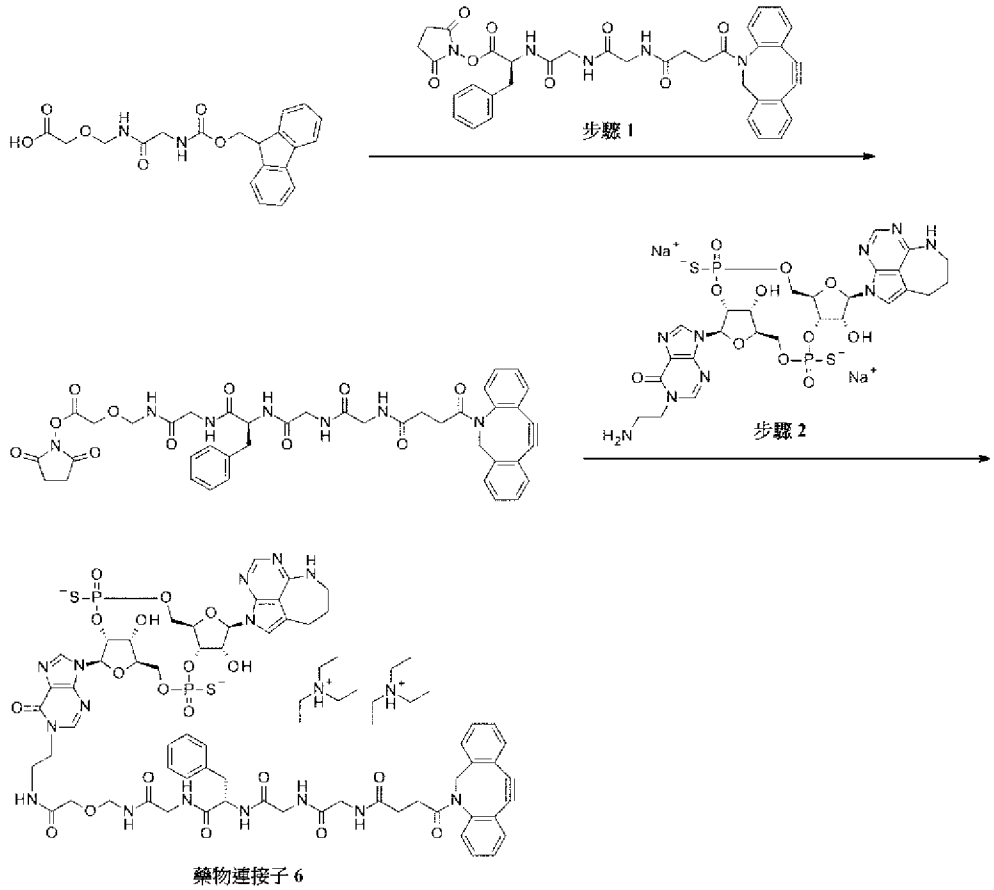
^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：9.17(1H，s)，8.83(1H，d，J=4.8Hz)，8.01(1H，d，J=3.6Hz)，7.63-7.45(2H，m)，7.40-7.34(3H，m)，7.29-7.12(8H，m)，7.09(1H，s)，6.47(1H，d，J=8.5Hz)，6.31(1H，d，J=6.7Hz)，5.56-5.47(2H，m)，5.05-4.91(4H，m)，4.88-4.73(3H，m)，4.57-4.30(5H，m)，4.09-4.01(1H，m)，4.00-3.55(9H，m)，3.52-3.45(2H，m)，3.18(12H，q，J=7.3Hz)，3.02-2.94(1H，m)，2.90-2.71(3H，m)，2.35-2.20(2H，m)，2.04-1.92(3H，m)，1.27(18H，t，J=7.3Hz).

【1057】

實施例 66：藥物連接子 6 之合成

[合成流程圖]

【1058】



【1059】

(步驟 1)

N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯基-N-({2-[(2,5-二側氧基吡咯啶-1-基)氧基]-2-側氧基乙氧基}甲基)甘胺醯胺

於文獻已知(WO2014/057687)之{[(N-{[(9H-茀-9-基)甲氧基]羰基}甘胺醯基)胺基]甲氧基}乙酸(955mg)之 N,N-二甲基甲醯胺(8.0mL)溶液中，添加 1,8-二氮雙環[5.4.0]-7-十一烯(0.74mL)，並於室溫攪拌 1 小時(反應液 A)。於實施例 22 步驟 10 獲得的化合物(938mg)之 N,N-二甲基甲醯胺(8.0mL)溶液中，添加 N-羥基琥珀醯亞胺(229mg)及 1-乙基-3-(3-二甲基胺基丙基)-碳二亞胺鹽酸鹽(380mg)，並於室溫攪拌 50 分鐘(反應液 B)。將反應液 A 添加至反應液 B，於室溫攪拌 1 小時。於反應液中添加二氯甲烷(50mL)及 10%檸檬酸水溶液(10mL)，以二氯甲烷萃取。有機層以飽和食鹽水洗淨後，以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[氯仿/(氯仿/甲醇/水=7：3：1 之下層)]純化。於獲得的化合物之 N,N-二甲基甲醯胺(8.0mL)溶液中，添加 N-羥基琥珀醯亞胺(229mg)及 1-乙基-3-(3-二甲基胺基丙基)-碳二亞胺鹽酸鹽(380mg)，並於室溫攪拌 30 分鐘。於反應液中添加二氯甲烷(100mL)及水(25mL)，以二氯甲烷萃取。有機層以飽和食鹽水洗淨後，以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[氯仿/甲醇]純化。將含目的物的流份減壓濃縮，於殘留物中添加二乙基醚而作成漿液狀。濾取獲得的固體，而獲得標題化合物(412mg)。

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：8.72(1H，m)，8.32(1H，m)，8.17-7.96(3H，m)，7.71-7.15(13H，m)，5.01(1H，d，J=13.9Hz)，4.70-4.48(5H，m)，3.81-3.51(7H，m)，3.05(1H，dd，J=14.2,3.9Hz)，2.83(4H，s)，2.80(1H，m)，2.64(1H，m)，2.28(1H，m)，2.07(1H，m)，1.79(1H，m).

【1060】

(步驟 2)

雙(N,N-二乙基乙銨) N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯 基-N-({2-[(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-2,10-二硫醚-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四 氮 苯 并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基}乙基)胺基]-2-側氧基乙氧基}甲基)甘胺醯胺

(藥物連接子 6)

使用實施例 5 步驟 8-2 獲得的化合物(20.0mg)及於上述步驟 1 獲得的化合物(23.7mg)，以與實施例 21 步驟 4 同樣之手法進行反應後，以 C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]、製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：20%-45%(0 分-40 分)]、及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/甲醇，甲醇：30%-80%(0 分-40 分)]純化，獲得標題化合物(14.1mg)。

MS(ESI)m/z：1466(M＋H)$^+$.

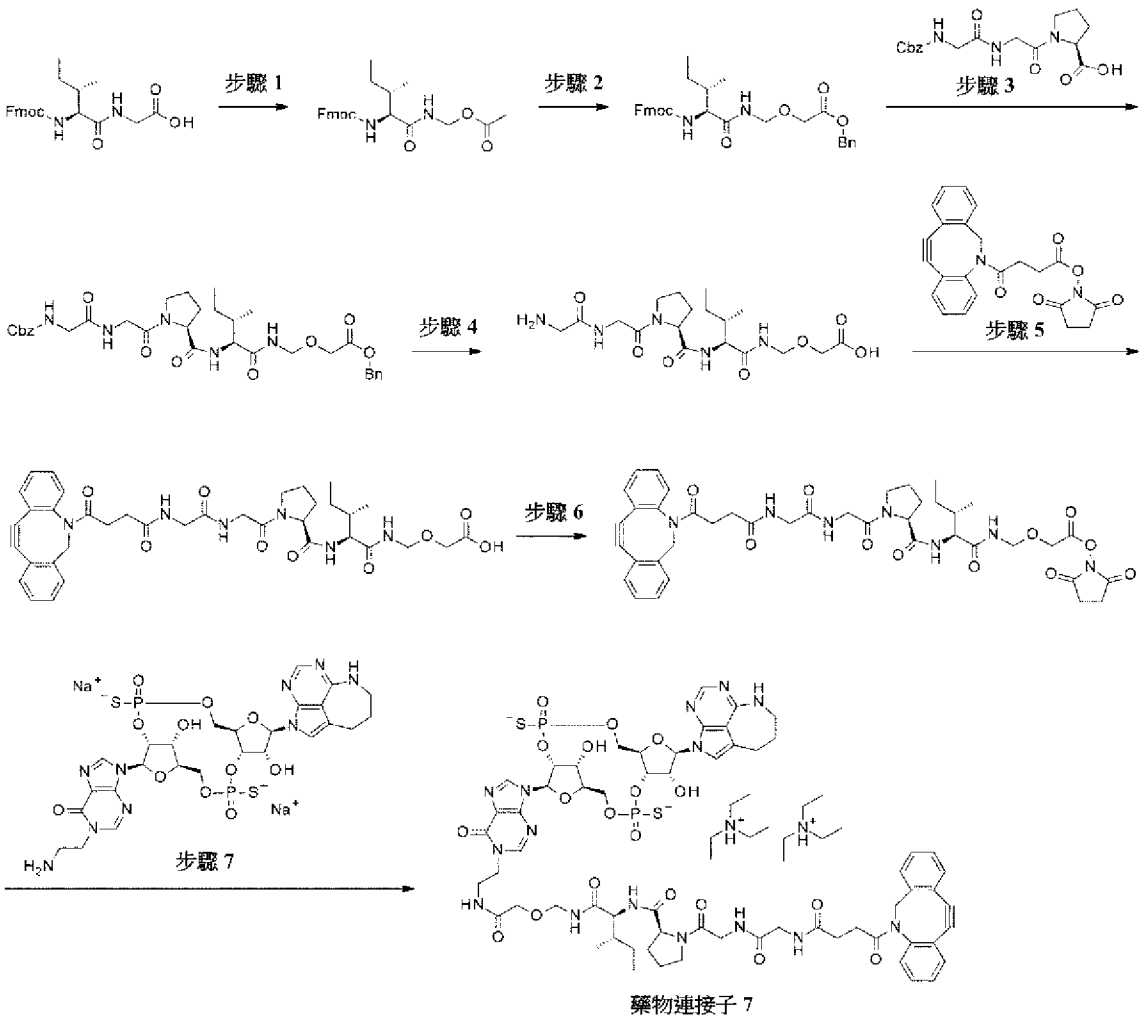
^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.74-8.69(1H，m)，8.17-8.12(1H，m)，8.04-7.96(1H，m)，7.65-7.13(13H，m)，7.13-7.04(1H，m)，6.33-6.23(2H，m)，5.50-5.31(2H，m)，5.07-4.94(2H，m)，4.85-4.76(1H，m)，4.71-4.26(10H，m)，4.18-3.53(13H，m)，3.53-3.33(3H，m)，3.19(12H，q，J=7.3Hz)，3.05-2.92(1H，m)，2.91-2.70(3H，m)，2.40-2.20(2H，m)，2.07-1.87(2H，m)，1.29(18H，t，J=7.3Hz).

【1061】

實施例 67：藥物連接子 7 之合成

[合成流程圖]

【1062】



藥物連接子 7

【1063】

(步驟 1)

[(N-{[(9H-茀-9-基)甲氧基]羰基}-L-異白胺醯基)胺基]甲基 乙酸酯

於市售(IRIS)之 N-{[(9H-茀-9-基)甲氧基]羰基}-L-異白胺醯基甘胺酸(2.50g)之四氫呋喃(45mL)-甲苯(15mL)混合液中，於室溫添加吡啶(0.588mL)及四乙酸鉛(3.24g)，並於 65℃攪拌 3 小時。將反應液以乙酸乙酯稀釋，依序以水及飽和食鹽水洗淨。有機層以無水硫酸鈉乾燥後，濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(2.06g)。

MS(ESI)m/z：447$(M+Na)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：7.77(2H，d，J=7.9Hz)，7.58(2H，d，J=7.3Hz)，7.40(2H，t，J=7.3Hz)，7.32(2H，td，J=7.6，1.2Hz)，6.97-6.92(1H，br m)，5.32-5.20(3H，m)，4.47-4.37(2H，m)，4.21(1H，t，J=6.7Hz)，4.05-4.01(1H，m)，2.04(3H，s)，1.92-1.84(1H，br m)，1.51-1.41(1H，br m)，1.17-1.07(1H，br m)，0.93-0.89(6H，m).

【1064】

(步驟 2)

{[(N-{[(9H-茀-9-基)甲氧基]羰基}-L-異白胺醯基)胺基]甲氧基}乙酸苄酯

於上述步驟 1 獲得的化合物(2.06g)之四氫呋喃(48mL)懸浮液中，於 0℃添加乙醇酸苄酯(1.38mL)及對甲苯磺酸一水合物(92.3mg)，並於室溫攪拌 4 小時。將反應液以乙酸乙酯稀釋，以

飽和碳酸氫鈉水洗淨後，將水層以乙酸乙酯萃取。合併有機層，以飽和食鹽水洗淨，以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(1.72g)。

MS(ESI)m/z：553$(M+Na)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：7.76(2H，d，J=7.9Hz)，7.58(2H，d，J=7.3Hz)，7.42-7.29(9H，m)，6.74-6.69(1H，br m)，5.24-5.21(1H，br m)，5.17(2H，s)，4.86(2H，d，J=6.7Hz)，4.48-4.39(2H，m)，4.23-4.19(3H，m)，4.04-4.00(1H，m)，1.95-1.87(1H，br m)，1.50-1.41(1H，br m)，1.15-1.07(1H，br m)，0.93-0.89(6H，m).

【1065】

(步驟 3)

N-[(苄基氧基)羰基]甘胺醯基甘胺醯基-L-脯胺醯基-N-{[2-(苄基氧基)-2-側氧基乙氧基]甲基}-L-異白胺醯胺

於上述步驟 2 獲得的化合物(1.72g)之乙腈(40mL)懸浮液中，於室溫添加 1,8-二氮雙環[5.4.0]-7-十一烯(0.290mL)，並攪拌 1 小時(反應液 A)。於市售之 N-[(苄基氧基)羰基]甘胺醯基甘胺醯基-L-脯胺酸(1.41g)之乙腈(20mL)懸浮液中，於室溫添加 3H-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-醇(529mg)、1-乙基-3-(3-二甲基胺基丙基)-碳二亞胺鹽酸鹽(746mg)、及 N,N-二異丙基乙基胺(0.678mL)，並攪拌 1 小時。於室溫將此反應液加至上述反應液 A 中，攪拌 6 小時後，減壓濃縮。將殘留物以矽膠管柱層析[氯仿/甲醇]純化，獲得標題化合物(1.56g)。

MS(ESI)m/z：676$(M+Na)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：7.37-7.27(10H，m)，5.17(2H，s)，5.09(2H，s)，4.82-4.70(2H，m)，4.56-4.44(1H，m)，4.17-4.14(3H，m)，4.07-3.96(2H，m)，3.83-3.82(2H，m)，3.64-3.48(2H，m)，2.34-1.78(5H，m)，1.61-1.51(1H，m)，1.25-1.13(1H，m)，0.95-0.87(6H，m).

【1066】

(步驟 4)

甘胺醯基甘胺醯基-L-脯胺醯基-N-[(羧基甲氧基)甲基]-L-異白胺醯胺

於上述步驟 3 獲得的化合物(1.56g)之甲醇(8mL)-四氫呋喃(24mL)-二氯甲烷(8mL)混合液中，添加 10%鈀碳(M)濕重(1.4g)，氫環境下，於室溫攪拌 23 小時。於反應液中添加甲醇/四氫呋喃(1：1)混合液(50mL)，並以矽藻土過濾。將矽藻土以甲醇/四氫呋喃(1：1)混合液洗淨。將濾液減壓濃縮後，於殘留物中添加甲醇(20mL)、四氫呋喃(20mL)、及 10%鈀碳(M)濕重(1.0g)，並於氫環境下，於室溫攪拌 3 小時。將反應液以矽藻土過濾後，將矽藻土以甲醇/四氫呋喃(1：1)洗淨。減壓濃縮濾液，獲得標題化合物之粗製體(1.02g)。

MS(ESI)m/z：430$(M+H)^+$.

【1067】

(步驟 5)

N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-脯胺醯基-N-[(羧基甲氧基)甲基]-L-異白胺醯胺

於上述步驟 4 獲得的化合物(1.02g)之 N,N-二甲基甲醯胺(24mL)溶液中，添加 1-{[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]氧基}吡咯啶-2,5-二酮(956mg)及 N,N-二異丙基乙基胺(0.496mL)，並於室溫攪拌 1 小時。將反應液減壓濃縮，將殘留物以矽膠管柱層析[氯仿/甲醇]純化。將含目的物的流份減壓濃縮後，於殘留物中添加乙酸乙酯而使其固化。濾取獲得的固體，而獲得標題化合物(1.06g)。

MS(ESI)m/z：739$(M+Na)^+$，715$(M-H)^-$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：7.64-7.59(2H，m)，7.48-7.44(3H，m)，7.38-7.23(3H，m)，5.15-5.12(1H，m)，4.74-4.70(2H，m)，4.64-4.48(1H，m)，4.25-4.18(1H，m)，4.11-3.96(3H，m)，3.91-3.85(1H，m)，3.78-3.57(5H，m)，2.84-2.75(1H，m)，2.39-2.16(3H，br m)，2.08-1.84(5H，br m)，1.61-1.52(1H，br m)，1.23-1.15(1H，br m)，0.96-0.87(6H，m).

【1068】

(步驟 6)

N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-脯胺醯基-N-({2-[(2,5-二側氧基吡咯啶-1-基)氧基]-2-側氧基乙氧基}甲基)-L-異白胺醯胺

於上述步驟 5 獲得的化合物(1.06g)之 N,N-二甲基甲醯胺(16mL)懸浮液中，添加 N-羥基琥珀醯亞胺(187mg)及 1-乙基-3-(3-二甲基胺基丙基)-碳二亞胺鹽酸鹽(312mg)，於室溫攪拌 16 小時。將反應液以氯仿稀釋，以水洗淨 3 次。有機層以無水硫酸鈉乾燥後，濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將乙酸乙酯加至殘留物，濾取獲得的固體。於濾取的固體中添加二乙基醚，作成漿液狀後，濾取固體，而獲得標題化合物(767mg)。

MS(ESI)m/z：836(M＋Na)$^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：7.68-7.56(2H，m)，7.48-7.44(3H，m)，7.38-7.23(3H，m)，5.15-5.12(1H，m)，4.83-4.70(2H，m)，4.64-4.50(3H，m)，4.24-3.55(8H，m)，2.83-2.76(5H，m)，2.38-2.18(3H，m)，2.11-1.84(5H，br m)，1.60-1.52(1H，m)，1.25-1.13(1H，m)，0.98-0.87(6H，m).

【1069】

(步驟 7)

雙(N,N-二乙基乙銨) N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-脯胺醯基-N-({2-[(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-2,10-二硫醚-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基}乙基)胺基]-2-側氧基乙氧基}甲基)-L-異白胺醯胺

(藥物連接子 7)

使用實施例 5 步驟 8-2 獲得的化合物(20.0mg)及於上述步驟 6 獲得的化合物(20.9mg)，以與實施例 21 步驟 4 同樣之手法進行反應後，以 C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]、製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：20%-45%(0 分-40 分)]、及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/甲醇，甲醇：30%-80%(0 分-40 分)]純化，獲得標題化合物(11.9mg)。

MS(ESI)m/z：1472(M＋H)$^+$

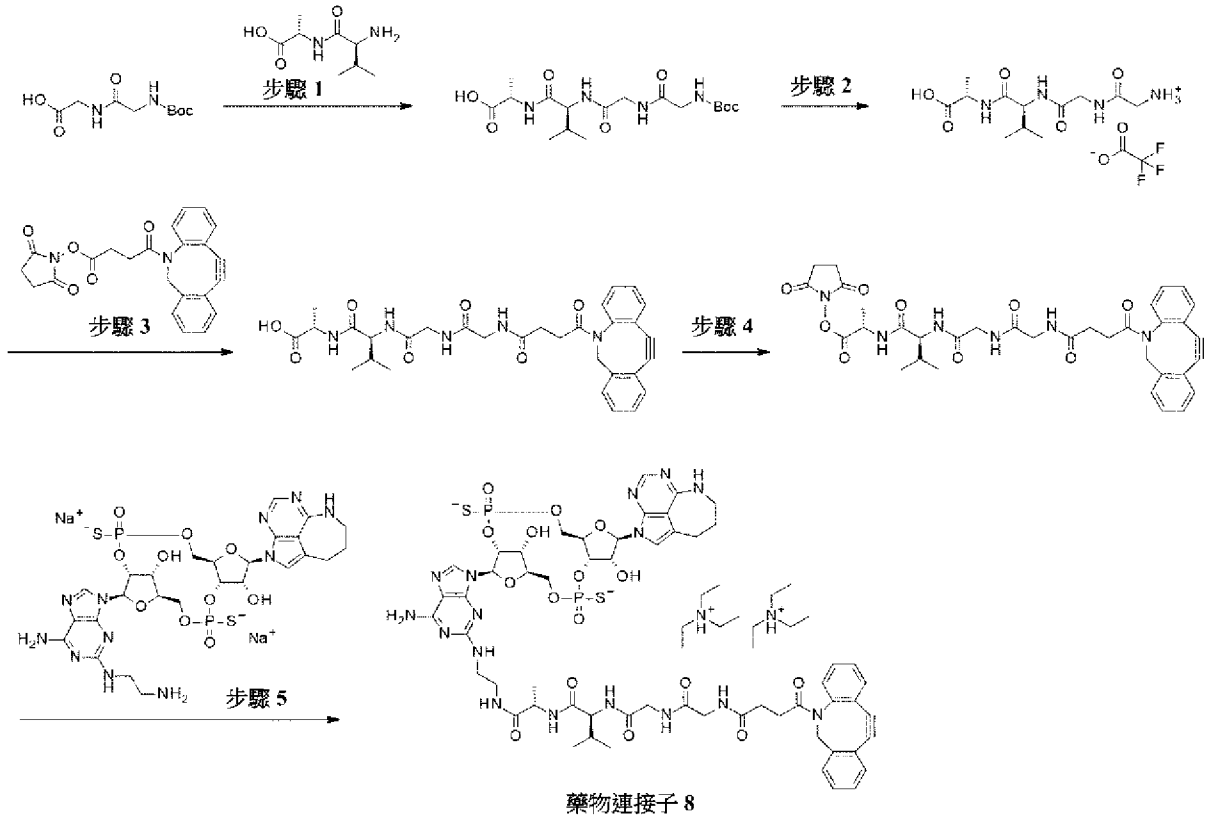
^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.71(1H，brs)，8.19-8.13(1H，m)，8.02(1H，s)，7.64-7.56(2H，m)，7.48-7.41(3H，m)，7.37-7.08(4H，m)，6.34-6.23(2H，m)，5.48-5.36(2H，m)，5.16-5.08(1H，m)，4.98-4.55(6H，m)，4.52-4.15(7H，m)，4.07-3.81(6H，m)，3.80-3.45(8H，m)，3.19(12H，q，J=7.3Hz)，2.93-2.85(2H，m)，2.85-2.71(1H，m)，2.45-2.30(1H，m)，2.30-2.11(2H，m)，2.08-1.83(6H，m)，1.66-1.45(1H，m)，1.29(18H，t，J=7.3Hz)，1.28-1.10(1H，m)，1.01-0.85(7H，m).

【1070】

實施例 68：藥物連接子 8 之合成

[合成流程圖]

【1071】



藥物連接子 8

【1072】

(步驟 1)

N-(三級丁氧基羰基)甘胺醯基甘胺醯基-L-纈胺醯基-L-丙胺酸

於市售(ChemFun)之 N-(三級丁氧基羰基)甘胺醯基甘胺酸(5.00g)及 N-羥基琥珀醯亞胺(2.97g)之 N,N-二甲基甲醯胺(50mL)溶液中，氮環境下，於 0℃添加 1-乙基-3-(3-二甲基胺基丙基)-碳二亞胺鹽酸鹽(4.95g)，升溫至室溫而攪拌 1 小時。於反應液中添加三乙基胺(3.6mL)及市售(國產化學)之 L-纈胺醯基-L-丙胺酸(4.05g)，並於相同溫度攪拌 6 小時。將反應液減壓濃縮，將殘留物以矽膠管柱層析[二氯甲烷/甲醇]純化。將含目的物的流份減壓濃縮，添加二乙基醚而作成漿液狀。濾取獲得的固體，而獲得標題化合物(4.99g)。

MS(ESI)m/z：401$(M-H)^-$.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：12.43(1H，br)，8.27(1H，d，J=6.8Hz)，7.92(1H，t，J=5.4Hz)，7.79(1H，d，J=9.3Hz)，6.99(1H，t，J=5.9Hz)，4.19(1H，t，J=8.1Hz)，4.13(1H，m)，3.73(2H，d，J=5.4Hz)，3.52(2H，d，J=5.9Hz)，1.92(1H，dd，m)，1.35(9H，s)，1.24(3H，d，J=7.3Hz)，0.85(3H，d，J=6.3Hz)，0.79(3H，d，J=6.8Hz).

【1073】

(步驟 2)

N-(銨基乙醯基)甘胺醯基-L-纈胺醯基-L-丙胺酸 三氟乙酸鹽

使用上述步驟 1 獲得的化合物(1.00g)，以與實施例 21 步驟 1 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(1.10g)之粗製體。

MS(ESI)m/z：301$(M-H)^-$.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：12.49(1H，br)，8.54(1H，t，J=5.6Hz)，8.34(1H，d，J=6.8Hz)，8.03(1H，d，J=9.3Hz)，8.00(3H，brs)，4.24(1H，dd，J=8.8，6.8Hz)，4.17(1H，m)，3.93-3.84(2H，m)，3.62-3.58(2H，m)，1.96(1H，m)，1.27(3H，d，J=7.3Hz)，0.89(3H，d，J=6.8Hz)，0.84(3H，d，J=6.8Hz).

【1074】

(步驟 3)

N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-纈胺醯基-L-丙胺酸

使用上述步驟 2 獲得的化合物(861mg)，以與實施例 21 步驟 2 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(737mg)。

MS(ESI)m/z：590$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：12.46(1H，s)，8.28(1H，t，J=8.1Hz)，8.18(1H，t，J=5.9Hz)，8.13(0.5H，t，J=5.6Hz)，8.04(0.5H，t，J=5.9Hz)，7.99(0.5H，t，J=5.9Hz)，7.73(0.5H，d，J=1.5Hz)，7.67(1H，m)，7.61(1H，m)，7.53-7.44(3H，m)，7.40-7.28(3H，m)，5.03(0.5H，d，J=6.3Hz)，5.00(0.5H，d，J=6.3Hz)，4.21(1H，dd，J=9.0，7.1Hz)，4.18-4.08(1H，m)，3.78-3.67(2H，m)，3.65-3.55(3H，m)，2.72-2.59(1H，m)，2.28(1H，d，J=7.8Hz)，2.09-2.03(1H，m)，1.99-1.91(1H，m)，1.79(1H，m)，1.25(1.5H，d，J=5.4Hz)，1.24(1.5H，d，J=5.4Hz)，0.87(3H，d，J=6.8Hz)，0.82-0.79(3H，m).

【1075】

(步驟 4)

2,5-二側氧基吡咯啶-1-基　N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啐-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-纈胺醯基-L-丙胺酸酯

使用上述步驟 3 獲得的化合物(260mg)，以與實施例 21 步驟 3 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(84mg)。

MS(ESI)m/z：687$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：8.73(1H，t，J=7.0Hz)，8.18(0.5H，t，J=5.7Hz)，8.12(0.5H，t，J=5.7Hz)，8.04(0.5H，t，J=5.7Hz)，7.98(0.5H，t，J=5.7Hz)，7.84-7.60(3H，m)，7.52-7.44(3H，m)，7.40-7.28(3H，m)，5.03(0.5H，d，J=6.0Hz)，5.00(0.5H，d，J=6.0Hz)，4.69-4.58(1H，m)，4.22(1H，t，J=7.6Hz)，3.80-3.54(5H，m)，2.80(4H，s)，2.73-2.59(1H，m)，2.34-2.24(1H，m)，2.11-2.02(1H，m)，1.99-1.91(1H，m)，1.79(1H，m)，1.45(1.5H，d，J=3.6Hz)，1.43(1.5H，d，J=3.6Hz)，0.85(3H，d，J=6.7Hz)，0.83-0.79(3H，m).

【1076】

(步驟 5)

雙(N,N-二乙基乙銨)　N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啐-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-纈胺醯基-N-[2-({6-胺　基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-2,10-二硫醚-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲

橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-9H-嘌呤-2-基}胺基)乙基]-L-丙胺醯胺

(藥物連接子 8)

使用實施例 8 步驟 8-2 獲得的化合物(5.3mg)及於上述步驟 4 獲得的化合物(4.5mg)，以與實施例 23 步驟 1 同樣之手法進行反應後，以製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：25%-35%(0 分-30 分)]純化，獲得標題化合物(5.1mg)。

MS(ESI)m/z：1359(M＋H)$^+$.

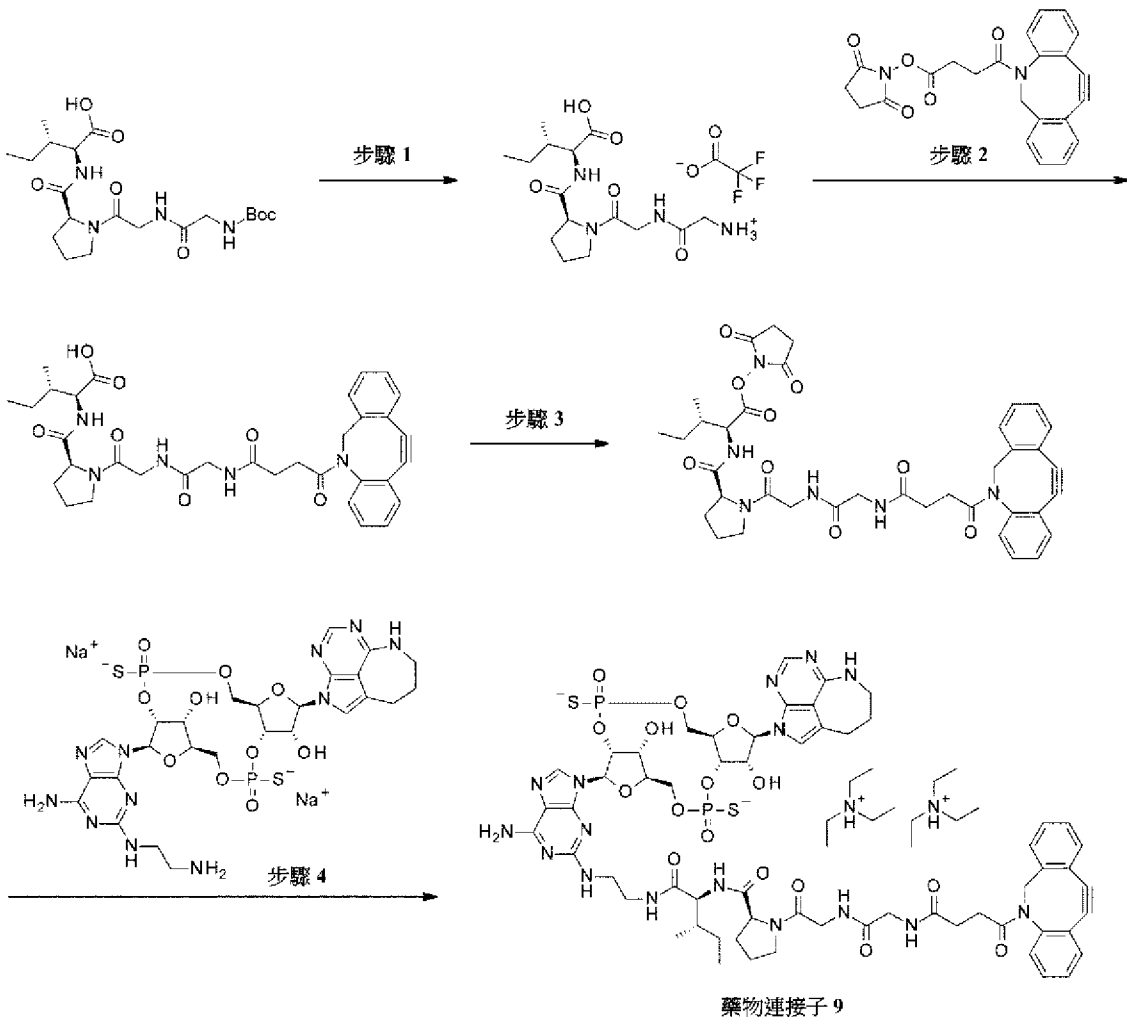
^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.37(1H，brs)，8.02(1H，s)，7.66-7.13(9H，m)，6.33(1H，d，J=6.7Hz)，6.13(1H，d，J=9.1Hz)，5.49-5.42(2H，m)，5.13-5.04(1H，m)，4.83-4.80(1H，m)，4.51-3.63(14H，m)，3.51-3.37(4H，m)，3.14(12H，q，J=7.3Hz)，2.90-2.72(5H，m)，2.36-1.96(6H，m)，1.34-1.25(21H，m)，0.98-0.86(6H，m).

【1077】

實施例 69：藥物連接子 9 之合成

[合成流程圖]

【1078】



藥物連接子 9

【1079】

(步驟 1)

N-(銨基乙醯基)甘胺醯基-L-脯胺醯基-L-異白胺酸 三氟乙酸鹽

使用市售(Hangzhou Peptide Biochem)之 N-(三級丁氧基羰基)甘胺醯基甘胺醯基-L-脯胺醯基-L-異白胺酸(1.00g)，以與實施例 21 步驟 1 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(1.02g)之粗製體。

MS(ESI)m/z：343$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：12.61(1H，s)，8.51(0.7H，t，J=5.1Hz)，8.48(0.3H，t，J=4.9Hz)，8.35(0.3H，d，J=8.8Hz)，

8.05(0.7H，d，J=8.3Hz)，7.99(3H，brs)，4.55(0.3H，dd，J=8.3,2.4Hz)，4.46(0.7H，dd，J=8.8，2.9Hz)，4.23(0.3H，dd，J=8.5,5.6Hz)，4.15(0.7H，dd，J=8.3,5.9Hz)，4.06(0.7H，dd，J=17.6，5.4Hz)，3.99-3.95(1H，m)，3.63-3.36(4.3H，m)，2.28-2.20(0.3H，m)，2.07-2.00(0.7H，m)，1.96-1.74(4H，m)，1.46-1.36(1H，m)，1.26-1.13(1H，m)，0.89-0.83(6H，m).

【1080】

(步驟 2)

N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-脯胺醯基-L-異白胺酸

使用上述步驟 1 獲得的化合物(1.02g)，以與實施例 21 步驟 2 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(993mg)。

MS(ESI)m/z：630$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：12.57(1H，s)，8.30(0.3H，dd，J=8.5，3.6Hz)，8.14-8.06(1H，m)，8.00(0.7H，d，J=7.9Hz)，7.88-7.80(1H，m)，7.70-7.66(1H，m)，7.63-7.60(1H，m)，7.53-7.27(6H，m)，5.04(0.7H，d，J=14.5Hz)，5.02(0.3H，d，J=14.5Hz)，4.56(0.3H，dd，J=8.5，2.4Hz)，4.47-4.43(0.7H，m)，4.20(0.3H，dd，J=8.2,5.7Hz)，4.12(0.7H，m)，3.99-3.36(7H，m)，2.68-2.58(1H，m)，2.34-2.18(1.3H，m)，2.09-1.74(6.7H，m)，1.44-1.34(1H，m)，1.25-1.12(1H，m)，0.87-0.80(6H，m).

【1081】

(步驟 3)

2,5-二側氧基吡咯啶-1-基　N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啐-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-脯胺醯基-L-異白胺酸酯

使用上述步驟 2 獲得的化合物(300mg)，以與實施例 21 步驟 3 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(287mg)。

MS(ESI)m/z：727$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：8.77-8.67(0.3H，m)，8.50(0.5H，d，J=8.3Hz)，8.31(0.2H，m)，8.10-8.04(1H，m)，7.88-7.79(1H，m)，7.68-7.57(2H，m)，7.49-7.26(6H，m)，5.01(1H，d，J=14.2Hz)，4.80-4.42(2H，m)，3.97-3.84(1H，m)，3.79-3.34(6H，m)，2.78(4H，s)，2.64-2.57(1H，m)，2.30-1.74(8H，m)，1.56-1.17(2H，m)，1.00-0.80(6H，m).

【1082】

(步驟 4)

雙(N,N-二乙基乙銨)　N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啐-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-脯胺醯基-N-[2-({6-胺　基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-2,10-二硫醚-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-9H-嘌呤-2-基}胺基)乙基]-L-異白胺醯胺

(藥物連接子 9)

使用實施例 8 步驟 8-2 獲得的化合物(51.8mg)及於上述步驟 3 獲得的化合物(36.9mg)，以與實施例 23 步驟 1 同樣之手法進行反應後，以製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：20%-35%(0 分-30 分)]純化，獲得標題化合物(62.5mg)。

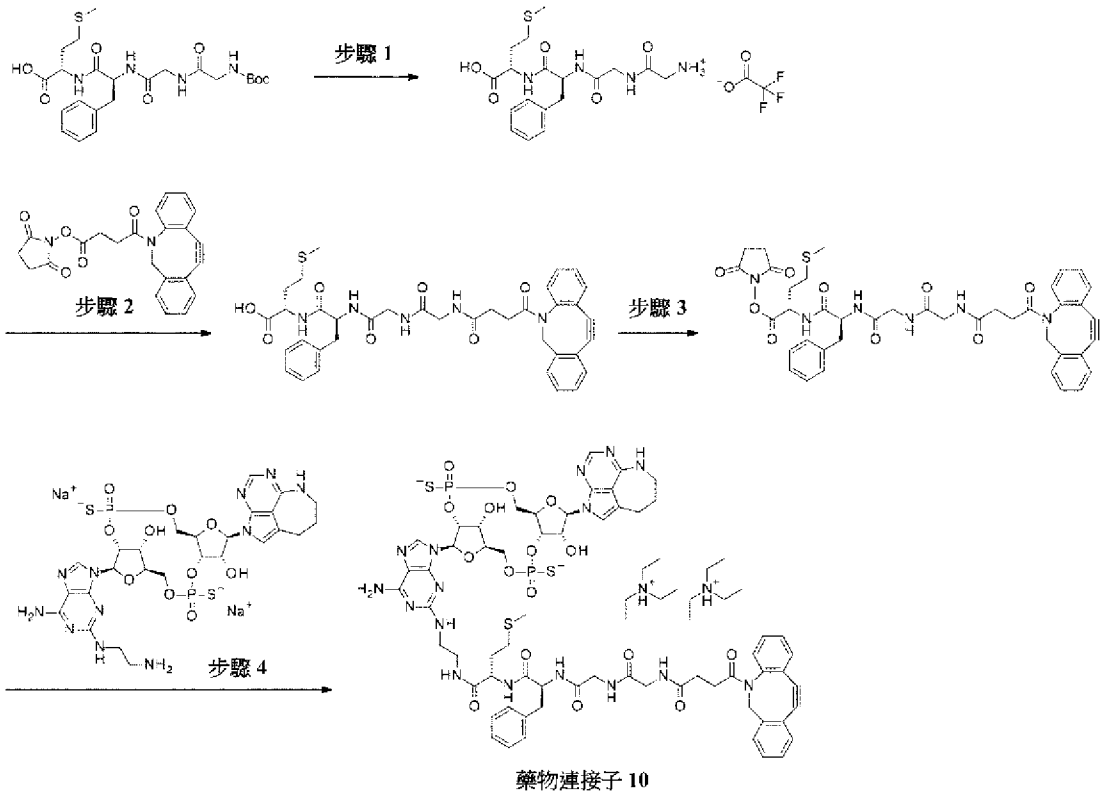
MS(ESI)m/z：1397(M-H)$^-$.

【1083】

實施例 70：藥物連接子 10 之合成

[合成流程圖]

【1084】



藥物連接子 10

【1085】

(步驟 1)

N-(銨基乙醯基)甘胺醯基-L-苯基丙胺醯基-L-甲硫胺酸 三氟乙酸鹽

使用市售(Hangzhou Peptide Biochem)之 N-(三級丁氧基羰基)甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯基-L-甲硫胺酸(1.00g)，以與實施例 21 步驟 1 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(1.19g)之粗製體。

MS(ESI)m/z：411(M+H)$^+$.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：8.48(1H，t，J=5.4Hz)，8.41(1H，d，J=7.8Hz)，8.27(1H，d，J=8.3Hz)，7.97(3H，m)，7.28-7.18(5H，m)，4.58(1H，m)，4.32(1H，m)，3.85(1H，dd，J=17.1，5.9Hz)，3.68(1H，dd，J=16.6，5.4Hz)，3.56(2H，m)，3.04(1H，dd，J=13.9，3.7Hz)，2.74(1H，dd，J=13.7，10.3Hz)，2.47(1H，m)，2.05(3H，s)，2.00(1H，m)，1.88(1H，m)，1.48(1H，d，J=10.3Hz).(僅記載能觀測到的波峰)

【1086】

(步驟2)

N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯基-L-甲硫胺酸

使用上述步驟1獲得的化合物(1.03g)，以與實施例21步驟2同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(652mg)。

MS(ESI)m/z：698$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：12.67(1H，brs)，8.28(0.7H，d，J=7.9Hz)，8.25(0.3H，d，J=7.9Hz)，8.17(0.7H，t，J=5.7Hz)，8.10(0.3H，t，J=5.7Hz)，8.04-7.93(2H，m)，7.73-7.15(13H，m)，5.00(1H，d，J=13.9Hz)，4.56-4.49(1H，m)，4.35-4.28(1H，m)，3.74-3.49(5H，m)，3.03(1H，dd，J=13.9，3.6Hz)，2.79-2.22(5H，m)，2.11-1.76(4H，m)，2.02(2.1H，s)，2.02(0.9H，s).

【1087】

(步驟3)

2,5-二側氧基吡咯啶-1-基 N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯基-L-甲硫胺酸酯

使用上述步驟 2 獲得的化合物(201mg)，以與實施例 21 步驟 3 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(95mg)。

MS(ESI)m/z：795$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：8.84-8.59(1H，m)，8.17-7.96(3H，m)，7.72-7.15(13H，m)，5.01(0.55H，d，J=14.5Hz)，5.00(0.45H，d，J=13.9Hz)，4.86-4.74(1H，m)，4.56-4.48(1H，m)，3.75-3.50(5H，m)，3.05-2.52(6H，m)，2.82(4H，brs)，2.33-1.73(4H，m)，2.05(3H，s).

【1088】

(步驟 4)

雙(N,N-二乙基乙銨) N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯 基-N-[2-({6-胺 基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-2,10-二硫醚-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四 氮 苯 并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-9H-嘌呤-2-基}胺基)乙基]-L-甲硫胺醯胺

(藥物連接子 10)

使用實施例 8 步驟 8-2 獲得的化合物(6.0mg)及於上述步驟 3 獲得的化合物(5.5mg)，以與實施例 23 步驟 1 同樣之手法進行反應後，以製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：20%-40%(0 分-30 分)]純化，獲得標題化合物(2.0mg)。

MS(ESI)m/z：1467$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.23(1H，brs)，7.93(1H，s)，7.54-7.07(14H，m)，6.23(1H，d，J=6.7Hz)，6.05-5.98(1H，m)，

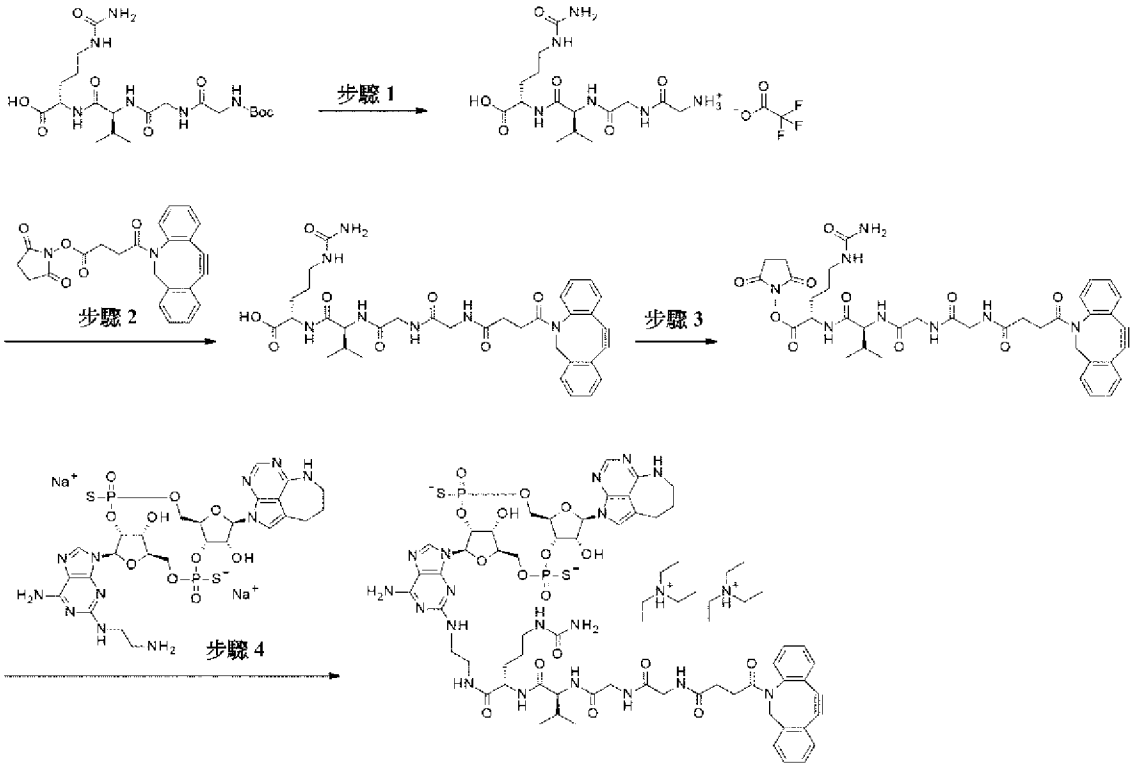
5.41-5.31(2H，m)，5.00-4.93(1H，m)，4.73-4.69(1H，m)，4.41-3.52(14H，m)，3.44-2.62(12H，m)，3.08(12H，q，J=7.3Hz)，2.38-2.13(3H，m)，2.02-1.80(8H，m)，1.19(18H，t，J=7.3Hz).

【1089】

實施例 71：藥物連接子 11 之合成

[合成流程圖]

【1090】



藥物連接子 11

【1091】

(步驟 1)

N-(銨基乙醯基)甘胺醯基-L-纈胺醯基-N^5-胺甲醯基-L-鳥胺酸 三氟乙酸鹽

使用市售(Hangzhou Peptide Biochem)之 N-(三級丁氧基羰基)甘胺醯基甘胺醯基-L-纈胺醯基-N^5-胺甲醯基-L-鳥胺酸

(1.00g)，以與實施例 21 步驟 1 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(1.02g)之粗製體。

MS(ESI)m/z：389$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：12.52(1H，brs)，8.55(1H，t，J=5.4Hz)，8.29(1H，d，J=7.3Hz)，8.03-7.96(4H，m)，5.97(1H，brs)，5.40(1H，brs)，4.26(1H，t，J=7.8Hz)，4.11(1H，m)，3.93-3.85(2H，m)，3.60(2H，d，J=5.9Hz)，2.95(2H，brs)，1.97(1H，m)，1.69(1H，m)，1.56(1H，m)，1.39(2H，m)，0.88(3H，d，J=6.8Hz)，0.84(3H，d，J=6.8Hz).(僅記載能觀測到的波峰)

【1092】

(步驟 2)

N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-纈胺醯基-N^5-胺甲醯基-L-鳥胺酸

使用上述步驟 1 獲得的化合物(1.02g)，以與實施例 21 步驟 2 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(795mg)。

MS(ESI)m/z：676$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：12.49(1H，s)，8.28-8.22(1H，m)，8.18(0.5H，t，J=6.0Hz)，8.13(0.5H，t，J=5.7Hz)，8.06(0.5H，t，J=5.7Hz)，8.01(0.5H，t，J=6.0Hz)，7.75-7.71(1H，m)，7.69-7.65(1H，m)，7.62-7.59(1H，m)，7.52-7.43(3H，m)，7.40-7.28(3H，m)，5.93(1H，t，J=5.7Hz)，5.38(2H，brs)，5.02(0.5H，d，J=13.9Hz)，5.01(0.5H，d，J=13.9Hz)，4.24(1H，dd，J=8.8，7.0Hz)，4.10(1H，m)，3.79-3.54(5H，

m)，2.93(2H，q，J=6.4Hz)，2.73-2.60(1H，m)，2.29(1H，m)，2.09-1.91(2H，m)，1.79(1H，m)，1.72-1.63(1H，m)，1.60-1.50(1H，m)，1.43-1.33(2H，m)，0.86(3H，d，J=6.7Hz)，0.81(1.5H，d，J=6.7Hz)，0.80(1.5H，d，J=6.7Hz).

【1093】

(步驟 3)

2,5-二側氧基吡咯啶-1-基 N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啐-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-纈胺醯基-N^5-胺甲醯基-L-鳥胺酸酯

使用上述步驟 2 獲得的化合物(300mg)，以與實施例 21 步驟 3 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(177mg)。

MS(ESI)m/z：773$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：8.75(1H，t，J=6.1Hz)，8.20(0.5H，t，J=6.1Hz)，8.15(0.5H，t，J=5.6Hz)，8.06(0.5H，t，J=5.9Hz)，8.02(0.5H，t，J=5.9Hz)，7.83(0.5H，d，J=8.8Hz)，7.77(0.5H，d，J=8.8Hz)，7.72(0.5H，d，J=7.8Hz)，7.67(0.5H，d，J=6.3Hz)，7.62-7.59(1H，m)，7.52-7.44(3H，m)，7.39-7.29(3H，m)，6.03(1H，brs)，5.43(2H，brs)，5.03(0.5H，d，J=13.7Hz)，5.01(0.5H，d，J=14.2Hz)，4.59-4.54(1H，m)，4.25(1H，m)，3.79-3.68(5H，m)，2.97(2H，q，J=6.5Hz)，2.80(4H，s)，2.71-2.60(1H，m)，2.28(1H，m)，2.10-2.03(1H，m)，2.00-1.93(1H，m)，1.88-1.72(3H，m)，1.54-1.49(2H，m)，0.85(3H，d，J=5.4Hz)，0.81(1.5H，d，J=4.9Hz)，0.80(1.5H，d，J=6.8Hz).

【1094】

(步驟 4)

雙(N,N-二乙基乙銨) N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啐-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-纈胺醯基-N-[2-({6-胺 基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-2,10-二硫醚-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-9H-嘌呤-2-基}胺基)乙基]-N^5-胺甲醯基-L-鳥胺醯胺

(藥物連接子 11)

使用實施例 8 步驟 8-2 獲得的化合物(5.0mg)及於上述步驟 3 獲得的化合物(3.8mg),以與實施例 23 步驟 1 同樣之手法進行反應後,以製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈,乙腈:20%-35%(0 分-30 分)]純化,獲得標題化合物(3.0mg)。

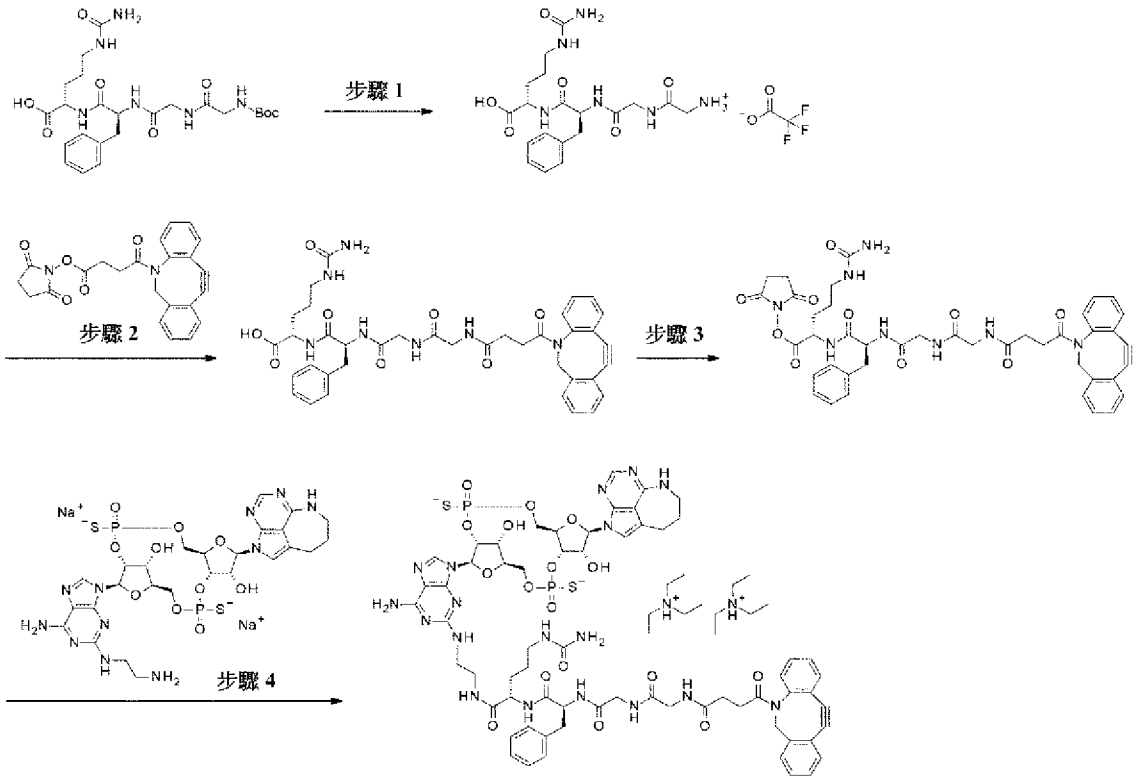
MS(ESI)m/z:1443(M-H)$^-$.

【1095】

實施例 72:藥物連接子 12 之合成

[合成流程圖]

【1096】



藥物連接子 12

【1097】

(步驟 1)

N-(銨基乙醯基)甘胺醯基-L-苯基丙胺醯基-N^5-胺甲醯基-L-鳥胺酸 三氟乙酸鹽

使用市售(Hangzhou Peptide Biochem)之 N-(三級丁氧基羰基)甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯基-N^5-胺甲醯基-L-鳥胺酸(1.00g)，以與實施例 21 步驟 1 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(1.05g)之粗製體。

MS(ESI)m/z：437$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：12.63(1H，brs)，8.49(1H，t，J=5.4Hz)，8.40(1H，d，J=7.8Hz)，8.26(1H，d，J=8.3Hz)，7.97(3H，brs)，7.28-7.17(5H，m)，6.00(1H，brs)，5.41(2H，brs)，4.60(1H，m)，4.17(1H，m)，3.85(1H，dd，J=16.6，5.4Hz)，3.67(1H，dd，J=16.6，5.4Hz)，3.56(2H，d，J=5.9Hz)，

3.03(1H，dd，J=13.9，3.7Hz)，2.96(2H，brs)，2.73(1H，dd，J=13.9，10.5Hz)，1.73(1H，m)，1.58(1H，m)，1.40(2H，m).

【1098】

(步驟 2)

N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯基-N^5-胺甲醯基-L-鳥胺酸

使用上述步驟 1 獲得的化合物(1.05g)，以與實施例 21 步驟 2 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(550mg)。

MS(ESI)m/z：724$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：12.60(1H，s)，8.29(1H，t，J=9.1Hz)，8.17(0.5H，t，J=5.7Hz)，8.10(0.5H，t，J=5.7Hz)，8.04-7.94(2H，m)，7.72-7.14(13H，m)，5.94(1H，br)，5.39(2H，s)，5.01(0.5H，d，J=13.9Hz)，5.00(0.5H，d，J=14.5Hz)，4.56(1H，m)，4.15(1H，m)，3.74-3.49(5H，m)，3.04-2.93(3H，m)，2.77-2.58(2H，m)，2.28(1H，m)，2.05(1H，m)，1.83-1.70(2H，m)，1.62-1.52(1H，m)，1.46-1.32(2H，m).

【1099】

(步驟 3)

2,5-二側氧基吡咯啶-1-基　N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯基-N^5-胺甲醯基-L-鳥胺酸酯

使用上述步驟 2 獲得的化合物(225mg)，以與實施例 21 步驟 3 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(226mg)。

MS(ESI)m/z：821(M＋H)$^+$.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：8.80(1H，t，J=7.6Hz)，8.19-7.96(3H，m)，7.72-7.15(13H，m)，6.03-5.89(1H，br)，5.43(2H，brs)，5.01(0.5H，d，J=14.0Hz)，4.99(0.5H，d，J=14.0Hz)，4.65-4.53(2H，m)，3.74-3.50(5H，m)，3.03-2.95(3H，m)，2.81(4H，s)，2.78-2.58(2H，m)，2.28(1H，m)，2.07(1H，m)，1.91-1.73(3H，m)，1.56-1.49(2H，m).

【1100】

(步驟 4)

雙(N,N-二乙基乙銨)　N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯 基-N-[2-({6-胺 基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-2,10-二硫醚-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四 氮 苯 并[cd]薁-2-基)八 氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-9H-嘌呤-2-基}胺基)乙基]-N^5-胺甲醯基-L-鳥胺醯胺

(藥物連接子 12)

使用實施例 8 步驟 8-2 獲得的化合物(5.1mg)及於上述步驟 3 獲得的化合物(4.0mg)，以與實施例 23 步驟 1 同樣之手法進行反應後，以製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：20%-35%(0 分-30 分)]純化，獲得標題化合物(4.6mg)。

MS(ESI)m/z：1493(M＋H)$^+$.

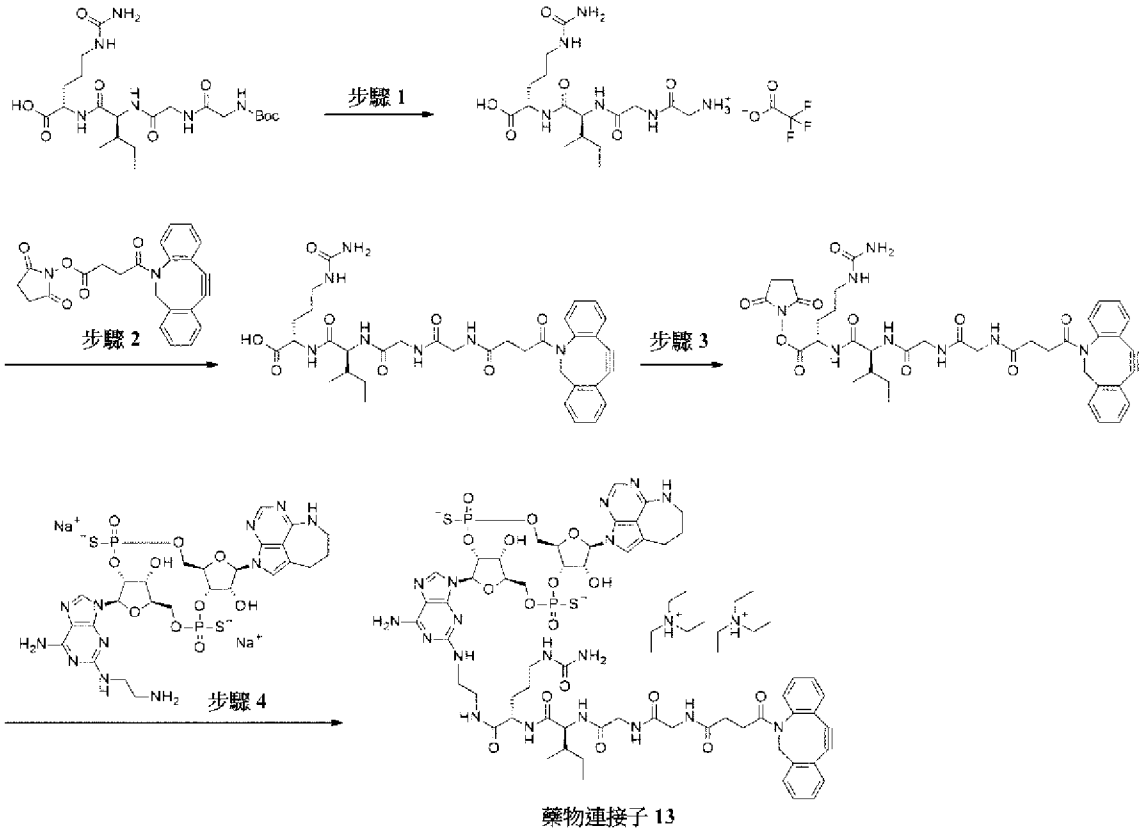
^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.31(1H，brs)，8.02(1H，s)，7.62-7.14(14H，m)，6.32(1H，d，J=6.0Hz)，6.11(1H，brd，J=5.4Hz)，5.55-5.41(2H，m)，5.06(1H，dd，J=13.9，11.5Hz)，4.86-2.73(28H，m)，3.19(12H，q，J=7.5Hz)，2.39-2.16(2H，m)，2.04-1.94(3H，m)，1.84-1.74(1H，m)，1.73-1.62(1H，m)，1.51-1.37(2H，m)，1.29(18H，t，J=7.3Hz).

【1101】

實施例 73：藥物連接子 13 之合成

[合成流程圖]

【1102】



藥物連接子 13

【1103】

(步驟 1)

N-(銨基乙醯基)甘胺醯基-L-異白胺醯基-N^5-胺甲醯基-L-鳥胺酸 三氟乙酸鹽

使用市售(Hangzhou Peptide Biochem)之 N-(三級丁氧基羰基)甘胺醯基甘胺醯基-L-異白胺醯基-N^5-胺甲醯基-L-鳥胺酸(1.00g)，以與實施例 21 步驟 1 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(1.09g)之粗製體。

MS(ESI)m/z：403$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：8.54(1H，t，J=5.4Hz)，8.30(1H，d，J=7.3Hz)，8.03(1H，d，J=9.3Hz)，7.99(3H，brs)，5.99(1H，brs)，4.27(1H，t，J=8.1Hz)，4.11(1H，m)，3.92-3.83(2H，m)，3.60(2H，m)，2.95(2H，m)，1.71(2H，m)，1.56(1H，m)，1.48-1.33(3H，m)，1.08(1H，m)，0.86(3H，d，J=6.8Hz)，0.81(3H，t，J=7.3Hz).(僅記載能觀測到的波峰)

【1104】

(步驟 2)

N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-異白胺醯基-N^5-胺甲醯基-L-鳥胺酸

使用上述步驟 1 獲得的化合物(1.08g)，以與實施例 21 步驟 2 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(524mg)。

MS(ESI)m/z：690$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：12.47(1H，brs)，8.25(1H，t，J=6.0Hz)，8.17(0.5H，t，J=5.7Hz)，8.12(0.5H，t，J=6.0Hz)，8.04(0.5H，t，J=6.0Hz)，7.99(0.5H，t，J=6.0Hz)，7.76-7.66(2H，m)，7.62-7.59(1H，m)，7.52-7.29(6H，m)，5.92(1H，t，J=5.4Hz)，5.38(2H，s)，5.02(0.5H，d，J=14.5Hz)，5.01(0.5H，d，J=13.9Hz)，4.25(1H，t，J=8.2Hz)，4.09(1H，

m)，3.78-3.54(5H，m)，2.93(2H，q，J=6.4Hz)，2.73-2.59(1H，m)，2.33-2.24(1H，m)，2.10-2.02(1H，m)，1.79(1H，ddd，J=16.6,7.3,5.7Hz)，1.74-1.63(2H，m)，1.60-1.50(1H，m)，1.45-1.33(3H，m)，1.09-1.00(1H，m)，0.84(3H，d，J=6.7Hz)，0.79(1.5H，t，J=6.7Hz)，0.77(1.5H，t，J=7.0Hz).

【1105】

(步驟 3)

2,5-二側氧基吡咯啶-1-基 N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啐-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-異白胺醯基-N^5-胺甲醯基-L-鳥胺酸酯

使用上述步驟 2 獲得的化合物(250mg)，以與實施例 21 步驟 3 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(224mg)。

MS(ESI)m/z：787$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：8.75(1H，t，J=6.4Hz)，8.19(0.5H，t，J=5.8Hz)，8.14(0.5H，t，J=5.8Hz)，8.06(0.5H，t，J=5.8Hz)，8.01(0.5H，t，J=5.8Hz)，7.89-7.65(2H，m)，7.63-7.58(1H，m)，7.53-7.27(6H，m)，5.96(1H，m)，5.42(2H，brs)，5.02(0.5H，d，J=14.0Hz)，5.01(0.5H，d，J=14.0Hz)，4.64-4.51(1H，m)，4.26(1H，t，J=8.2Hz)，3.79-3.55(5H，m)，3.01-2.93(2H，m)，2.80(4H，brs)，2.73-2.58(1H，m)，2.28(1H，m)，2.12-2.02(1H，m)，1.87-1.68(4H，m)，1.54-1.38(3H，m)，1.11-1.02(1H，m)，0.83(3H，d，J=6.7Hz)，0.78(1.5H，t，J=6.7Hz)，0.76(1.5H，t，J=6.7Hz).

【1106】

(步驟 4)

雙(N,N-二乙基乙銨) N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啐-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-異白胺醯基-N-[2-({6-胺 基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-2,10-二硫醚-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-9H-嘌呤-2-基}胺基)乙基]-N^5-胺甲醯基-L-鳥胺醯胺

(藥物連接子 13)

使用實施例 8 步驟 8-2 獲得的化合物(5.4mg)及於上述步驟 3 獲得的化合物(4.0mg),以與實施例 23 步驟 1 同樣之手法進行反應後,以製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈,乙腈:20%-35%(0 分-30 分)]純化,獲得標題化合物(4.7mg)。

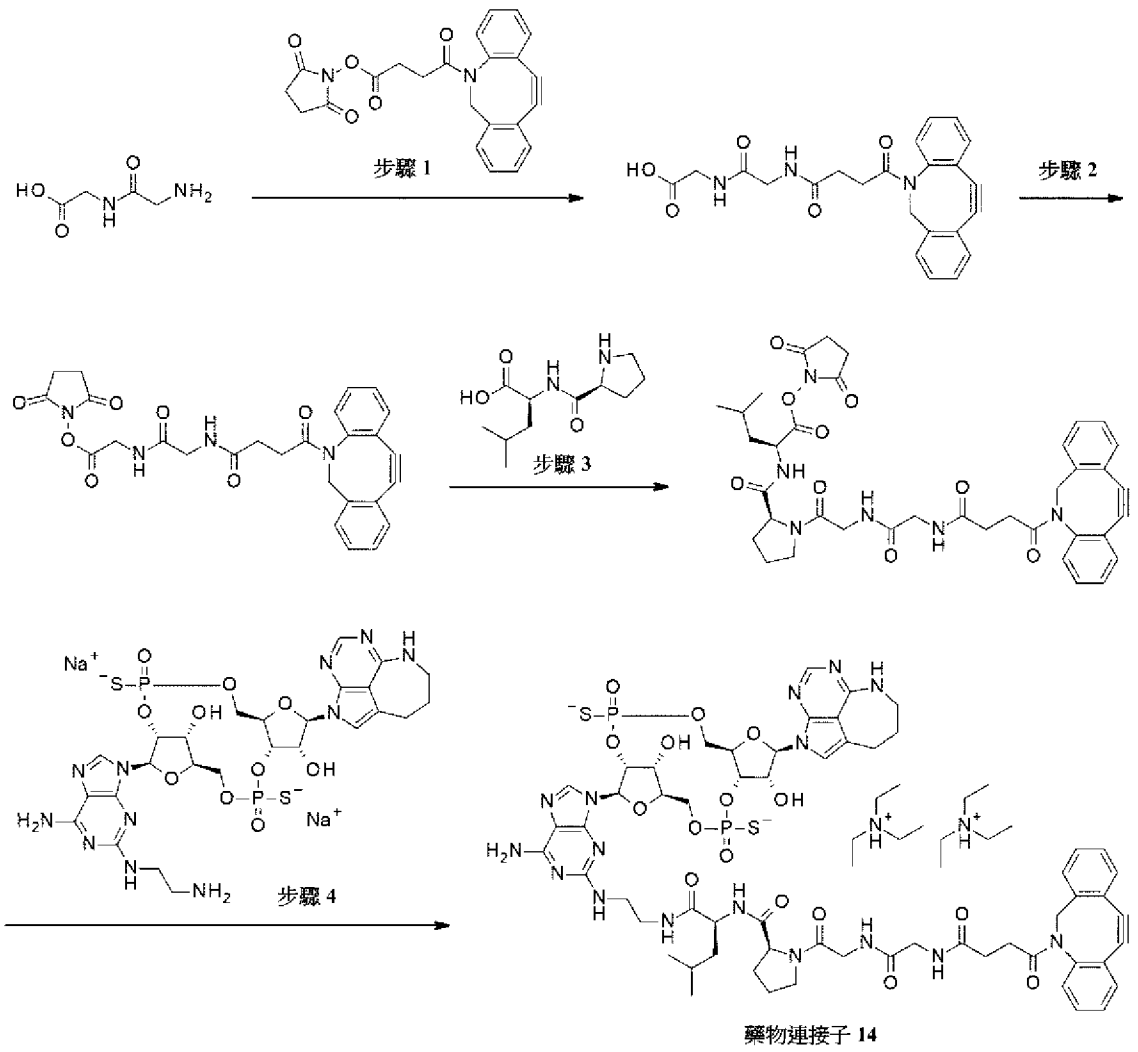
MS(ESI)m/z:1457(M-H)$^-$.

【1107】

實施例 74:藥物連接子 14 之合成

[合成流程圖]

【1108】



藥物連接子 14

【1109】

(步驟 1)

N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺酸

使用市售(東京化成工業)之甘胺醯基甘胺酸(0.61g)，以與實施例 21 步驟 2 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(1.08g)。

MS(ESI)m/z：420$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：12.57(1H，s)，8.12(1H，t，J=6.0Hz)，8.07(1H，t，J=5.7Hz)，7.69-7.67(1H，m)，7.62-7.60(1H，m)，7.52-7.29(6H，m)，5.03(1H，d，J=13.9Hz)，3.73(2H，d，J=6.0Hz)，3.70-3.55(3H，m)，2.64(1H，m)，

2.28(1H，m)，2.06(1H，ddd，J=15.3,7.7，5.6Hz)，1.79(1H，ddd，J=16.5，7.4,5.6Hz).

【1110】

(步驟 2)

2,5-二側氧基吡咯啶-1-基 N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啐-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺酸酯

使用上述步驟 1 獲得的化合物(1.07g)，以與實施例 21 步驟 3 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(942mg)。

MS(ESI)m/z：517$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：8.40(1H，t，J=6.0Hz)，8.19(1H，t，J=6.0Hz)，7.69-7.67(1H，m)，7.64-7.62(1H，m)，7.53-7.29(6H，m)，5.05(1H，d，J=14.5Hz)，4.26(1H，dd，J=18.1,6.0Hz)，4.19(1H，dd，J=18.1,6.0Hz)，3.72-3.59(3H，m)，2.81(4H，brs)，2.68-2.59(1H，m)，2.33-2.24(1H，m)，2.07(1H，ddd，J=15.4，7.6，5.7Hz)，1.80(1H，ddd，J=16.3,7.3,5.4Hz).

【1111】

(步驟 3)

2,5-二側氧基吡咯啶-1-基 N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啐-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-脯胺醯基-L-白胺酸酯

於上述步驟 2 獲得的化合物(250mg)及市售(國產化學)之 L-脯胺醯基-L-白胺酸(166mg)之 N,N-二甲基甲醯胺(5.0mL)懸浮液中，添加 N,N-二異丙基乙基胺(0.25mL)，並於室溫攪拌 2.5 小時。追加 L-脯胺醯基-L-白胺酸(833mg)而攪拌整夜。減

壓濃縮反應液後，於殘留物中添加氯仿(50mL)及 10%檸檬酸水溶液(10mL)，並以氯仿萃取。減壓濃縮有機層，將殘留物以矽膠管柱層析[氯仿/(氯仿：甲醇：水=7：3：1)之下層]粗純化。於粗生成物之 N,N-二甲基甲醯胺(5.0mL)溶液中添加 N-羥基琥珀醯亞胺(67mg)及 1-乙基-3-(3-二甲基胺基丙基)-碳二亞胺鹽酸鹽(111mg)，並於室溫攪拌 1.5 小時。將反應液減壓濃縮，於殘留物中添加氯仿(40mL)及水(15mL)，並以氯仿萃取。有機層以無水硫酸鈉乾燥後，濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物依序以矽膠管柱層析[氯仿/甲醇]、[乙酸乙酯/甲醇]純化，獲得標題化合物(127mg)。

MS(ESI)m/z：727$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：8.85(0.3H，m)，8.56(0.5H，d，J=7.3Hz)，8.33(0.2H，m)，8.09(1H，m)，7.91-7.79(1H，m)，7.70-7.28(8H，m)，5.04(0.7H，d，J=14.5)，5.03(0.3H，d，J=13.9)，4.71-4.29(2H，m)，4.01-3.30(7H，m)，2.79(4H，brs)，2.63(1H，m)，2.33-1.64(10H，m)，0.93-0.83(6H，m).

【1112】

(步驟 4)

雙(N,N-二乙基乙銨) N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啐-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-脯胺醯基-N-[2-({6-胺 基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-2,10-二硫醚-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-9H-嘌呤-2-基}胺基)乙基]-L-白胺醯胺

(藥物連接子 14)

使用實施例 8 步驟 8-2 獲得的化合物(6.9mg)及於上述步驟 3 獲得的化合物(4.7mg)，以與實施例 23 步驟 1 同樣之手法進行反應後，以製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：20%-40%(0 分-30 分)]純化，獲得標題化合物(7.2mg)。

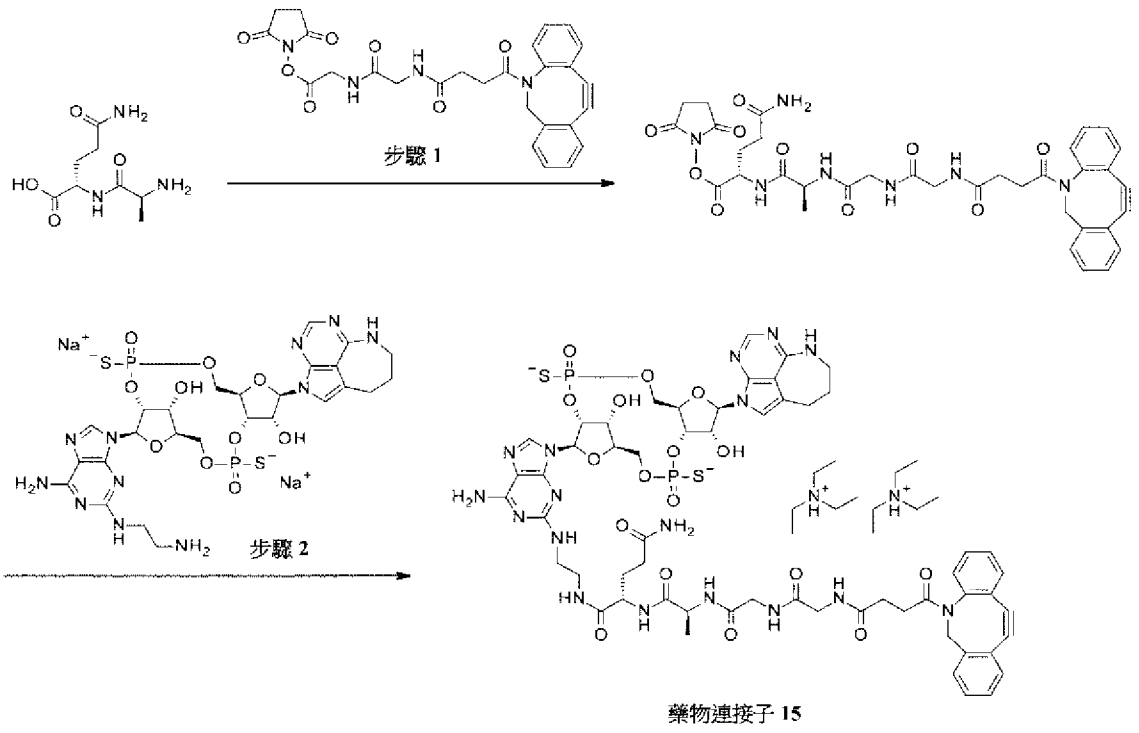
MS(ESI)m/z：1397(M-H)$^-$.

【1113】

實施例 75：藥物連接子 15 之合成

[合成流程圖]

【1114】



藥物連接子 15

【1115】

(步驟 1)

2,5-二側氧基吡咯啶-1-基 N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-丙胺醯基-L-麩醯胺酸酯

使用市售(和光純藥工業)之 L-丙胺醯基-L-麩醯胺酸(263mg)及於實施例 74 步驟 2 獲得的化合物(250mg)，以與實施例 74 步驟 3 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(90mg)。

MS(ESI)m/z：716(M＋H)$^+$.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：8.59(0.8H，d，J=7.3Hz)，8.48(0.2H，m)，8.20-7.92(3H，m)，7.70-7.25(9H，m)，6.85(1H，brs)，5.02(1H，d，J=13.9Hz)，4.62(1H，m)，4.33(1H，m)，3.75-3.56(5H，m)，2.80(4H，brs)，2.64(1H，m)，2.33-2.21(3H，m)，2.15-2.03(2H，m)，1.99-1.87(1H，m)，1.83-1.76(1H，m)，1.24-1.17(3H，m).

【1116】

(步驟 2)

雙(N,N-二乙基乙銨) N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-丙胺醯基-N^1-[2-({6-胺 基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-2,10-二硫醚-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-9H-嘌呤-2-基}胺基)乙基]-L-麩醯胺醯胺

(藥物連接子 15)

使用實施例 8 步驟 8-2 獲得的化合物(6.9mg)及於上述步驟 1 獲得的化合物(4.7mg)，以與實施例 23 步驟 1 同樣之手法進行反應後，以製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈、乙腈：20%-40%(0 分-30 分)]純化，獲得標題化合物(3.9mg)。

MS(ESI)m/z：1388(M＋H)$^+$.

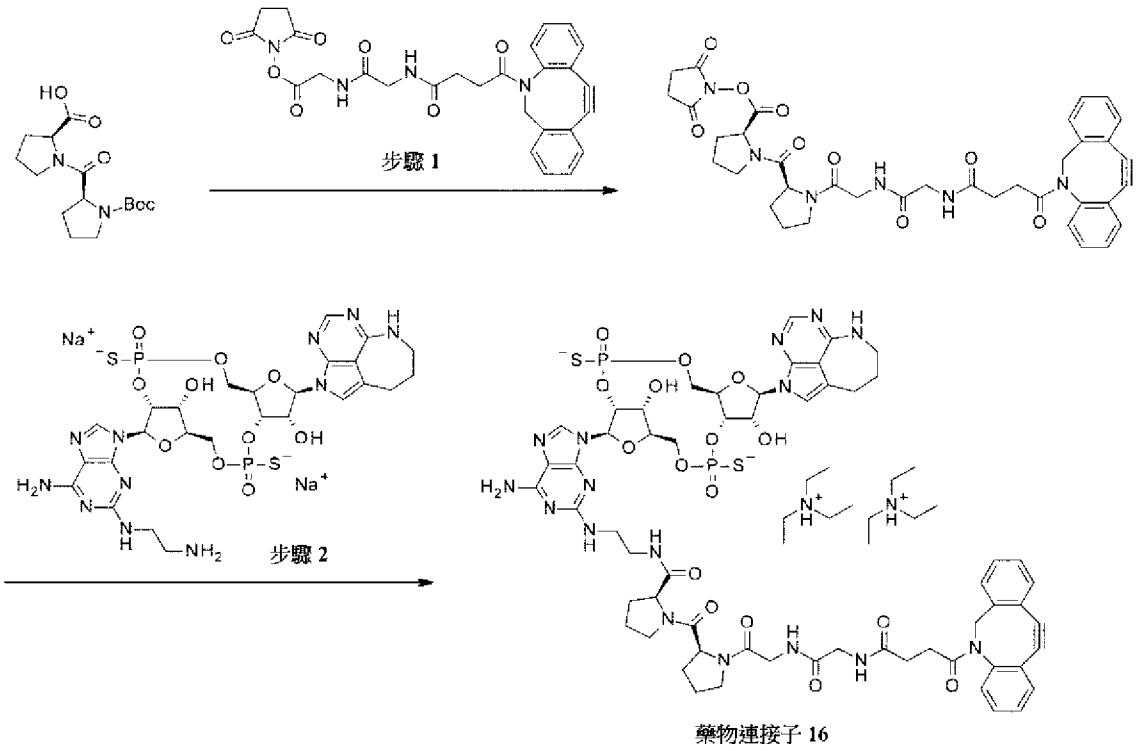
^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.38-8.35(1H，m)，8.02(1H，s)，7.66-7.13(9H，m)，6.33(1H，d，J=6.7Hz)，6.14-6.10(1H，m)，5.51-5.42(2H，m)，5.14-5.06(1H，m)，4.84-4.79(1H，m)，4.53-3.64(14H，m)，3.56-3.11(6H，m)，3.15(12H，q，J=7.5Hz)，2.92-2.69(4H，m)，2.42-1.93(8H，m)，1.45-1.24(3H，m)，1.27(18H，t，J=7.3Hz).

【1117】

實施例 76：藥物連接子 16 之合成

[合成流程圖]

【1118】



藥物連接子 16

【1119】

(步驟 1)

2,5-二側氧基吡咯啶-1-基　N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-脯胺醯基-L-脯胺酸酯

使用市售(Cool Pharm)之 1-(三級丁氧基羰基)-L-脯胺醯基-L-脯胺酸(777mg)，以與實施例 21 步驟 1 同樣之手法進行反應，獲得 1-[(2S)-吡咯啶-1-鎓-2-羰基]-L-脯胺酸 三氟乙酸鹽之粗製體。使用此粗生成物及於實施例 74 步驟 2 獲得的化合物(428mg)，以與實施例 74 步驟 3 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(238mg)。

MS(ESI)m/z：711$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：8.12-8.08(1H，m)，7.90(0.2H，s)，7.82(0.8H，d，J=4.8Hz)，7.70-7.61(2H，m)，7.52-7.29(6H，m)，5.07-5.01(1H，m)，4.88-4.86(0.2H，m)，4.77-4.74(0.2H，m)，4.69-4.62(0.8H，m)，4.60-4.56(0.8H，m)，4.02-3.38(9H，m)，2.79(4H，brs)，2.68-2.58(1H，m)，2.37-2.24(2H，m)，2.16-1.73(9H，m).

【1120】

(步驟 2)

雙(N,N-二乙基乙銨) N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-脯胺醯基-N-[2-({6-胺 基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-2,10-二硫醚-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-9H-嘌呤-2-基}胺基)乙基]-L-脯胺醯胺

(藥物連接子 16)

使用實施例 8 步驟 8-2 獲得的化合物(6.9mg)及於上述步驟 1 獲得的化合物(4.6mg)，以與實施例 23 步驟 1 同樣之手法進行

反應後，以製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：20%-40%(0 分-30 分)]純化，獲得標題化合物(5.8mg)。

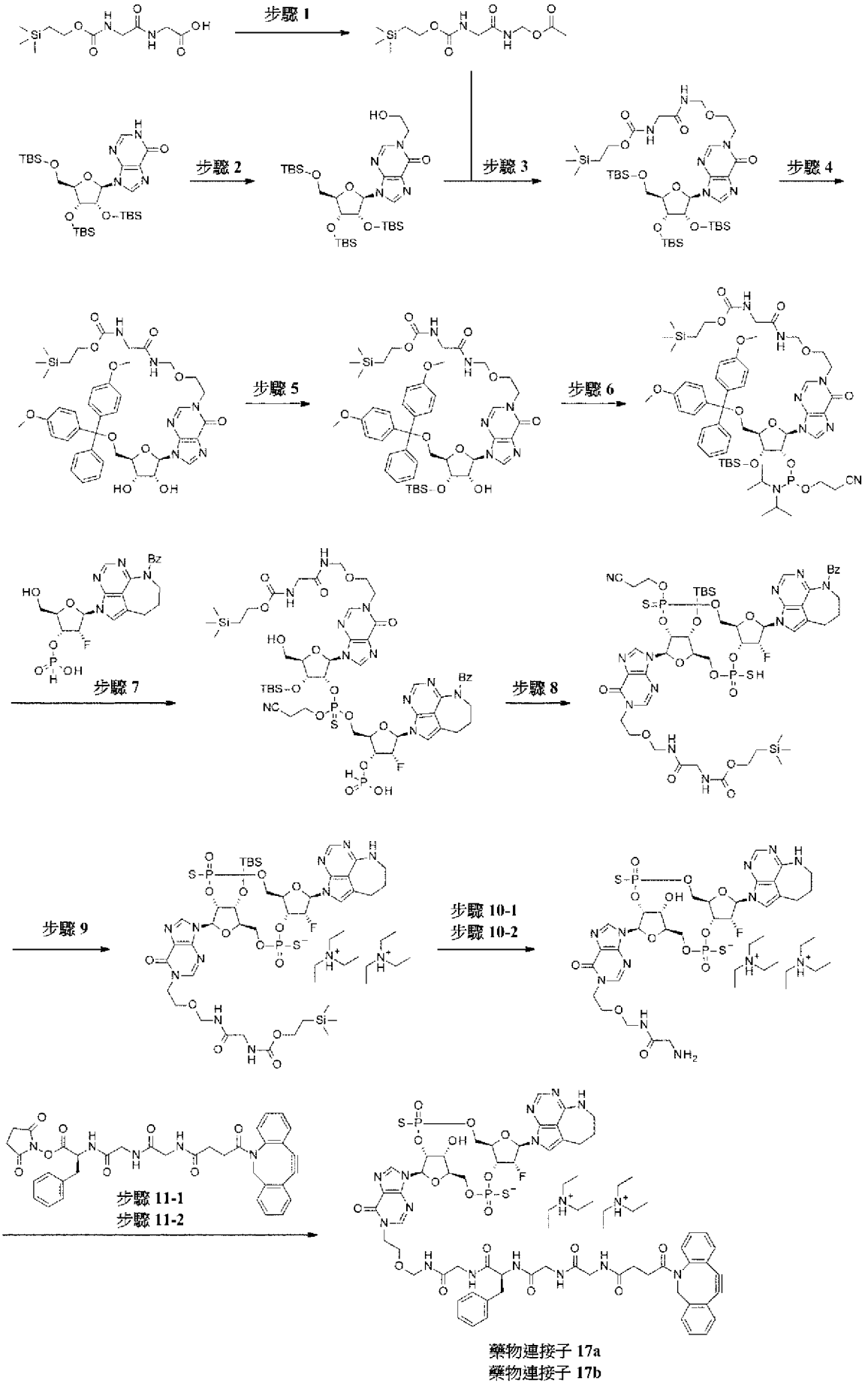
MS(ESI)m/z：1383$(M+H)^+$.

【1121】

實施例 77：藥物連接子 17 之合成

[合成流程圖]

【1122】



藥物連接子 **17a**
藥物連接子 **17b**

【1123】

(步驟 1)

乙酸[(N-{[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}甘胺醯基)胺基]甲酯

使用市售(SUNDIA)之 N-{[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}甘胺醯基甘胺酸(9.32g)，以與實施例 67 步驟 1 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(8.24g)。

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：7.14(1H，brs)，5.27(2H，d，J=7.3Hz)，5.20(1H，brs)，4.22-4.16(2H，m)，3.88(2H，d，J=6.0Hz)，2.08(3H，s)，1.04-0.97(2H，m)，0.05(9H，s).

【1124】

(步驟 2)

2',3',5'-參-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-1-(2-羥基乙基)肌苷

於文獻已知(Chem.Pharm.Bull.1987，35(1)，72-79)之 2',3',5'-參-O-[三級丁基(二甲基)矽基]肌苷(31.3g)之四氫呋喃(75mL)-N,N-二甲基乙醯胺(75mL)混合溶液中，添加 2-溴乙醇(4.82mL)及 1,8-二氮雙環[5.4.0]-7-十一烯(7.65mL)，並於室溫攪拌 23 小時。於反應液中，添加水及乙酸乙酯，並以乙酸乙酯萃取。有機層以飽和食鹽水洗淨，以無水硫酸鈉乾燥後，濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(29.4g)。

MS(ESI)m/z：655$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.16(1H，s)，7.99(1H，d，J=2.4Hz)，5.97(1H，d，J=4.2Hz)，4.40-4.25(3H，m)，4.18-4.06(3H，

m)，4.03-3.92(2H，m)，3.79(1H，dd，J=11.5，2.4Hz)，3.08-2.83(1H，brm)，0.96(9H，s)，0.92(9H，s)，0.82(9H，s)，0.15(3H，s)，0.14(3H，s)，0.09(3H，s)，0.08(3H，s)，-0.02(3H，s)，-0.15(3H，s).

【1125】

(步驟 3)

2',3',5'-參-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-1-(2-{[(N-{[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}甘胺醯基)胺基]甲氧基}乙基)肌苷

於上述步驟 2 獲得的化合物(15.6g)之甲苯(46.8mL)溶液中，添加上述步驟 1 獲得的化合物(10.4g)及吡啶(9.63mL)，並於 110℃攪拌 12 小時。於反應液中追加上述步驟 1 獲得的化合物(3.46g)，並於 110℃攪拌 1 日。於反應液中添加飽和碳酸氫鈉水溶液及二氯甲烷，以二氯甲烷萃取。有機層以無水硫酸鈉乾燥後，濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯]純化，獲得標題化合物(20.6g：含有雜質)。

MS(ESI)m/z：885$(M+H)^+$.

【1126】

(步驟 4)

5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-1-(2-{[(N-{[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}甘胺醯基)胺基]甲氧基}乙基)肌苷

於上述步驟 3 獲得的化合物(20.6g)之四氫呋喃(50mL)溶液中，添加三乙基胺三氫氟酸鹽(10mL)，並於室溫攪拌 17 小時。冰冷下，於反應液中緩緩添加 1M 碳酸氫三乙基銨溶液(50mL)及三乙基胺(10mL)之混合液後，減壓濃縮反應液。殘留物以 C18 矽膠管柱層析[水/乙腈]粗純化後，冷凍乾燥。將獲得的粗製體以

吡啶共沸，於殘留物之吡啶(50mL)溶液中，於 0℃添加 4,4'-二甲氧基三苯甲基氯(4.73g)，並於 4℃攪拌 17 小時。於反應液中添加甲醇(2mL)，於室溫攪拌 15 分鐘後，減壓濃縮。將殘留物以矽膠管柱層析[己烷/乙酸乙酯/甲醇/0.1%三乙基胺]純化，獲得標題化合物(9.18g：含有雜質)。

MS(ESI)m/z：845$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：7.94(1H，s)，7.88(1H，s)，7.65(1H，brs)，7.41-7.36(2H，m)，7.32-7.15(7H，m)，6.83-6.76(4H，m)，5.96(1H，d，J=6.1Hz)，5.73-5.65(2H，m)，4.87-4.80(1H，m)，4.76-4.61(2H，m)，4.44-4.39(1H，m)，4.35-4.30(1H，m)，4.22-4.05(4H，m)，3.83-3.73(2H，m)，3.77(6H，s)，3.72-3.67(2H，m)，3.48-3.32(3H，m)，0.99-0.91(2H，m)，0.02(9H，s).

【1127】

(步驟 5)

5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-1-(2-{[(N-{[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}甘胺醯基)胺基]甲氧基}乙基)肌苷

使用上述步驟 4 獲得的化合物(5.96g)，以與實施例 5 步驟 3 同樣的手法進行反應，獲得標題化合物(2.33g)及為標題化合物之位置異構物的 5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-1-(2-{[(N-{[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}甘胺醯基)胺基]甲氧基}乙基)肌苷(2.45g)。

MS(ESI)m/z：959$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：7.99(1H，s)，7.93(1H，s)，7.45-7.39(2H，m)，7.35-7.18(7H，m)，7.05(1H，brs)，6.84-6.77(4H，m)，5.92(1H，d，J=5.4Hz)，5.46(1H，brs)，4.71-4.61(3H，m)，4.54-4.51(1H，m)，4.22-4.10(5H，m)，3.81-3.76(2H，m)，3.78(3H，s)，3.78(3H，s)，3.74(2H，d，J=6.0Hz)，3.48(1H，dd，J=10.9，4.2Hz)，3.26(1H，dd，J=10.9，4.2Hz)，3.16(1H，d，J=6.7Hz)，1.00-0.93(2H，m)，0.89(9H，s)，0.09(3H，s)，0.02(9H，s)，0.02(3H，s).

位置異構物(2'-O-TBS 體)

MS(ESI)m/z：959$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：7.99(1H，s)，7.91(1H，s)，7.48-7.42(2H，m)，7.37-7.18(8H，m)，6.85-6.78(4H，m)，5.96(1H，d，J=5.4Hz)，5.63(1H，brs)，4.88(1H，t，J=5.1Hz)，4.66(2H，d，J=6.7Hz)，4.36-4.32(1H，m)，4.27-4.19(2H，m)，4.18-4.10(3H，m)，3.81-3.74(4H，m)，3.78(3H，s)，3.78(3H，s)，3.50(1H，dd，J=10.9，3.6Hz)，3.38(1H，dd，J=10.9，3.6Hz)，2.73(1H，d，J=4.2Hz)，0.97-0.90(2H，m)，0.86(9H，s)，0.02(3H，s)，0.01(9H，s)，-0.09(3H，s).

【1128】

(步驟 6)

5'-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-2'-O-{(2-氰基乙氧基)[二(丙烷-2-基)胺基]磷烷基}-1-(2-{[(N-{[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}甘胺醯基)胺基]甲氧基}乙基)肌苷

使用上述步驟 5 獲得的化合物(2.33g)，以與實施例 5 步驟 4 同樣的手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物(非鏡像異構物比=6：4)之標題化合物(2.72g)。

MS(ESI)m/z：1159$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：8.03(0.4H，s)，8.02(0.6H，s)，7.95(0.6H，s)，7.92(0.4H，s)，7.46-7.40(2H，m)，7.35-7.17(7H，m)，6.88(1H，brs)，6.84-6.78(4H，m)，6.15(0.6H，d，J=4.2Hz)，6.10(0.4H，d，J=4.8Hz)，5.34(1H，brs)，4.86-4.61(3H，m)，4.48-4.42(1H，m)，4.29-4.09(5H，m)，3.83-3.44(9H，m)，3.79(3H，s)，3.78(3H，s)，3.32-3.23(1H，m)，2.58-2.49(1H，m)，2.44-2.38(1H，m)，1.15(3.6H，d，J=6.7Hz)，1.11(6H，d，J=6.7Hz)，1.04-0.92(2H，m)，0.97(2.4H，d，J=6.7Hz)，0.85(3.6H，s)，0.84(5.4H，s)，0.09(1.2H，s)，0.06(1.8H，s)，0.03(9H，s)，0.00(3H，s).

【1129】

(步驟 7)

使用實施例 44 步驟 8 獲得的化合物(2.15g)，以與實施例 1 步驟 7 同樣之手法進行反應，獲得 6-苄醯基-2-{2-去氧-2-氟-3-O-[羥基(側氧基)-λ^5-磷烷基]-β-D-核呋喃糖基}-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁之乙腈溶液。使用獲得的乙腈溶液及於上述步驟 6 獲得的化合物(2.72g)，以與實施例 1 步驟 8 同樣之手法進行反應，將獲得的粗生成物直接用於之後的反應。

【1130】

(步驟 8)

2-(三甲基矽基)乙基(2-{[(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-16-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-10-(2-氰基乙氧基)-15-氟-2-側氧基-2-氫硫基-10-亞硫基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基}乙氧基)甲基]胺基}-2-側氧基乙基)胺甲酸酯

使用上述步驟 7 所獲得的粗生成物，以與實施例 1 步驟 9 同樣之手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(1.47g：含有雜質)。

MS(ESI)m/z：1278(M＋H)$^+$.

【1131】

(步驟 9)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-16-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-15-氟-2,10-二側氧基-7-[6-側氧基-1-(2-{[(N-{[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}甘胺醯基)胺基]甲氧基}乙基)-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

於上述步驟 8 獲得的化合物(1.47g)之甲醇(10mL)-四氫呋喃(10mL)混合溶液中，添加 28%氨水(10mL)，並於 50℃攪拌 6 小時。減壓濃縮反應液後，殘留物以 C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]純化，獲得標題化合物之非鏡像異構物 1(204mg：含有雜質)及非鏡像異構物 2(205mg：含有雜質)。

非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：1121$(M+H)^+$.

非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：1121$(M+H)^+$.

【1132】

(步驟 10-1)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-氟-7-(1-{2-[(甘胺醯基胺基)甲氧基]乙基}-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基)-16-羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用上述步驟 9 獲得的化合物(非鏡像異構物 1)(204mg)，以與實施例 11 步驟 9-1 同樣之手法進行反應後，以 C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈-甲醇溶液(1：1)，乙腈-甲醇溶液(1：1)：10%-50%(0 分-40 分)]純化，獲得標題化合物(40.7mg：含有雜質)。

MS(ESI)m/z：863$(M+H)^+$.

【1133】

(步驟 10-2)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-氟-7-(1-{2-[(甘胺醯基胺基)甲氧基]乙基}-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基)-16-羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲

橋-2λ⁵,10λ⁵-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(硫醇鹽)

使用上述步驟 9 獲得的化合物(非鏡像異構物 2)(205mg)，以與實施例 11 步驟 9-1 同樣之手法進行反應後，以 C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈-甲醇溶液(1：1)，乙腈-甲醇溶液(1：1)：10%-50%(0 分-40 分)]純化，獲得標題化合物(50.8mg：含有雜質)。

MS(ESI)m/z：863$(M+H)^+$.

【1134】

(步驟 11-1)

雙(N,N-二乙基乙銨) N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯 基-N-[(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-氟-16-羥基-2,10-二側氧基-2,10-二硫醚-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ⁵,10λ⁵-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基}乙氧基)甲基]甘胺醯胺

(藥物連接子 17a：非鏡像異構物 1)

使用上述步驟 10-1 獲得的化合物(40.7mg)，以與實施例 22 步驟 9-1 同樣之手法進行反應後，以 C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]、製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：20%-45%(0 分-40 分)]、及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/甲醇，甲醇：40%-90%(0 分-40 分)]純化，獲得標題化合物(25.1mg)。

MS(ESI)m/z：1411$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.58(1H，s)，8.09(1H，s)，8.04(1H，s)，7.57-7.49(2H，m)，7.43-7.34(3H，m)，7.32-7.08(9H，m)，6.47(1H，d，J=16.9Hz)，6.23(1H，d，J=7.9Hz)，5.56-5.37(2H，m)，5.31-5.17(1H，m)，5.03(1H，d，J=13.9Hz)，4.79(1H，d，J=4.2Hz)，4.64-4.38(6H，m)，4.36-4.21(4H，m)，4.05-3.60(10H，m)，3.53-3.42(3H，m)，3.18(12H，q，J=7.3Hz)，3.01-2.92(1H，m)，2.86-2.73(1H，m)，2.70-2.54(2H，m)，2.37-2.16(2H，m)，2.06-1.77(3H，m)，1.28(18H，t，J=7.3Hz).

【1135】

(步驟 11-2)

雙(N,N-二乙基乙銨) N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啐-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯 基-N-[(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-氟-16-羥基-2,10-二側氧基-2,10-二硫醚-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基}乙氧基)甲基]甘胺醯胺

(藥物連接子 17b：非鏡像異構物 2)

使用上述步驟 10-2 獲得的化合物(50.8mg)，以與實施例 22 步驟 9-1 同樣之手法進行反應後，以 C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]、製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：25%-45%(0 分-40 分)]、及製備性

HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/甲醇，甲醇：45%-90%(0 分-40 分)]純化，獲得標題化合物(23.4mg)。

MS(ESI)m/z：1411(M+H)$^+$.

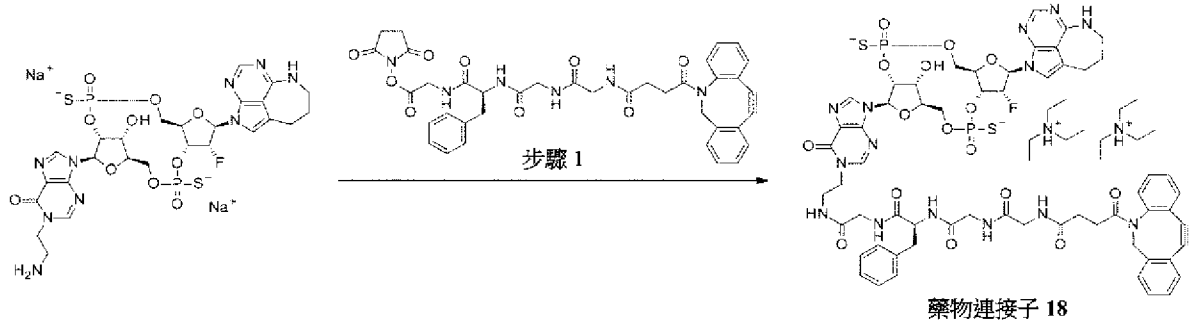
^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.67(1H，s)，8.14(1H，s)，8.02(1H，s)，7.67-7.50(2H，m)，7.43-7.36(3H，m)，7.34-7.12(9H，m)，6.48(1H，d，J=15.1Hz)，6.26(1H，t，J=8.8Hz)，5.60-5.31(3H，m)，5.09-5.00(1H，m)，4.61-4.22(9H，m)，4.11-3.59(13H，m)，3.50-3.44(2H，m)，3.18(12H，q，J=7.3Hz)，3.04-2.93(1H，m)，2.87-2.74(3H，m)，2.39-2.22(2H，m)，2.06-1.85(3H，m)，1.28(18H，t，J=7.3Hz).

【1136】

實施例 78：藥物連接子 18 之合成

[合成流程圖]

【1137】



【1138】

(步驟 1)

雙(N,N-二乙基乙銨)　N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯基-N-(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-氟-16-羥基-2,10-二側氧基-2,10-二硫醚-14-(6,7,8,9-四氫-2H-

2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基}乙基)甘胺醯胺

(藥物連接子 18)

使用實施例 45 步驟 7-2 獲得的化合物(10.0mg)及於實施例 21 步驟 3 獲得的化合物(8.8mg)，以與實施例 21 步驟 4 同樣之手法進行反應後，以 C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]、製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：25%-50%(0 分-40 分)]、及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/甲醇，甲醇：45%-90%(0 分-40 分)]純化，獲得標題化合物(10.9mg)。

MS(ESI)m/z：1381$(M+H)^+$.

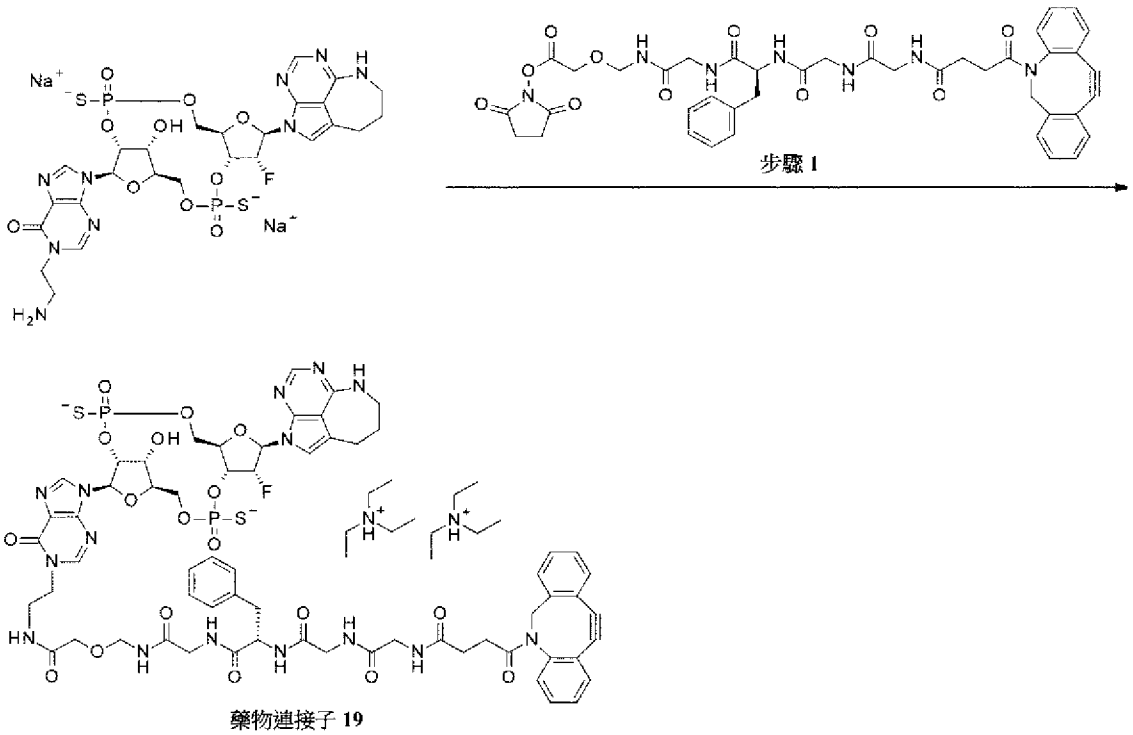
^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.61(1H，s)，8.03(1H，s)，8.02(1H，s)，7.64-7.49(2H，m)，7.44-7.37(3H，m)，7.35-7.11(9H，m)，6.48(1H，dd，J=15.1,1.8Hz)，6.24(1H，d，J=8.5Hz)，5.62-5.39(3H，m)，5.03(1H，dd，J=18.4，14.2Hz)，4.55-4.37(5H，m)，4.29-4.18(2H，m)，4.04-3.91(3H，m)，3.87-3.52(8H，m)，3.50-3.41(3H，m)，3.19(12H，q，J=7.3Hz)，3.18-3.10(1H，m)，3.02-2.92(1H，m)，2.86-2.66(3H，m)，2.40-2.21(2H，m)，2.06-1.84(3H，m)，1.29(18H，t，J=7.3Hz).

【1139】

實施例 79：藥物連接子 19 之合成

[合成流程圖]

【1140】



【1141】

(步驟 1)

雙(N,N-二乙基乙銨) N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯基-N-({2-[(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-氟-16-羥基-2,10-二側氧基-2,10-二硫醚-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基}乙基)胺基]-2-側氧基乙氧基}甲基)甘胺醯胺

(藥物連接子 19)

使用實施例 45 步驟 7-2 獲得的化合物(20.0mg)及於實施例 66 步驟 1 獲得的化合物(19.8mg)，以與實施例 21 步驟 4 同樣之手法進行反應後，以 C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]、製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，

乙腈：20%-45%(0 分-40 分)]、及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/甲醇，甲醇：30%-80%(0 分-40 分)]純化，獲得標題化合物(22.1mg)。

MS(ESI)m/z：1468$(M+H)^+$.

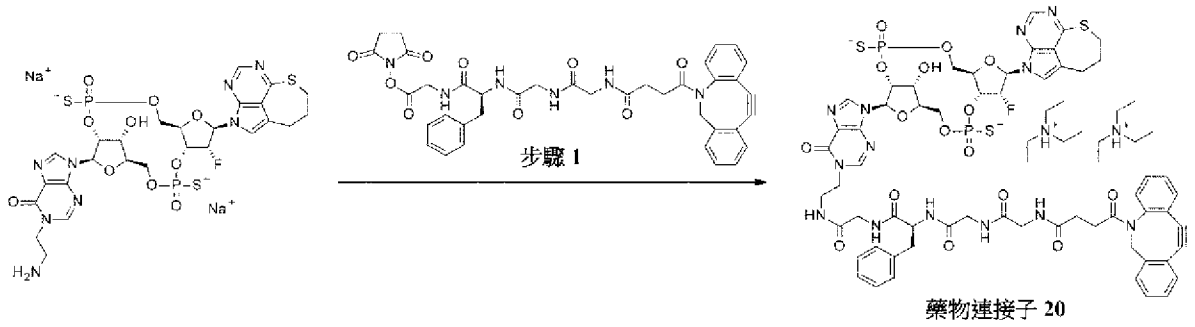
^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.66(1H，brs)，8.10(1H，brs)，8.04-7.96(1H，m)，7.66-7.35(5H，m)，7.33-7.12(9H，m)，6.52-6.41(1H，m)，6.28-6.22(1H，m)，5.64-5.31(3H，m)，5.07-4.99(1H，m)，4.70-4.20(9H，m)，4.11-3.51(14H，m)，3.50-3.30(3H，m)，3.27-3.10(1H，m)，3.19(12H，q，J=7.3Hz)，3.07-2.93(1H，m)，2.89-2.65(3H，m)，2.41-2.18(2H，m)，2.05-1.82(2H，m)，1.29(18H，t，J=7.3Hz).

【1142】

實施例 80：藥物連接子 20 之合成

[合成流程圖]

【1143】



【1144】

(步驟 1)

雙(N,N-二乙基乙銨)　N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯　基-N-(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-

(8,9-二氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁-2(7H)-基)-15-氟-16-羥基-2,10-二側氧基-2,10-二硫醚八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基}乙基)甘胺醯胺

(藥物連接子 20)

使用實施例 59 步驟 4-2 獲得的化合物(25.0mg)及於實施例 21 步驟 3 獲得的化合物(25.8mg)，以與實施例 21 步驟 4 同樣之手法進行反應後，以 C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]、製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：30%-50%(0 分-40 分)]、及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/甲醇，甲醇：50%-90%(0 分-40 分)]純化，獲得標題化合物(33.1mg)。

MS(ESI)m/z：1398$(M+H)^+$.

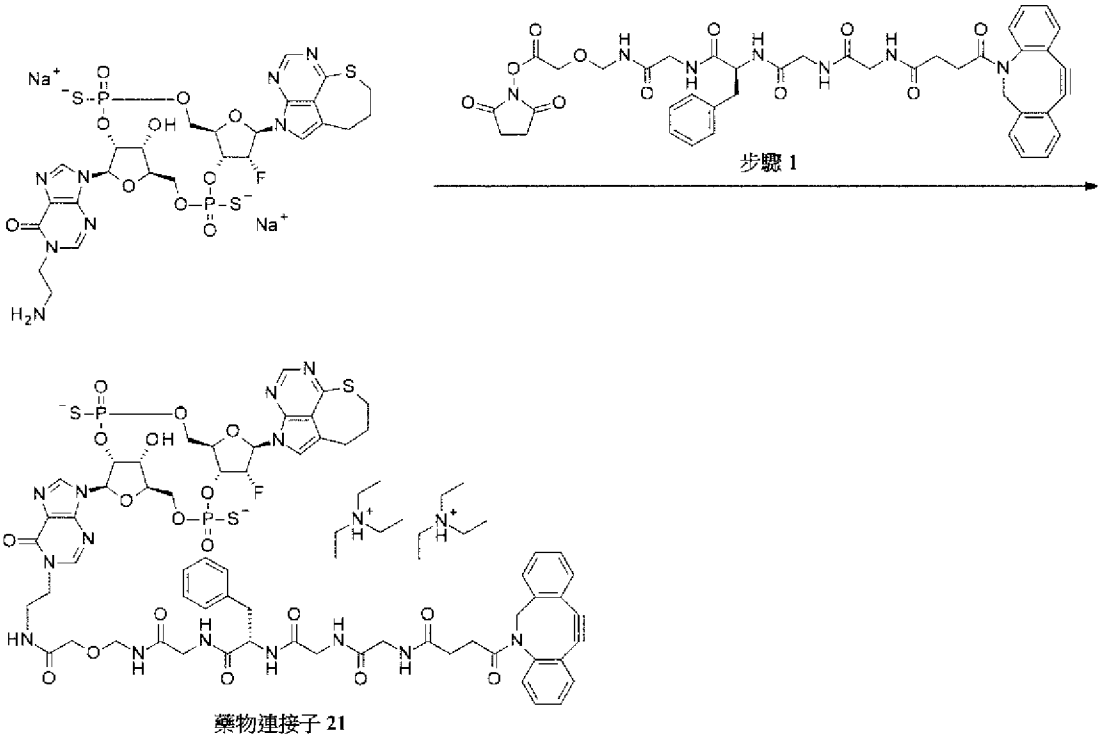
^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.58(1H，brs)，8.39(1H，d，J=8.5Hz)，8.00(1H，brs)，7.71(1H，brs)，7.64-7.49(2H，m)，7.44-7.37(3H，m)，7.32-7.10(8H，m)，6.59(1H，d，J=15.1Hz)，6.23(1H，d，J=8.5Hz)，5.65-5.36(3H，m)，5.03(1H，dd，J=16.6，14.2Hz)，4.57-4.38(5H，m)，4.30-4.17(2H，m)，4.07-3.95(2H，m)，3.94-3.50(9H，m)，3.50-3.35(1H，m)，，3.19(12H，q，J=7.3Hz)，3.18-3.07(3H，m)，3.04-2.73(4H，m)，2.40-2.11(4H，m)，2.05-1.92(1H，m)，1.29(18H，t，J=7.3Hz).

【1145】

實施例 81：藥物連接子 21 之合成

[合成流程圖]

【1146】



【1147】

(步驟 1)

雙(N,N-二乙基乙銨) N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯基-N-({2-[(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(8,9-二氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁-2(7H)-基)-15-氟-16-羥基-2,10-二側氧基-2,10-二硫醚八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基}乙基)胺基]-2-側氧基乙氧基}甲基)甘胺醯胺

(藥物連接子 21)

使用實施例 59 步驟 4-2 獲得的化合物(15.0mg)及於實施例 66 步驟 1 獲得的化合物(17.4mg)，以與實施例 21 步驟 4 同樣之手法進行反應後，以 C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨

水溶液/乙腈]、製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：25%-50%(0 分-40 分)]、及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/甲醇，甲醇：40%-90%(0 分-40 分)]純化，獲得標題化合物(21.8mg)。

MS(ESI)m/z：1485$(M+H)^+$.

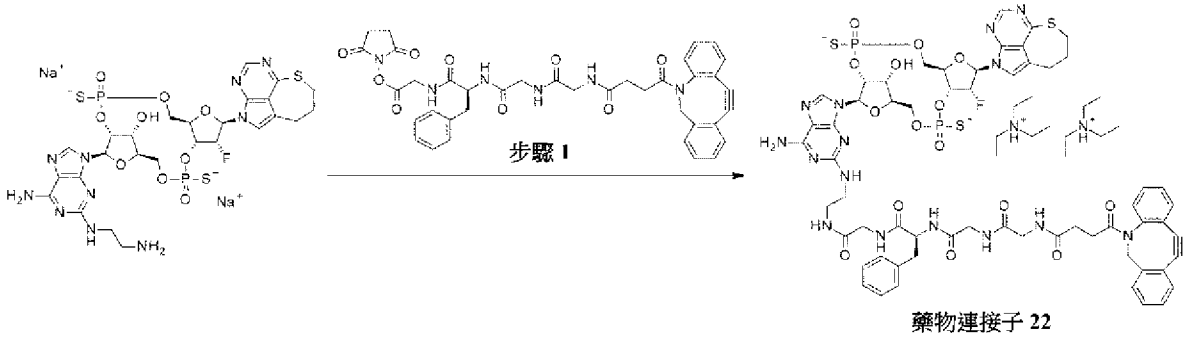
^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.61(1H，brs)，8.41-8.34(1H，m)，8.10-8.05(1H，m)，7.72-7.37(6H，m)，7.32-7.12(8H，m)，6.63-6.50(1H，m)，6.27-6.22(1H，m)，5.65-5.31(3H，m)，5.07-4.94(1H，m)，4.68-4.20(10H，m)，4.11-3.53(14H，m)，3.26-3.08(2H，m)，3.19(12H，q，J=7.3Hz)，3.06-2.67(4H，m)，2.40-2.11(4H，m)，2.05-1.88(1H，m)，1.29(18H，t，J=7.3Hz).

【1148】

實施例 82：藥物連接子 22 之合成

[合成流程圖]

【1149】



【1150】

(步驟 1)

雙(N,N-二乙基乙銨)　N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺

醯基-N-[2-({6-胺基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(8,9-二氫-6-硫-2,3,5-三氮苯并[cd]薁-2(7H)-基)-15-氟-16-羥基-2,10-二側氧基-2,10-二硫醚八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-9H-嘌呤-2-基}胺基)乙基]甘胺醯胺

(藥物連接子 22)

使用實施例 61 步驟 4-2 獲得的化合物(4.4mg)及於實施例 21 步驟 3 獲得的化合物(3.5mg)，以與實施例 21 步驟 4 同樣之手法進行反應後，以製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：25%-45%(0 分-30 分)]純化，獲得標題化合物(6.4mg)。

MS(ESI)m/z：1412(M+H)$^+$.

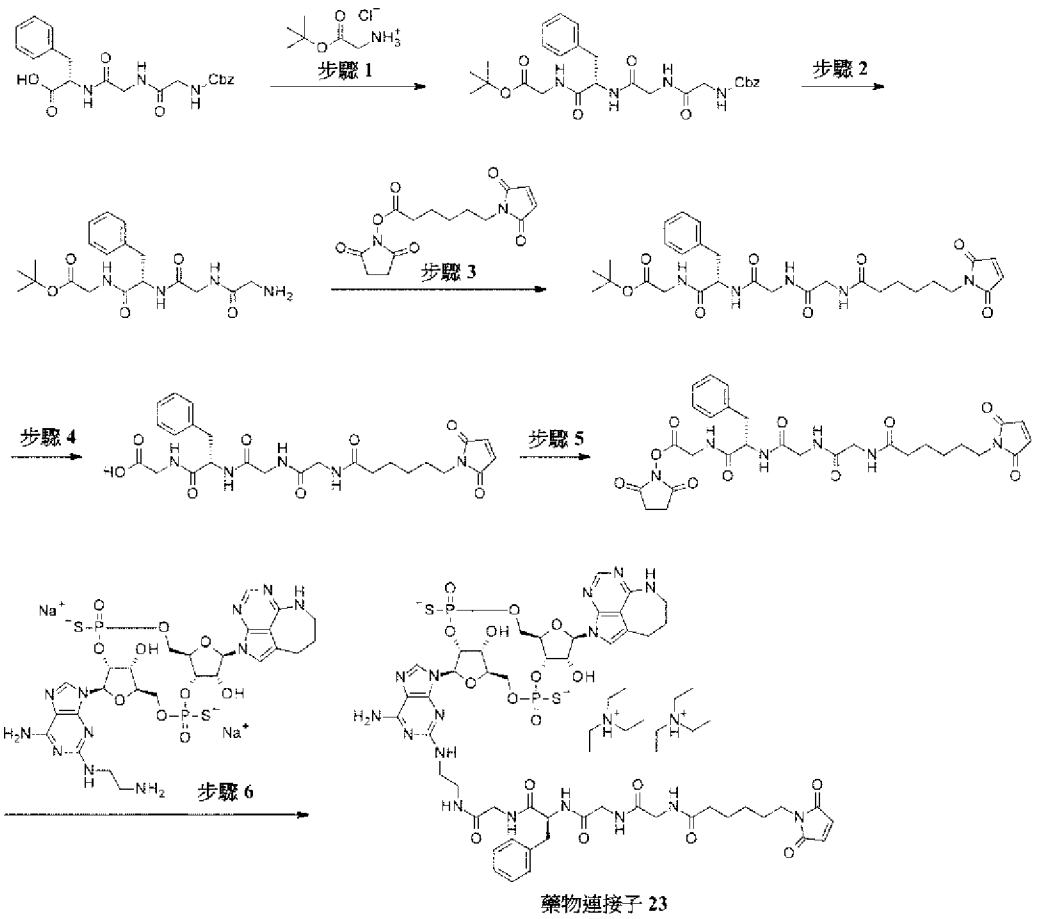
^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.37(1H，d，J=1.2Hz)，8.10-7.98(1H，m)，7.75(1H，s)，7.62-7.13(13H，m)，6.59(1H，d，J=16.3Hz)，6.01(1H，brs)，5.82-5.62(1H，m)，5.54-5.33(2H，m)，5.04(1H，d，J=14.5Hz)，4.57-3.48(14H，m)，3.35-2.65(12H，m)，3.17(12H，q，J=7.3Hz)，2.35-2.11(4H，m)，2.00-1.92(1H，m)，1.28(18H，t，J=7.3Hz).

【1151】

實施例 83：藥物連接子 23 之合成

[合成流程圖]

【1152】



藥物連接子 23

【1153】

(步驟 1)

三級丁基 N-[(苄基氧基)羰基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯基甘胺酸酯

於市售(BACHEM)之 N-[(苄基氧基)羰基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯丙胺酸(5.00g)及甘胺酸 三級丁基酯鹽酸鹽(2.03g)之 N,N-二甲基甲醯胺(50mL)溶液中，冰冷下，添加 N,N-二異丙基乙基胺(4.11mL)及 1-乙基-3-(3-二甲基胺基丙基)-碳二亞胺鹽酸鹽(3.01g)，並一邊升溫至室溫為止一邊攪拌整夜。將反應液注入至氯仿及飽和碳酸氫鈉水溶液之二層，以氯仿萃取。有機層以水及飽和食鹽水洗淨後，以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，將濾液減壓濃縮後，以甲苯共沸 2 次。將殘留物以矽膠管柱層析[二氯甲烷/甲醇]純化，獲得標題化合物(4.51g)。

MS(ESI)m/z：527$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：8.40(1H，t，J=5.7Hz)，8.15(1H，d，J=9.1Hz)，8.00(1H，t，J=5.7Hz)，7.51(1H，t，J=6.0Hz)，7.38-7.16(10H，m)，5.03(2H，s)，4.52(1H，m)，3.80-3.54(6H，m)，3.05(1H，dd，J=13.9，3.6Hz)，2.76(1H，dd，J=14.2,10.6Hz)，1.41(9H，s).

【1154】

(步驟 2)

三級丁基　甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯基甘胺酸酯

於上述步驟 1 獲得的化合物(4.51g)之甲醇(20mL)-二氯甲烷(80mL)混合液中，添加 10%鈀碳(M)濕重(750mg)，氫環境下，於室溫攪拌整夜。追加 10%鈀碳(M)濕重(1.5g)，氫環境下，於室溫攪拌整夜。將反應液以矽藻土過濾，並減壓濃縮濾液。將殘留物以胺基矽膠管柱層析[二氯甲烷/甲醇]純化，獲得標題化合物(3.18g)。

MS(ESI)m/z：393$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：8.42(1H，t，J=6.1Hz)，8.20(1H，d，J=8.8Hz)，8.00(1H，brs)，7.28-7.16(5H，m)，4.53(1H，m)，3.78-3.73(3H，m)，3.61(1H，brd，J=16.1Hz)，3.06(3H，dd，J=15.4,5.6Hz)，2.76(1H，dd，J=14.2,10.3Hz)，1.88(2H，br)，1.41(9H，s).

【1155】

(步驟 3)

三級丁基 N-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯基甘胺酸酯

將上述步驟 2 獲得的化合物(2.65g)及市售(東京化成工業)之 6-順丁烯二醯亞胺己烷酸 N-琥珀醯亞胺基酯(2.20g)溶解於 N,N-二甲基甲醯胺(20mL)，於室溫攪拌 7 小時。減壓濃縮反應液後，將殘留物注入至二氯甲烷及水之二層，以二氯甲烷萃取。將有機層以水洗淨 3 次，以飽和食鹽水洗淨 1 次後，以無水硫酸鈉乾燥。濾除乾燥劑，減壓濃縮濾液。將殘留物以矽膠管柱層析[二氯甲烷/甲醇]純化，獲得標題化合物(3.52g)。

MS(ESI)m/z：586$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR($CDCl_3$)δ：7.28-7.17(5H，m)，7.09(1H，t，J=5.1Hz)，6.96(1H，t，J=5.1Hz)，6.91(1H，d，J=8.3Hz)，6.68(2H，s)，6.52(1H，t，J=4.9Hz)，4.86(1H，q，J=7.3Hz)，4.02-3.88(5H，m)，3.82(1H，dd，J=18.1,4.9Hz)，3.51(2H，t，J=7.1Hz)，3.15(1H，dd，J=14.2,6.3Hz)，3.04(1H，dd，J=13.7，7.3Hz)，2.25(2H，t，J=7.6Hz)，1.70-1.57(4H，m)，1.45(9H，s)，1.32(2H，s).

【1156】

(步驟 4)

N-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯基甘胺酸

於上述步驟 3 獲得的化合物(1.00g)之二氯甲烷(9.0mL)溶液中，於 0℃添加三氟乙酸(4.5mL)，並於室溫攪拌 2.5 小時。減壓濃縮反應液後，以甲苯共沸 2 次。將殘留物以矽膠管柱層析[二氯甲烷/甲醇]純化，獲得標題化合物(534mg)。

MS(ESI)m/z：530$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：12.59(1H，br)，8.34(1H，t，J=5.9Hz)，8.10(1H，d，J=8.8Hz)，8.07(1H，t，J=5.9Hz)，7.99(1H，t，J=5.6Hz)，7.27-7.16(5H，m)，7.00(2H，s)，4.52(1H，m)，3.76(2H，d，J=5.9Hz)，3.74(1H，m)，3.66(2H，d，J=5.4Hz)，3.57(1H，dd，J=16.8，5.6Hz)，3.36(2H，t，J=7.1Hz)，3.04(1H，dd，J=13.9，4.1Hz)，2.77(1H，dd，J=13.9，10.0Hz)，2.10(2H，t，J=7.3Hz)，1.51-1.43(4H，m)，1.19(2H，m).

【1157】

(步驟 5)

2,5-二側氧基吡咯啶-1-基　N-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯基甘胺酸酯

使用上述步驟 4 獲得的化合物(462mg)，以與實施例 21 步驟 3 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(258mg)。

MS(ESI)m/z：627$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ：8.70(0.85H，t，J=6.1Hz)，8.44(0.15H，t，J=5.9Hz)，8.17(0.85H，d，J=8.8Hz)，8.11(0.15H，d，J=8.8Hz)，8.06(1H，t，J=5.6Hz)，7.99-7.95(1H，m)，7.27-7.16(5H，m)，6.99(2H，s)，4.53(1H，m)，4.28(1.7H，d，J=5.9Hz)，3.85(0.3H，d，J=5.9Hz)，3.74(1H，dd，J=17.1，5.9Hz)，3.66(2H，d，J=5.9Hz)，3.58(1H，dd，J=16.8，5.6Hz)，3.36(2H，t，J=7.1Hz)，3.04(1H，dd，J=13.9，4.1Hz)，2.81(4H，brs)，2.77(1H，dd，J=10.0，3.7Hz)，2.10(2H，t，J=7.3Hz)，1.51-1.44(4H，m)，1.20(2H，d，J=7.3Hz).

【1158】

(步驟 6)

雙(N,N-二乙基乙銨) N-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯基-N-[2-({6-胺 基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-二羥基-2,10-二側氧基-2,10-二硫醚-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-9H-嘌呤-2-基}胺基)乙基]甘胺醯胺

(藥物連接子 23)

使用實施例 8 步驟 8-2 獲得的化合物(9.5mg)及於上述步驟 5 獲得的化合物(7.5mg),以與實施例 23 步驟 1 同樣之手法進行反應後,以製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈,乙腈:10%-30%(0 分-30 分)]純化,獲得標題化合物(7.8mg)。

MS(ESI)m/z:1299(M+H)$^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ:8.35(1H,s),8.02(1H,s),7.29-7.15(6H,m),6.76(2H,s),6.32(1H,d,J=6.7Hz),6.11(1H,d,8.5Hz),5.48-5.36(2H,m),4.82-4.79(1H,m),4.50-4.25(6H,m),4.06-3.81(7H,m),3.61-3.37(9H,m),3.17-2.89(4H,m),3.14(12H,q,J=7.3Hz),2.21-1.96(4H,m),1.58-1.48(4H,m),1.30-1.21(2H,m),1.27(18H,t,J=7.3Hz).

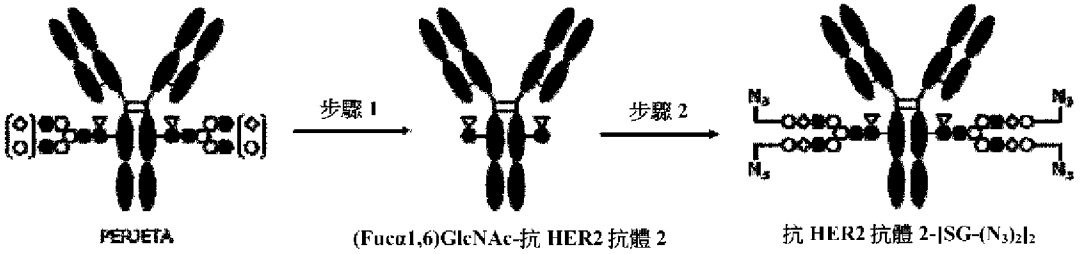
【1159】

實施例 84:糖鏈重塑抗體 3 之合成

抗 HER2 抗體 2-[SG-(N_3)$_2$]$_2$ 之調製

[合成流程圖]

【1160】



【1161】

(步驟 1)

(Fucα1,6)GlcNAc-抗 HER2 抗體 2 之調製

按照共通操作 C，將市售之 PERJETA(註冊商標)點滴靜脈輸注液 420mg/14mL(中外製藥)(3.5mL)作緩衝液交換，獲得磷酸緩衝生理食鹽水溶液(6.0mL，15.39mg/mL，pH6.0)。進行與實施例 25 步驟 1 同樣之操作，獲得標題抗體之 20mM 磷酸緩衝溶液(12.96mg/mL，7.5mL，pH6.0)。

【1162】

(步驟 2)

抗 HER2 抗體 2-[SG-$(N_3)_2$]$_2$ 之調製

使用上述步驟 1 所獲得的抗體之 20mM 磷酸緩衝溶液(12.96mg/mL，7.5mL，pH6.0)及[N_3-PEG(3)]$_2$-SG(10)Ox(22.5mg)，進行與實施例 25 步驟 2 同樣之操作，獲得標題抗體之磷酸緩衝生理食鹽水溶液(10.21mg/mL，9.0mL，pH6.0)。

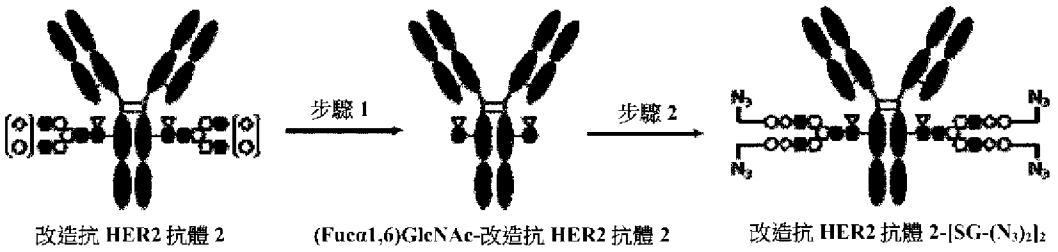
【1163】

實施例 85：糖鏈重塑抗體 4 之合成

改造抗 HER2 抗體 2-[SG-$(N_3)_2$]$_2$ 之調製

[合成流程圖]

【1164】



【1165】

(步驟 1)

(Fucα1,6)GlcNAc-改造抗 HER2 抗體 2 之調製

使用按照參考例 5 而調製的改造抗 HER2 抗體 2 之磷酸緩衝生理食鹽水溶液(24mL，12.25mg/mL，pH6.0)，進行與實施例 25 步驟 1 同樣之操作，獲得標題抗體之 20mM 磷酸緩衝溶液(20.86mg/mL，12.5mL，pH6.0)。

【1166】

(步驟 2)

改造抗 HER2 抗體 2-$[SG-(N_3)_2]_2$ 之調製

使用上述步驟 1 所獲得的抗體之 20mM 磷酸緩衝溶液(20.86mg/mL，12.5mL，pH6.0)及$[N_3-PEG(3)]_2$-SG(10)Ox(52mg)，進行與實施例 25 步驟 2 同樣之操作，獲得標題抗體之磷酸緩衝生理食鹽水溶液(10.87mg/mL，22mL，pH6.0)。

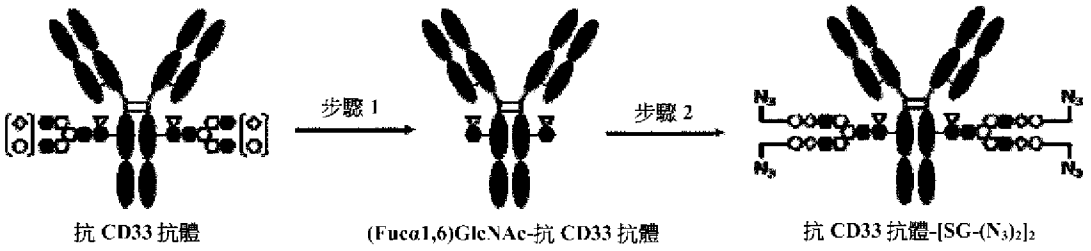
【1167】

實施例 86：糖鏈重塑抗體 5 之合成

抗 CD33 抗體-$[SG-(N_3)_2]_2$ 之調製

[合成流程圖]

【1168】



【1169】

(步驟 1)

(Fucα1,6)GlcNAc-抗 CD33 抗體之調製

使用按照參考例 6 調製的抗 CD33 抗體之磷酸緩衝生理食鹽水溶液(9.0mL，11.56mg/mL，pH6.0)，進行與實施例 25 步驟 1 同樣之操作，獲得標題抗體之 20mM 磷酸緩衝溶液(11.62mg/mL，8mL，pH6.0)。

【1170】

(步驟 2)

抗 CD33 抗體-[SG-$(N_3)_2$]$_2$ 之調製

使用上述步驟 1 所獲得的抗體之 20mM 磷酸緩衝溶液(11.62mg/mL，8mL，pH6.0)及[N_3-PEG(3)]$_2$-SG(10)Ox(21.5mg)，進行與實施例 25 步驟 2 同樣之操作，獲得標題抗體之磷酸緩衝生理食鹽水溶液(10.01mg/mL，8mL，pH6.0)。

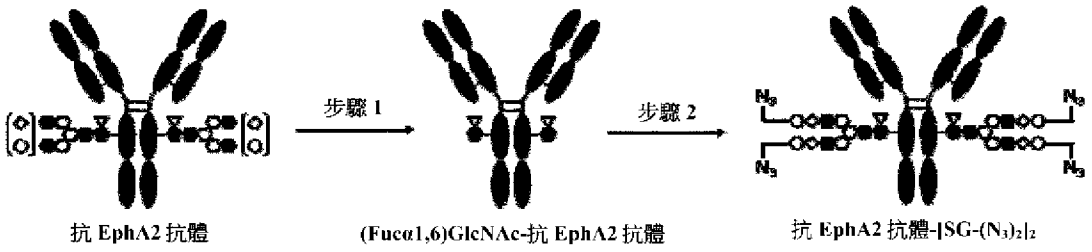
【1171】

實施例 87：糖鏈重塑抗體 6 之合成

抗 EphA2 抗體-[SG-$(N_3)_2$]$_2$ 之調製

[合成流程圖]

【1172】



【1173】

(步驟 1)

(Fucα1,6)GlcNAc-抗 EphA2 抗體之調製

使用按照參考例 7 調製的抗 EphA2 抗體之磷酸緩衝生理食鹽水溶液(8.0mL，12.83mg/mL，pH6.0)，進行與實施例 25 步驟 1 同樣之操作，獲得標題抗體之 20mM 磷酸緩衝溶液(13.51mg/mL，7mL，pH6.0)。

【1174】

(步驟 2)

抗 EphA2 抗體-[SG-$(N_3)_2$]$_2$之調製

使用上述步驟 1 所獲得的抗體之 20mM 磷酸緩衝溶液(13.51mg/mL，7mL，pH6.0)及[N_3-PEG(3)]$_2$-SG(10)Ox(21.7mg)，進行與實施例 25 步驟 2 同樣之操作，獲得標題抗體之磷酸緩衝生理食鹽水溶液(8.91mg/mL，7.5mL，pH6.0)。

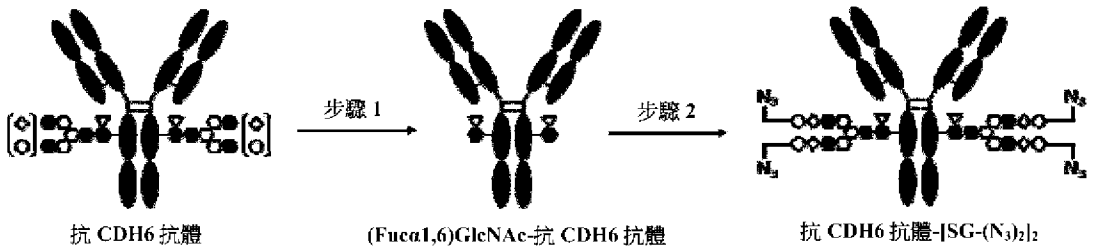
【1175】

實施例 88：糖鏈重塑抗體 7 之合成

抗 CDH6 抗體-[SG-$(N_3)_2$]$_2$之調製

[合成流程圖]

【1176】



【1177】

(步驟 1)

(Fucα1,6)GlcNAc-抗 CDH6 抗體之調製

按照共通操作 C，將按照參考例 8 調製的抗 CDH6 抗體之 HBSor(25mM 組胺酸/5%山梨糖醇，pH=6.0)緩衝液(5.0mL，20.0mg/mL)，與磷酸緩衝生理食鹽水溶液(pH=6.0)作緩衝液交換後，進行與實施例 25 步驟 1 同樣之操作，獲得標題抗體之 20mM 磷酸緩衝溶液(9.58mg/mL，9.0mL，pH6.0)。

【1178】

(步驟 2)

抗 CDH6 抗體-[SG-$(N_3)_2$]$_2$ 之調製

使用上述步驟 1 所獲得的抗體之 20mM 磷酸緩衝溶液(9.58mg/mL，9.0mL，pH6.0)及[N_3-PEG(3)]$_2$-SG(10)Ox(24.5mg)，進行與實施例 25 步驟 2 同樣之操作，獲得標題抗體之磷酸緩衝生理食鹽水溶液(10.69mg/mL，7.5mL，pH6.0)。

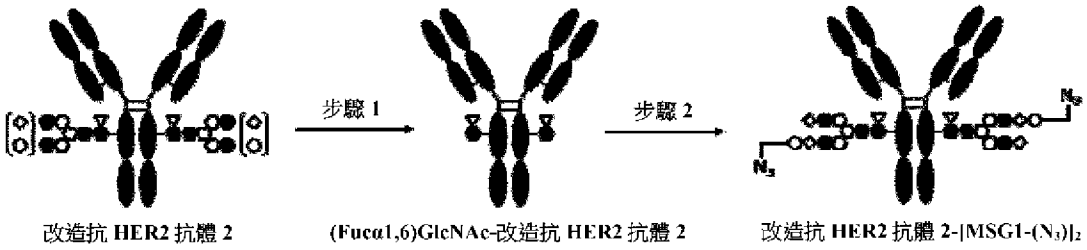
【1179】

實施例 89：糖鏈重塑抗體 8 之合成

改造抗 HER2 抗體 2-[MSG1-(N_3)]$_2$ 之調製

[合成流程圖]

【1180】



【1181】

(步驟 1)

(Fucα1,6)GlcNAc-改造抗 HER2 抗體 2 之調製

進行與實施例 85 步驟 1 同樣的反應，自原料抗體之緩衝溶液(10mL，12.25mg/mL，pH6.0)，獲得標題抗體之 20mM 磷酸緩衝溶液(14.84mg/mL，7.5mL，pH6.0)。

【1182】

(步驟 2)

改造抗 HER2 抗體 2-[MSG1-(N_3)]$_2$ 之調製

使用上述步驟 1 所獲得的抗體之 20mM 磷酸緩衝溶液(14.84mg/mL，7.5mL，pH6.0)及[N_3-PEG(3)]-MSG1(9)-Ox(WO2018/003983 之化合物 1-11)(19mg)，進行與實施例 25 步驟 2 同樣之操作，獲得標題抗體之磷酸緩衝生理食鹽水溶液(10.48mg/mL，9.25mL，pH6.0)。

【1183】

實施例 90：抗體藥物結合物 5 之合成(抗 HER2 抗體-CDN 結合物 4 之合成)

將糖鏈重塑抗體 1 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(10.97mg/mL，0.500mL)以丙二醇(0.250mL)稀釋。於此溶液中添加藥物連接子 1 之二甲亞碸溶液(10mM，0.091mL，相對於 1 分子抗體為 24 當量)與丙二醇(0.159mL)之混合液，並使用

試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而於室溫使反應 3 日。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(3.5mL)。

按照共通操作 E 及 G 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：0.49mg/mL

抗體產量：1.71mg(31%)

藥物平均結合數：3.6

【1184】

實施例 91：抗體藥物結合物 6 之合成(抗 HER2 抗體-CDN 結合物 5 之合成)

將糖鏈重塑抗體 1 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(10.97mg/mL，0.500mL)以丙二醇(0.250mL)稀釋。於此溶液中添加藥物連接子 2a 之二甲亞碸溶液(10mM，0.091mL，相對於 1 分子抗體為 24 當量)與丙二醇(0.159mL)之混合液，並使用試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而使於室溫反應 2 日。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(3.5mL)。

按照共通操作 E 及 G 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：0.91mg/mL

抗體產量：3.17mg(58%)

藥物平均結合數：3.6

【1185】

實施例 92：抗體藥物結合物 7 之合成(抗 HER2 抗體-CDN 結合物 6 之合成)

將糖鏈重塑抗體 1 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(10.70mg/mL，4.00mL)以丙二醇(2.00mL)稀釋。於此溶液中添加藥物連接子 2b 之二甲亞碸溶液(10mM，0.707mL，相對於 1 分子抗體為 24 當量)與丙二醇(1.293mL)之混合液，並使用試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而於室溫使反應 3 日。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(24.5mL)。

按照共通操作 E 及 G 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：0.96mg/mL

抗體產量：23.57mg(59%)

藥物平均結合數：3.7

【1186】

實施例 93：抗體藥物結合物 8 之合成(抗 HER2 抗體-CDN 結合物 7 之合成)

將糖鏈重塑抗體 1 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(10.70mg/mL，4.00mL)以丙二醇(2.00mL)稀釋。於此溶液中添加藥物連接子 5 之二甲亞碸溶液(10mM，0.707mL，相對於 1 分子抗體為 24 當量)與丙二醇(1.293mL)之混合液，並使用試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而使於室溫反應 2 日。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(24.5mL)。

按照共通操作 E 及 G 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：1.10mg/mL

抗體產量：26.86mg(67%)

藥物平均結合數：3.7

【1187】

實施例 94：抗體藥物結合物 9 之合成(抗 HER2 抗體-CDN 結合物 8 之合成)

將糖鏈重塑抗體 1 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(10.70mg/mL，4.00mL)以丙二醇(2.00mL)稀釋。於此溶液中添加藥物連接子 6 之二甲亞碸溶液(10mM，0.707mL，相對於 1 分子抗體為 24 當量)與丙二醇(1.293mL)之混合液，並使用試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而使於室溫反應 2 日。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(24.5mL)。

按照共通操作 E 及 G 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：1.34mg/mL

抗體產量：32.92mg(82%)

藥物平均結合數：3.7

【1188】

實施例 95：抗體藥物結合物 10 之合成(抗 LPS 抗體-CDN 結合物 2 之合成)

將糖鏈重塑抗體 2 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(10.55mg/mL，0.500mL)以丙二醇(0.250mL)稀釋。於此溶液

中添加藥物連接子 2a 之二甲亞碸溶液(10mM，0.087mL，相對於 1 分子抗體為 24 當量)與丙二醇(0.163mL)之混合液，並使用試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而使於室溫反應 2 日。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(3.5mL)。

按照共通操作 E 及 G 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：0.88mg/mL

抗體產量：3.08mg(62%)

藥物平均結合數：3.6

【1189】

實施例 96：抗體藥物結合物 11 之合成(抗 EphA2 抗體-CDN 結合物 1 之合成)

將糖鏈重塑抗體 6 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(8.91mg/mL，0.500mL)以丙二醇(0.250mL)稀釋。於此溶液中添加藥物連接子 2b 之二甲亞碸溶液(10mM，0.073mL，相對於 1 分子抗體為 24 當量)與丙二醇(0.177mL)之混合液，並使用試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而使於室溫反應 2 日。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(3.5mL)。

按照共通操作 E 及 F 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：0.60mg/mL

抗體產量：2.10mg(47%)

藥物平均結合數：3.8

【1190】

實施例 97：抗體藥物結合物 12 之合成(抗 CD33 抗體-CDN 結合物 1 之合成)

將糖鏈重塑抗體 5 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(10.01mg/mL，0.500mL)以丙二醇(0.250mL)稀釋。於此溶液中添加藥物連接子 2b 之二甲亞碸溶液(10mM，0.083mL，相對於 1 分子抗體為 24 當量)與丙二醇(0.167mL)之混合液，並使用試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而使於室溫反應 2 日。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(3.5mL)。

按照共通操作 E 及 G 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：0.73mg/mL

抗體產量：2.57mg(51%)

藥物平均結合數：3.9

【1191】

實施例 98：抗體藥物結合物 13 之合成(抗 CDH6 抗體-CDN 結合物 1 之合成)

將糖鏈重塑抗體 7 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(10.69mg/mL，0.500mL)以丙二醇(0.250mL)稀釋。於此溶液中添加藥物連接子 2b 之二甲亞碸溶液(10mM，0.088mL，相對於 1 分子抗體為 24 當量)與丙二醇(0.162mL)之混合液，並使用試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而使於室溫反應 3 日。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(3.5mL)。

按照共通操作 E 及 G 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：0.96mg/mL

抗體產量：3.37mg(63%)

藥物平均結合數：3.8

【1192】

實施例 99:抗體藥物結合物 14 之合成(抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物 1 之合成)

將糖鏈重塑抗體 3 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(10.21mg/mL，1.50mL)以丙二醇(0.750mL)稀釋。於此溶液中添加藥物連接子 3 之二甲亞碸溶液(10mM，0.253mL，相對於 1 分子抗體為 24 當量)與丙二醇(0.497mL)之混合液，並使用試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而使於室溫反應 2 日。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(9.5mL)。

按照共通操作 E 及 G 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：1.02mg/mL

抗體產量：9.73mg(64%)

藥物平均結合數：3.7

【1193】

實施例 100：抗體藥物結合物 15 之合成(抗 HER2 抗體-CDN 結合物 9 之合成)

將糖鏈重塑抗體 1 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(10.70mg/mL，0.500mL)以丙二醇(0.250mL)稀釋。於此溶液

中添加藥物連接子 8 之二甲亞碸溶液(10mM，0.088mL，相對於抗體 1 分子為 24 當量)與丙二醇(0.162mL)之混合液，並使用試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而使於室溫反應 2 日。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(3.5mL)。

按照共通操作 E 及 G 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：0.93mg/mL

抗體產量：3.24mg(61%)

藥物平均結合數：3.6

【1194】

實施例 101：抗體藥物結合物 16 之合成(抗 HER2 抗體-CDN 結合物 10 之合成)

將糖鏈重塑抗體 1 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(10.35mg/mL，13.50mL)以丙二醇(6.750mL)稀釋。於此溶液中添加藥物連接子 9 之二甲亞碸溶液(10mM，2.310mL，相對於 1 分子抗體為 24 當量)與丙二醇(4.440mL)之混合液，並使用試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而使於室溫反應 2 日。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(74.3mL)。

按照共通操作 E 及 G 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：1.36mg/mL

抗體產量：100.8mg(72%)

藥物平均結合數：3.7

【1195】

實施例 102：抗體藥物結合物 17 之合成(抗 HER2 抗體-CDN 結合物 11 之合成)

將糖鏈重塑抗體 1 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(10.70mg/mL，0.500mL)以丙二醇(0.250mL)稀釋。於此溶液中添加藥物連接子 10 之二甲亞碸溶液(10mM，0.088mL，相對於 1 分子抗體為 24 當量)與丙二醇(0.162mL)之混合液，並使用試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而使於室溫反應 3 日。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(3.5mL)。

按照共通操作 E 及 G 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：0.63mg/mL

抗體產量：2.22mg(42%)

藥物平均結合數：3.5

【1196】

實施例 103：抗體藥物結合物 18 之合成(抗 HER2 抗體-CDN 結合物 12 之合成)

將糖鏈重塑抗體 1 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(10.70mg/mL，0.500mL)以丙二醇(0.250mL)稀釋。於此溶液中添加藥物連接子 11 之二甲亞碸溶液(10mM，0.088mL，相對於 1 分子抗體為 24 當量)與丙二醇(0.162mL)之混合液，並使用試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而於室溫反應 3 日。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(3.5mL)。

按照共通操作 E 及 G 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：0.94mg/mL

抗體產量：3.29mg(62%)

藥物平均結合數：3.6

【1197】

實施例 104：抗體藥物結合物 19 之合成(抗 HER2 抗體-CDN 結合物 13 之合成)

將糖鏈重塑抗體 1 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(10.70mg/mL，0.500mL)以丙二醇(0.250mL)稀釋。於此溶液中添加藥物連接子 12 之二甲亞碸溶液(10mM，0.088mL，相對於 1 分子抗體為 24 當量)與丙二醇(0.162mL)之混合液，並使用試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而使於室溫反應 3 日。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(3.5mL)。

按照共通操作 E 及 G 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：0.92mg/mL

抗體產量：3.20mg(60%)

藥物平均結合數：3.5

【1198】

實施例 105：抗體藥物結合物 20 之合成(抗 HER2 抗體-CDN 結合物 14 之合成)

將糖鏈重塑抗體 1 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(10.70mg/mL，0.500mL)以丙二醇(0.250mL)稀釋。於此溶液

中添加藥物連接子 13 之二甲亞碸溶液(10mM，0.088mL，相對於 1 分子抗體為 24 當量)與丙二醇(0.162mL)之混合液，並使用試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而使於室溫反應 3 日。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(3.5mL)。

按照共通操作 E 及 G 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：1.01mg/mL

抗體產量：3.52mg(66%)

藥物平均結合數：3.5

【1199】

實施例 106：抗體藥物結合物 21 之合成(抗 HER2 抗體-CDN 結合物 15 之合成)

將糖鏈重塑抗體 1 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(10.70mg/mL，0.500mL)以丙二醇(0.250mL)稀釋。於此溶液中添加藥物連接子 14 之二甲亞碸溶液(10mM，0.088mL，相對於 1 分子抗體為 24 當量)與丙二醇(0.162mL)之混合液，並使用試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而使於室溫反應 2 日。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(3.5mL)。

按照共通操作 E 及 G 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：0.78mg/mL

抗體產量：2.74mg(51%)

藥物平均結合數：3.6

【1200】

實施例 107：抗體藥物結合物 22 之合成(抗 HER2 抗體-CDN 結合物 16 之合成)

將糖鏈重塑抗體 1 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(10.70mg/mL，0.500mL)以丙二醇(0.250mL)稀釋。於此溶液中添加藥物連接子 15 之二甲亞碸溶液(10mM，0.088mL，相對於 1 分子抗體為 24 當量)與丙二醇(0.162mL)之混合液，並使用試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而使於室溫反應 2 日。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(3.5mL)。

按照共通操作 E 及 G 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：1.32mg/mL

抗體產量：4.61mg(86%)

藥物平均結合數：3.6

【1201】

實施例 108：抗體藥物結合物 23 之合成(抗 HER2 抗體-CDN 結合物 17 之合成)

將糖鏈重塑抗體 1 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(10.70mg/mL，0.500mL)以丙二醇(0.250mL)稀釋。於此溶液中添加藥物連接子 16 之二甲亞碸溶液(10mM，0.088mL，相對於 1 分子抗體為 24 當量)與丙二醇(0.162mL)之混合液，並使用試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而使於室溫反應 2 日。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(3.5mL)。

按照共通操作 E 及 G 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：0.93mg/mL

抗體產量：3.25mg(61%)

藥物平均結合數：3.6

【1202】

實施例 109：抗體藥物結合物 24 之合成(抗 HER2 抗體-CDN 結合物 18 之合成)

將糖鏈重塑抗體 1 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(10.70mg/mL，4.00mL)以丙二醇(2.00mL)稀釋。於此溶液中添加藥物連接子 7 之二甲亞碸溶液(10mM，0.707mL，相對於 1 分子抗體為 24 當量)與丙二醇(1.293mL)之混合液，並使用試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而使於室溫反應 3 日。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(24.5mL)。

按照共通操作 E 及 G 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：1.33mg/mL

抗體產量：32.64mg(82%)

藥物平均結合數：3.7

【1203】

實施例 110：抗體藥物結合物 25 之合成(抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物 2 之合成)

將糖鏈重塑抗體 4 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(10.87mg/mL，8.00mL)以丙二醇(4.00mL)稀釋。於此溶液中

添加藥物連接子 17a 之二甲亞碸溶液(10mM，1.079mL，相對於 1 分子抗體為 18 當量)及丙二醇(2.921mL)之混合液，並使用試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而使於室溫反應 3 日。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(44.5mL)。

按照共通操作 E 及 G 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：1.16mg/mL

抗體產量：51.5mg(59%)

藥物平均結合數：3.8

【1204】

實施例 111：抗體藥物結合物 26 之合成(抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物 3 之合成)

將糖鏈重塑抗體 4 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(10.87mg/mL，8.00mL)以丙二醇(4.00mL)稀釋。於此溶液中添加藥物連接子 17b 之二甲亞碸溶液(10mM，1.079mL，相對於 1 分子抗體為 18 當量)及丙二醇(2.921mL)之混合液，並使用試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而使於室溫反應 3 日。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(44.5mL)。

按照共通操作 E 及 G 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：1.24mg/mL

抗體產量：54.99mg(63%)

藥物平均結合數：3.9

【1205】

實施例 112：抗體藥物結合物 27 之合成(抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物 4 之合成)

將糖鏈重塑抗體 4 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(10.89mg/mL，1.00mL)以丙二醇(0.500mL)稀釋。於此溶液中添加藥物連接子 19 之二甲亞碸溶液(10mM，0.180mL，相對於 1 分子抗體為 24 當量)與丙二醇(0.320mL)之混合液，並使用試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而使於室溫反應 3 日。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(7.0mL)。

按照共通操作 E 及 G 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：0.79mg/mL

抗體產量：5.53mg(51%)

藥物平均結合數：3.9

【1206】

實施例 113：抗體藥物結合物 28 之合成(抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物 5 之合成)

將糖鏈重塑抗體 4 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(10.89mg/mL，1.00mL)以丙二醇(0.500mL)稀釋。於此溶液中添加藥物連接子 21 之二甲亞碸溶液(10mM，0.180mL，相對於 1 分子抗體為 24 當量)與丙二醇(0.320mL)之混合液，並使用試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而使於室溫反應 3 日。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(7.0mL)。

按照共通操作 E 及 G 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：0.84mg/mL

抗體產量：5.91mg(54%)

藥物平均結合數：3.9

【1207】

實施例 114：抗體藥物結合物 29 之合成(抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物 6 之合成)

將糖鏈重塑抗體 4 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(10.89mg/mL，1.00mL)以丙二醇(0.500mL)稀釋。於此溶液中添加藥物連接子 22 之二甲亞碸溶液(10mM，0.180mL，相對於 1 分子抗體為 24 當量)與丙二醇(0.320mL)之混合液，並使用試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而使於室溫反應 2 日。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(5.0mL)。

按照共通操作 E 及 G 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：0.92mg/mL

抗體產量：4.60mg(42%)

藥物平均結合數：3.5

【1208】

實施例 115：抗體藥物結合物 30 之合成(抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物 7 之合成)

將糖鏈重塑抗體 4 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(10.89mg/mL，1.00mL)以丙二醇(0.500mL)稀釋。於此溶液中

添加藥物連接子 18 之二甲亞碸溶液(10mM，0.180mL，相對於 1 分子抗體為 24 當量)與丙二醇(0.320mL)之混合液，並使用試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而使於室溫反應 2 日。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(7.0mL)。

按照共通操作 E 及 G 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：1.08mg/mL

抗體產量：7.53mg(69%)

藥物平均結合數：3.9

【1209】

實施例 116：抗體藥物結合物 31 之合成(抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物 8 之合成)

將糖鏈重塑抗體 4 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(10.89mg/mL，1.00mL)以丙二醇(0.500mL)稀釋。於此溶液中添加藥物連接子 20 之二甲亞碸溶液(10mM，0.180mL，相對於 1 分子抗體為 24 當量)與丙二醇(0.320mL)之混合液，並使用試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而使於室溫反應 2 日。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(7.0mL)。

按照共通操作 E 及 G 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：1.09mg/mL

抗體產量：7.62mg(70%)

藥物平均結合數：3.8

【1210】

實施例 117：抗體藥物結合物 32 之合成(抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物 9 之合成)

將糖鏈重塑抗體 8 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(10.48mg/mL，1.00mL)以丙二醇(0.500mL)稀釋。於此溶液中添加藥物連接子 17a 之二甲亞碸溶液(10mM，0.087mL，相對於 1 分子抗體為 12 當量)及丙二醇(0.413mL)之混合液，並使用試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而使於室溫反應 2 日。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(7.0mL)。

按照共通操作 E 及 G 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：0.77mg/mL

抗體產量：5.36mg(51%)

藥物平均結合數：1.8

【1211】

實施例 118：抗體藥物結合物 33 之合成(抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物 10 之合成)

將糖鏈重塑抗體 8 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(10.48mg/mL，1.00mL)以丙二醇(0.500mL)稀釋。於此溶液中添加藥物連接子 17b 之二甲亞碸溶液(10mM，0.087mL，相對於 1 分子抗體為 12 當量)及丙二醇(0.413mL)之混合液，並使用試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而使於室溫反應 2 日。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(7.0mL)。

按照共通操作 E 及 G 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：0.91mg/mL

抗體產量：6.34mg(61%)

藥物平均結合數：1.8

【1212】

實施例 119：抗體藥物結合物 34 之合成(抗 HER2 抗體-CDN 結合物 19 之合成)

將按照參考例 1 調製的抗 HER2 抗體之磷酸緩衝溶液，按照共通操作 C 作緩衝液交換，而調製磷酸緩衝生理食鹽水/5mM-EDTA 之抗體溶液(7.69mg/mL)。於此抗體溶液(0.65mL)中添加參(2-羧基乙基)膦鹽酸鹽之水溶液(10mM，20.7μL)及磷酸氫二鉀水溶液(1M，9.8μL)。確認反應液之 pH 為 7.4±1.0 以內後，於 37℃攪拌 2 小時。添加藥物連接子 23 之 DMSO 溶液(10mM，0.0689mL)，並使用試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而使於室溫反應 1 小時。於反應液中添加 N-乙醯基-L-半胱胺酸水溶液(100mM，6.9μL)而停止反應。將反應液按照共通操作 C 記載之方法作緩衝液交換，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(1.6mL)。

按照共通操作 E 及 G 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：1.46mg/mL

抗體產量：2.34mg(47%)

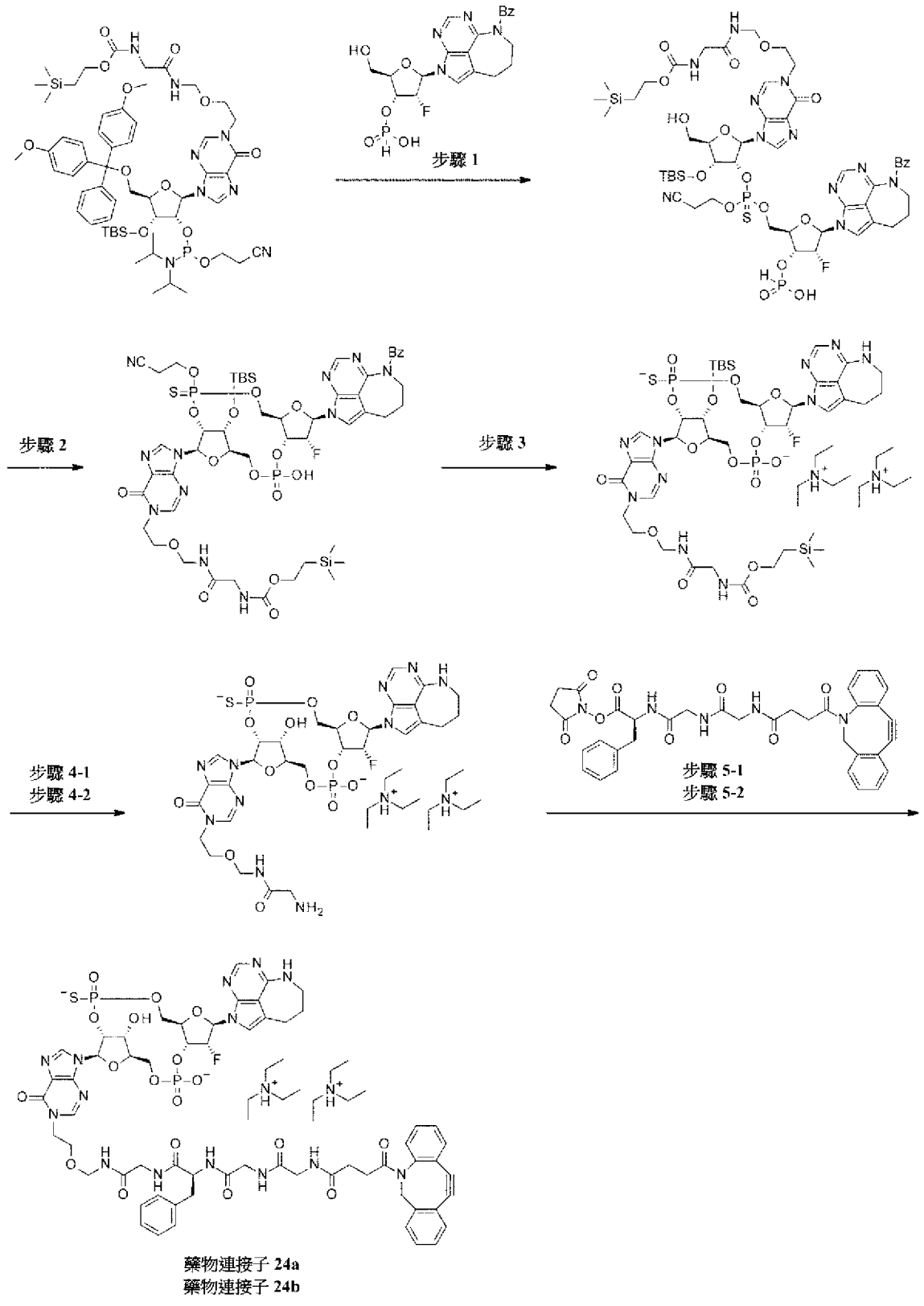
藥物平均結合數：6.5

【1213】

實施例 120：藥物連接子 24 之合成

[合成流程圖]

【1214】



【1215】

(步驟 1)

使用於實施例 44 步驟 8 獲得的化合物(1.55g)，以與實施例 1 步驟 7 同樣之手法進行反應，獲得 6-苄醯基-2-{2-去氧-2-氟-3-O-[羥基(側氧基)-λ^5-磷烷基]-β-D-核呋喃糖基}-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁之乙腈溶液。使用獲得的乙腈溶液及於實施例 77 步驟 6 獲得的化合物(1.96g)，以與實施例 1 步驟 8 同樣之手法進行反應，將獲得的粗生成物直接用於之後的反應。

【1216】

(步驟 2)

2-(三甲基矽基)乙基(2-{[(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-16-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-10-(2-氰基乙氧基)-15-氟-2-羥基-2-側氧基-10-亞硫基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基}乙氧基)甲基]胺基}-2-側氧基乙基)胺甲酸酯

使用上述步驟 1 所獲得的粗生成物，以與實施例 62 步驟 2 同樣之手法進行反應，獲得呈磷原子上之非鏡像異構物混合物之標題化合物(1.07g：含有雜質)。

MS(ESI)m/z：1262(M＋H)$^+$.

【1217】

(步驟 3)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,16R)-16-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-15-氟-2,10-二側氧基-7-[6-側氧基-1-(2-{[(N-{[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}甘胺醯基)胺基]甲氧基}乙基)-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-10-硫醚-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2-醇鹽

使用上述步驟2所獲得的(1.07g)，以與實施例1步驟10同樣之手法進行反應後，以C18矽膠管柱層析[10mM乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性HPLC[10mM乙酸三乙基銨水溶液/乙腈-甲醇(1：1)，乙腈-甲醇(1：1)：25%-90%(0分-40分)]純化，獲得標題化合物之非鏡像異構物1(67.8mg：含有雜質)及非鏡像異構物2(56.6mg：含有雜質)。

非鏡像異構物1(低極性)

MS(ESI)m/z：1105(M＋H)$^+$.

非鏡像異構物2(高極性)

MS(ESI)m/z：1105(M＋H)$^+$.

【1218】

(步驟4-1)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,16R)-15-氟-7-(1-{2-[(甘胺醯基胺基)甲氧基]乙基}-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基)-16-羥基-2,10-二側氧基-10-硫醚-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2-醇鹽

使用於上述步驟 3 獲得的化合物(非鏡像異構物 1)(67.8mg)，以與實施例 11 步驟 9-1 同樣之手法進行反應後，以 C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈-甲醇(1：1)，乙腈-甲醇(1：1)：10%-60%(0 分-30 分)]純化，獲得標題化合物(33.7mg：含有雜質)。

MS(ESI)m/z：847$(M+H)^+$.

【1219】

(步驟 4-2)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,16R)-15-氟-7-(1-{2-[(甘胺醯基胺基)甲氧基]乙基}-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基)-16-羥基-2,10-二側氧基-10-硫醚-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2-醇鹽

使用於上述步驟 3 獲得的化合物(非鏡像異構物 2)(56.6mg)，以與實施例 11 步驟 9-1 同樣之手法進行反應後，以 C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈-甲醇(1：1)，乙腈-甲醇(1：1)：10%-60%(0 分-30 分)]純化，獲得標題化合物(32.6mg：含有雜質)。

MS(ESI)m/z：847$(M+H)^+$.

【1220】

(步驟 5-1)

雙(N,N-二乙基乙銨) N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯 基-N-[(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-氟-16-羥基-2-氧基-2,10-二側氧基-10-硫醚-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基}乙氧基)甲基]甘胺醯胺

(非鏡像異構物 1)

使用於上述步驟 4-1 獲得的化合物(33.7mg)及於實施例 22 步驟 11 獲得的化合物(21.3mg)，以與實施例 22 步驟 9-1 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]進行純化，獲得標題化合物(11.2mg)。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/甲醇，甲醇：40%-90%(0 分-40 分)]。

MS(ESI)m/z：1395$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.57-8.54(1H，m)，8.16-8.10(1H，m)，8.04(1H，s)，7.64-7.49(2H，m)，7.44-7.34(3H，m)，7.33-7.11(9H，m)，6.46(1H，d，J=18.1Hz)，6.26(1H，d，J=8.5Hz)，5.54-5.30(2H，m)，5.18-5.00(2H，m)，4.75-4.71(1H，m)，4.65-4.20(10H，m)，4.13-3.93(2H，m)，3.88-3.60(8H，m)，3.55-3.40(2H，m)，3.26-3.15(1H，m)，3.18(12H，q，J=7.3Hz)，3.02-2.91(1H，m)，2.87-2.61(3H，m)，2.38-2.18(2H，m)，2.06-1.80(3H，m)，1.28(18H，t，J=7.3Hz).

【1221】

(步驟 5-2)

雙(N,N-二乙基乙銨) N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯 基-N-[(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-氟-16-羥基-2-氧基-2,10-二側氧基-10-硫醚-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基}乙氧基)甲基]甘胺醯胺

(非鏡像異構物 2)

使用於上述步驟 4-2 獲得的化合物(32.6mg)及於實施例 22 步驟 11 獲得的化合物(20.6mg)，以與實施例 22 步驟 9-1 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]進行純化，獲得標題化合物(16.7mg)。

[純化條件]C18 矽膠管柱層析[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]、製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/甲醇，甲醇：40%-90%(0 分-40 分)]、及製備性 HPLC[100mM 六氟-2-丙醇，8mM 三乙基胺水溶液/乙腈，乙腈：10%-45%(0 分-40 分)]。

MS(ESI)m/z：1395$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.58(1H，s)，8.17-8.13(1H，m)，8.02(1H，s)，7.64-7.50(2H，m)，7.42-7.35(4H，m)，7.32-7.12(8H，m)，6.49(1H，d，J=16.3Hz)，6.27(1H，dd，J=8.2,6.3Hz)，5.50-5.21(3H，m)，5.08-5.00(1H，m)，4.66-4.23(9H，m)，4.14-3.98(3H，m)，3.91-3.52(9H，m)，3.48-

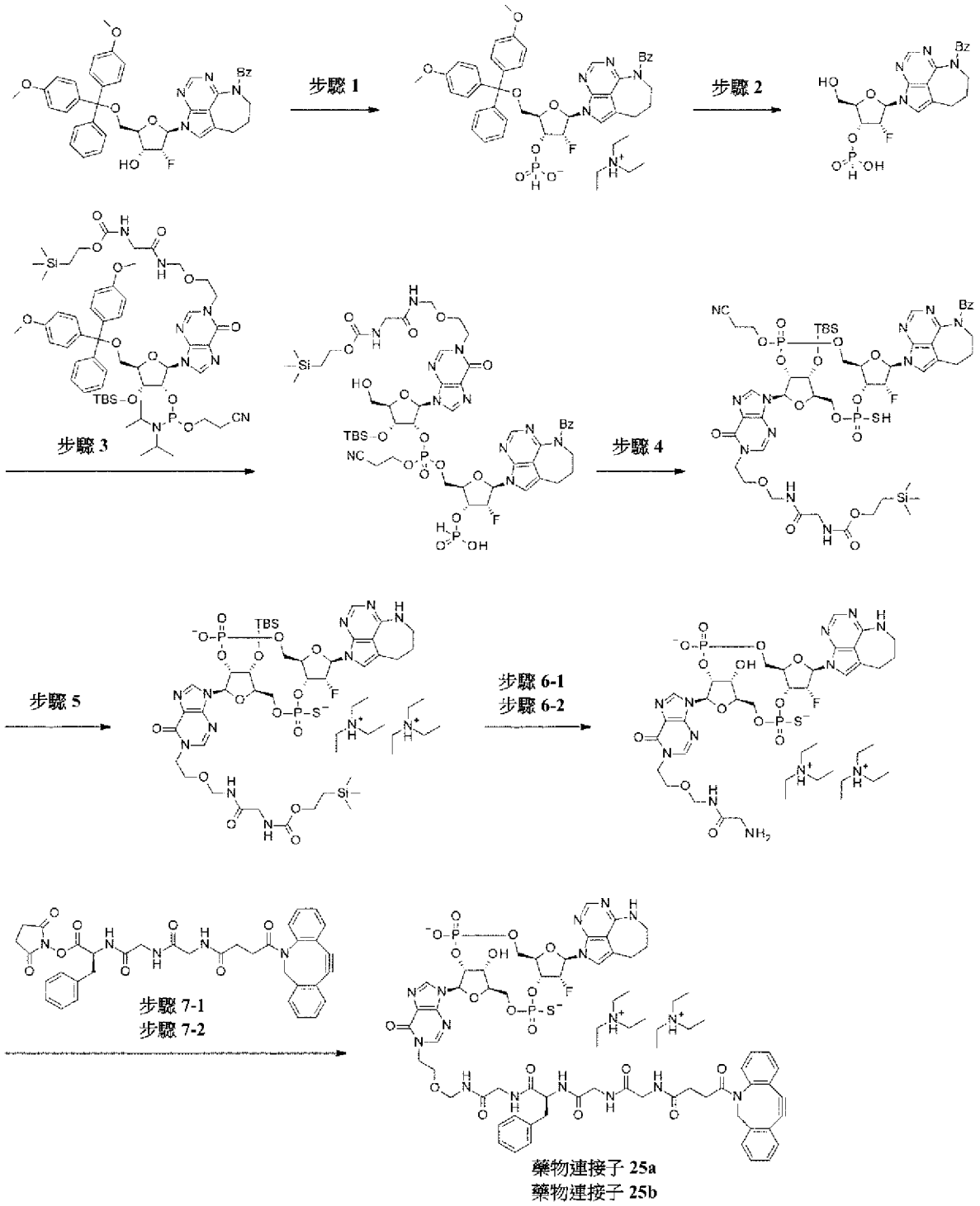
3.41(2H，m)，3.23-3.12(1H，m)，3.18(12H，q，J=7.3Hz)，3.03-2.94(1H，m)，2.85-2.75(3H，m)，2.40-2.23(2H，m)，2.06-1.87(3H，m)，1.28(18H，t，J=7.3Hz).

【1222】

實施例 121：藥物連接子 25 之合成

[合成流程圖]

【1223】



【1224】

(步驟 1)

N,N-二乙基乙銨 6-苄醯基-2-{5-O-[雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2-去氧-2-氟-3-O-[氧基(側氧基)-λ^5-磷烷基]-β-D-核呋喃糖基}-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁

於實施例 44 步驟 7 獲得的化合物(1.49g)之吡啶(10.4mL)溶液中，於冰冷下添加亞磷酸二苯酯(599μL)，升溫至室溫而攪拌 30 分鐘。追加亞磷酸二苯酯(200μL)，再攪拌 2 小時。冰冷下，於反應液中添加水(1.5mL)，於室溫攪拌 30 分鐘後，減壓濃縮。將殘留物以矽膠管柱層析[乙酸乙酯/甲醇/0.1%三乙基胺]純化，獲得標題化合物(1.41g)。

MS(ESI)m/z：779$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.01(1H，s)，7.54(1H，s)，7.42-7.39(2H，m)，7.32-7.19(10H，m)，7.14-7.09(2H，s)，6.84(1H，dd，J=628.7，1.8Hz)，6.83-6.79(4H，m)，6.53(1H，dd，J=17.5,1.8Hz)，5.54(1H，ddd，J=52.1,4.0，2.0Hz)，5.37-5.27(1H，m)，4.31-4.21(3H，m)，3.55(1H，dd，J=11.2,2.1Hz)，3.38(1H，dd，J=10.9，3.0Hz)，3.34(6H，s)，3.19(6H，q，J=7.5Hz)，2.84-2.69(2H，m)，2.18-2.12(2H，m)，1.29(9H，t，J=7.3Hz).

【1225】

(步驟 2)

6-苄醯基-2-{2-去氧-2-氟-3-O-[羥基(側氧基)-λ^5-磷烷基]-β-D-核呋喃糖基}-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁

於上述步驟 1 獲得的化合物(1.41g)之二氯甲烷(20.0mL)溶液中，添加水(289μL)及二氯乙酸(1.14mL)之二氯甲烷(20.0mL)溶液，於室溫攪拌 10 分鐘。於反應液中添加吡啶(2.19mL)而停止反應後，減壓濃縮。於殘留物中添加三氟乙酸吡啶鹽(402mg)，以脫水乙腈(15mL)共沸 3 次，最後 1 次殘留 10mL 左右之乙腈。將獲得的乙腈溶液直接用於之後的反應。

MS(ESI)m/z：477(M＋H)$^+$.

【1226】

(步驟 3)

使用於實施例 77 步驟 6 獲得的化合物(2.15g)及於上述步驟 2 獲得的化合物之乙腈溶液，以與實施例 63 步驟 1 同樣之手法進行反應，將獲得的粗生成物直接用於之後的反應。

【1227】

(步驟 4)

2-(三甲基矽基)乙基(2-{[(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-16-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-10-(2-氰基乙氧基)-15-氟-2,10-二側氧基-2-氫硫基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基}乙氧基)甲基]胺基}-2-側氧基乙基)胺甲酸酯

使用上述步驟 3 所獲得的粗生成物，以與實施例 1 步驟 9 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(1.00g：含有雜質)。

MS(ESI)m/z：1262(M＋H)$^+$.

【1228】

(步驟 5)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-16-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-15-氟-2,10-二側氧基-7-[6-側氧基-1-(2-{[(N-{[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}甘胺醯基)胺基]甲氧基}乙基)-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基]-2-硫醚-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-

2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-10-醇鹽

使用於上述步驟 4 獲得的化合物(1.00g)，以與實施例 1 步驟 10 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物之非鏡像異構物 1(191mg：含有雜質)及非鏡像異構物 2(369mg：含有雜質)。

非鏡像異構物 1(低極性)

MS(ESI)m/z：1105(M＋H)$^+$.

非鏡像異構物 2(高極性)

MS(ESI)m/z：1105(M＋H)$^+$.

【1229】

(步驟 6-1)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-氟-7-(1-{2-[(甘胺醯基胺基)甲氧基]乙基}-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基)-16-羥基-2,10-二側氧基-2-硫醚-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ5,10λ5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-10-醇鹽

使用於上述步驟 5 獲得的化合物(非鏡像異構物 1)(191mg)，以與實施例 40 步驟 5 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(21.9mg：含有雜質)。

MS(ESI)m/z：847(M＋H)$^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.39(1H，s)，8.03(1H，s)，7.71(1H，s)，7.24(1H，s)，6.45(1H，d，J=17.5Hz)，6.15(1H，d，J=8.5Hz)，5.79-5.65(2H，m)，5.46-5.36(1H，m)，4.63-4.23(9H，m)，4.01-3.95(1H，m)，3.65-3.57(2H，m)，3.52-

3.37(5H，m)，3.15(12H，q，J=7.3Hz)，2.76-2.68(1H，m)，2.39-2.30(1H，m)，1.92-1.82(2H，m)，1.28(18H，t，J=7.6Hz).

【1230】

(步驟 6-2)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-氟-7-(1-{2-[(甘胺醯基胺基)甲氧基]乙基}-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基)-16-羥基-2,10-二側氧基-2-硫醚-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ5,10λ5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-10-醇鹽

使用於上述步驟 5 獲得的化合物(非鏡像異構物 2)(369mg)，以與實施例 40 步驟 5 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(137mg：含有雜質)。

MS(ESI)m/z：847$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.96(1H，s)，8.14(1H，s)，8.02(1H，s)，7.04(1H，s)，6.46(1H，d，J=19.3Hz)，6.28(1H，d，J=8.5Hz)，5.61(1H，dd，J=52.0，4.2Hz)，5.38-5.23(2H，m)，4.69-4.63(2H，m)，4.56(1H，d，J=10.3Hz)，4.39-4.30(4H，m)，4.26-4.17(3H，m)，3.97-3.91(1H，m)，3.84-3.72(2H，m)，3.52-3.46(2H，m)，3.32-3.25(2H，m)，2.97(12H，q，J=7.3Hz)，2.74-2.63(2H，m)，2.03-1.84(2H，m)，1.21(18H，t，J=7.3Hz).

【1231】

(步驟 7-1)

雙(N,N-二乙基乙銨) N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯 基-N-[(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-氟-16-羥基-10-氧基-2,10-二側氧基-2-硫醚-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基}乙氧基)甲基]甘胺醯胺

(藥物連接子 25a：非鏡像異構物 1)

使用於上述步驟 6-1 獲得的化合物(21.9mg)，以與實施例 22 步驟 9-1 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]純化，獲得標題化合物(26.3mg)。

[純化條件]製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：30%-50%(0 分-30 分)]及 Sep-Pak(註冊商標) C18[水/乙腈/0.1%三乙基胺]。

MS(ESI)m/z：1395$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.58(1H，d，J=4.2Hz)，8.08-8.02(2H，m)，7.64-7.13(14H，m)，6.46(1H，d，J=18.1Hz)，6.26-6.21(1H，m)，5.45(1H，d，J=53.2Hz)，5.35-5.18(2H，m)，5.07-5.01(1H，m)，4.62-4.13(10H，m)，4.09-3.90(2H，m)，3.87-3.43(11H，m)，3.21-3.09(1H，m)，3.18(12H，q，J=7.3Hz)，3.00-2.89(1H，m)，2.83-2.52(3H，m)，2.37-2.21(2H，m)，2.03-1.79(3H，m)，1.28(18H，t，J=7.3Hz).

【1232】

(步驟 7-2)

雙(N,N-二乙基乙銨) N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯 基-N-[(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-氟-16-羥基-10-氧基-2,10-二側氧基-2-硫醚-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基}乙氧基)甲基]甘胺醯胺

(藥物連接子 25b：非鏡像異構物 2)

使用於上述步驟 6-2 獲得的化合物(47.5mg)，以與實施例 22 步驟 9-1 同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]純化，獲得標題化合物(15.1mg)。

[純化條件]製備性 HPLC[10mM 乙酸三乙基銨水溶液/乙腈，乙腈：30%-50%(0 分-30 分)]及 Sep-Pak(註冊商標) C18[水/乙腈/0.1%三乙基胺]。

MS(ESI)m/z：1395$(M+H)^+$.

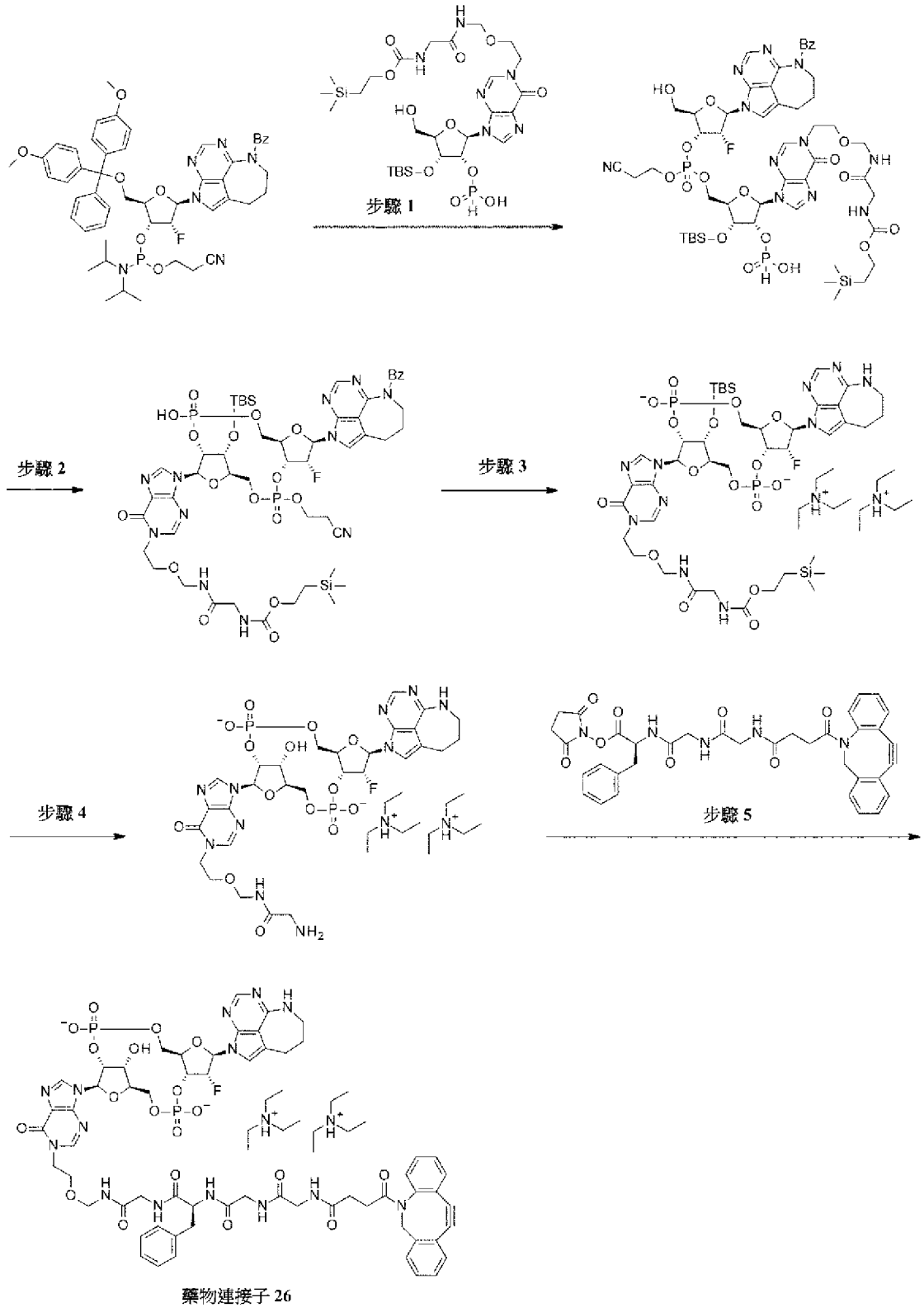
^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.99(1H，d，J=3.6Hz)，8.14(1H，d，J=1.8Hz)，8.02-8.00(1H，m)，7.64-7.13(13H，m)，7.01-6.98(1H，m)，6.47(1H，dd，J=19.0，2.7Hz)，6.27(1H，dd，J=8.5，4.2Hz)，5.67-5.52(1H，m)，5.37-5.16(2H，m)，5.08-5.01(1H，m)，4.67-4.14(11H，m)，4.10-3.61(10H，m)，3.47-3.42(2H，m)，3.17-3.10(1H，m)，3.15(12H，q，J=7.5Hz)，3.00-2.92(1H，m)，2.84-2.75(1H，m)，2.63-2.54(2H，m)，2.32-2.20(2H，m)，2.03-1.79(3H，m)，1.28(18H，t，J=7.3Hz).

【1233】

實施例 122：藥物連接子 26 之合成

[合成流程圖]

【1234】



【1235】

(步驟 1)

使用於實施例 77 步驟 6 獲得的化合物(1.26g)，以與實施例 1 步驟 7 同樣之手法進行反應，獲得 3'-O-[三級丁基(二甲基)矽基]-2'-O-[羥基(側氧基)-λ^5-磷烷基]-1-(2-{[(N-{[2-(三甲基矽基)乙氧基]羰基}甘胺醯基)胺基]甲氧基}乙基)肌苷之乙腈溶液。使用獲得的乙腈溶液及於實施例 44 步驟 8 獲得的化合物(1.00g)，以與實施例 63 步驟 1 同樣之手法進行反應，將獲得的粗生成物直接用於之後的反應。

【1236】

(步驟 2)

2-(三甲基矽基)乙基(2-{[(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-16-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-10-(2-氰基乙氧基)-15-氟-2-羥基-2,10-二側氧基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基}乙氧基)甲基]胺基}-2-側氧基乙基)胺甲酸酯

使用上述步驟 1 所獲得的粗生成物，以與實施例 62 步驟 2 同樣之手法進行反應，獲得標題化合物(678mg：含有雜質)。

MS(ESI)m/z：1246$(M+H)^+$.

【1237】

(步驟 3)

2-(三甲基矽基)乙基(2-{[(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-苄醯基-6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)-16-{[三級丁基(二甲基)矽基]氧基}-10-(2-氰基乙氧基)-15-氟-2-羥基-2,10-二側氧基八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基}乙氧基)甲基]胺基}-2-側氧基乙基)胺甲酸酯

使用於上述步驟2獲得的化合物(678mg)，以與實施例1步驟10同樣之手法進行反應後，以C18矽膠管柱層析[10mM乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性HPLC[10mM乙酸三乙基銨水溶液/乙腈-甲醇溶液(1:1)，乙腈-甲醇溶液(1:1):25%-90%(0分-30分)]純化，獲得標題化合物(99.6mg：含有雜質)。

MS(ESI)m/z：1089$(M+H)^+$.

【1238】

(步驟4)

雙(N,N-二乙基乙銨) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,16R)-15-氟-7-(1-{2-[(甘胺醯基胺基)甲氧基]乙基}-6-側氧基-1,6-二氫-9H-嘌呤-9-基)-16-羥基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ^5,10λ^5-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-2,10-雙(醇鹽)

使用於上述步驟3獲得的化合物(99.6mg)，以與實施例11步驟9-1同樣之手法進行反應後，以C18矽膠管柱層析[10mM乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性HPLC[10mM乙酸三乙基

銨水溶液/乙腈-甲醇溶液(1：1)，乙腈-甲醇溶液(1：1)：10%-60%(0分-30分)]純化，獲得標題化合物(60.8mg：含有雜質)。

MS(ESI)m/z：831$(M+H)^+$.

【1239】

(步驟5)

雙(N,N-二乙基乙銨) N-[4-(11,12-二去氫二苯并[b,f]吖啶-5(6H)-基)-4-側氧基丁醯基]甘胺醯基甘胺醯基-L-苯基丙胺醯 基-N-[(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-氟-16-羥基-2,10-二氧基-2,10-二側氧基-14-(6,7,8,9-四氫-2H-2,3,5,6-四氮苯并[cd]薁-2-基)八氫-2H,10H,12H-5,8-甲橋-2λ⁵,10λ⁵-呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧二磷十四環-7-基]-6-側氧基-6,9-二氫-1H-嘌呤-1-基}乙氧基)甲基]甘胺醯胺

使用於上述步驟4獲得的化合物(60.8mg)及於實施例22步驟11獲得的化合物(21.3mg)，以與實施例22步驟9-1同樣之手法進行反應後，以下列之[純化條件]進行純化，獲得標題化合物(30.5mg)。

[純化條件]C18矽膠管柱層析[10mM乙酸三乙基銨水溶液/乙腈]及製備性HPLC[100mM六氟-2-丙醇，8mM三乙基胺水溶液/乙腈，乙腈：10%-45%(0分-40分)]。

MS(ESI)m/z：1379$(M+H)^+$.

^{1}H-NMR(CD_3OD)δ：8.56(1H，s)，8.16-8.10(1H，m)，8.05(1H，s)，7.63-7.49(2H，m)，7.45-7.35(3H，m)，7.33-7.12(9H，m)，6.45(1H，d，J=18.3Hz)，6.27(1H，d，J=9.8Hz)，5.55-4.99(4H，m)，4.65-4.42(5H，m)，4.38-4.01(8H，m)，

3.89-3.60(9H，m)，3.52-3.42(2H，m)，3.18(12H，q，J=7.3Hz)，3.00-2.91(1H，m)，2.87-2.60(3H，m)，2.38-2.19(2H，m)，2.04-1.81(3H，m)，1.28(18H，t，J=7.3Hz).

【1240】

實施例 123：抗體藥物結合物 35 之合成(抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物 11 之合成)

將糖鏈重塑抗體 4 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(10.87mg/mL，1.00mL)以丙二醇(0.500mL)稀釋。於此溶液中添加藥物連接子 24a 之二甲亞碸溶液(10mM，0.135mL，相對於 1 分子抗體為 18 當量)及丙二醇(0.365mL)之混合液，並使用試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而使於室溫反應 2 日。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(7.0mL)。

按照共通操作 E 及 F 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：1.08mg/mL

抗體產量：7.54mg(69%)

藥物平均結合數：3.8

【1241】

實施例 124：抗體藥物結合物 36 之合成(抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物 12 之合成)

將糖鏈重塑抗體 4 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(10.87mg/mL，1.00mL)以丙二醇(0.500mL)稀釋。於此溶液中添加藥物連接子 24b 之二甲亞碸溶液(10mM，0.135mL，相對於 1 分子抗體為 18 當量)及丙二醇(0.365mL)之混合液，並使用

試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而使於室溫反應 2 日。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(7.0mL)。

按照共通操作 E 及 F 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：1.12mg/mL

抗體產量：7.85mg(72%)

藥物平均結合數：3.8

【1242】

實施例 125：抗體藥物結合物 37 之合成(抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物 13 之合成)

將糖鏈重塑抗體 4 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(10.87mg/mL，2.00mL)以丙二醇(1.00mL)稀釋。於此溶液中添加藥物連接子 26 之二甲亞碸溶液(10mM，0.270mL，相對於 1 分子抗體為 18 當量)及丙二醇(0.730mL)之混合液，並使用試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而使於室溫反應 2 日。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(14.0mL)。

按照共通操作 E 及 F 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：1.05mg/mL

抗體產量：14.71mg(68%)

藥物平均結合數：3.8

【1243】

實施例 126：抗體藥物結合物 38 之合成(抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物 14 之合成)

將糖鏈重塑抗體 4 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(10.89mg/mL，3.00mL)以丙二醇(1.50mL)稀釋。於此溶液中添加藥物連接子 25a 之二甲亞碸溶液(10mM，0.540mL，相對於 1 分子抗體為 24 當量)與丙二醇(0.960mL)之混合液，並使用試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而使於室溫反應 3 日。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(19mL)。

按照共通操作 E 及 G 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：1.38mg/mL

抗體產量：26.28mg(80%)

藥物平均結合數：3.7

【1244】

實施例 127：抗體藥物結合物 39 之合成(抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物 15 之合成)

將糖鏈重塑抗體 4 之磷酸緩衝生理食鹽水(pH6.0)溶液(10.89mg/mL，0.500mL)以丙二醇(0.250mL)稀釋。於此溶液中添加藥物連接子 25b 之二甲亞碸溶液(10mM，0.090mL，相對於 1 分子抗體為 24 當量)與丙二醇(0.160mL)之混合液，並使用試管旋轉器(MTR-103，AS ONE 股份有限公司)而使於室溫反應 2 日。按照共通操作 D 記載之方法來純化反應液，獲得為目的之抗體藥物結合物之 ABS 溶液(3.5mL)。

按照共通操作 E 及 G 記載之方法進行分析，獲得下述之結果。

抗體濃度：0.93mg/mL

抗體產量：3.25mg(60%)

藥物平均結合數：3.5

【1245】

(參考例 1：抗 HER2 抗體之製作)

於本說明書，「曲妥珠單抗」有時亦稱為 HERCEPTIN(註冊商標)、huMAb4D5-8、rhuMAb4D5-8，為具有由序列識別號 1 記載之胺基酸序列所構成的輕鏈及由序列識別號 2 記載之胺基酸序列所構成的重鏈的人類化 IgG1 抗體。胺基酸序列參照 US5821337。將曲妥珠單抗之輕鏈胺基酸序列(序列識別號 1)及重鏈胺基酸序列(序列識別號 2)示於圖 4。

【1246】於本說明書使用的抗 HER2 抗體係設計並製作使曲妥珠單抗之重鏈胺基酸序列之 EU 指引第 234 號及 235 號之白胺酸(L)變異為丙胺酸(A)(本說明書中，亦稱為 LALA 變異)的曲妥珠單抗之恆定區改造 IgG1 抗體(本說明書中，亦稱為改造抗 HER2 抗體)。將改造抗 HER2 抗體之輕鏈胺基酸序列(序列識別號 1)及重鏈胺基酸序列(序列識別號 3)示於圖 5。

【1247】

(參考例 2：抗 LPS 抗體之製作)

抗 LPS 抗體係參照 WO2015/046505 而製作。本實施例所使用的抗 LPS 抗體的同型為 IgG1，具有 LALA 變異(本說明書中，亦稱為改造抗 LPS 抗體)。將本實施例所使用的改造抗 LPS 抗體之輕鏈及重鏈之胺基酸序列示於序列識別號 26 及序列識別號 27。

【1248】

(參考例 3：ML-RR-CDA・2Na$^+$之合成)

於本說明書，作為參考化合物所使用的 ML-RR-CDA・2Na$^+$係按照專利文獻 3(WO2014/189805)所記載的方法合成。

【1249】

(參考例 4：2',3'-cGAMP 之合成)

於本說明書，作為參考化合物使用的 2',3'-cGAMP 係使用 cGAS 而自 ATP 及 GTP 酵素性地合成。cGAS 之調製及酵素反應係適當改變文獻記載之方法(Immunity，2013,39，1019-1031、Cell Rep.2014，6，421-430)而實施。純化係藉由使用弱鹼性陰離子交換樹脂(DIAION WA10)及合成吸附劑(SEPABEADS SP207SS)的管柱層析法而實施。

【1250】

(參考例 5：抗 HER2 抗體 2 之製作)

「帕妥珠單抗」亦有時稱為 PERJETA(註冊商標)，為具有由序列識別號 28 記載之胺基酸序列所構成的輕鏈及序列識別號 29 記載之胺基酸序列所構成的重鏈的人類化 IgG1 抗體。胺基酸序列參照 WO2004/008099。於本說明書亦稱為抗 HER2 抗體 2。將帕妥珠單抗之輕鏈胺基酸序列(序列識別號 28)及重鏈胺基酸序列(序列識別號 29)示於圖 17。

【1251】於本說明書，設計並製作除了 LALA 變異以外，使重鏈胺基酸序列之 EU 指引第 214 號之離胺酸(K)變異為精胺酸(R)的具有 G1m3 同種異型(allotype)之恆定區的抗 HER2 抗體 2(本說明書中，亦稱為改造抗 HER2 抗體 2)。將本實施例所使用的改造抗 HER2 抗體 2 之輕鏈胺基酸序列(序列識別號 28)及重鏈胺基酸序列(序列識別號 30)示於圖 18。

【1252】

(參考例 6：抗 CD33 抗體之製作)

抗 CD33 抗體係參照 WO2014/057687 而製作。本實施例所使用的抗 CD33 抗體的同型為 IgG1，具有 LALA 變異。將本實施例所使用的抗 CD33 抗體之輕鏈胺基酸序列(序列識別號 31)及重鏈胺基酸序列(序列識別號 32)示於圖 19。

【1253】

(參考例 7：抗 EphA2 抗體之製作)

抗 EphA2 抗體係參照 WO2009/028639 而製作。本實施例所使用的抗 EphA2 抗體的同型為 IgG1。將本實施例所使用的抗 EphA2 抗體之輕鏈胺基酸序列(序列識別號 33)及重鏈胺基酸序列(序列識別號 34)示於圖 20。

【1254】

(參考例 8：抗 CDH6 抗體之製作)

抗 CDH6 抗體係參照 WO2018/212136 而製作。本實施例所使用的抗 CDH6 抗體的同型為 IgG1，除了 LALA 變異之外，具有重鏈胺基酸序列之 EU 指引第 329 號之脯胺酸(P)成為甘胺酸(G)的變異。將本實施例所使用的抗 CDH6 抗體之輕鏈胺基酸序列(序列識別號 35)及重鏈胺基酸序列(序列識別號 36)示於圖 21。

【1255】

(試驗例 1)使用報導細胞的 STING 促效劑活性評價

＜報導基因分析＞

人類 STING 促效劑活性係使用可確認位於 STING 路徑的下游的干擾素控制因子 3(interferon regulatory factor-

3(IRF3))之路徑的活性化的 THP1-Dual™ 細胞(HAQ 變異型)(InvivoGen，CA，US)來評價。小鼠 STING 促效劑活性係使用 RAW-Dual™ 細胞(InvivoGen)來評價。

【1256】試驗係如以下實施。首先，於透明 96 井盤(Corning，NY，US)中，以 20μL/井分注以 PBS 稀釋的試驗化合物。接著，以 180μL/井(1×10^5 個細胞/井)添加懸浮於試驗緩衝液(含 10%牛血清白蛋白的 RPMI1640 培養基或 DMEM 培養基)的報導細胞，並開始刺激。回收了於 37℃、5%CO_2 環境下培養 24 小時後之離心上清液。將 6μL 之回收上清液添加至白色 384 井盤，於其中添加 15μL 之 QUANTI-Luc(InvivoGen)溶液。充分混合後，使用平板讀數器(PerkinElmer，MA，US)而測定發光。將 1.37 至 100μM 之 ML-RR-CDA・$2Na^+$(WO2014/189805 中的化合物 21)處理的細胞中的最大計數值設為 100%，以 PBS 處理的細胞中的計數設為 0%，使用 GraphPad Prism(GraphPad Software，CA，US)計算出測試化合物獲得 50%計數所需的濃度作為 EC50(μM)值。將人類 STING 促效劑活性試驗之結果示於表 1。

【1257】表1

化合物編號	THP1-Dual細胞 IRF EC50(μM)
1a	5.9
1b	0.3
2a	4.7
4a	2.1
4b	1.5
5a	2.4
6a	0.6
6b	2.1
7a	3.5
7b	6.1
8a	3.1
8b	6.6
9a	5.7
9b	2.4
10a	6.3
11a	4.0
12b	1.8
17a	4.4
17b	1.0
20b	0.40
21b	0.70
22b	4.3
23a	2.6
23b	0.055
25a	1.3
25b	0.9
26a	1.4
26b	1.2

32a	1.2
32b	6.4
33a	0.18
34a	0.20
34b	0.55
35a	2.0
35b	3.4
36a	2.0
36b	2.0
37a	0.98
37b	4.5
38a	0.45
38b	1.6
39a	0.19
39b	0.41
40a	3.4
40b	3.2
41a	1.1
41b	3.6
42a	4.2
42b	4.7
44a	0.21
44b	0.35
45a	1.2
45b	3.1
46a	3.9
46b	0.87
47a	0.58
48a	0.035
48b	0.039

49a	0.33
49b	0.41
50a	0.34
50b	0.20
51a	0.32
51b	0.43
52a	0.31
52b	0.46
53a	6.0
54	4.0
ML-RR-CDA・$2Na^+$	4.2
2'3'-cGAMP	21.8

【1258】此結果清楚得知本案化合物具有對人類 STING 的促效劑活性。又，確認對小鼠 STING，亦與既存之 CDN 同等以上之促效劑活性。

【1259】

(試驗例 2)使用重組 STING C 末端結合域蛋白質的蛋白質熱轉移試驗(Protein thermal shift assay)

【1260】

(i)各種表現質體之構築

【1261】

＜人類 TMEM173 表現質體之構築＞

人類 STING(本說明書中，亦有時稱為人類 TMEM173)之哺乳動物細胞表現用質體係購買第 232 號之精胺酸(R)變異為組胺酸(H)的(本說明書中，稱為 H232 變異或 REF 變異)人類 TMEM173 cDNA Clone(Accession NM__198282.3，H232(REF)變異型 STING 表現質體)(GeneCopoeia，MD，

US)。將人類 H232(REF)變異型 STING 之胺基酸序列示於序列識別號 4，將核苷酸序列示於序列識別號 5。又，將 H232 變異型 STING 表現質體作為模板，基於 Inverse PCR 法進行部位特異性變異導入而製作野生型 STING 及變異型 STING 之表現質體。詳細言之，首先使用 2 種類之引子(5'-CGTGCTGGCATCAAGGATCGGGTTTAC-3'(H232R(WT)fwd)(序列識別號 12)及 5'-GTCACCGGTCTGCTGGGGCAGTTTATC-3'(H232R(WT)rev))(序列識別號 13)及 KOD-Plus-Mutagenesis Kit(SMK-101)(東洋紡)而實施 PCR，藉由 DNA 定序確認目的之野生型(R232)STING 表現質體的構築。將人類野生型 STING 之胺基酸序列示於序列識別號 6，將核苷酸序列示於序列識別號 7。

【1262】其次，以與野生型 STING 表現質體同樣之手法製作 HAQ(R71H，G230A 及 R293Q)變異型。詳細言之，將 H232 變異型 STING 表現質體作為模板，使用 2 種類之引子(5'-GCTGACCGTGCTGGCATCAAGGATCGGGTTTAC-3' (H232R/G230A fwd) (序列識別號 14)及 5'-GGTCTGCTGGGGCAGTTTATCCAGG-3'(H232R/G230A rev) (序列識別號 15))與 Mutagenesis Kit 而實施 PCR。藉由於 2 處同時地導入變異，取得 G230A 變異型 STING 質體。再者，將 G230A 變異型 STING 表現質體作為模板，使用 2 種類之引子(5'-CACCACATCCACTCCAGGTACCGG-3'(R71H fwd) (序列識別號 16)及 5'-CAGCTCCTCAGCCAGGCTGCAGAC-3'(R71H rev) (序列識別號 17))與 Mutagenesis Kit 而實施 PCR，取得 R71H/G230A 變異型 STING 表現質體。

【1263】接著，將 R71H/G230A 變異型之 STING 表現質體作為模板，使用 2 種類之引子(5'-CAGACACTTGAGGACATCCTGGCAG-3'(R293Q fwd)(序列識別號 18)及 5'-GCAGAAGAGTTTGGCCTGCTCAA-3'(R293Q rev)(序列識別號 19))與 Mutagenesis Kit 而實施 PCR，取得 HAQ(R71H/G230A/R293Q)變異型之表現質體。將人類 HAQ 變異型 STING 之胺基酸序列示於序列識別號 8，將核苷酸序列示於序列識別號 9。

【1264】將人類之野生型 STING、REF 型 STING，HAQ 型 STING 之胺基酸序列示於圖 6。

【1265】

＜重組 STING C 末端結合域蛋白質表現質體等之構築＞

人類 STING C 末端結合域(aa139-342)蛋白質(UniProt entry Q86WV6)cDNA 係藉由使用來自全長之人類 TMEM173 cDNA clone 表現質體(野生型、H232 變異型及 HAQ 變異型)的 2 種類之引子(5'-ACCTGTATTTTCAGGGCCTGGCCCCAGCTGAGATCTCTG-3'(hST Fw__v2)(序列識別號 20)及 5'-CAGAATTCGCAAGCTTTTAAGTAACCTCTTCCTTTTCCTCCTGC-3'(hST Rv__V3)(序列識別號 21))的 PCR 而製作。使用 In-Fusion HD Cloning Kit(Takara Bio)，將 PCR 產物插入至為大腸菌表現用載體的 pET15b，使具有於 N 末端具有由組胺酸 6 鹼基所構成的 6xHis 標籤、抗生物素蛋白(Avidin)標籤及 TEV 蛋白酶切斷位的方式，構築 pET15b-HisAviTEV-hSTING(139-342)人類野生型、pET15b-HisAviTEV-

hSTING(139-342)人類 REF 變異型及 pET15b-HisAviTEV-hSTING(139-342)人類 AQ 變異型之表現質體。

【1266】於小鼠 STING C 末端結合域(aa138-341)蛋白質(UniProt entry Q3TBT3)表現用 cDNA，使用由 eurofins Genomics 人工合成對應小鼠 TMEM173 cDNA 序列第 138 號至第 341 號之胺基酸的 cDNA 者。將小鼠 STING 之胺基酸序列示於序列識別號 10，核苷酸序列示於序列識別號 11。合成的 cDNA 係使用 In-Fusion HD Cloning Kit 插入至為大腸菌表現用載體的 pET15b，使具有於 N 末端由組胺酸 6 鹼基所構成的 6xHis 標籤、抗生物素蛋白標籤及 TEV 蛋白酶切斷位的方式，構築 pET15b-HisAviTEV-mSTING(138-341)小鼠野生型之表現質體。

【1267】於 pCDF__Duet-1 載體插入人工合成的大腸菌 BirA(UniProt entry P06709)cDNA，而構築 pCDF__Duet-1 BirA(1-321)表現質體。

【1268】

(ii)STING C 末端結合域蛋白質之調製法

製作的各 pET15b-HisAviTEV-hSTING(139-342)(人類野生型、人類 REF 變異型及人類 AQ 變異型之 STING C 末端結合域蛋白質)表現質體及 pET15b-HisAviTEV-mSTING(138-341)(小鼠野生型之 STING C 末端結合域蛋白質)表現質體係各自與 pCDF__Duet-1 BirA(1-321)表現質體同時轉形勝任 E.coli Rosetta 2(DE3)(Merck Millipore，MA，US)，而製作各 HisAviTEV-STING 表現株。將此等之表現株添加至含有 100μg/mL 胺苄青黴素(ampicillin)、50μg/mL 鏈黴

素(streptomycin)、及 30μg/mL 康黴素(kanamycin)的 TB 培養基中，於 37℃培養後，以 100μM IPTG 誘導表現而進一步於 16℃培養。

【1269】離心培養液，將獲得的菌體懸浮於 50mM HEPES pH8.0，500mM NaCl，20mM 咪唑，1mM DTT，5%(w/v)甘油、完全無 EDTA 後，冷凍解凍。添加溶菌酶、DNase I 後，藉由超音波破碎並萃取蛋白質，經離心而回收上清液。將獲得的上清液使用 AKTAexpress 層析系統(GE Healthcare，IL，US)而以 HisTrap FF 管柱(GE Healthcare)純化，通過 Superdex200 16/60 管柱(GE Healthcare)而以緩衝液(20mM HEPES pH7.5,120mM NaCl，20%甘油，0.8mM DTT)溶析。以 SEC 回收含有目的分子量之蛋白質的流份，回收作為 His-Avi-TEV-hSTING(139-342)人類野生型蛋白質、HisAviTEV-hSTING(139-342)人類 REF 變異型蛋白質、HisAviTEV-hSTING(139-342)人類 AQ 變異型蛋白質及 His-Avi-TEV-mSTING(138-341)小鼠野生型蛋白質。蛋白質濃度係使用 Nanodrop2000(Thermo Fisher Scientific，MA，US)而測定，於-80℃下冷凍保存直至使用。

【1270】將 HisAviTEV-hSTING(139-342)人類野生型蛋白質之胺基酸序列示於序列識別號 22，將 HisAviTEV-hSTING(139-342)人類REF變異型蛋白質之胺基酸序列示於序列識別號 23，將 HisAviTEV-hSTING(139-342)人類 AQ 變異型蛋白質之胺基酸序列示於序列識別號 24，將 His-Avi-TEV-mSTING(138-341)小鼠野生型蛋白質之胺基酸序列示於序列識別號 25。

【1271】

(iii)STING 結合試驗

化合物對 STING C 末端結合域蛋白質的結合性係藉由以蛋白質之熱變性溫度的上升作為指標的蛋白質熱轉移試驗來進行。

【1272】詳細言之，於 384 井之即時 PCR 平盤，使用試驗緩衝液(20mM Tris-HCl pH7.5,120mM NaCl)，將 3μL 之試驗化合物(終濃度 0.5mM)、3μL 之 SYPRO Orange 蛋白膠體染料 (Thermo Fisher Scientific)(終濃度 20×濃度)與 6μL 之 STING 蛋白質混合，使用平盤震盪器而混合。藉由即時 PCR 系統(Thermo Fisher Scientific)，使溫度以每秒 0.03℃之速度自 25℃升溫至 95℃為止，蛋白質之熱變性溫度以 SYPRO Orange 發螢光作為指標來測定。獲得的測定值係使用解析軟體 Protein Thermal Shift software(Thermo Fisher Scientific)，求得 Tm(未摺疊過渡中間點(the midpoint of the unfolding transition)(℃)作為螢光強度之增加速度顯示最大值的溫度。自各化合物之 Tm 值，減去無添加化合物的井之 Tm 值，將試驗化合物所致的 Tm 之位移作為 ΔTm(℃)而算出。將對 STING 蛋白質的結合試驗之結果示於表 2。

【1273】表 2

化合物編號	ΔTm (℃)			
	Hu－WT	Hu－REF	Hu－AQ	Ms－WT
1a	8．4	3．4	12．0	14．3
4a	11．5	5．2	17．0	17．5
4b	9．8	3．5	13．1	14．9
6a	10．6	5．7	14．8	15．7
6b	8．4	3．4	11．3	12．9
7a	8．0	3．9	9．7	11．5
7b	7．2	2．8	9．5	13．2
8a	7．6	2．8	10．8	11．5
12a	8．0	3．0	9．6	11．9
17a	7．3	2．7	10．7	12．6
17b	7．4	2．2	10．4	12．6
20a	7．5	3．7	9．7	12．4
23a	9．7	4．2	12．2	15．6
25a	11．4	6．2	15．0	16．0
25b	10．6	4．6	13．1	15．8
26b	9．1	3．9	11．5	14．1
34a	14．7	8．8	18．9	20．3
34b	12．0	6．5	14．0	16．7
35a	11．0	6．6	13．1	13．5
35b	10．3	5．8	12．6	14．2
36a	10．8	5．8	13．3	15．4
36b	10．1	5．5	11．8	19．3
37a	11．2	5．2	13．6	15．3
37b	8．1	3．4	9．4	12．3
39a	10．4	5．7	12．9	15．0
39b	8．9	3．7	10．5	13．1
42a	6．5	2．8	9．0	11．2
42b	5．3	1．4	7．4	10．6
44a	13．4	8．7	18．2	19．3
44b	11．4	6．2	14．3	17．0
45a	8．9	4．4	10．8	12．3
45b	7．5	3．1	9．1	12．1
48a	15．9	9．3	22．2	16．0
48b	14．0	7．3	17．8	15．8
49b	12．6	6．6	16．1	19．3
50a	12．3	6．5	15．6	13．0
50b	12．3	6．3	15．3	7．4
51b	9．9	4．3	11．6	17．0
52a	10．9	5．6	13．5	14．3
52b	9．2	4．4	10．8	12．3
53a	9．6	5．4	11．6	14．3
54	8．3	3．4	9．8	12．1
ML－RR－CDA・$2Na^+$	7．0	2．7	12．7	15．2
2’3’－cGAMP	13．7	4．1	24．3	25．8

【1274】此結果清楚得知本案化合物對於人類之野生型STING及變異型STING、小鼠之野生型STING，具有結合活性。

【1275】

(試驗例3)抗腫瘤試驗(1)

小鼠：將5週齡之雌性BALB/c小鼠(BALB/cAnNCrlCrlj)(日本Charles River)於實驗使用前，於SPF條件下馴化4日以上。

【1276】測定、計算式：於全部的研究，以電子式數位卡尺(electronic digital caliper)(CD15-CX、Mitutoyo)，1週測定2~3次腫瘤之長徑及短徑，並計算腫瘤體積(mm^3)。計算式係如以下所示。

腫瘤體積(mm^3)=0.5×長徑(mm)×[短徑(mm)]^2

試驗化合物係以生理食鹽水(大塚製藥工場)稀釋而使用。投予之際係將50μL投予至腫瘤內。

【1277】使用購自美國菌種保存中心(American Type Culture Collection)公司的小鼠大腸癌細胞株CT26.WT(CRL2638)細胞。將CT26.WT細胞懸浮於生理食鹽水，將1.0×10^6細胞皮下移植至BALB/c小鼠之右腋窩部(第0日)，7日後實施隨機分組。各試驗化合物係以10μg之用量，於第7、9及11日共計3次進行腫瘤內投予。又將投予生理食鹽水的組設定為媒液組。各組之小鼠隻數設為5隻或6隻。

將結果示於圖7a及圖7b。圖中之黑四角形線表示媒液組，白四角形線表示化合物編號6a投予組，白倒三角形線表示化合物編號8b投予組，白圓形線表示化合物編號9b投予組。縱軸表

示腫瘤體積(mm^3)，橫軸表示腫瘤移植後之日數。媒液組為腫瘤的增殖進行。相對於此，於化合物投予組，腫瘤的增殖被顯著地抑制。

【1278】由以上可確認由於環狀二核苷酸衍生物之腫瘤內投予所致的抗腫瘤效果。

【1279】

(試驗例 4)抗腫瘤試驗(2)

作成對購自美國菌種保存中心公司的小鼠大腸癌細胞株 CT26.WT(CRL2638)導入人類 HER2 基因的 CT26.WT-hHER2 細胞。詳細言之，使用含有人類 HER2 之 cDNA 的質體(Clone ID IOH82145； Thermo Fisher Scientific)而將 cDNA 增幅，使用 In-Fusion HD Cloning Kit(Clontech)將其插入至 pQCXIN 反轉錄病毒載體(Takara Bio)。使用 Lipofectamine 3000(Thermo Fisher Scientific)將人類 HER2 插入 pQCXIN 反轉錄病毒載體導入至 EcoPack2-293 細胞株(Takara Bio)，回收上清液而使感染 CT26.WT。細胞維持於添加 250μg/mL 遺傳黴素(Geneticin(Thermo Fisher Scientific))的培養基中。

【1280】抗體-CDN 結合物係藉由乙酸鹽緩衝液(10mM 乙酸鹽緩衝液，5% 山梨糖醇，pH5.5)(Nacalai Tesque)稀釋而使用。投予之際係將 200μL 作尾靜脈內投予。

【1281】將 CT26.WT-hHER2 細胞懸浮於生理食鹽水，將 5.0×10^6 細胞皮下移植至 BALB/c 小鼠之右腋窩部(第 0 日)，7 日後實施隨機分組。各抗體-CDN 結合物係以 30μg 之用量，於第 7 日共計 1 次尾靜脈內投予。又將投予乙酸鹽緩衝液的組設定為媒液組。各組之小鼠隻數設定為 8 隻。

【1282】將結果示於圖 8。圖中之黑四角形線表示媒液組，白三角線表示使參考例 1 所製作的改造抗 HER2 抗體與實施例 8b 之化合物結合的抗 HER2 抗體-CDN 結合物(1)投予組，黑三角線表示使參考例 2 所製作的改造抗 LPS 抗體同樣地與實施例 8b 之化合物結合的抗 LPS 抗體-CDN 結合物(1)投予組。縱軸表示腫瘤體積(mm^3)，橫軸表示腫瘤移植後之日數。於媒液組及未與 HER2 結合的抗 LPS 抗體-CDN 結合物(1)投予組，腫瘤之增殖進行。相對於此，於抗 HER2 抗體-CDN 結合物(1)投予組，腫瘤的增殖被顯著地抑制。

【1283】由以上可確認抗 HER2 抗體-CDN 結合物(1)之靜脈內投予所致的抗體標的依存性的抗腫瘤效果。

【1284】

(試驗例 5)抗腫瘤試驗(3)

將 CT26.WT-hHER2 細胞懸浮於生理食鹽水，將 5.0×10^6 細胞皮下移植至 BALB/c 小鼠之右腋窩部(第 0 日)，6 日後實施隨機分組。各抗體-CDN 結合物係以 30μg 之用量，於第 6 日共計 1 次尾靜脈內投予。又將投予乙酸鹽緩衝液的組設定為媒液組。各組之小鼠隻數設定為 6 隻或 8 隻。

【1285】將結果示於圖 9。圖中之黑四角形線表示媒液組，白四角形線表示抗 HER2 抗體-CDN 結合物(2)投予組，白三角線表示抗 HER2 抗體-CDN 結合物(3)投予組。縱軸表示腫瘤體積(mm^3)，橫軸表示腫瘤移植後之日數。媒液組為腫瘤的增殖進行。相對於此，於抗 HER2 抗體-CDN 結合物(2)及(3)投予組，腫瘤的增殖被顯著地抑制。

【1286】由以上可確認抗 HER2 抗體-CDN 結合物之強的抗腫瘤效果。

【1287】

(試驗例 6)抗腫瘤試驗(4)

將 CT26.WT-hHER2 細胞懸浮於生理食鹽水，將 5.0×10^6 細胞皮下移植至 BALB/c 小鼠之右腋窩部(第 0 日)，7 日後實施隨機分組。抗體-CDN 結合物(19)係以 30μg 之用量，於第 7 日共計 1 次尾靜脈內投予。又將投予乙酸鹽緩衝液的組設定為媒液組。各組之小鼠隻數設定為 6 隻。

將結果示於圖 10。圖中之黑四角形線表示媒液組，白三角線表示抗 HER2 抗體-CDN 結合物(19)投予組。抗 HER2 抗體-CDN 結合物(19)係藥物連接子以半胱胺酸鍵結與抗體結合。縱軸表示腫瘤體積(mm^3)，橫軸表示腫瘤移植後之日數。媒液組為腫瘤的增殖進行。相對於此，於抗 HER2 抗體-CDN 結合物(19)投予組，腫瘤的增殖被顯著地抑制。

【1288】由以上可確認抗體與藥物連接子作半胱胺酸鍵結的抗 HER2 抗體-CDN 結合物之強的抗腫瘤效果。

【1289】

(試驗例 7)抗腫瘤試驗(5)

將 CT26.WT-hHER2 細胞懸浮於生理食鹽水，將 5.0×10^6 細胞皮下移植至 BALB/c 小鼠之右腋窩部(第 0 日)，6 日後實施隨機分組。各抗體-CDN 結合物係以 30μg 之用量，於第 6 日共計 1 次尾靜脈內投予。又將投予乙酸鹽緩衝液的組設定為媒液組。各組之小鼠隻數設定為 5 隻。

【1290】將結果示於圖 11。圖中之黑四角形線表示媒液組，白三角線表示抗 HER2 抗體-CDN 結合物(9)投予組，白倒三角形線表示抗 HER2 抗體-CDN 結合物(10)投予組，白菱形線表示抗 HER2 抗體-CDN 結合物(11)投予組，白圓形線表示抗 HER2 抗體-CDN 結合物(12)投予組，白四角形線表示抗 HER2 抗體-CDN 結合物(1)投予組。抗 HER2 抗體-CDN 結合物(9)、(10)、(11)、(12)及(1)係各別以不同連接子結合實施例 8b 之化合物。縱軸表示腫瘤體積(mm^3)，橫軸表示腫瘤移植後之日數。媒液組為腫瘤的增殖進行。相對於此，於抗 HER2 抗體-CDN 結合物(9)、(10)、(11)及(12)投予組，與抗 HER2 抗體-CDN 結合物(1)投予組同樣地，腫瘤的增殖被顯著地抑制。

【1291】由以上可確認抗 HER2 抗體-CDN 結合物即使於變更連接子的情形亦顯示抗腫瘤效果。

【1292】

(試驗例 8)抗腫瘤試驗(6)

將 CT26.WT-hHER2 細胞懸浮於生理食鹽水，將 5.0×10^6 細胞皮下移植至 BALB/c 小鼠之右腋窩部(第 0 日)，7 日後實施隨機分組。各投予檢體於第 7 日共計 1 次尾靜脈內投予。又將投予乙酸鹽緩衝液的組設定為媒液組。各組之小鼠隻數設定為 5 隻。

【1293】將結果示於圖 12。圖中之黑四角形線表示媒液組，白三角線表示抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物(1)之 60μg 投予組，黑倒三角形線表示抗 HER2 抗體 2 之 59μg 投予組，黑圓形線表示化合物編號 8b 之 1.2μg 投予組。抗 HER2 抗體 2 及化合物編號 8b 之投予量係構成抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物(1)的各成分之當量。縱軸表示腫瘤體積(mm^3)，橫軸表示腫瘤移植後之日數。

媒液組為腫瘤的增殖進行。相對於此，於抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物(1)投予組，腫瘤的增殖被顯著地抑制。然而，投予抗 HER2 抗體 2 及化合物編號 8b 之當量時，未抑制腫瘤之增殖。

【1294】由以上可確認抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物(1)顯示抗腫瘤效果，當量之抗 HER2 抗體 2 及化合物編號 8b 於尾靜脈內投予未顯示抗腫瘤效果。

【1295】

(試驗例 9)抗腫瘤試驗(7)

將 CT26.WT-hHER2 細胞懸浮於生理食鹽水，將 5.0×10^6 細胞皮下移植至 BALB/c 小鼠之右腋窩部(第 0 日)，7 日後實施隨機分組。各抗體-CDN 結合物係以 30μg 之用量，於第 7 日共計 1 次尾靜脈內投予。又將投予乙酸鹽緩衝液的組設定為媒液組。各組之小鼠隻數設定為 5 隻或 6 隻。

【1296】將結果示於圖 13(a)至(c)。圖中之黑四角形線表示媒液組，各白符號線係表示評價的各抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物(2)、(3)、(4)、(5)、(6)、(7)及(8)投予組。縱軸表示腫瘤體積(mm^3)，橫軸表示腫瘤移植後之日數。媒液組為腫瘤的增殖進行。相對於此，於抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物(2)、(3)、(4)、(5)、(6)、(7)及(8)投予組，腫瘤的增殖被顯著地抑制。

【1297】由以上可確認抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物之強抗腫瘤效果。

【1298】

(試驗例 10)抗腫瘤試驗(8)

將 CT26.WT-hHER2 細胞懸浮於生理食鹽水，將 5.0×10^6 細胞皮下移植至 BALB/c 小鼠之右腋窩部(第 0 日)，7 日後實施

隨機分組。各抗體-CDN結合物係以60μg之用量，於第7日共計1次尾靜脈內投予。又將投予乙酸鹽緩衝液的組設定為媒液組。各組之小鼠隻數設定為5隻。

【1299】將結果示於圖14。圖中之黑四角形線表示媒液組，白三角線表示抗HER2抗體2-CDN結合物(9)投予組，白圓形線表示抗HER2抗體2-CDN結合物(10)投予組。抗HER2抗體2-CDN結合物(9)及(10)為使用藥物平均結合數約2的MSG型糖鏈重塑抗體的抗體-CDN結合物。縱軸表示腫瘤體積(mm^3)，橫軸表示腫瘤移植後之日數。媒液組為腫瘤的增殖進行。相對於此，於抗HER2抗體2-CDN結合物(9)及(10)投予組，腫瘤的增殖被顯著地抑制。

【1300】由以上可確認藥物平均結合數約2之抗HER2抗體2-CDN結合物的強抗腫瘤效果。

【1301】

(試驗例11)抗腫瘤試驗(9)

作成對購自美國菌種保存中心公司的小鼠大腸癌細胞株CT26.WT(CRL2638)導入人類EphA2基因的CT26.WT-hEphA2細胞。詳細言之，使用含有人類EphA2之Cdna的pDONR221(Thermo Fisher Scientific)而將cDNA增幅，使用Gateway vector conversion system(Thermo Fisher Scientific)將以插入pLNCX反轉錄病毒載體(Takara Bio)。使用Lipofectamine 2000(Thermo Fisher Scientific)，將人類EphA2插入pLNCX反轉錄病毒載體導入EcoPack2-293細胞株(Takara Bio)，回收上清液而使感染CT26.WT。細胞維持於添加500μg/mL遺傳黴素(Thermo Fisher Scientific)的培養基中。

【1302】將 CT26.WT-hEphA2 細胞懸浮於磷酸緩衝液，將 1.9×10^6 細胞皮下移植至 BALB/c 小鼠之右腋窩部(第 0 日)，7 日後實施隨機分組。抗 EphA2 抗體及抗 EphA2 抗體-CDN 結合物(1)係以 60μg 之用量，於第 7 日共計 1 次尾靜脈內投予。又將投予乙酸鹽緩衝液的組設定為媒液組。各組之小鼠隻數設定為 8 隻。

【1303】將結果示於圖 15。圖中之黑四角形線表示媒液組，白圓形線表抗 EphA2 抗體投予組，白三角線表抗 EphA2 抗體-CDN 結合物(1)投予組。縱軸表示腫瘤體積(mm^3)，橫軸表示腫瘤移植後之日數。媒液組為腫瘤的增殖進行。抗 EphA2 抗體投予組未抑制腫瘤之增殖。相對於此，於抗 EphA2 抗體-CDN 結合物(1)投予組，腫瘤的增殖被顯著地抑制。

【1304】由以上，使用抗 EphA2 抗體未顯示抗腫瘤效果的模式，確認了抗 EphA2 抗體-CDN 結合物之強抗腫瘤效果。

【1305】

(試驗例 12)抗腫瘤試驗(10)

作成對購自美國菌種保存中心公司的小鼠淋巴球樣細胞株 P388D1(CCL-46)導入人類 CD33 基因的 P388D1-hCD33 細胞。詳細言之，作成插入人類 CD33 之 cDNA 的 pLVSIN 慢病毒(Lentivirus)載體(Takara Bio)，使用 Lentiviral High Titer Packaging Mix(Takara Bio)導入 Lenti-X293T 細胞株(Takara Bio)中，回收上清液而使感染 P388D1。細胞維持於添加 2μg/mL 嘌黴素(Puromycin)(Thermo Fisher Scientific)的培養基中。

【1306】小鼠係購入 4 週齡之雌性 DBA/2 小鼠(DBA/2NCrl)(日本 Charles River)，實驗使用前於 SPF 條件下馴化 5 日。

【1307】將 P388D1-hCD33 細胞懸浮於磷酸緩衝液，將 1.0×10^6 細胞皮下移植至 DBA/2 小鼠之右腋窩部(第 0 日)，4 日後實施隨機分組。抗 CD33 抗體及抗 CD33 抗體-CDN 結合物(1)係以 60μg 之用量，於第 4 日共計 1 次尾靜脈內投予。又將投予乙酸鹽緩衝液的組設定為媒液組。各組之小鼠隻數設定為 10 隻。

【1308】將結果示於圖 16。圖中之黑四角形線表示媒液組，白圓形線表示抗 CD33 抗體投予組，白三角線表示抗 CD33 抗體-CDN 結合物(1)投予組。縱軸表示腫瘤體積(mm^3)，橫軸表示腫瘤移植後之日數。媒液組為腫瘤的增殖進行。抗 CD33 抗體投予組未抑制腫瘤的增殖。相對於此，於抗 CD33 抗體-CDN 結合物(1)投予組，腫瘤的增殖被顯著地抑制。

【1309】由以上使用抗 CD33 抗體未顯示抗腫瘤效果的模式，確認了抗 CD33 抗體-CDN 結合物之強抗腫瘤效果。

【1310】

(試驗例 13)抗腫瘤試驗(11)

將 CT26.WT-hHER2 細胞懸浮於生理食鹽水，將 5.0×10^6 細胞皮下移植至 BALB/c 小鼠之右腋窩部(第 0 日)，7 日後實施隨機分組。各抗體-CDN 結合物係以 60μg 之用量，於第 7 日共計 1 次尾靜脈內投予。又將投予乙酸鹽緩衝液的組設定為媒液組。各組之小鼠隻數設定為 6 隻。

【1311】將結果示於圖 22。圖中之黑四角形線表示媒液組，白三角線表示抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物(11)投予組，白圓形線表示抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物(12)投予組。與抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物(11)及(12)結合的化合物編號 52a 及 52b 為具有磷酸基的 CDN。縱軸表示腫瘤體積(mm^3)，橫軸表示腫瘤移植後之日數。媒液組為腫瘤的增殖進行。相對於此，於抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物(11)及(12)投予組，腫瘤的增殖被顯著地抑制。

【1312】由以上可確認將具有磷酸基的 CDN 作結合的抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物(11)及(12)之強抗腫瘤效果。

[產業上之利用可能性]

【1313】依據本發明可提供具有強 STING 促效劑活性且顯示強抗腫瘤效果的新穎 CDN 衍生物。又，依據本發明可提供含有該新穎 CDN 衍生物的抗體藥物結合物。此等係有用於作為與 STING 促效劑活性有關連的疾病(例如，癌症)之治療劑。

【符號說明】

無。

[序列表非關鍵詞文字]

【1314】

序列識別號 1：曲妥珠單抗之輕鏈之胺基酸序列

序列識別號 2：曲妥珠單抗之重鏈之胺基酸序列

序列識別號 3：改造抗 HER2 抗體之重鏈之胺基酸序列

序列識別號 4：人類 H232(REF)變異型 STING 之胺基酸序列

序列識別號 5：人類 H232(REF)變異型 STING 之核苷酸序列

序列識別號 6：人類野生型 STING 之胺基酸序列

序列識別號 7：人類野生型 STING 之核苷酸序列

序列識別號 8：人類 HAQ 變異型 STING 之胺基酸序列

序列識別號 9：人類 HAQ 變異型 STING 之核苷酸序列

序列識別號 10：小鼠 STING 之胺基酸序列

序列識別號 11：小鼠 STING 之核苷酸序列

序列識別號 12~21：引子之序列

序列識別號 22：HisAviTEV-hSTING(139-342)人類野生型蛋白質之胺基酸序列

序列識別號 23：HisAviTEV-hSTING(139-342)人類 REF 變異型蛋白質之胺基酸序列

序列識別號 24：HisAviTEV-hSTING(139-342)人類 AQ 變異型蛋白質之胺基酸序列

序列識別號 25：His-Avi-TEV-mSTING(138-341)小鼠野生型蛋白質之胺基酸序列

序列識別號 26：改造抗 LPS 抗體之輕鏈之胺基酸序列

序列識別號 27：改造抗 LPS 抗體之重鏈之胺基酸序列

序列識別號 28：帕妥珠單抗輕鏈之胺基酸序列

序列識別號 29：帕妥珠單抗重鏈之胺基酸序列

序列識別號 30：改造抗 HER2 抗體 2 之重鏈之胺基酸序列

序列識別號 31：抗 CD33 抗體輕鏈之胺基酸序列

序列識別號 32：抗 CD33 抗體重鏈之胺基酸序列

序列識別號 33：抗 EphA2 抗體輕鏈之胺基酸序列

序列識別號 34：抗 EphA2 抗體重鏈之胺基酸序列

序列識別號 35：抗 CDH6 抗體輕鏈之胺基酸序列

序列識別號 36：抗 CDH6 抗體重鏈之胺基酸序列

序列表

<110> 第一三共股份有限公司(DAIICHI SANKYO COMPANY, LIMITED)

<120> 抗體藥物結合物及其應用及用途

<130> SAP-855-PCT

<141> 2019-09-06

<150> JP 2018167369
<151> 2018-09-06

<160> 36

<170> PatentIn vers 版本 3.5

<210> 1
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 曲妥珠單抗輕鏈

<400> 1

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                  10                  15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala
            20                  25                  30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro
                85                  90                  95
```

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 2
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 曲妥珠單抗重鏈

<400> 2

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

```
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
        115                 120                 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
    130                 135                 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145                 150                 155                 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
                165                 170                 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
            180                 185                 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
        195                 200                 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
    210                 215                 220
```

```
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225                 230                 235                 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            260                 265                 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    290                 295                 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
                325                 330                 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
            340                 345                 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385                 390                 395                 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
                405                 410                 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
            420                 425                 430
```

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 3
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 改造 HER2 抗體重鏈

<400> 3

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

```
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
    130                 135                 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145                 150                 155                 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
                165                 170                 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
            180                 185                 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
        195                 200                 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
    210                 215                 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
225                 230                 235                 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            260                 265                 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    290                 295                 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320
```

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 4
<211> 379
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 4

Met Pro His Ser Ser Leu His Pro Ser Ile Pro Cys Pro Arg Gly His
1 5 10 15

Gly Ala Gln Lys Ala Ala Leu Val Leu Leu Ser Ala Cys Leu Val Thr
20 25 30

Leu Trp Gly Leu Gly Glu Pro Pro Glu His Thr Leu Arg Tyr Leu Val
35 40 45

Leu His Leu Ala Ser Leu Gln Leu Gly Leu Leu Leu Asn Gly Val Cys
50 55 60

Ser Leu Ala Glu Glu Leu Arg His Ile His Ser Arg Tyr Arg Gly Ser
65 70 75 80

Tyr Trp Arg Thr Val Arg Ala Cys Leu Gly Cys Pro Leu Arg Arg Gly
85 90 95

Ala Leu Leu Leu Leu Ser Ile Tyr Phe Tyr Tyr Ser Leu Pro Asn Ala
100 105 110

Val Gly Pro Pro Phe Thr Trp Met Leu Ala Leu Leu Gly Leu Ser Gln
115 120 125

Ala Leu Asn Ile Leu Leu Gly Leu Lys Gly Leu Ala Pro Ala Glu Ile
130 135 140

Ser Ala Val Cys Glu Lys Gly Asn Phe Asn Val Ala His Gly Leu Ala
145 150 155 160

Trp Ser Tyr Tyr Ile Gly Tyr Leu Arg Leu Ile Leu Pro Glu Leu Gln
165 170 175

Ala Arg Ile Arg Thr Tyr Asn Gln His Tyr Asn Asn Leu Leu Arg Gly
180 185 190

Ala Val Ser Gln Arg Leu Tyr Ile Leu Leu Pro Leu Asp Cys Gly Val
195 200 205

Pro Asp Asn Leu Ser Met Ala Asp Pro Asn Ile Arg Phe Leu Asp Lys
210 215 220

Leu Pro Gln Gln Thr Gly Asp Arg Ala Gly Ile Lys Asp Arg Val Tyr

225 230 235 240

Ser Asn Ser Ile Tyr Glu Leu Leu Glu Asn Gly Gln Arg Ala Gly Thr
245 250 255

Cys Val Leu Glu Tyr Ala Thr Pro Leu Gln Thr Leu Phe Ala Met Ser
260 265 270

Gln Tyr Ser Gln Ala Gly Phe Ser Arg Glu Asp Arg Leu Glu Gln Ala
275 280 285

Lys Leu Phe Cys Arg Thr Leu Glu Asp Ile Leu Ala Asp Ala Pro Glu
290 295 300

Ser Gln Asn Asn Cys Arg Leu Ile Ala Tyr Gln Glu Pro Ala Asp Asp
305 310 315 320

Ser Ser Phe Ser Leu Ser Gln Glu Val Leu Arg His Leu Arg Gln Glu
325 330 335

Glu Lys Glu Glu Val Thr Val Gly Ser Leu Lys Thr Ser Ala Val Pro
340 345 350

Ser Thr Ser Thr Met Ser Gln Glu Pro Glu Leu Leu Ile Ser Gly Met
355 360 365

Glu Lys Pro Leu Pro Leu Arg Thr Asp Phe Ser
370 375

<210> 5
<211> 1140
<212> DNA
<213> 智人

<400> 5
atgccccact ccagcctgca tccatccatc ccgtgtccca ggggtcacgg ggcccagaag 60

gcagccttgg ttctgctgag tgcctgcctg gtgacccttt gggggctagg agagccacca 120

gagcacactc tccggtacct ggtgctccac ctagcctccc tgcagctggg actgctgtta 180

aacggggtct gcagcctggc tgaggagctg cgccacatcc actccaggta ccggggcagc 240

tactggagga ctgtgcgggc ctgcctgggc tgcccctcc gccgtggggc cctgttgctg 300

ctgtccatct atttctacta ctccctccca aatgcggtcg gcccgccctt cacttggatg 360

cttgccctcc tgggcctctc gcaggcactg aacatcctcc tgggcctcaa gggcctggcc 420

ccagctgaga tctctgcagt gtgtgaaaaa gggaatttca acgtggccca tgggctggca 480

tggtcatatt acatcggata tctgcggctg atcctgccag agctccaggc ccggattcga 540

acttacaatc agcattacaa caacctgcta cggggtgcag tgagccagcg gctgtatatt 600

ctcctcccat tggactgtgg ggtgcctgat aacctgagta tggctgaccc caacattcgc 660

ttcctggata aactgcccca gcagaccggt gaccatgctg gcatcaagga tcgggtttac 720

agcaacagca tctatgagct tctggagaac gggcagcggg cgggcacctg tgtcctggag 780

tacgccaccc ccttgcagac tttgtttgcc atgtcacaat acagtcaagc tggctttagc 840

cgggaggata ggcttgagca ggccaaactc ttctgccgga cacttgagga catcctggca 900

gatgcccctg agtctcagaa caactgccgc ctcattgcct accaggaacc tgcagatgac 960

agcagcttct cgctgtccca ggaggttctc cggcacctgc ggcaggagga aaaggaagag 1020

gttactgtgg gcagcttgaa gacctcagcg gtgcccagta cctccacgat gtcccaagag 1080

cctgagctcc tcatcagtgg aatggaaaag cccctccctc tccgcacgga tttctcttag 1140

<210> 6
<211> 379
<212> PRT
<213> 智人

<400> 6

Met Pro His Ser Ser Leu His Pro Ser Ile Pro Cys Pro Arg Gly His
1 5 10 15

Gly Ala Gln Lys Ala Ala Leu Val Leu Leu Ser Ala Cys Leu Val Thr
20 25 30

Leu Trp Gly Leu Gly Glu Pro Pro Glu His Thr Leu Arg Tyr Leu Val

```
        35                  40                  45

Leu His Leu Ala Ser Leu Gln Leu Gly Leu Leu Leu Asn Gly Val Cys
    50                  55                  60

Ser Leu Ala Glu Glu Leu Arg His Ile His Ser Arg Tyr Arg Gly Ser
65                  70                  75                  80

Tyr Trp Arg Thr Val Arg Ala Cys Leu Gly Cys Pro Leu Arg Arg Gly
                85                  90                  95

Ala Leu Leu Leu Leu Ser Ile Tyr Phe Tyr Tyr Ser Leu Pro Asn Ala
            100                 105                 110

Val Gly Pro Pro Phe Thr Trp Met Leu Ala Leu Leu Gly Leu Ser Gln
        115                 120                 125

Ala Leu Asn Ile Leu Leu Gly Leu Lys Gly Leu Ala Pro Ala Glu Ile
    130                 135                 140

Ser Ala Val Cys Glu Lys Gly Asn Phe Asn Val Ala His Gly Leu Ala
145                 150                 155                 160

Trp Ser Tyr Tyr Ile Gly Tyr Leu Arg Leu Ile Leu Pro Glu Leu Gln
                165                 170                 175

Ala Arg Ile Arg Thr Tyr Asn Gln His Tyr Asn Asn Leu Leu Arg Gly
            180                 185                 190

Ala Val Ser Gln Arg Leu Tyr Ile Leu Leu Pro Leu Asp Cys Gly Val
        195                 200                 205

Pro Asp Asn Leu Ser Met Ala Asp Pro Asn Ile Arg Phe Leu Asp Lys
    210                 215                 220

Leu Pro Gln Gln Thr Gly Asp His Ala Gly Ile Lys Asp Arg Val Tyr
225                 230                 235                 240
```

Ser Asn Ser Ile Tyr Glu Leu Leu Glu Asn Gly Gln Arg Ala Gly Thr
245 250 255

Cys Val Leu Glu Tyr Ala Thr Pro Leu Gln Thr Leu Phe Ala Met Ser
260 265 270

Gln Tyr Ser Gln Ala Gly Phe Ser Arg Glu Asp Arg Leu Glu Gln Ala
275 280 285

Lys Leu Phe Cys Arg Thr Leu Glu Asp Ile Leu Ala Asp Ala Pro Glu
290 295 300

Ser Gln Asn Asn Cys Arg Leu Ile Ala Tyr Gln Glu Pro Ala Asp Asp
305 310 315 320

Ser Ser Phe Ser Leu Ser Gln Glu Val Leu Arg His Leu Arg Gln Glu
325 330 335

Glu Lys Glu Glu Val Thr Val Gly Ser Leu Lys Thr Ser Ala Val Pro
340 345 350

Ser Thr Ser Thr Met Ser Gln Glu Pro Glu Leu Leu Ile Ser Gly Met
355 360 365

Glu Lys Pro Leu Pro Leu Arg Thr Asp Phe Ser
370 375

<210> 7
<211> 1140
<212> DNA
<213> 智人

<400> 7
atgccccact ccagcctgca tccatccatc ccgtgtccca ggggtcacgg ggcccagaag 60

gcagccttgg ttctgctgag tgcctgcctg gtgacccttt gggggctagg agagccacca 120

gagcacactc tccggtacct ggtgctccac ctagcctccc tgcagctggg actgctgtta 180

aacggggtct gcagcctggc tgaggagctg cgccacatcc actccaggta ccggggcagc 240

tactggagga ctgtgcgggc ctgcctgggc tgcccctcc gccgtggggc cctgttgctg 300

ctgtccatct atttctacta ctccctccca aatgcggtcg gcccgccctt cacttggatg 360

cttgccctcc tgggcctctc gcaggcactg aacatcctcc tgggcctcaa gggcctggcc 420

ccagctgaga tctctgcagt gtgtgaaaaa gggaatttca acgtggccca tgggctggca 480

tggtcatatt acatcggata tctgcggctg atcctgccag agctccaggc ccggattcga 540

acttacaatc agcattacaa caacctgcta cggggtgcag tgagccagcg gctgtatatt 600

ctcctcccat tggactgtgg ggtgcctgat aacctgagta tggctgaccc caacattcgc 660

ttcctggata aactgcccca gcagaccggt gaccgtgctg gcatcaagga tcgggtttac 720

agcaacagca tctatgagct tctggagaac gggcagcggg cgggcacctg tgtcctggag 780

tacgccaccc ccttgcagac tttgtttgcc atgtcacaat acagtcaagc tggctttagc 840

cgggaggata ggcttgagca ggccaaactc ttctgccgga cacttgagga catcctggca 900

gatgcccctg agtctcagaa caactgccgc ctcattgcct accaggaacc tgcagatgac 960

agcagcttct cgctgtccca ggaggttctc cggcacctgc ggcaggagga aaaggaagag 1020

gttactgtgg gcagcttgaa gacctcagcg gtgcccagta cctccacgat gtcccaagag 1080

cctgagctcc tcatcagtgg aatggaaaag cccctccctc tccgcacgga tttctcttag 1140

<210> 8
<211> 379
<212> PRT
<213> 智人

<400> 8

Met Pro His Ser Ser Leu His Pro Ser Ile Pro Cys Pro Arg Gly His
1 5 10 15

Gly Ala Gln Lys Ala Ala Leu Val Leu Leu Ser Ala Cys Leu Val Thr
20 25 30

Leu Trp Gly Leu Gly Glu Pro Pro Glu His Thr Leu Arg Tyr Leu Val
35 40 45

```
Leu His Leu Ala Ser Leu Gln Leu Gly Leu Leu Leu Asn Gly Val Cys
    50                  55                  60

Ser Leu Ala Glu Glu Leu His His Ile His Ser Arg Tyr Arg Gly Ser
65                  70                  75                  80

Tyr Trp Arg Thr Val Arg Ala Cys Leu Gly Cys Pro Leu Arg Arg Gly
                85                  90                  95

Ala Leu Leu Leu Leu Ser Ile Tyr Phe Tyr Tyr Ser Leu Pro Asn Ala
            100                 105                 110

Val Gly Pro Pro Phe Thr Trp Met Leu Ala Leu Leu Gly Leu Ser Gln
        115                 120                 125

Ala Leu Asn Ile Leu Leu Gly Leu Lys Gly Leu Ala Pro Ala Glu Ile
    130                 135                 140

Ser Ala Val Cys Glu Lys Gly Asn Phe Asn Val Ala His Gly Leu Ala
145                 150                 155                 160

Trp Ser Tyr Tyr Ile Gly Tyr Leu Arg Leu Ile Leu Pro Glu Leu Gln
                165                 170                 175

Ala Arg Ile Arg Thr Tyr Asn Gln His Tyr Asn Asn Leu Leu Arg Gly
            180                 185                 190

Ala Val Ser Gln Arg Leu Tyr Ile Leu Leu Pro Leu Asp Cys Gly Val
        195                 200                 205

Pro Asp Asn Leu Ser Met Ala Asp Pro Asn Ile Arg Phe Leu Asp Lys
    210                 215                 220

Leu Pro Gln Gln Thr Ala Asp Arg Ala Gly Ile Lys Asp Arg Val Tyr
225                 230                 235                 240

Ser Asn Ser Ile Tyr Glu Leu Leu Glu Asn Gly Gln Arg Ala Gly Thr
```

245 250 255

Cys Val Leu Glu Tyr Ala Thr Pro Leu Gln Thr Leu Phe Ala Met Ser
260 265 270

Gln Tyr Ser Gln Ala Gly Phe Ser Arg Glu Asp Arg Leu Glu Gln Ala
275 280 285

Lys Leu Phe Cys Gln Thr Leu Glu Asp Ile Leu Ala Asp Ala Pro Glu
290 295 300

Ser Gln Asn Asn Cys Arg Leu Ile Ala Tyr Gln Glu Pro Ala Asp Asp
305 310 315 320

Ser Ser Phe Ser Leu Ser Gln Glu Val Leu Arg His Leu Arg Gln Glu
325 330 335

Glu Lys Glu Glu Val Thr Val Gly Ser Leu Lys Thr Ser Ala Val Pro
340 345 350

Ser Thr Ser Thr Met Ser Gln Glu Pro Glu Leu Leu Ile Ser Gly Met
355 360 365

Glu Lys Pro Leu Pro Leu Arg Thr Asp Phe Ser
370 375

<210> 9
<211> 1140
<212> DNA
<213> 智人

<400> 9
atgccccact ccagcctgca tccatccatc ccgtgtccca ggggtcacgg ggcccagaag 60

gcagccttgg ttctgctgag tgcctgcctg gtgacccttt gggggctagg agagccacca 120

gagcacactc tccggtacct ggtgctccac ctagcctccc tgcagctggg actgctgtta 180

aacggggtct gcagcctggc tgaggagctg caccacatcc actccaggta ccggggcagc 240

tactggagga ctgtgcgggc ctgcctgggc tgccccctcc gccgtggggc cctgttgctg 300

ctgtccatct atttctacta ctccctccca aatgcggtcg gcccgccctt cacttggatg 360

cttgccctcc tgggcctctc gcaggcactg aacatcctcc tgggcctcaa gggcctggcc 420

ccagctgaga tctctgcagt gtgtgaaaaa gggaatttca acgtggccca tgggctggca 480

tggtcatatt acatcggata tctgcggctg atcctgccag agctccaggc ccggattcga 540

acttacaatc agcattacaa caacctgcta cggggtgcag tgagccagcg gctgtatatt 600

ctcctcccat tggactgtgg ggtgcctgat aacctgagta tggctgaccc caacattcgc 660

ttcctggata aactgcccca gcagaccgct gaccgtgctg gcatcaagga tcgggtttac 720

agcaacagca tctatgagct tctggagaac gggcagcggg cgggcacctg tgtcctggag 780

tacgccaccc ccttgcagac tttgtttgcc atgtcacaat acagtcaagc tggctttagc 840

cgggaggata ggcttgagca ggccaaactc ttctgccaga cacttgagga catcctggca 900

gatgcccctg agtctcagaa caactgccgc ctcattgcct accaggaacc tgcagatgac 960

agcagcttct cgctgtccca ggaggttctc cggcacctgc ggcaggagga aaaggaagag 1020

gttactgtgg gcagcttgaa gacctcagcg gtgcccagta cctccacgat gtcccaagag 1080

cctgagctcc tcatcagtgg aatggaaaag cccctccctc tccgcacgga tttctcttag 1140

<210> 10
<211> 378
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 10

Met Pro Tyr Ser Asn Leu His Pro Ala Ile Pro Arg Pro Arg Gly His
1 5 10 15

Arg Ser Lys Tyr Val Ala Leu Ile Phe Leu Val Ala Ser Leu Met Ile
20 25 30

Leu Trp Val Ala Lys Asp Pro Pro Asn His Thr Leu Lys Tyr Leu Ala
35 40 45

Leu His Leu Ala Ser His Glu Leu Gly Leu Leu Leu Lys Asn Leu Cys

```
    50                  55                  60

Cys Leu Ala Glu Glu Leu Cys His Val Gln Ser Arg Tyr Gln Gly Ser
65                  70                  75                  80

Tyr Trp Lys Ala Val Arg Ala Cys Leu Gly Cys Pro Ile His Cys Met
                85                  90                  95

Ala Met Ile Leu Leu Ser Ser Tyr Phe Tyr Phe Leu Gln Asn Thr Ala
            100                 105                 110

Asp Ile Tyr Leu Ser Trp Met Phe Gly Leu Leu Val Leu Tyr Lys Ser
        115                 120                 125

Leu Ser Met Leu Leu Gly Leu Gln Ser Leu Thr Pro Ala Glu Val Ser
    130                 135                 140

Ala Val Cys Glu Glu Lys Lys Leu Asn Val Ala His Gly Leu Ala Trp
145                 150                 155                 160

Ser Tyr Tyr Ile Gly Tyr Leu Arg Leu Ile Leu Pro Gly Leu Gln Ala
                165                 170                 175

Arg Ile Arg Met Phe Asn Gln Leu His Asn Asn Met Leu Ser Gly Ala
            180                 185                 190

Gly Ser Arg Arg Leu Tyr Ile Leu Phe Pro Leu Asp Cys Gly Val Pro
        195                 200                 205

Asp Asn Leu Ser Val Val Asp Pro Asn Ile Arg Phe Arg Asp Met Leu
    210                 215                 220

Pro Gln Gln Asn Ile Asp Arg Ala Gly Ile Lys Asn Arg Val Tyr Ser
225                 230                 235                 240

Asn Ser Val Tyr Glu Ile Leu Glu Asn Gly Gln Pro Ala Gly Val Cys
                245                 250                 255
```

Ile Leu Glu Tyr Ala Thr Pro Leu Gln Thr Leu Phe Ala Met Ser Gln
260 265 270

Asp Ala Lys Ala Gly Phe Ser Arg Glu Asp Arg Leu Glu Gln Ala Lys
275 280 285

Leu Phe Cys Arg Thr Leu Glu Glu Ile Leu Glu Asp Val Pro Glu Ser
290 295 300

Arg Asn Asn Cys Arg Leu Ile Val Tyr Gln Glu Pro Thr Asp Gly Asn
305 310 315 320

Ser Phe Ser Leu Ser Gln Glu Val Leu Arg His Ile Arg Gln Glu Glu
325 330 335

Lys Glu Glu Val Thr Met Asn Ala Pro Met Thr Ser Val Ala Pro Pro
340 345 350

Pro Ser Val Leu Ser Gln Glu Pro Arg Leu Leu Ile Ser Gly Met Asp
355 360 365

Gln Pro Leu Pro Leu Arg Thr Asp Leu Ile
370 375

<210> 11
<211> 1137
<212> DNA
<213> 小鼠

<400> 11
atgccatact ccaacctgca tccagccatc ccacggccca gaggtcaccg ctccaaatat 60

gtagccctca tctttctggt ggccagcctg atgatccttt gggtggcaaa ggatccacca 120

aatcacactc tgaagtacct agcacttcac ctagcctcgc acgaacttgg actactgttg 180

aaaaacctct gctgtctggc tgaagagctg tgccatgtcc agtccaggta ccagggcagc 240

tactggaagg ctgtgcgcgc ctgcctggga tgccccatcc actgtatggc tatgattcta 300

ctatcgtctt atttctattt cctccaaaac actgctgaca tatacctcag ttggatgttt 360

ggccttctgg tcctctataa gtccctaagc atgctcctgg gccttcagag cttgactcca 420

gcggaagtct ctgcagtctg tgaagaaaag aagttaaatg ttgcccacgg gctggcctgg 480

tcatactaca ttgggtactt gcggttgatc ttaccagggc tccaggcccg gatccgaatg 540

ttcaatcagc tacataacaa catgctcagt ggtgcaggga gccgaagact gtacatcctc 600

tttccattgg actgtggggt gcctgacaac ctgagtgtag ttgaccccaa cattcgattc 660

cgagatatgc tgccccagca aaacatcgac cgtgctggca tcaagaatcg ggtttattcc 720

aacagcgtct acgagattct ggagaacgga cagccagcag gcgtctgtat cctggagtac 780

gccacccccct tgcagaccct gtttgccatg tcacaggatg ccaaagctgg cttcagtcgg 840

gaggatcggc ttgagcaggc taaactcttc tgccggacac ttgaggaaat cctggaagat 900

gtccccgagt ctcgaaataa ctgccgcctc attgtctacc aagaacccac agacggaaac 960

agtttctcac tgtctcagga ggtgctccgg cacattcgtc aggaagaaaa ggaggaggtt 1020

accatgaatg cccccatgac ctcagtggca cctcctccct ccgtactgtc ccaagagcca 1080

agactcctca tcagtggtat ggatcagcct ctcccactcc gcactgacct catctga 1137

<210> 12
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引子

<400> 12
cgtgctggca tcaaggatcg ggtttac 27

<210> 13
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引子

<400> 13
gtcaccggtc tgctggggca gtttatc 27

<210> 14
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引子

<400> 14
gctgaccgtg ctggcatcaa ggatcgggtt tac 33

<210> 15
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引子

<400> 15
ggtctgctgg ggcagtttat ccagg 25

<210> 16
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引子

<400> 16
caccacatcc actccaggta ccgg 24

<210> 17
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引子

<400> 17
cagctcctca gccaggctgc agac 24

<210> 18
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引子

<400> 18
cagacacttg aggacatcct ggcag 25

<210> 19
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引子

<400> 19
gcagaagagt ttggcctgct caa 23

<210> 20
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引子

<400> 20
acctgtattt tcagggcctg gccccagctg agatctctg 39

<210> 21
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引子

<400> 21
cagaattcgc aagcttttaa gtaacctctt ccttttcctc ctgc 44

<210> 22
<211> 243

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HisAviTEV-hSTING (139-342)人類 WT

<400> 22

Met Gly Ser Ser His His His His His His Ser Ser Gly Ser Gly Leu
1 5 10 15

Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu Gly Gly Ser
20 25 30

Glu Asn Leu Tyr Phe Gln Gly Leu Ala Pro Ala Glu Ile Ser Ala Val
35 40 45

Cys Glu Lys Gly Asn Phe Asn Val Ala His Gly Leu Ala Trp Ser Tyr
50 55 60

Tyr Ile Gly Tyr Leu Arg Leu Ile Leu Pro Glu Leu Gln Ala Arg Ile
65 70 75 80

Arg Thr Tyr Asn Gln His Tyr Asn Asn Leu Leu Arg Gly Ala Val Ser
85 90 95

Gln Arg Leu Tyr Ile Leu Leu Pro Leu Asp Cys Gly Val Pro Asp Asn
100 105 110

Leu Ser Met Ala Asp Pro Asn Ile Arg Phe Leu Asp Lys Leu Pro Gln
115 120 125

Gln Thr Gly Asp Arg Ala Gly Ile Lys Asp Arg Val Tyr Ser Asn Ser
130 135 140

Ile Tyr Glu Leu Leu Glu Asn Gly Gln Arg Ala Gly Thr Cys Val Leu
145 150 155 160

Glu Tyr Ala Thr Pro Leu Gln Thr Leu Phe Ala Met Ser Gln Tyr Ser
165 170 175

Gln Ala Gly Phe Ser Arg Glu Asp Arg Leu Glu Gln Ala Lys Leu Phe
180 185 190

Cys Arg Thr Leu Glu Asp Ile Leu Ala Asp Ala Pro Glu Ser Gln Asn
195 200 205

Asn Cys Arg Leu Ile Ala Tyr Gln Glu Pro Ala Asp Asp Ser Ser Phe
210 215 220

Ser Leu Ser Gln Glu Val Leu Arg His Leu Arg Gln Glu Glu Lys Glu
225 230 235 240

Glu Val Thr

<210> 23
<211> 243
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HisAviTEV-hSTING (139-342)人類 REF 變異體

<400> 23

Met Gly Ser Ser His His His His His His Ser Ser Gly Ser Gly Leu
1 5 10 15

Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu Gly Gly Ser
20 25 30

Glu Asn Leu Tyr Phe Gln Gly Leu Ala Pro Ala Glu Ile Ser Ala Val
35 40 45

Cys Glu Lys Gly Asn Phe Asn Val Ala His Gly Leu Ala Trp Ser Tyr
50 55 60

Tyr Ile Gly Tyr Leu Arg Leu Ile Leu Pro Glu Leu Gln Ala Arg Ile
65 70 75 80

Arg Thr Tyr Asn Gln His Tyr Asn Asn Leu Leu Arg Gly Ala Val Ser
85 90 95

Gln Arg Leu Tyr Ile Leu Leu Pro Leu Asp Cys Gly Val Pro Asp Asn
100 105 110

Leu Ser Met Ala Asp Pro Asn Ile Arg Phe Leu Asp Lys Leu Pro Gln
115 120 125

Gln Thr Gly Asp His Ala Gly Ile Lys Asp Arg Val Tyr Ser Asn Ser
130 135 140

Ile Tyr Glu Leu Leu Glu Asn Gly Gln Arg Ala Gly Thr Cys Val Leu
145 150 155 160

Glu Tyr Ala Thr Pro Leu Gln Thr Leu Phe Ala Met Ser Gln Tyr Ser
165 170 175

Gln Ala Gly Phe Ser Arg Glu Asp Arg Leu Glu Gln Ala Lys Leu Phe
180 185 190

Cys Arg Thr Leu Glu Asp Ile Leu Ala Asp Ala Pro Glu Ser Gln Asn
195 200 205

Asn Cys Arg Leu Ile Ala Tyr Gln Glu Pro Ala Asp Asp Ser Ser Phe
210 215 220

Ser Leu Ser Gln Glu Val Leu Arg His Leu Arg Gln Glu Glu Lys Glu
225 230 235 240

Glu Val Thr

<210> 24
<211> 243
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HisAviTEV-hSTING (139-342)人類 AQ 變異體

<400> 24

Met Gly Ser Ser His His His His His His Ser Ser Gly Ser Gly Leu
1 5 10 15

Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu Gly Gly Ser
20 25 30

Glu Asn Leu Tyr Phe Gln Gly Leu Ala Pro Ala Glu Ile Ser Ala Val
35 40 45

Cys Glu Lys Gly Asn Phe Asn Val Ala His Gly Leu Ala Trp Ser Tyr
50 55 60

Tyr Ile Gly Tyr Leu Arg Leu Ile Leu Pro Glu Leu Gln Ala Arg Ile
65 70 75 80

Arg Thr Tyr Asn Gln His Tyr Asn Asn Leu Leu Arg Gly Ala Val Ser
85 90 95

Gln Arg Leu Tyr Ile Leu Leu Pro Leu Asp Cys Gly Val Pro Asp Asn
100 105 110

Leu Ser Met Ala Asp Pro Asn Ile Arg Phe Leu Asp Lys Leu Pro Gln
115 120 125

Gln Thr Ala Asp Arg Ala Gly Ile Lys Asp Arg Val Tyr Ser Asn Ser
130 135 140

Ile Tyr Glu Leu Leu Glu Asn Gly Gln Arg Ala Gly Thr Cys Val Leu
145 150 155 160

Glu Tyr Ala Thr Pro Leu Gln Thr Leu Phe Ala Met Ser Gln Tyr Ser
165 170 175

Gln Ala Gly Phe Ser Arg Glu Asp Arg Leu Glu Gln Ala Lys Leu Phe
180 185 190

Cys Gln Thr Leu Glu Asp Ile Leu Ala Asp Ala Pro Glu Ser Gln Asn
195 200 205

Asn Cys Arg Leu Ile Ala Tyr Gln Glu Pro Ala Asp Asp Ser Ser Phe
210 215 220

Ser Leu Ser Gln Glu Val Leu Arg His Leu Arg Gln Glu Glu Lys Glu
225 230 235 240

Glu Val Thr

<210> 25
<211> 243
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HisAviTEV-hSTING (139-342)小鼠WT

<400> 25

Met Gly Ser Ser His His His His His His Ser Ser Gly Ser Gly Leu
1 5 10 15

Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu Gly Gly Ser
20 25 30

Glu Asn Leu Tyr Phe Gln Gly Leu Thr Pro Ala Glu Val Ser Ala Val
35 40 45

Cys Glu Glu Lys Lys Leu Asn Val Ala His Gly Leu Ala Trp Ser Tyr
50 55 60

Tyr Ile Gly Tyr Leu Arg Leu Ile Leu Pro Gly Leu Gln Ala Arg Ile
65 70 75 80

Arg Met Phe Asn Gln Leu His Asn Asn Met Leu Ser Gly Ala Gly Ser
85 90 95

Arg Arg Leu Tyr Ile Leu Phe Pro Leu Asp Cys Gly Val Pro Asp Asn
100 105 110

Leu Ser Val Val Asp Pro Asn Ile Arg Phe Arg Asp Met Leu Pro Gln
115 120 125

Gln Asn Ile Asp Arg Ala Gly Ile Lys Asn Arg Val Tyr Ser Asn Ser
130 135 140

Val Tyr Glu Ile Leu Glu Asn Gly Gln Pro Ala Gly Val Cys Ile Leu
145 150 155 160

Glu Tyr Ala Thr Pro Leu Gln Thr Leu Phe Ala Met Ser Gln Asp Ala
165 170 175

Lys Ala Gly Phe Ser Arg Glu Asp Arg Leu Glu Gln Ala Lys Leu Phe
180 185 190

Cys Arg Thr Leu Glu Glu Ile Leu Glu Asp Val Pro Glu Ser Arg Asn
195 200 205

Asn Cys Arg Leu Ile Val Tyr Gln Glu Pro Thr Asp Gly Asn Ser Phe
210 215 220

Ser Leu Ser Gln Glu Val Leu Arg His Ile Arg Gln Glu Glu Lys Glu
225 230 235 240

Glu Val Thr

<210> 26
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 改造 LPS 抗體輕鏈

<400> 26

```
Asn Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1               5                  10                  15

Glu Arg Ala Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Glu Asn Val Gly Asn Ser
            20                  25                  30

Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Pro Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Ala Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala
65                  70                  75                  80

Glu Asp Val Ala Val Tyr His Cys Gly Gln Ser Tyr Ser Tyr Pro Tyr
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190
```

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 27
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 改造 LPS 抗體重鏈

<400> 27

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
20 25 30

Trp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Asn Ile Tyr Pro Gly Thr Arg Ser Ser Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Asn Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Val Tyr Tyr Asp His Val Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys
450

<210> 28
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 帕妥珠單抗輕鏈

<400> 28

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

```
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Ile Gly
            20                  25                  30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ile Tyr Pro Tyr
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 29
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 帕妥珠單抗重鏈

<400> 29

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Thr Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Asp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Gln Arg Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Leu Ser Val Asp Arg Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

```
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350
```

```
Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        435                 440                 445

Lys
```

<210> 30
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 改造 HER2 抗體 2 重鏈

<400> 30

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr
            20                  25                  30

Thr Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
```

```
Ala Asp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Gln Arg Phe
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Leu Ser Val Asp Arg Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        115                 120                 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255
```

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 31
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗 CD33 抗體輕鏈

<400> 31

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Leu Asp Asn Tyr
20 25 30

Gly Ile Arg Phe Leu Thr Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Met Tyr Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Val Pro Ser
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80

Ser Leu Gln Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Lys
85 90 95

Glu Val Pro Trp Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Val Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 32
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗 CD33 抗體重鏈

<400> 32

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Ile Thr Asp Ser
20 25 30

Asn Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Tyr Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Asp Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Asn Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Asn Pro Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

```
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Phe Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Val Asn Gly Asn Pro Trp Leu Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
            100                 105                 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
        115                 120                 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
    130                 135                 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145                 150                 155                 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
                165                 170                 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
            180                 185                 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
        195                 200                 205

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
    210                 215                 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
225                 230                 235                 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
                245                 250                 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
            260                 265                 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
        275                 280                 285
```

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 33
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗 EphA2 抗體輕鏈

<400> 33

```
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1               5                  10                  15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser
            20                  25                  30

Ser Gly Ile Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
                85                  90                  95

Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105                 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
        115                 120                 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
    130                 135                 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145                 150                 155                 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
                165                 170                 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
            180                 185                 190
```

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 34
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗 EphA2 抗體重鏈

<400> 34

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ile Asp Tyr
20 25 30

Ser Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ser Asp Asp Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Thr Tyr Tyr Arg Tyr Glu Arg Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

```
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335
```

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 35
<211> 213
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗 CDH6 抗體輕鏈

<400> 35

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Ile Tyr Lys Asn
20 25 30

```
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Asp Ala Asn Thr Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Trp Ala
                85                  90                  95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
            100                 105                 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
        115                 120                 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
    130                 135                 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145                 150                 155                 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
                165                 170                 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
            180                 185                 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
        195                 200                 205

Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 36
<211> 452
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗 CDH6 抗體重鏈

<400> 36

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Asn
20 25 30

Phe Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Glu Thr Glu Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Val Tyr Gly Gly Phe Ala Gly Gly Tyr Phe Asp Phe Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

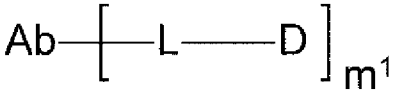
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

```
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
        195                 200                 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser
    210                 215                 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
225                 230                 235                 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
                245                 250                 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
            260                 265                 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
        275                 280                 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
    290                 295                 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305                 310                 315                 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro
                325                 330                 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
            340                 345                 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
        355                 360                 365
```

```
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
    370                 375                 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385                 390                 395                 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
                405                 410                 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
            420                 425                 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
        435                 440                 445

Ser Pro Gly Lys
    450
```

【發明申請專利範圍】

【請求項 1】一種抗體藥物結合物，其係下式(II)所表示的抗體藥物結合物：



(II)

，

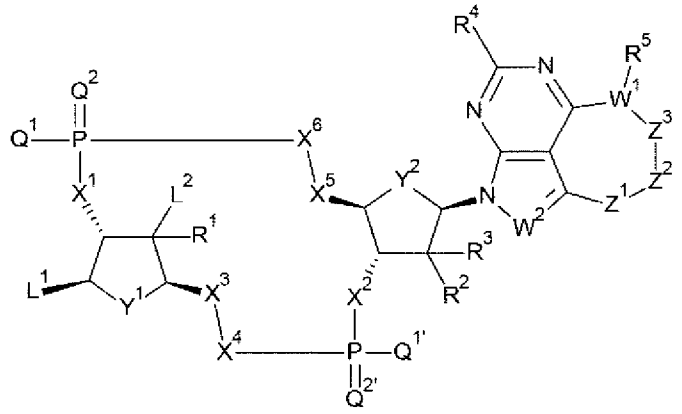
式中，m^1 為 1 至 10 之範圍，

Ab 表示抗體或該抗體之功能性片段，且該抗體之糖鏈可被重塑，

L 表示連結 Ab 與 D 的連接子，

Ab 可直接自其胺基酸殘基與 L 結合、或可自 Ab 之糖鏈或被重塑的糖鏈與 L 結合，

D 為下式(I)所表示的化合物，



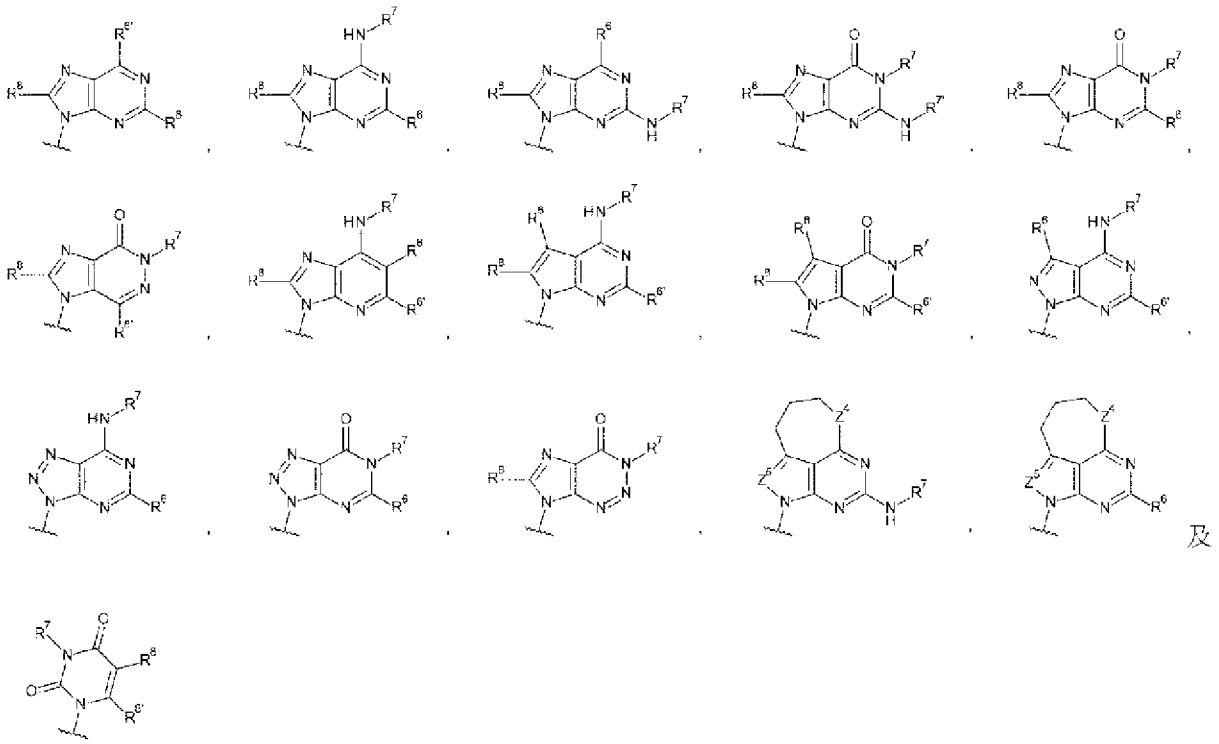
(I)

，

其中，

L 與 L^1 或 L^2 所含的任意之-NH_2 或羥基結合，

L^1 表示選自由下式所組成的群組的基，其可於任意之位置經選自由羥基、-NH_2、2-羥基乙醯基胺基甲基及 2-[(2-羥基乙醯基)胺基]乙基所組成的群組的 1 至 3 個之基取代：



及

，

其中，

R^6及$R^{6'}$各自獨立表示氫原子、鹵素原子、羥基、-NH_2、C1-C6烷基、C2-C6烯基或C2-C6炔基，

R^7及$R^{7'}$各自獨立表示氫原子或C1-C6烷基，該C1-C6烷基可經選自由鹵素原子及側氧基組成的群組的1或2個之取代基取代，

R^8及$R^{8'}$各自獨立表示氫原子或鹵素原子，

Z^4表示-CH_2-、-NH-或氧原子，

Z^5表示氮原子或-CH=，

L^2表示選自下述(i)或(ii)的基：

(i)與L結合時，L^2表示-NHR'、羥基C1-C6烷基或胺基C1-C6烷基，其中，R'表示氫原子、C1-C6烷基、C2-C6烯基、C2-C6炔基或C3-C6環烷基，該C1-C6烷基、C2-C6烯基或C2-C6炔基可經1至6個之

鹵素原子取代；或

(ii)未與 L 結合時，L^2 表示氫原子或鹵素原子，

Q^1 及 $Q^{1'}$ 各自獨立表示羥基、硫醇基或硼烷基(BH_3^-)，

Q^2 及 $Q^{2'}$ 各自獨立表示氧原子或硫原子，

X^1 及 X^2 各自獨立表示氧原子、硫原子或-CH_2-，

Y^1 及 Y^2 表示氧原子或-CH_2-，

X^3 及 X^4 表示選自下述(iii)或(iv)的基：

(iii)Y^1 為氧原子時，X^3-X^4 表示-CH_2-O-、-CH_2-S-、-CH_2-CH_2-或-CH_2-CF_2-；或

(iv)Y^1 為-CH_2-時，X^3-X^4 表示-O-CH_2-，

X^5 及 X^6 表示選自下述(v)或(vi)的基：

(v)Y^2 為氧原子時，X^5-X^6 表示-CH_2-O-、-CH_2-S-、-CH_2-CH_2-或-CH_2-CF_2-；或

(vi)Y^2 為-CH_2-時，X^5-X^6 表示-O-CH_2-，

R^1、R^2 及 R^3 各自獨立表示氫原子、鹵素原子、-OR'、-OC(=O)R'、-N_3、-NHR'、-NR'R''或-NHC(=O)R'，其中，R'如前述定義，R''表示 C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基或 C3-C6 環烷基，

W^1 表示氮原子、氧原子、硫原子或-CH-，

W^2 表示氮原子或-CH=，

R^4 表示氫原子、鹵素原子或-NH_2，

R^5 表示選自下述(vii)至(x)的基：

(vii)W^1 為氮原子時，R^5 表示氫原子、C1-C6 烷基、羥

基 C1-C6 烷基或胺基 C1-C6 烷基；

(viii)W^1 為氧原子時，R^5 不存在；

(ix)W^1 為硫原子時，R^5 不存在；或

(x)W^1 為-CH-時，R^5 表示氫原子、鹵素原子、羥基、-NH_2 或 C1-C6 烷基，

Z^1-Z^2-Z^3 係一起而表示選自以下之基：-CH_2-CH_2-CH_2-、-CH_2-CH_2-R'''-、-CH=CH-CH_2-、-CH=CX-CH_2-、-CX=CH-CH_2-、-CX=CX-CH_2-、-C(=O)-CH_2-CH_2-、-CH_2-CH_2-C(=O)-、-CH_2-CH(CH_3)-CH_2-或-CH_2-CH_2-CH(CH_3)-或下述式之任一者所表示的基，其中，R'''表示-O-或-CH_2-CH_2-，X 表示鹵素原子，

，

其中，星號表示與 W^1 結合者，波浪線表示與=C-之碳原子結合者。

【請求項 2】如請求項 1 之抗體藥物結合物，其中 W^1 為氮原子。

【請求項 3】如請求項 2 之抗體藥物結合物，其中 W^1 為氮原子，R^5 為氫原子。

【請求項 4】如請求項 1 之抗體藥物結合物，其中 W^1 為氧原子。

【請求項 5】如請求項 1 之抗體藥物結合物，其中 W^1 為硫原子。

【請求項 6】如請求項 1 之抗體藥物結合物，其中 W^1 為-CH-。

【請求項 7】如請求項 6 之抗體藥物結合物，其中 W^1 為-CH-，R^5 為氫原子。

【請求項 8】如請求項 1 至 7 中任一項之抗體藥物結合物，其中

Z^1、Z^2及Z^3係一起而為-CH_2-CH_2-CH_2-或-CH=CH-CH_2-。

【請求項9】如請求項1至7中任一項之抗體藥物結合物，其中Z^1、Z^2及Z^3係一起而為-CH_2-CH(CH_3)-CH_2-或-CH_2-CH_2-CH(CH_3)-。

【請求項10】如請求項1至7中任一項之抗體藥物結合物，其中Z^1、Z^2及Z^3係一起而為-CH_2-CH_2-R'''-，其中，R'''表示-O-或-CH_2-CH_2-。

【請求項11】如請求項1至7中任一項之抗體藥物結合物，其中W^2為-CH=。

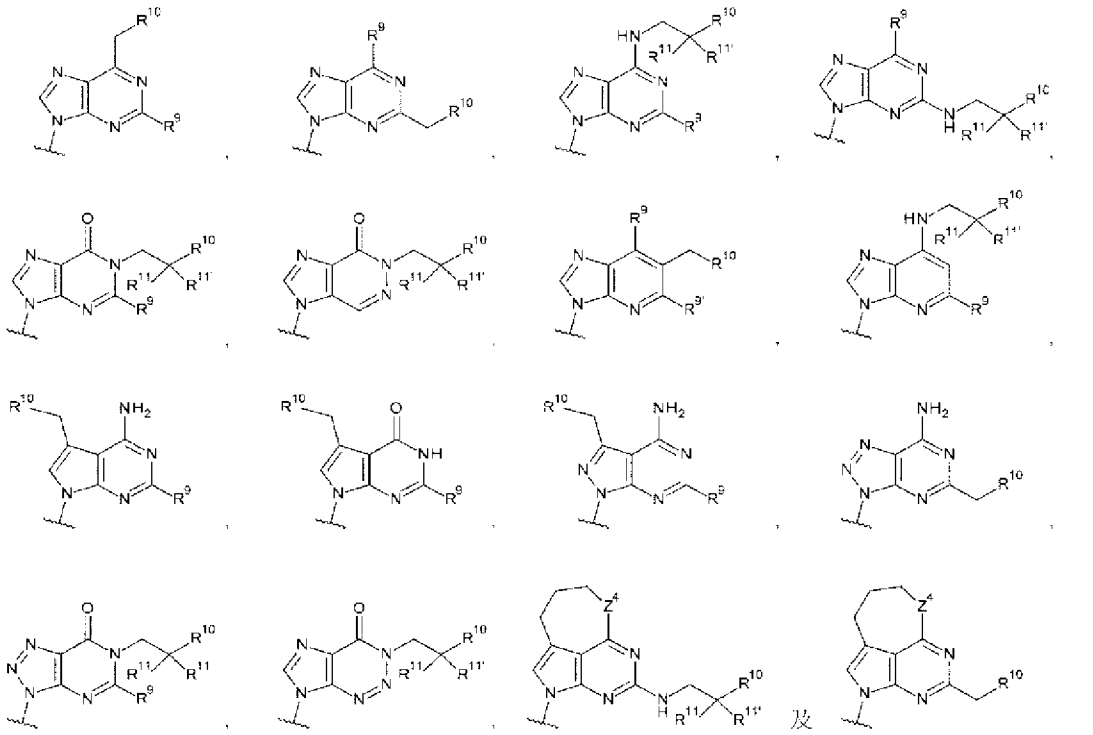
【請求項12】如請求項1至7中任一項之抗體藥物結合物，其中W^2為氮原子。

【請求項13】如請求項1至7中任一項之抗體藥物結合物，其中R^4表示氫原子。

【請求項14】如請求項1至7中任一項之抗體藥物結合物，其中R^4表示氟原子。

【請求項15】如請求項1至7中任一項之抗體藥物結合物，其中L^1中之R^8及$R^{8'}$各自獨立為氫原子。

【請求項16】如請求項1至7中任一項之抗體藥物結合物，其中L^1為選自由下式所組成的群組的基：



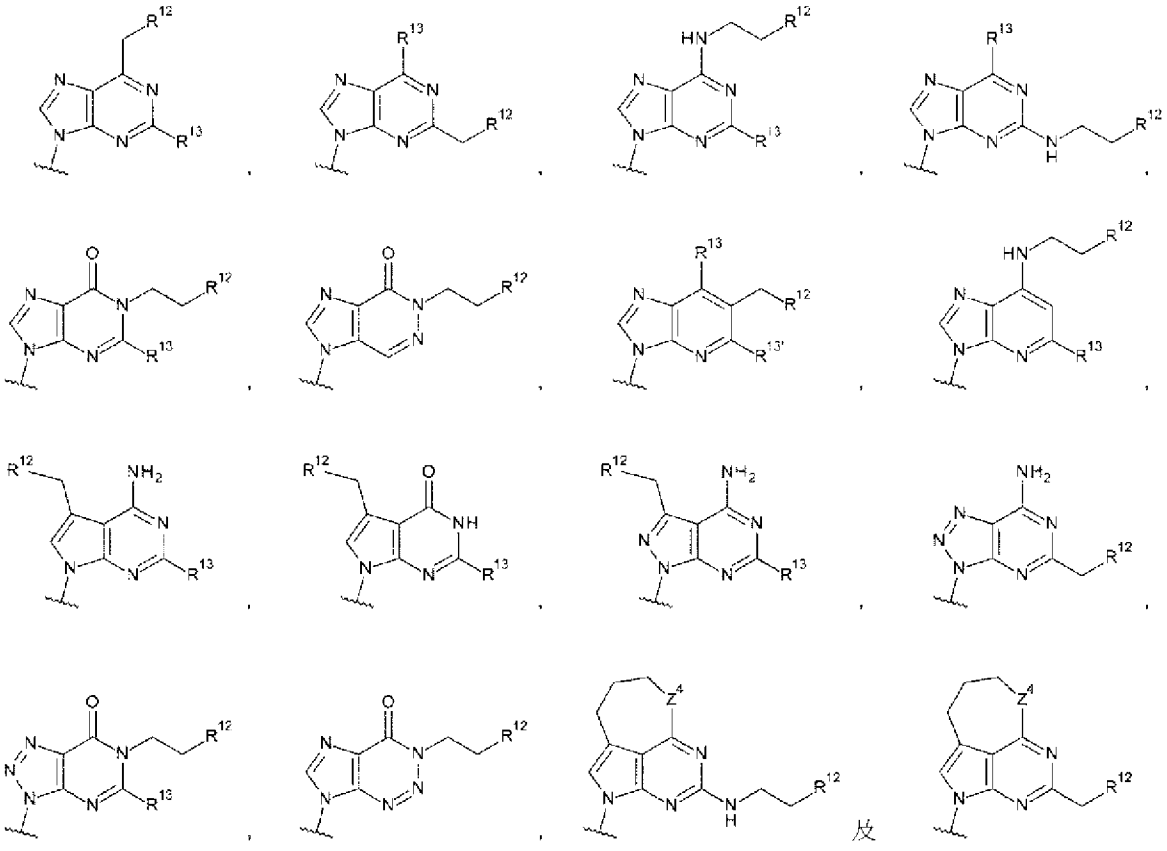
其中，R^9及$R^{9'}$表示氫原子、鹵素原子、羥基或-NH_2，

R^{10}表示羥基、-NH_2、-NHC(=O)CH_2OH、-CH_2NHC(=O)CH_2OH、-CH_2CH_2NHC(=O)CH_2OH、羥基 C1-C3 烷基或胺基 C1-C3 烷基，

R^{11}及$R^{11'}$各自獨立表示氫原子、氟原子或者甲基，或R^{11}及$R^{11'}$結合而表示環丙烷，

Z^4表示-CH_2-、-NH-或氧原子。

【請求項 17】如請求項 1 至 7 中任一項之抗體藥物結合物，其中L^1為選自由下式所組成的群組的基：

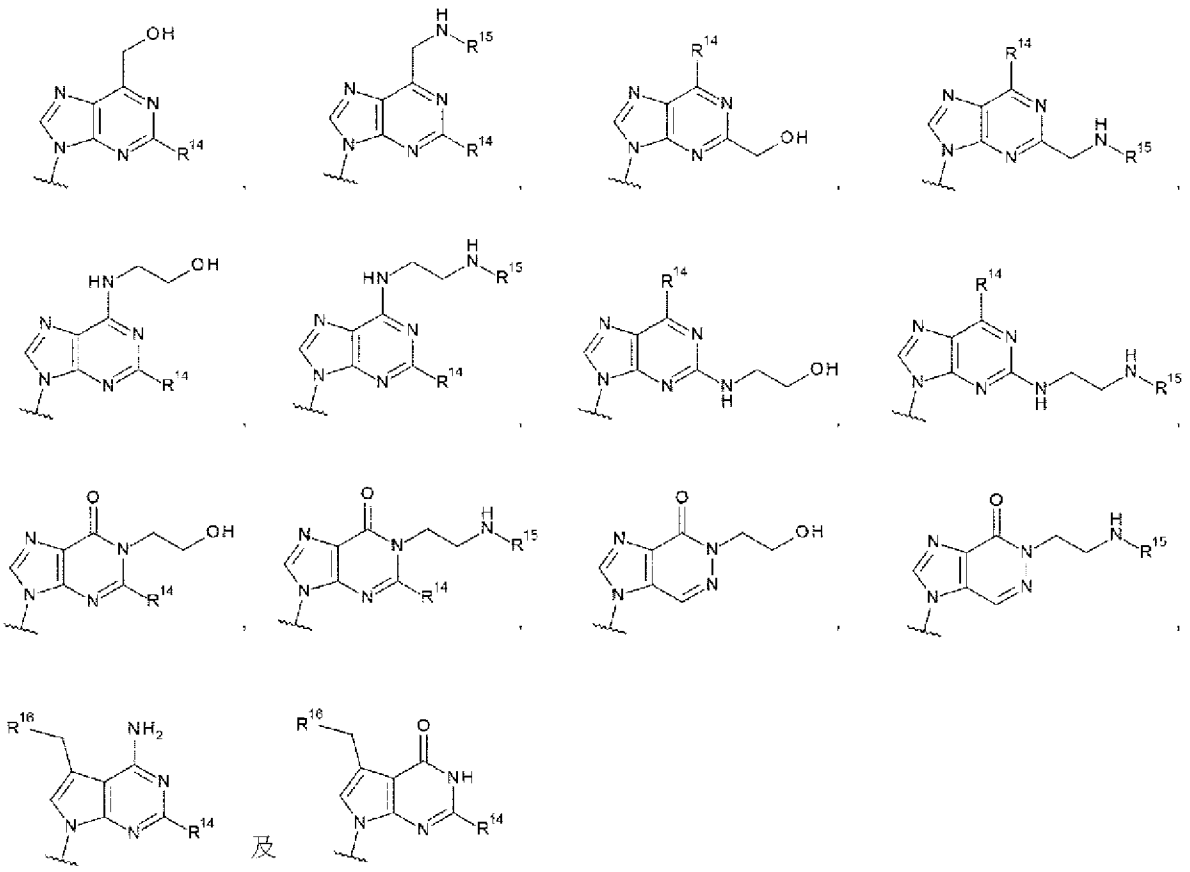


其中，R^{13} 及 $R^{13'}$ 各自獨立表示氫原子、羥基或-NH_2，

R^{12} 表示羥基、-NH_2、-CH_2OH、-$NHC(=O)CH_2OH$、-$CH_2NHC(=O)CH_2OH$ 或-$CH_2CH_2NHC(=O)CH_2OH$，

Z^4 為如前述定義。

【請求項 18】如請求項 1 至 7 中任一項之抗體藥物結合物，其中 L^1 為選自由下式所組成的群組的基：



，

其中，R^{14}表示氫原子或-NH_2，

R^{15}表示氫原子或-$C(=O)CH_2OH$，

R^{16}表示羥基、-NH_2、-CH_2OH、-CH_2CH_2OH、-CH_2NH_2或-$CH_2CH_2NH_2$。

【請求項 19】如請求項 1 至 7 中任一項之抗體藥物結合物，其中 L^2 與 L 結合，表示-NH_2、-CH_2NH_2 或-CH_2OH。

【請求項 20】如請求項 1 至 7 中任一項之抗體藥物結合物，其中 L^2 未與 L 結合，表示氫原子或氟原子。

【請求項 21】如請求項 1 至 7 中任一項之抗體藥物結合物，其中 Q^1 及 $Q^{1'}$ 各自獨立表示羥基或硫醇基。

【請求項 22】如請求項 1 至 7 中任一項之抗體藥物結合物，其中 X^1 及 X^2 表示氧原子。

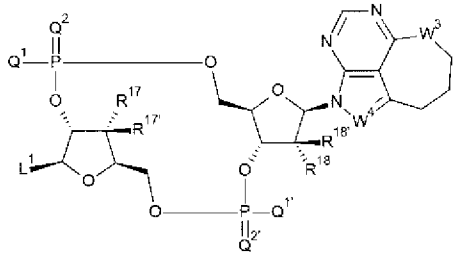
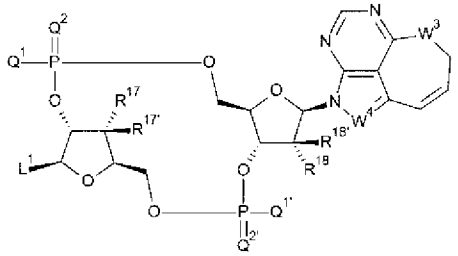
【請求項 23】如請求項 1 至 7 中任一項之抗體藥物結合物，其中 Y^1 及 Y^2 表示氧原子。

【請求項 24】如請求項 1 至 7 中任一項之抗體藥物結合物，其中 X^3 及 X^4 表示-CH_2-O-。

【請求項 25】如請求項 1 至 7 中任一項之抗體藥物結合物，其中 X^5 及 X^6 表示-CH_2-O-。

【請求項 26】如請求項 1 至 7 中任一項之抗體藥物結合物，其中 R^1、R^2 及 R^3 各自獨立為氫原子、羥基或氟原子。

【請求項 27】如請求項 1 至 7 中任一項之抗體藥物結合物，其中 D 為以下列之 2 式的任一者所表示者：


或

，

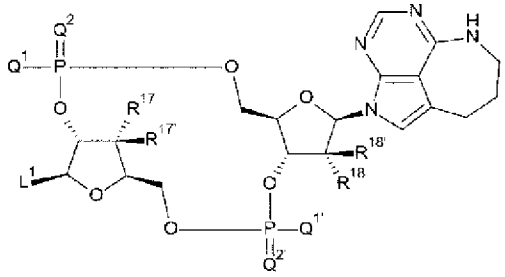
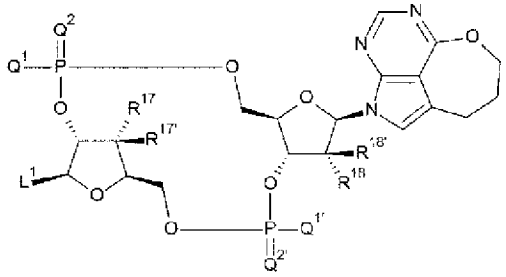
其中，L^1、Q^1、$Q^{1'}$、Q^2 及 $Q^{2'}$ 為如前述定義，

R^{17}、$R^{17'}$、R^{18} 及 $R^{18'}$ 各自獨立表示氫原子、鹵素原子、羥基或-NH_2，

W^3 表示-NH-、氧原子、硫原子或-CH_2-，

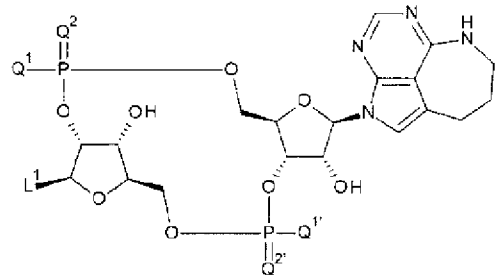
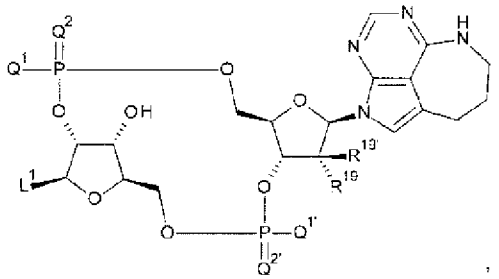
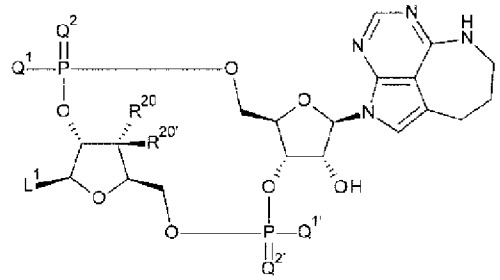
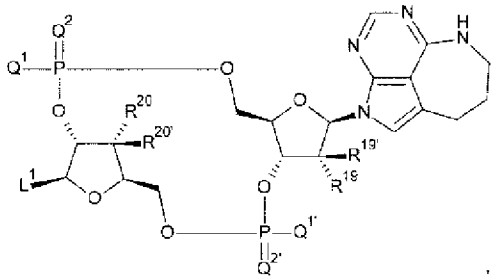
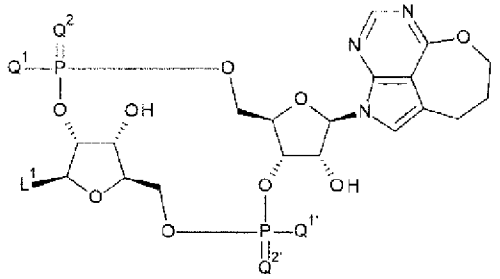
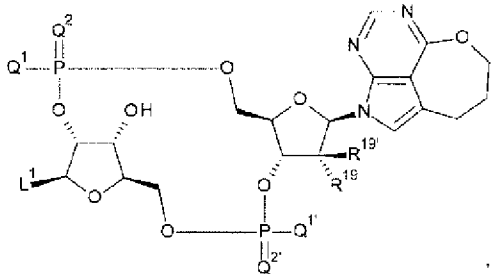
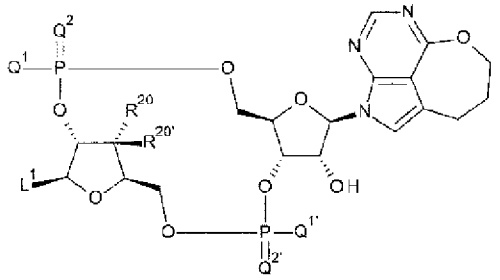
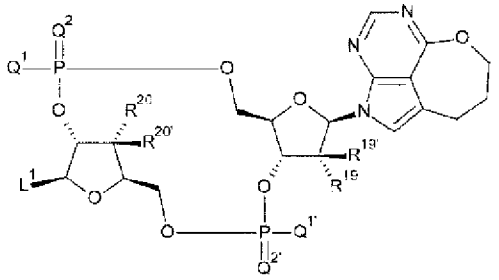
W^4 表示-CH=或氮原子。

【請求項 28】如請求項 27 之抗體藥物結合物，其中 D 為以下列之 2 式的任一者所表示者：


或

，

其中，L^1、Q^1、$Q^{1'}$、Q^2、$Q^{2'}$、R^{17}、$R^{17'}$、R^{18}及$R^{18'}$為如前述定義。

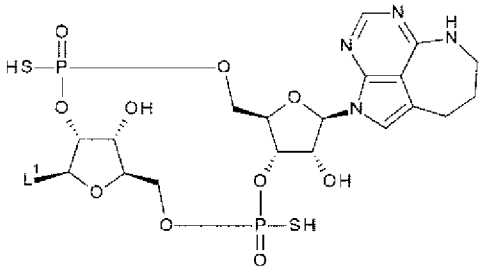
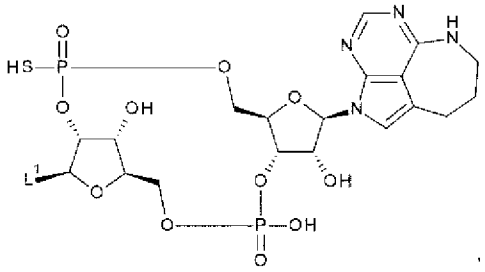
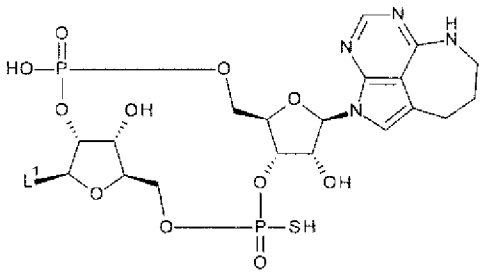
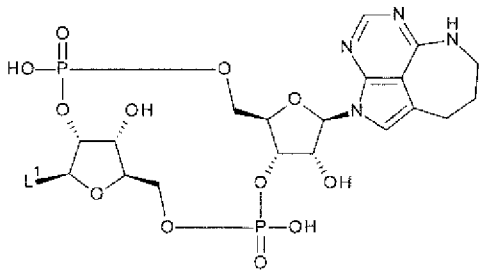
【請求項29】如請求項27之抗體藥物結合物，其中D為以下列之8式的任一者所表示者：


，

，

，

，

，

，

或

，

其中，L^1、Q^1、$Q^{1'}$、Q^2及$Q^{2'}$為如前述定義，

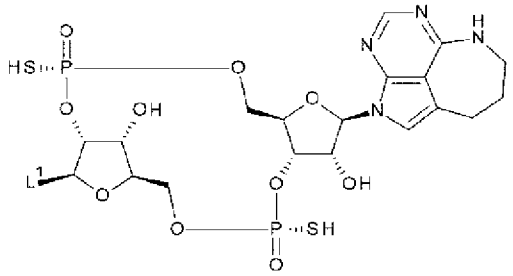
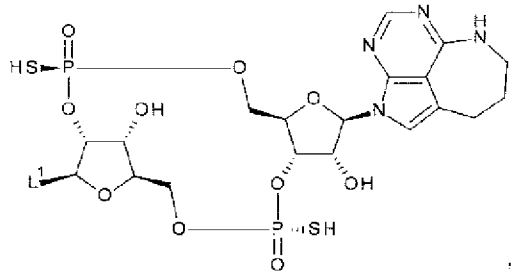
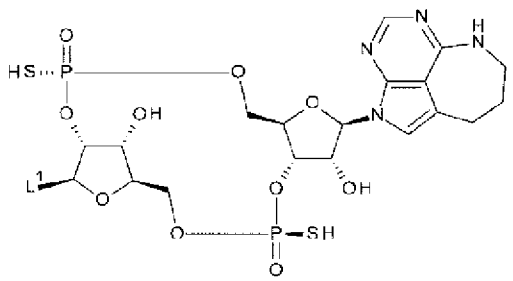
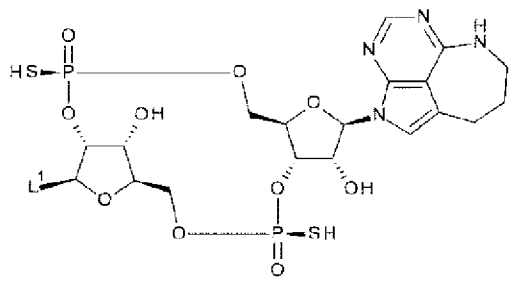
R^{19}、$R^{19'}$、R^{20}及$R^{20'}$各自獨立表示氫原子或氟原子。

【請求項30】如請求項27之抗體藥物結合物，其中D為以下列之4式的任一者所表示者：


，

，

或

，

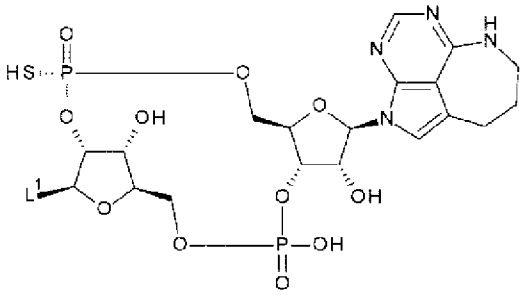
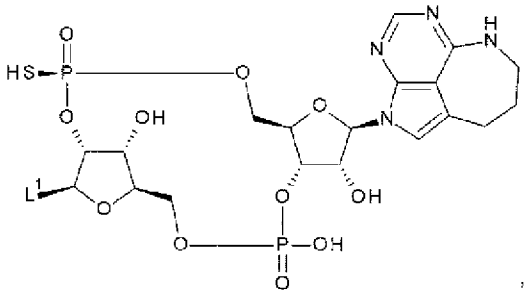
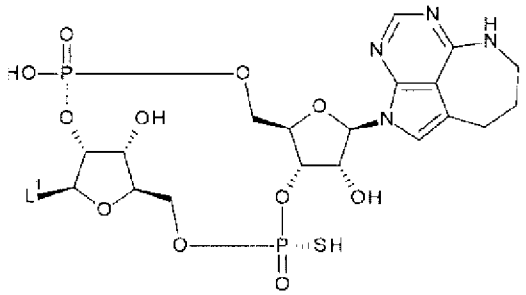
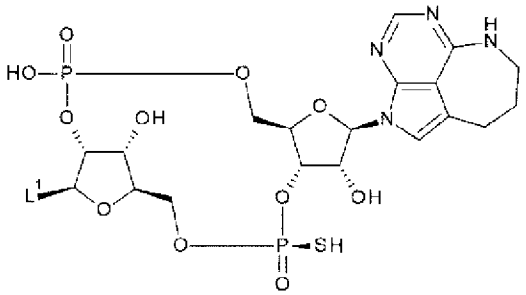
其中，L^1 為如前述定義。

【請求項 31】如請求項 27 之抗體藥物結合物，其中 D 為以下列之 4 式的任一者所表示者：


，

，

或

，

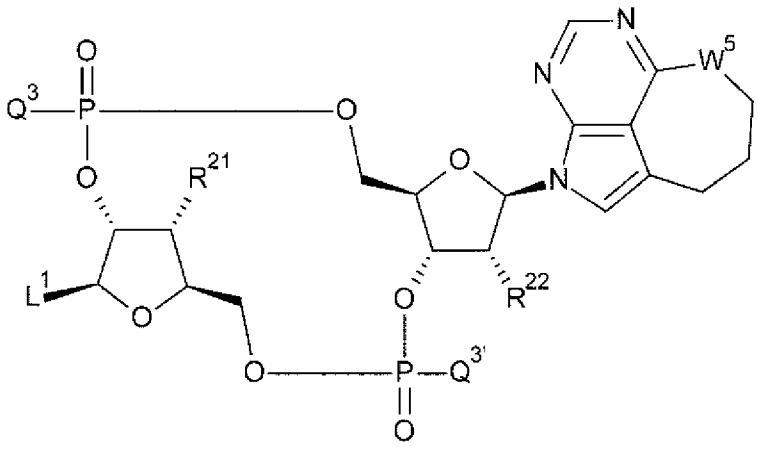
其中，L^1 為如前述定義。

【請求項 32】如請求項 27 之抗體藥物結合物，其中 D 為以下列之 4 式的任一者所表示者：


,

,

或

，

其中，L^1為如前述定義。

【請求項 33】如請求項 1 至 7 中任一項之抗體藥物結合物，其中 D 為下式所示者：


，

其中，L^1為如前述定義，

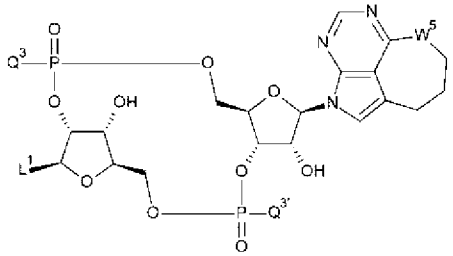
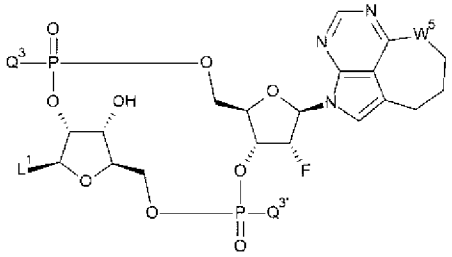
Q^3及$Q^{3'}$各自獨立表示羥基或硫醇基，

R^{21}及R^{22}各自獨立表示羥基或氟原子，

W^5表示-NH-或硫原子。

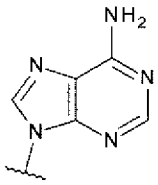
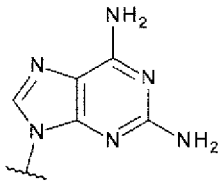
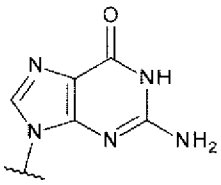
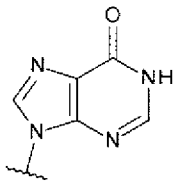
【請求項 34】如請求項 33 之抗體藥物結合物，其中 D 為以下列

之 2 式的任一者所表示者：

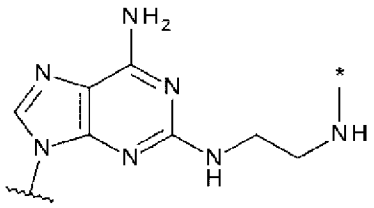
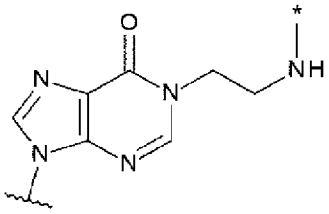
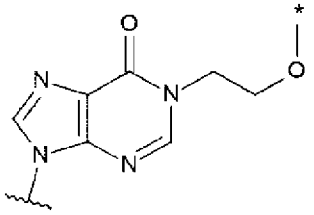

或

，

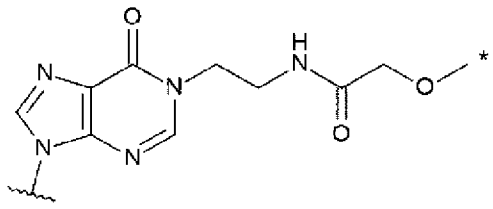
其中，L^1、Q^3 及 $Q^{3'}$、W^5 為如前述定義。

【請求項 35】如請求項 1 至 7 中任一項之抗體藥物結合物，其中 L^1 為以下列之 4 式的任一者所表示者：


，

，

或

。

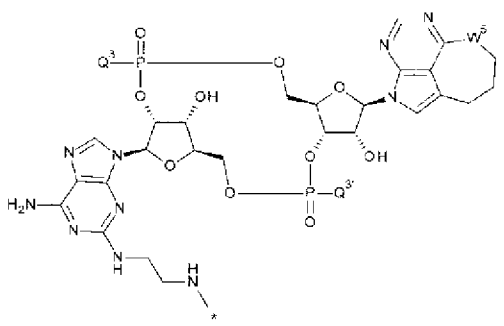
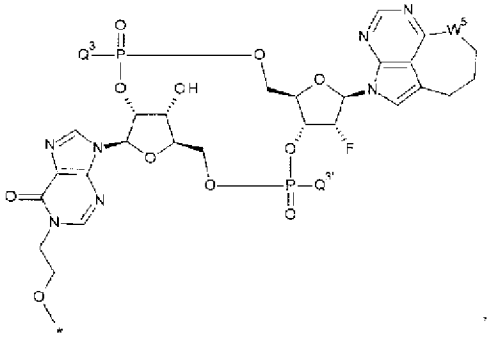
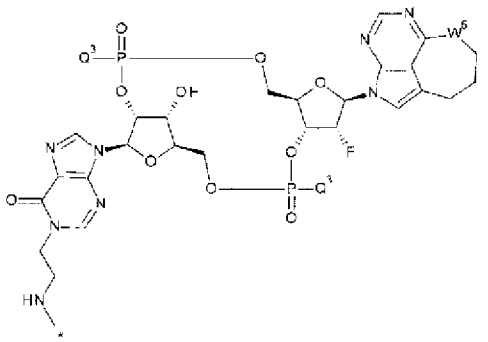
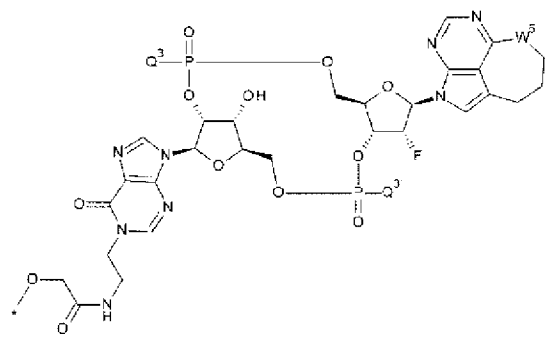
【請求項 36】如請求項 1 至 7 中任一項之抗體藥物結合物，其中 L^1 為以下列之 4 式的任一者所表示者：


，

，


或

，

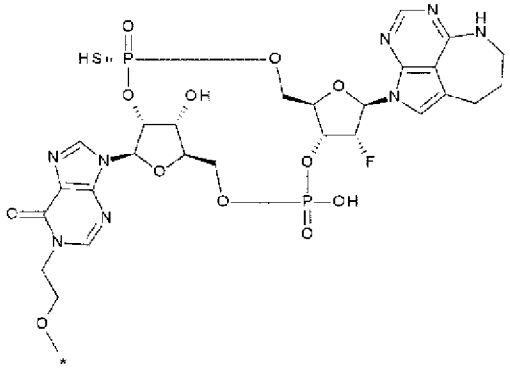
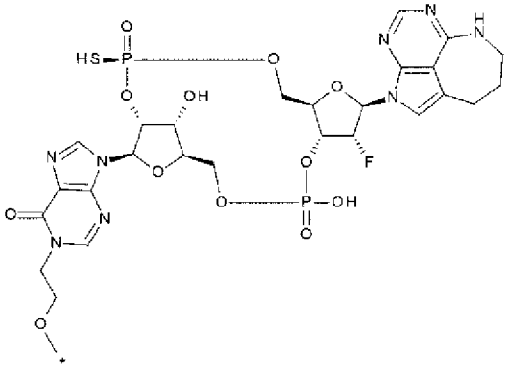
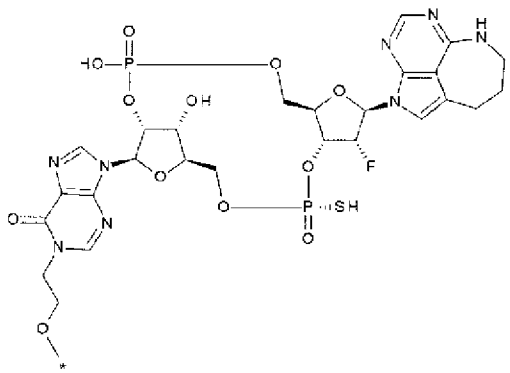
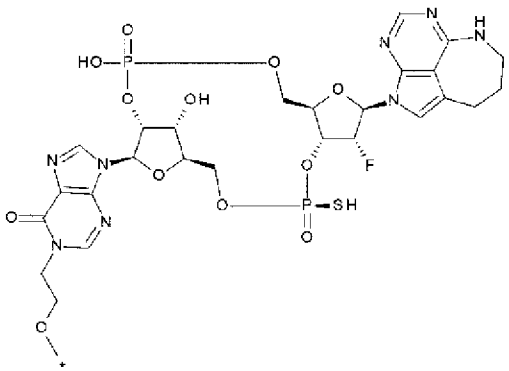
式中，星號表示與 L 結合者。

【請求項 37】如請求項 33 之抗體藥物結合物，其中 D 為以下列之 4 式的任一者所表示者：




或

，

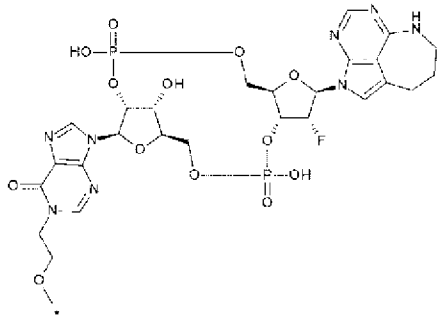
其中，星號表示與 L 結合者，Q^3、$Q^{3'}$及 W^5 為如前述定義。

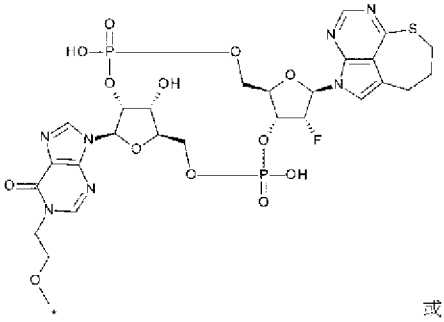
【請求項 38】如請求項 33 之抗體藥物結合物，其中 D 為以下列之 4 式的任一者所表示者：

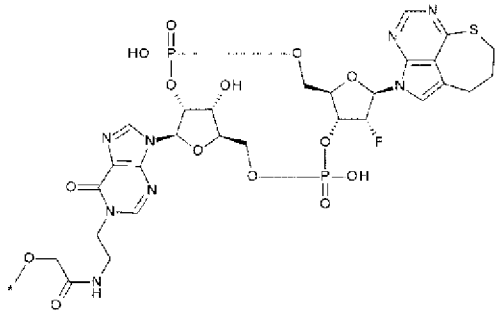



或

，

其中，星號表示與 L 結合者。

【請求項 39】如請求項 33 之抗體藥物結合物，其中 D 為以下列之 3 式的任一者所表示者：

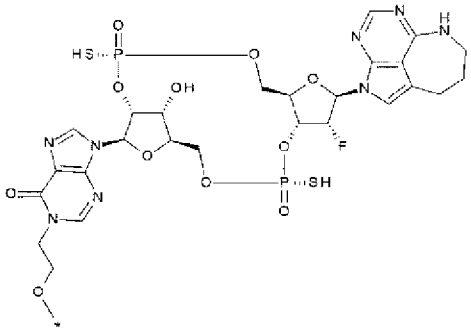

，

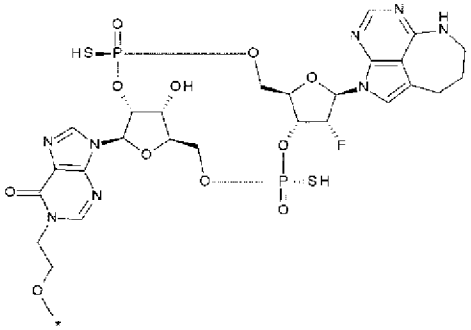

或

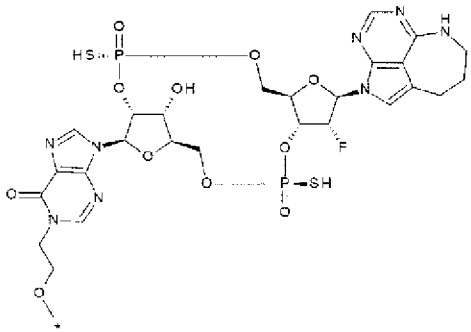

，

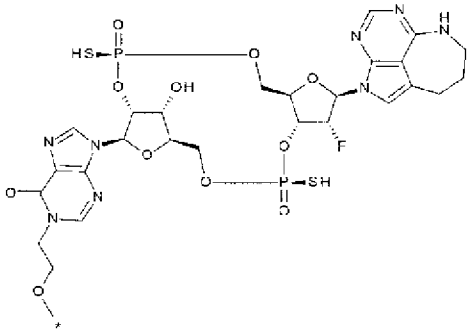
其中，星號表示與 L 結合者。

【請求項 40】如請求項 33 之抗體藥物結合物，其中 D 為以下列之 4 式的任一者所表示者：


，


，


或


，

其中，星號表示與 L 結合者。

【請求項 41】如請求項 1 至 7 中任一項之抗體藥物結合物，其中連接子 L 以-Lb-La-Lp-Lc-＊表示，

式中，星號表示與藥物 D 結合者，

Lp 表示由在標的細胞中可切斷的胺基酸序列所構成的連接子或不存在，

La 表示選自以下之群組的任一者，

$-C(=O)-(CH_2CH_2)n^2-C(=O)-$、

$-C(=O)-(CH_2CH_2)n^2-CH_2-C(=O)-$、

$-C(=O)-(CH_2CH_2)n^2-C(=O)-NH-(CH_2CH_2)n^3-C(=O)-$、

$-C(=O)-(CH_2CH_2)n^2-C(=O)-NH-(CH_2CH_2)n^3-CH_2-C(=O)-$、

$-C(=O)-(CH_2CH_2)n^2-C(=O)-NH-(CH_2CH_2O)n^3-CH_2-C(=O)-$、

$-(CH_2)n^4-O-C(=O)-$、及

$-(CH_2)n^9-C(=O)-$，

其中，n^2 表示 1 至 3 之整數，n^3 表示 1 至 5 之整數，n^4 表示 0 至 2 之整數，n^9 表示 2 至 7 之整數，

Lb 表示將 La 與 Ab 之糖鏈或被重塑的糖鏈結合的間隔子或將 La 與 Ab 之半胱胺酸殘基結合的間隔子，以及

Lc 表示$-NH-CH_2-$、-NH-苯基$-CH_2-O(C=O)-$或-NH-雜芳基$-CH_2-O(C=O)-$或不存在。

【請求項 42】如請求項 41 之抗體藥物結合物，其中 Lc 不存在。

【請求項 43】如請求項 41 之抗體藥物結合物，其中 Lc 為-NH-

CH_2-。

【請求項 44】如請求項 41 之抗體藥物結合物，其中 Lp 表示選自由以下組成的群組的任一者：

-GGVA-、-VA-、-GGFG-、-FG-、-GGPI-、-PI-、-GGVCit-、-VCit-、-GGVK-、-VK-、-GGFCit-、-FCit-、-GGFM-、-FM-、-GGLM-、-LM-、-GGICit-及-ICit-。

【請求項 45】如請求項 44 之抗體藥物結合物，其中 Lp 為-GGVA-、-VA-、-GGFG-、-FG-、-GGVCit-、-VCit-、-GGFCit-或-FCit-之任一者。

【請求項 46】如請求項 41 之抗體藥物結合物，其中 Lp 為-GGFG-、-GGPI-、-GGVA-、-GGFM-、-GGVCit-、-GGFCit-、-GGICit-、-GGPL-、-GGAQ-或-GGPP-之任一者。

【請求項 47】如請求項 46 之抗體藥物結合物，其中 Lp 為-GGFG-或-GGPI-。

【請求項 48】如請求項 41 之抗體藥物結合物，其中 La 為表示選自由以下組成的群組的任一者：

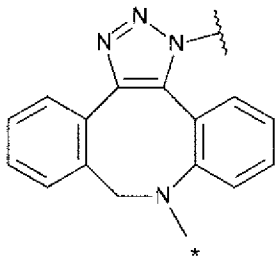
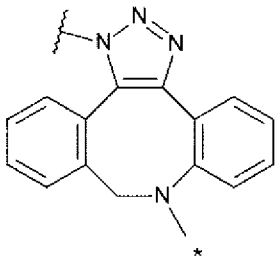
-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-、

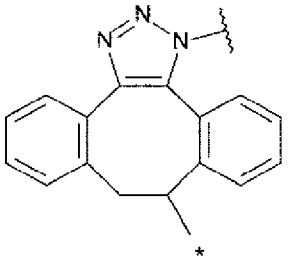
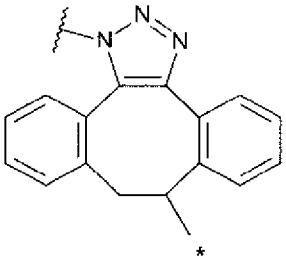
-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-NH-$(CH_2CH_2O)_3$-CH_2-C(=O)-、

-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-NH-$(CH_2CH_2O)_4$-CH_2-C(=O)-、及

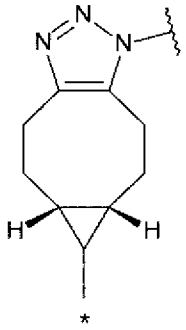
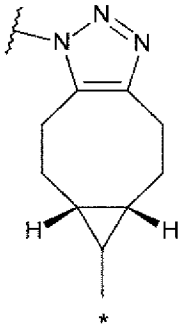
-$(CH_2)_5$-C(=O)-。

【請求項 49】如請求項 41 之抗體藥物結合物，其中 Lb 為下式之任一者所表示者：


或



或


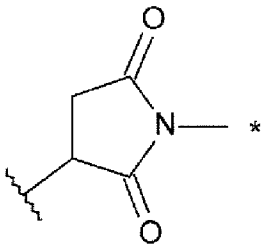
或


或

，

於上述所示的 Lb 之結構式，星號表示與 La 結合者，波浪線表示與 Ab 之糖鏈或被重塑的糖鏈結合者。

【請求項 50】如請求項 41 之抗體藥物結合物，其中 Lb 為-(琥珀醯亞胺-3-基-N)-，

其中，-(琥珀醯亞胺-3-基-N)-表示以下之結構式：


，

其中，星號表示與 La 結合者，波浪線表示與抗體之半胱胺酸殘基的側鏈形成硫醚而結合者。

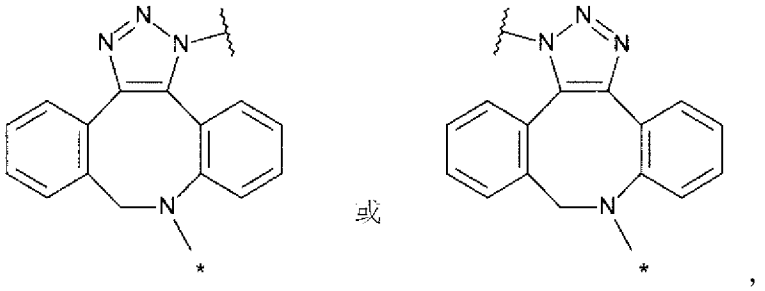
【請求項 51】如請求項 41 之抗體藥物結合物，其中連接子 L 以 -Lb-La-Lp-Lc-＊表示，

式中，星號表示與藥物 D 結合者，

Lp 為-GGFG-、或-GGPI-，

La 表示-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-，

Lb 表示下式



或

，

於上述所示的 Lb 之結構式，星號表示與 La 結合者，波浪線表示與 Ab 之糖鏈或被重塑的糖鏈結合者，

Lc 表示-NH-CH_2-。

【請求項 52】如請求項 1 至 7 中任一項之抗體藥物結合物，其中抗體藥物結合物中的每 1 分子抗體的平均藥物結合數為 1 至 10 個之範圍。

【請求項 53】如請求項 52 之抗體藥物結合物，其中抗體藥物結合物中的每 1 分子抗體的平均藥物結合數為 1 至 5 個之範圍。

【請求項 54】如請求項 1 至 7 中任一項之抗體藥物結合物，其中抗體自與抗體之 Asn297 結合的糖鏈(N297 糖鏈)與 L 結合。

【請求項 55】如請求項 54 之抗體藥物結合物，其中 N297 糖鏈為被重塑的糖鏈。

【請求項 56】如請求項 54 之抗體藥物結合物，其中 N297 糖鏈為 N297-(Fuc)MSG1 或 N297-(Fuc)SG。

【請求項 57】如請求項 1 至 7 中任一項之抗體藥物結合物，其中抗體為抗 HER2 抗體、抗 HER3 抗體、抗 DLL3 抗體、抗 FAP 抗體、抗 CDH11 抗體、抗 CDH6 抗體、抗 A33 抗體、抗 CanAg 抗體、抗 CD19 抗體、抗 CD20 抗體、抗 CD22 抗體、抗 CD30 抗體、抗 CD33 抗體、抗 CD56 抗體、抗 CD70 抗體、抗 CD98 抗體、抗 TROP2 抗體、抗 CEA 抗體、抗 Cripto 抗體、抗 EphA2 抗體、抗 G250 抗體、抗 MUC1 抗體、抗 GPNMB 抗體、抗整合素(Integrin)抗體、抗 PSMA 抗體、抗肌腱蛋白-C(Tenascin-C)抗體、抗 SLC44A4 抗體、抗間皮素(Mesothelin)抗體、抗 ENPP3 抗體、抗 CD47 抗體、抗 EGFR 抗體、抗 GPR20 抗體或抗 DR5 抗體。

【請求項 58】如請求項 1 至 7 中任一項之抗體藥物結合物，其中抗體為選自包含 IgG、IgE、IgM、IgD、IgA 及 IgY 的群組之任一者，IgG 為 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4，IgA 為 IgA1 或 IgA2。

【請求項 59】如請求項 58 之抗體藥物結合物，其中抗體為 IgG1。

【請求項 60】如請求項 59 之抗體藥物結合物，其恆定區之胺基酸殘基之一部分經取代。

【請求項 61】如請求項 60 之抗體藥物結合物，其中該取代包含依據 EU 索引所指定的 234 位及 235 位之白胺酸被丙胺酸取代。

【請求項 62】如請求項 1 至 7 中任一項之抗體藥物結合物，其中抗體為使用經基因工程改造的抗體基因而於適當宿主細胞所產生的蛋白質。

【請求項 63】如請求項 57 之抗體藥物結合物，其中抗體為抗 HER2 抗體。

【請求項 64】如請求項 63 之抗體藥物結合物，其中抗體為下述(i)至(iii)中任一者：

(i)包含由序列識別號 1 記載之胺基酸序列所構成的輕鏈及由序列識別號 2 記載之胺基酸序列所構成的重鏈的抗體、或包含由序列識別號 1 記載之胺基酸序列所構成的輕鏈及由序列識別號 3 記載之胺基酸序列所構成的重鏈的抗體；

(ii)恆定區之胺基酸殘基之一部分經取代之(i)記載之抗體；

(iii)使用將(i)記載之抗體的基因進行基因工程改造所得者而於宿主細胞所產生的蛋白質。

【請求項 65】如請求項 63 之抗體藥物結合物，其中抗體為下述(i)至(iii)中任一者：

(i)包含由序列識別號 28 記載之胺基酸序列所構成的輕鏈及由序列識別號 29 記載之胺基酸序列所構成的重鏈的抗體、或包含由序列識別號 28 記載之胺基酸序列所構成的輕鏈及由序列識別號 30 記載之胺基酸序列所構成的重鏈的抗體；

(ii)恆定區之胺基酸殘基之一部分經取代之(i)記載之抗體；

(iii)使用將(i)記載之抗體的基因進行基因工程改造所得者而於宿主細胞所產生的蛋白質。

【請求項 66】如請求項 64 之抗體藥物結合物，其中該取代包含依據 EU 索引所指定的 234 位及 235 位之白胺酸被丙胺酸取代。

【請求項 67】如請求項 65 之抗體藥物結合物，其中該取代包含依據 EU 索引所指定的 234 位及 235 位之白胺酸被丙胺酸取代。

【請求項 68】如請求項 63 之抗體藥物結合物，其中該抗體為於重鏈羧基末端有 1 或 2 個之胺基酸缺失。

【請求項 69】如請求項 64 之抗體藥物結合物，其中該抗體為於重鏈羧基末端有 1 或 2 個之胺基酸缺失。

【請求項 70】如請求項 65 之抗體藥物結合物，其中該抗體為於重鏈羧基末端有 1 或 2 個之胺基酸缺失。

【請求項 71】如請求項 57 之抗體藥物結合物，其中抗體為包含由序列識別號 31 記載之胺基酸序列所構成的輕鏈及由序列識別號 32 記載之胺基酸序列所構成的重鏈的抗體、包含由序列識別號 33 記載之胺基酸序列所構成的輕鏈及由序列識別號 34 記載之胺基酸序列所構成的重鏈的抗體、或包含由序列識別號 35 記載之胺基酸序列所構成的輕鏈及由序列識別號 36 記載之胺基酸序列所構成的重鏈的抗體。

【請求項 72】一種 STING 促效劑，其含有如請求項 1 至 71 中任一項之抗體藥物結合物。

【請求項 73】一種醫藥組成物，其含有如請求項 1 至 71 中任一項之抗體藥物結合物。

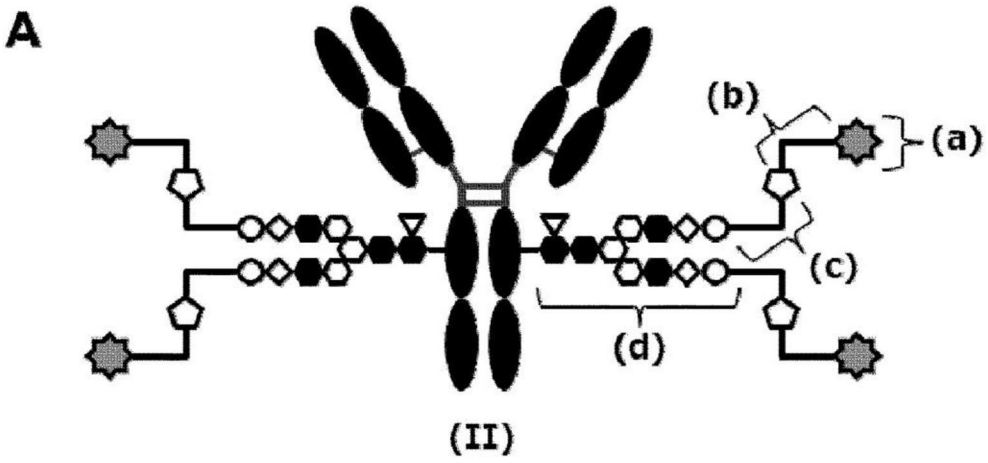
【請求項 74】一種抗腫瘤劑，其含有如請求項 1 至 71 中任一項之抗體藥物結合物。

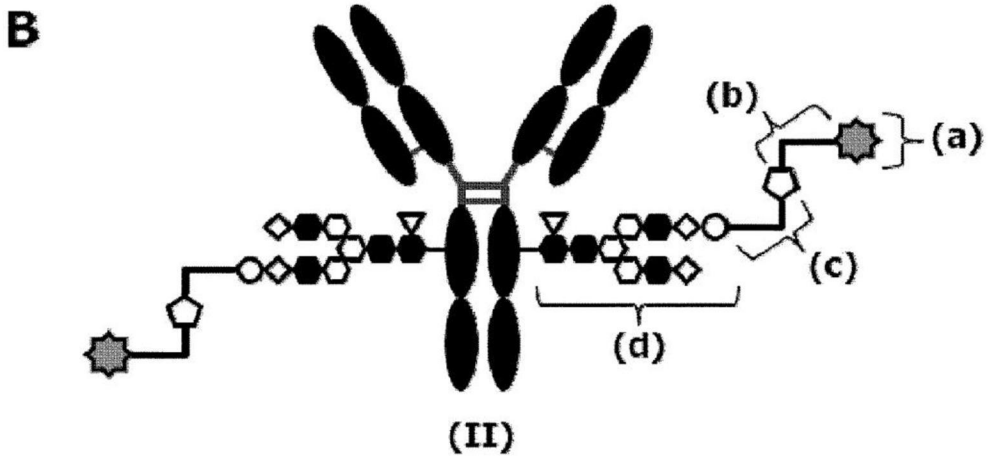
【請求項 75】如請求項 74 之抗腫瘤劑，其中腫瘤為肺癌、腎癌、尿道上皮癌、大腸癌、前列腺癌、多形性神經膠質母細胞瘤(glioblastoma multiforme)、卵巢癌、胰癌、乳癌、黑色素瘤、肝癌、膀胱癌、胃癌、食道癌、子宮體癌、睪丸癌、子宮頸癌、

胎盤絨毛癌、腦腫瘤、頭頸部癌、甲狀腺癌、間皮瘤(mesothelioma)、消化道間質腫瘤(GIST)、膽囊癌、膽管癌、腎上腺癌、鱗狀細胞癌(squamous cell carcinoma)、白血病、惡性淋巴瘤、漿細胞瘤(plasmacytoma)、骨髓瘤或肉瘤。

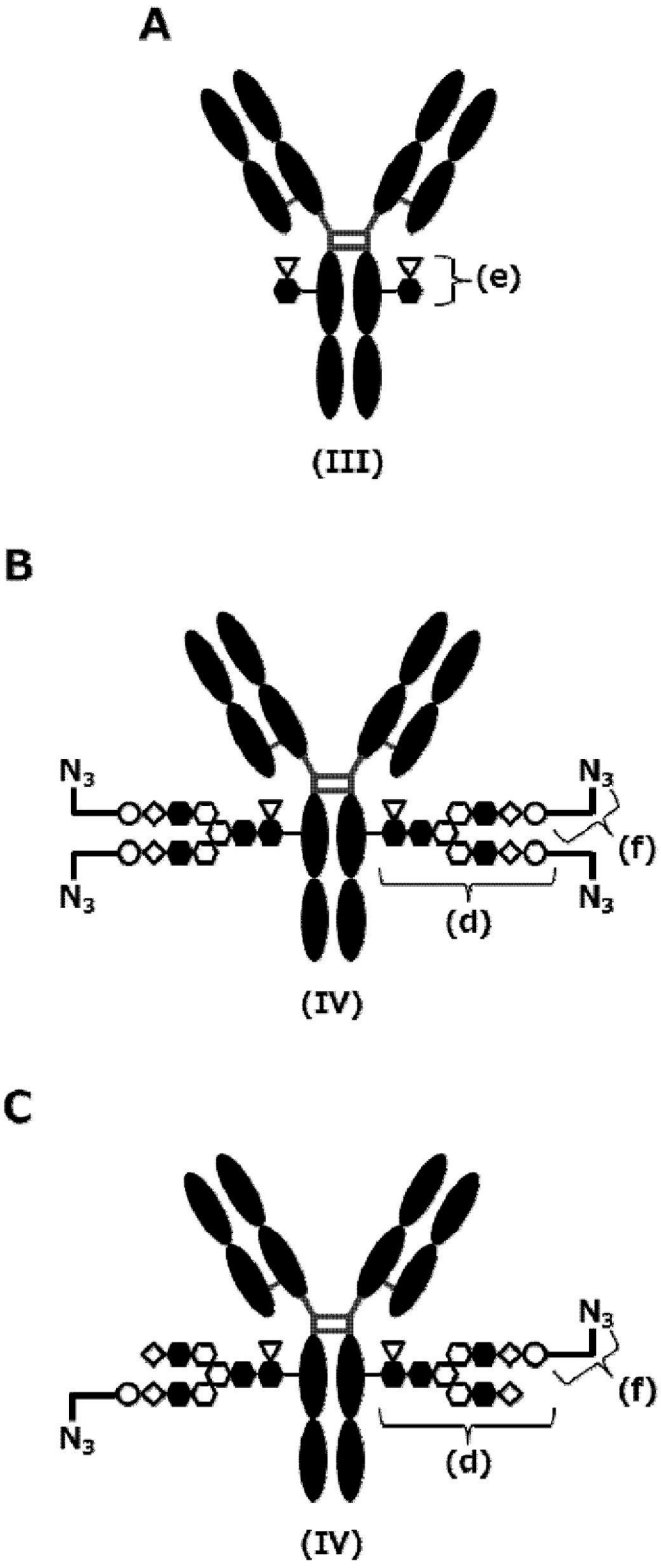
【請求項 76】一種如請求項 1 至 71 中任一項之抗體藥物結合物、如請求項 72 之 STING 促效劑、如請求項 73 之醫藥組成物及如請求項 74 或 75 之抗腫瘤劑在製造使用於治療癌症之醫藥之用途。

【發明圖式】

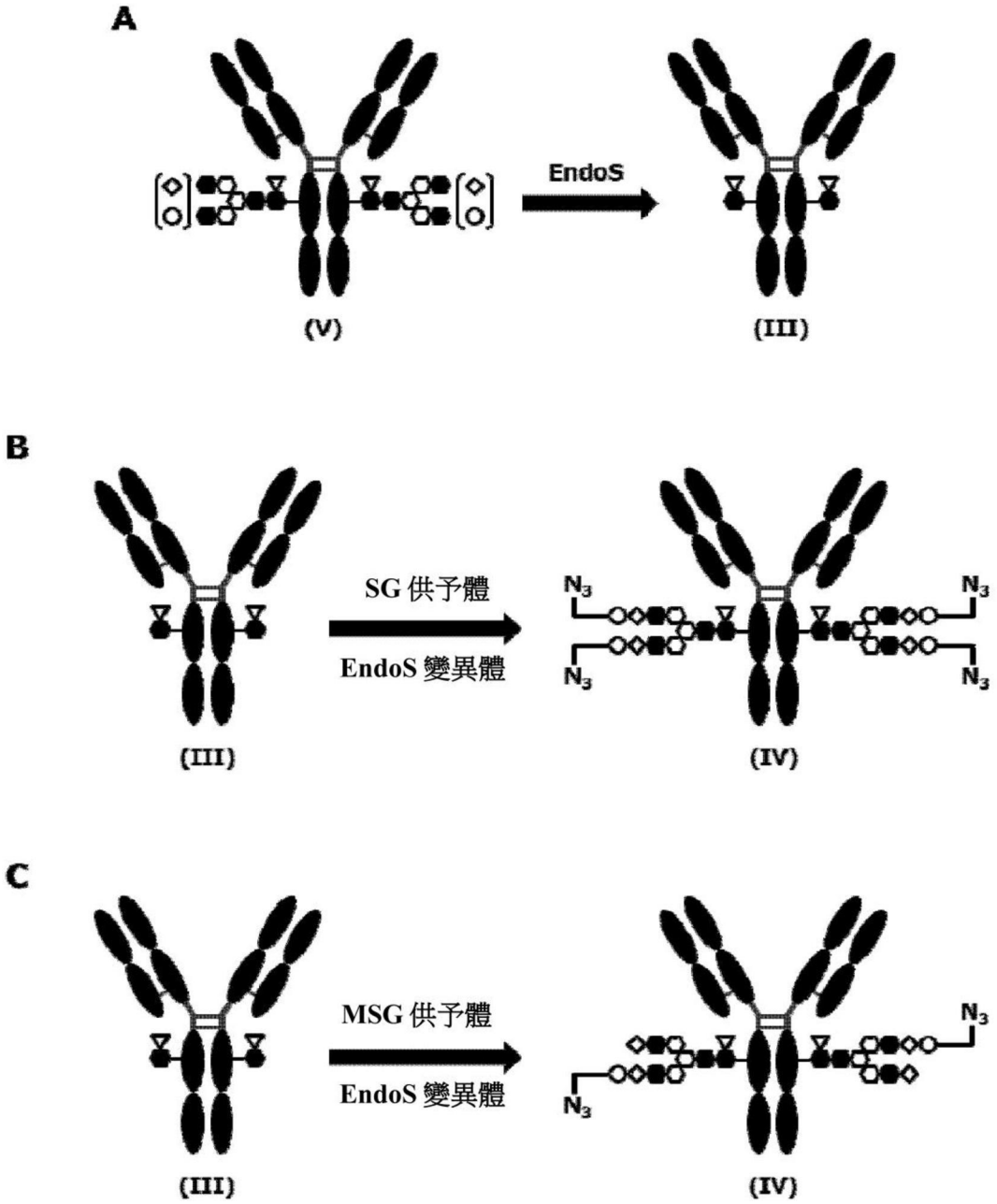




【圖 1】



【圖 2】


A
EndoS
(V)
(III)
B
SG 供予體
EndoS 變異體
N_3
(III)
(IV)
C
MSG 供予體
EndoS 變異體
N_3
(III)
(IV)

【圖 3】

曲妥珠單抗輕鏈之胺基酸序列(序列識別號 1)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPS
RFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

曲妥珠單抗重鏈之胺基酸序列(序列識別號 2)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRY
ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

【圖 4】

改造抗 **HER2** 抗體之輕鏈之胺基酸序列(序列識別號 **1)**

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPS
RFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

改造抗 **HER2** 抗體之重鏈之胺基酸序列(序列識別號 **3)**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRY
ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE<u>AA</u>G
GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE
EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(下線表示 **LALA** 變異部分。**)**

【圖 5】

(a)人類 STING 野生型之胺基酸序列

MPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLL
NGVCSLAEELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLLSIYFYYSLPNAVGPPFTWM
LALLGLSQALNILLGLKGLAPAEISAVCEKGNFNVAHGLAWSYYIGYLRLILPELQARIR
TYNQHYNNLLRGAVSQRLYILLPLDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDRAGIKDRVY
SNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTLFAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLEDILA
DAPESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQEEKEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQE
PELLISGMEKPLPLRTDFS

(b)人類 STING REF 變異型(R232H)之胺基酸序列

MPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLL
NGVCSLAEELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLLSIYFYYSLPNAVGPPFTWM
LALLGLSQALNILLGLKGLAPAEISAVCEKGNFNVAHGLAWSYYIGYLRLILPELQARIR
TYNQHYNNLLRGAVSQRLYILLPLDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKDRVY
SNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTLFAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLEDILA
DAPESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQEEKEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQE
PELLISGMEKPLPLRTDFS

(下線表示 R232H 變異處。)

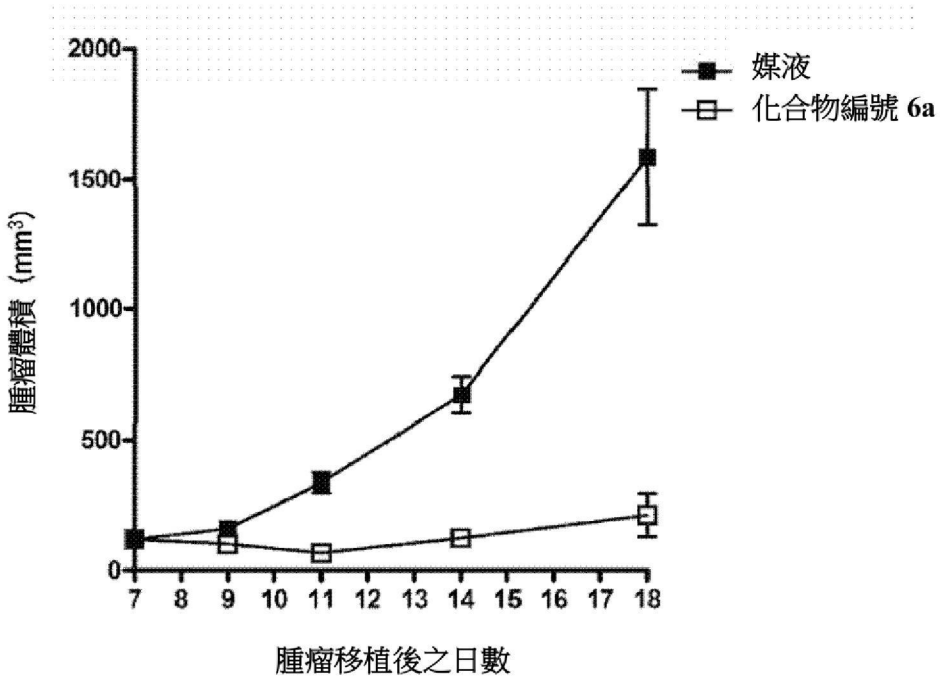
(c)人類 STING HAQ 變異型(R71H、G230A、R293Q)之胺基酸序列

MPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLLL
NGVCSLAEELHHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLLSIYFYYSLPNAVGPPFTWM
LALLGLSQALNILLGLKGLAPAEISAVCEKGNFNVAHGLAWSYYIGYLRLILPELQARIR
TYNQHYNNLLRGAVSQRLYILLPLDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQTADRAGIKDRVY
SNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTLFAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCQTLEDILA
DAPESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQEEKEEVTVGSLKTSAVPSTSTMSQE
PELLISGMEKPLPLRTDFS

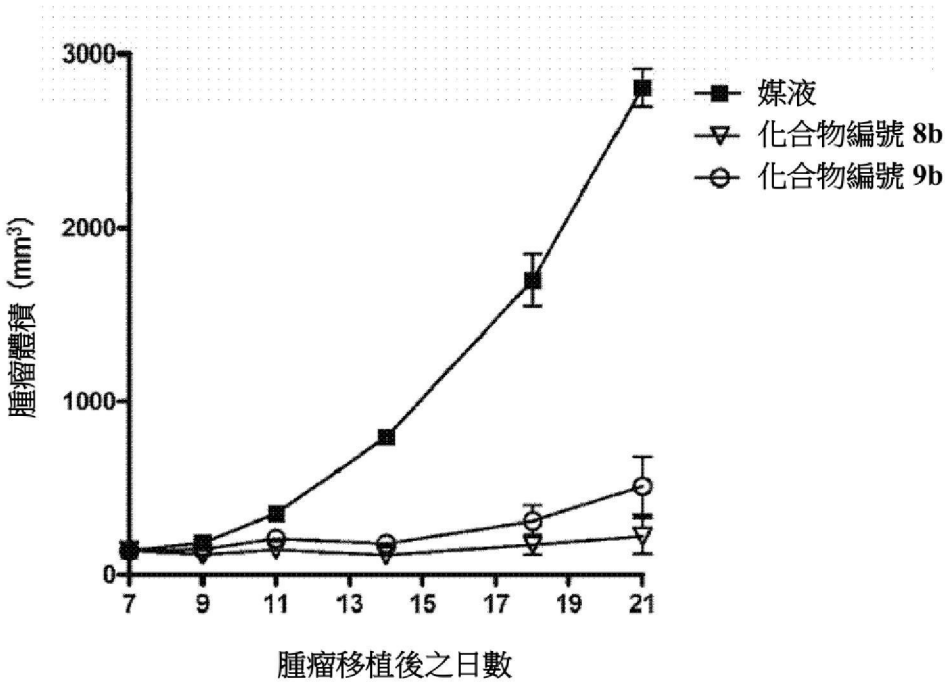
(3 個下線各自表示 R71H 變異、G230A 變異及 R293Q 變異處。)

【圖 6】

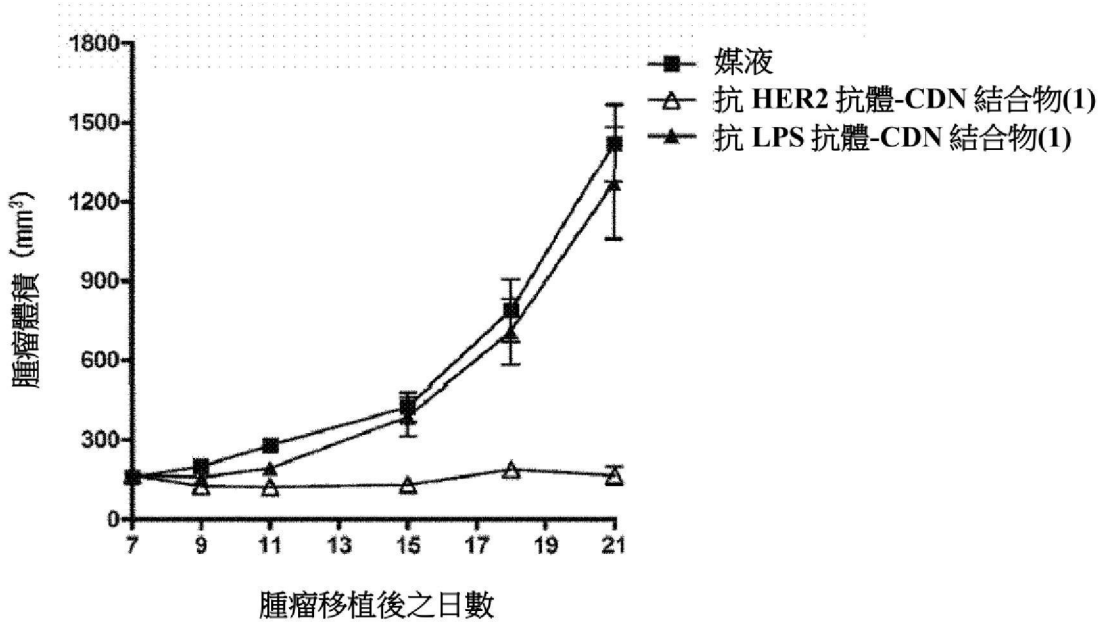
（a）


2000
1500
1000
500
0
腫瘤體積 (mm3)
7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18
腫瘤移植後之日數
媒液
化合物編號 6a

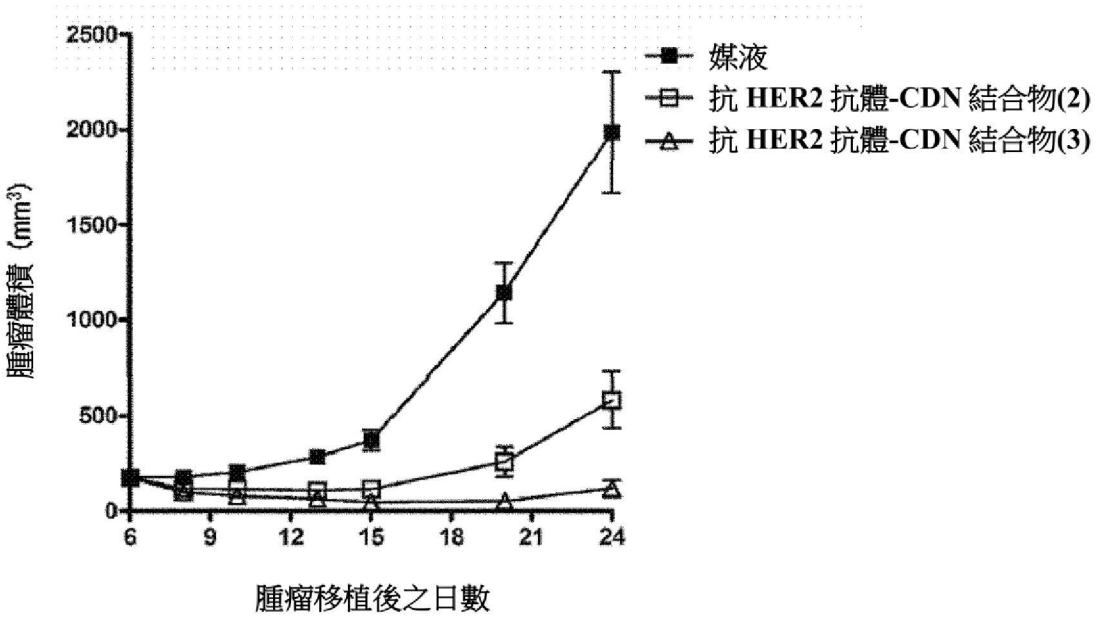
（b）


3000
2000
1000
0
腫瘤體積 (mm3)
7 9 11 13 15 17 19 21
腫瘤移植後之日數
媒液
化合物編號 8b
化合物編號 9b

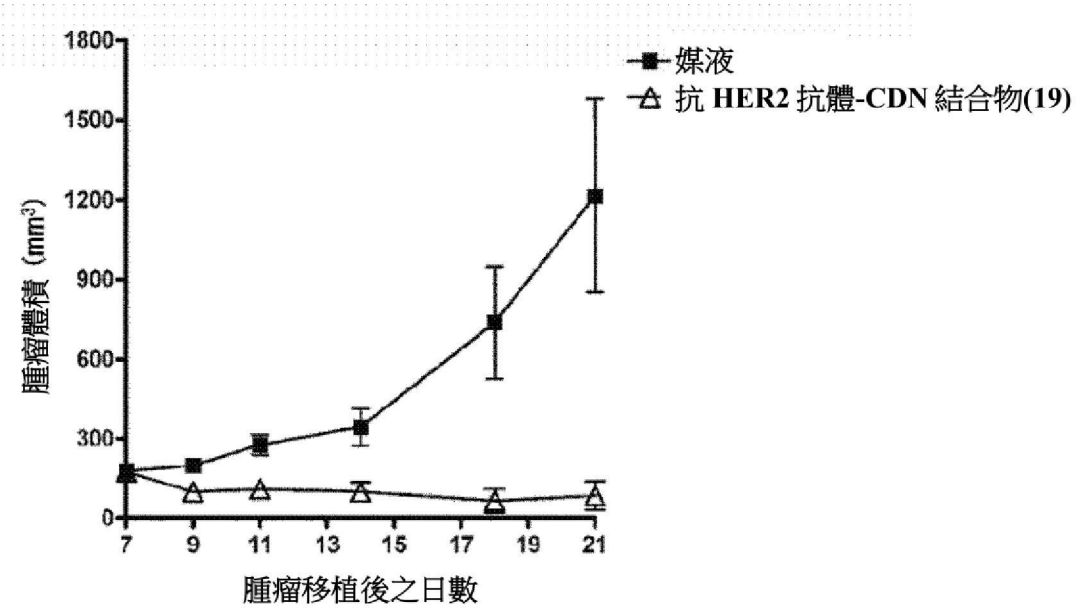
【圖 7】


媒液
抗 HER2 抗體-CDN 結合物(1)
抗 LPS 抗體-CDN 結合物(1)
腫瘤體積（mm³）
腫瘤移植後之日數

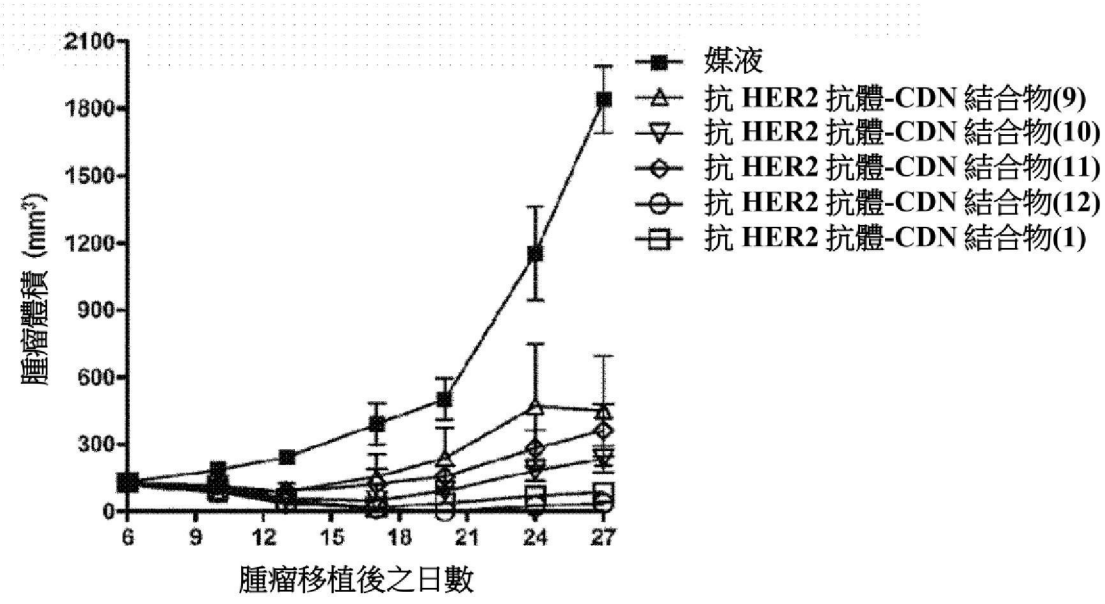
【圖 8】


媒液
抗 HER2 抗體-CDN 結合物(2)
抗 HER2 抗體-CDN 結合物(3)
腫瘤體積（mm³）
腫瘤移植後之日數

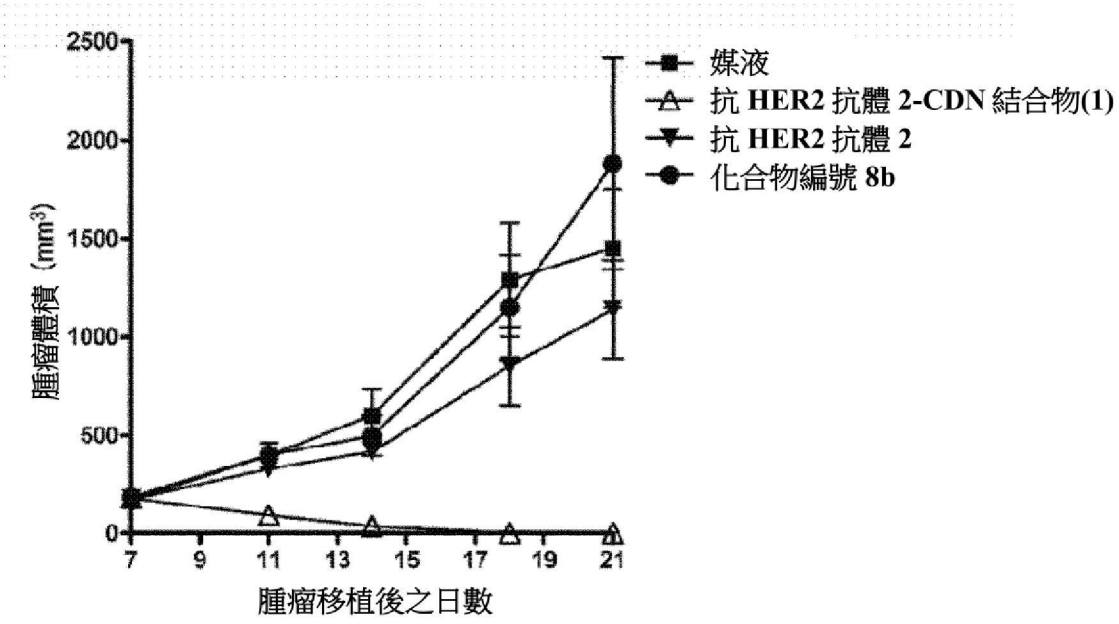
【圖 9】


媒液
抗 HER2 抗體-CDN 結合物(19)
腫瘤體積（mm³）
腫瘤移植後之日數

【圖 10】

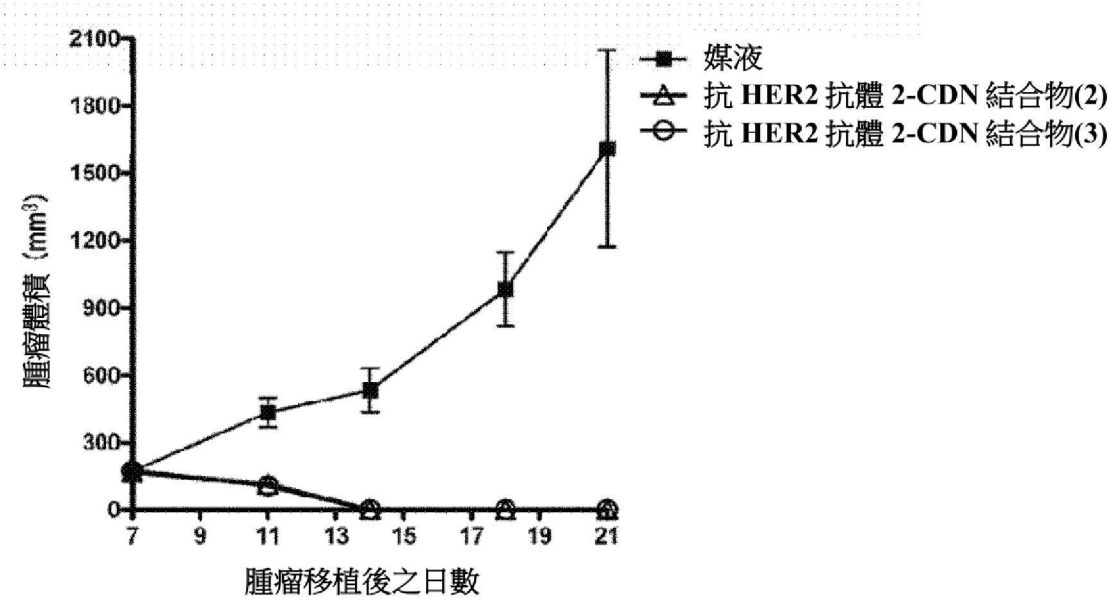

媒液
抗 HER2 抗體-CDN 結合物(9)
抗 HER2 抗體-CDN 結合物(10)
抗 HER2 抗體-CDN 結合物(11)
抗 HER2 抗體-CDN 結合物(12)
抗 HER2 抗體-CDN 結合物(1)
腫瘤體積（mm³）
腫瘤移植後之日數

【圖 11】


2500
2000
1500
1000
500
0
腫瘤體積 (mm³)
7
9
11
13
15
17
19
21
腫瘤移植後之日數
媒液
抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物(1)
抗 HER2 抗體 2
化合物編號 8b

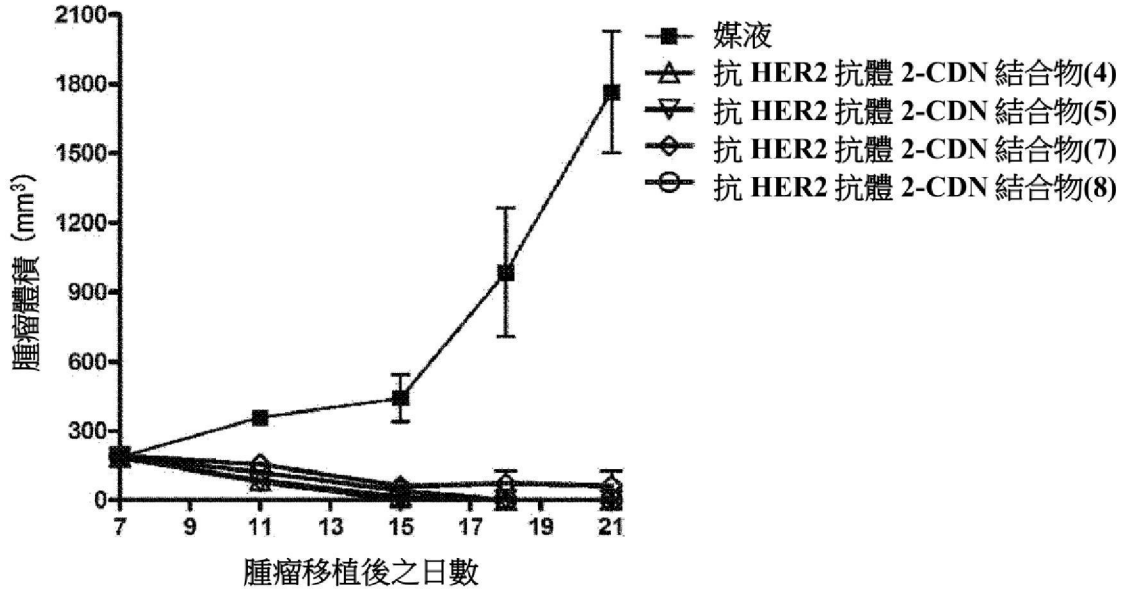
【圖 12】

（a）


2100
1800
1500
1200
900
600
300
0
腫瘤體積 (mm³)
7
9
11
13
15
17
19
21
腫瘤移植後之日數
媒液
抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物(2)
抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物(3)

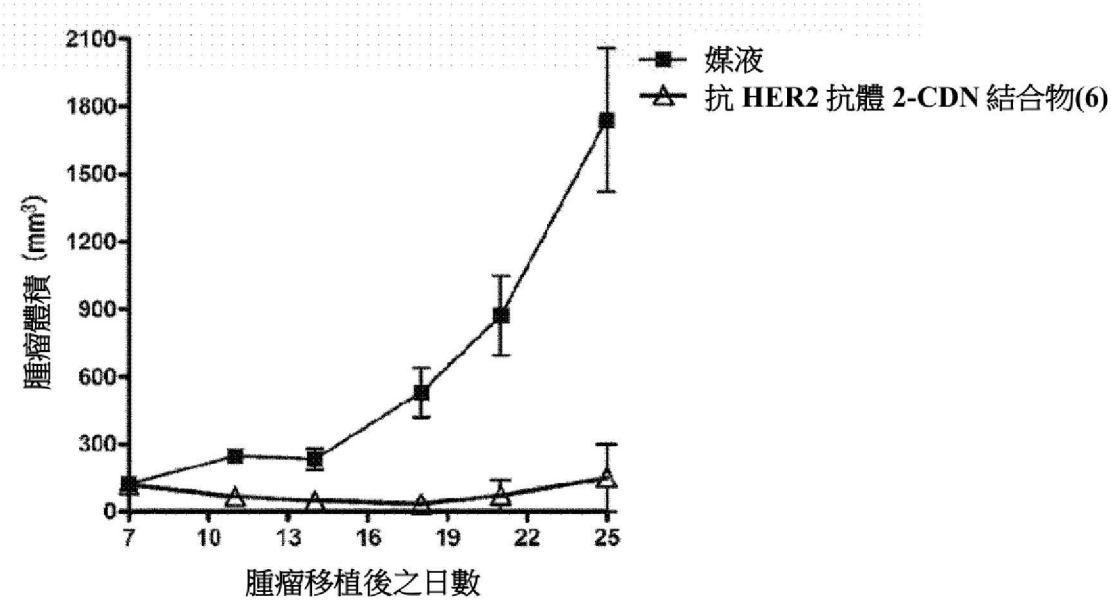
【圖 13-1】

（b）

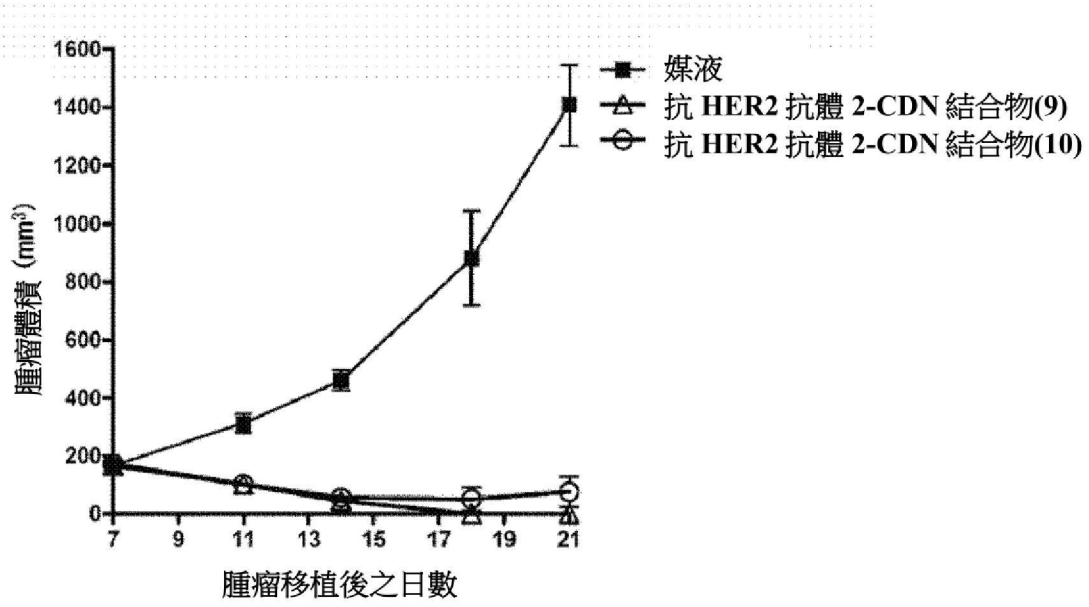

2100
1800
1500
1200
900
600
300
0
腫瘤體積（mm³）
7
9
11
13
15
17
19
21
腫瘤移植後之日數
媒液
抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物(4)
抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物(5)
抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物(7)
抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物(8)

【圖 13-2】

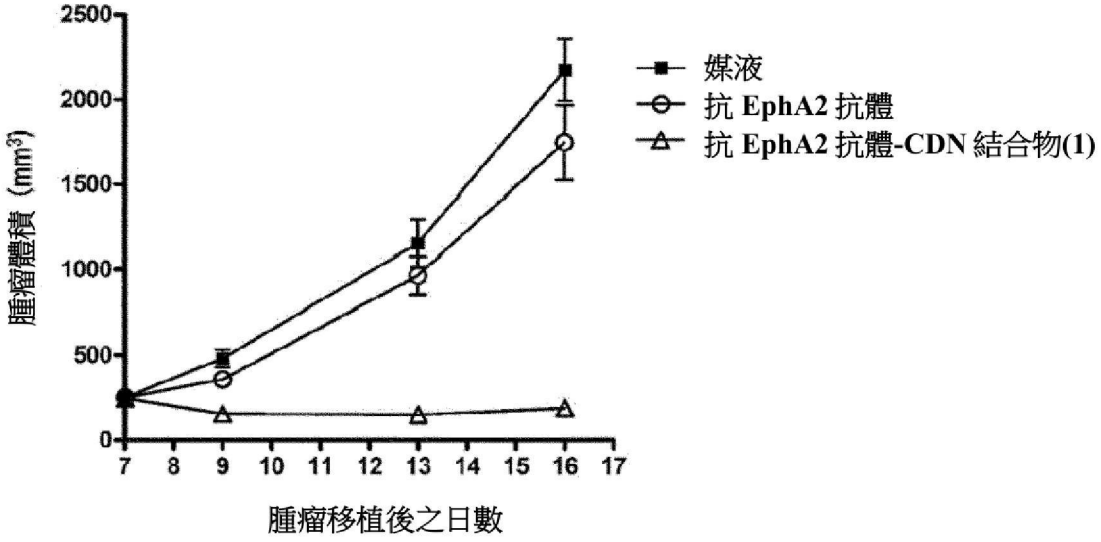
（c）


2100
1800
1500
1200
900
600
300
0
腫瘤體積（mm³）
7
10
13
16
19
22
25
腫瘤移植後之日數
媒液
抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物(6)

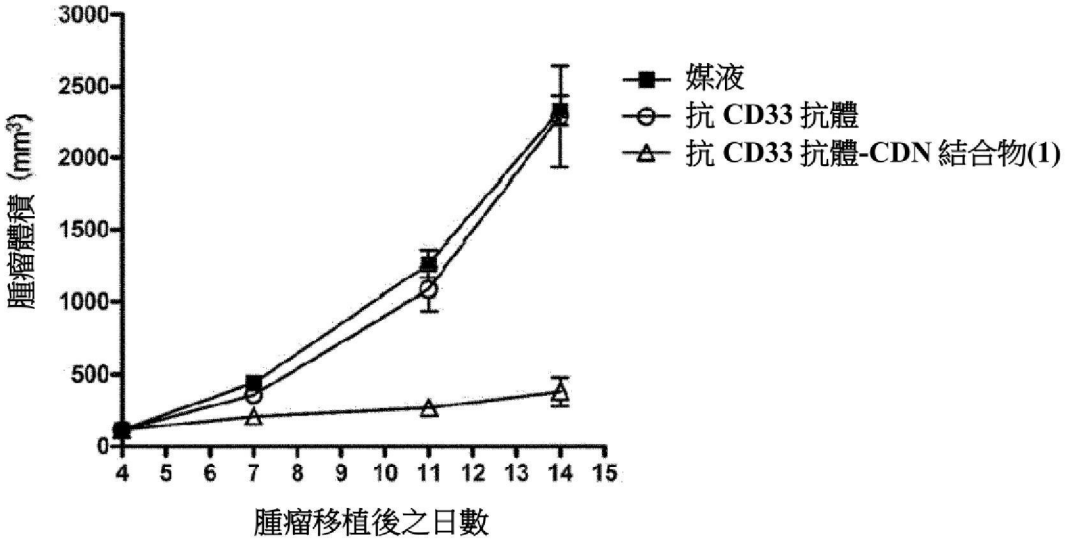
【圖 13-3】


媒液
抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物(9)
抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物(10)
腫瘤體積 (mm³)
腫瘤移植後之日數

【圖 14】


媒液
抗 EphA2 抗體
抗 EphA2 抗體-CDN 結合物(1)
腫瘤體積 (mm³)
腫瘤移植後之日數

【圖 15】



【圖 16】

帕妥珠單抗輕鏈之胺基酸序列(序列識別號 28)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

帕妥珠單抗重鏈之胺基酸序列(序列識別號 29)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIY
NQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSA
STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP
SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

【圖 17】

改造抗 **HER2** 抗體 **2** 之輕鏈之胺基酸序列(序列識別號 **28)**

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

改造抗 **HER2** 抗體 **2** 之重鏈之胺基酸序列(序列識別號 **30)**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIY
NQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGTLVTVSSA
STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(下線表示 **K214R** 變異及 **LALA** 變異部分。**)**

【圖 18】

抗 CD33 抗體之輕鏈之胺基酸序列(序列識別號 31)

DIQLTQSPSTLSASVGDRVTITCRASESLDNYGIRFLTWFQQKPGKAPKLLMYAASNQGS
GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQTKEVPWSFGQGTKVEVKRTVAAPSVF
IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS
STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

抗 CD33 抗體之重鏈之胺基酸序列(序列識別號 32)

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTITDSNIHWVRQAPGQSLEWIGYIYPYNGGTDY
NQKFKNRATLTVDNPTNTAYMELSSLRSEDTAFYYCVNGNPWLAYWGQGTLVTVSSASTK
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVF
LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN
QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

【圖 19】

抗 EphA2 抗體之輕鏈之胺基酸序列(序列識別號 33)

DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSIVHSSGITYLEWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRF
SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHVPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSV
FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL
SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

抗 EphA2 抗體之重鏈之胺基酸序列(序列識別號 34)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFIDYSMHWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGEPTY
SDDFKGRVTITADTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCATYYRYERDFDYWGQGTLVTVSSA
STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP
SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

【圖 20】

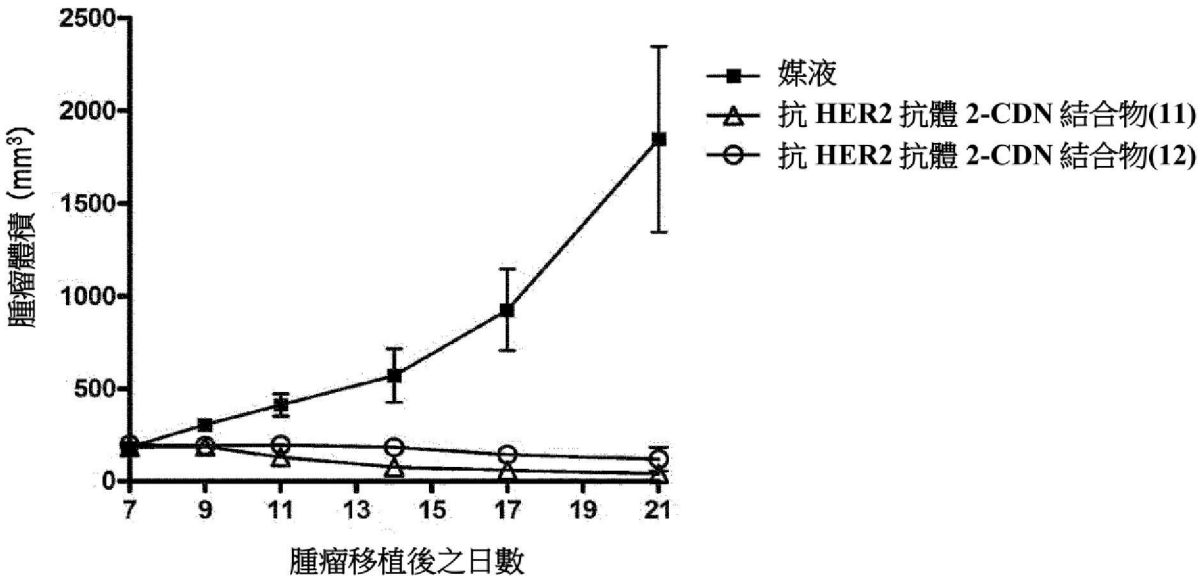
抗 CDH6 抗體之輕鏈之胺基酸序列(序列識別號 35)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNIYKNLAWYQQKPGKAPKLLIYDANTLQTGVPS
RFSGSGSGSDFTLTISSLQPEDFATYFCQQYYSGWAFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL
SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

抗 CDH6 抗體之重鏈之胺基酸序列(序列識別號 36)

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRNFMHWVRQAPGQGLEWMGWIYPGDGETEY
AQKFQGRVTITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGVYGGFAGGYFDFWGQGTLVTV
SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR
EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

【圖 21】


2500
2000
1500
1000
500
0
腫瘤體積（mm³）
7
9
11
13
15
17
19
21
腫瘤移植後之日數
媒液
抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物(11)
抗 HER2 抗體 2-CDN 結合物(12)

【圖 22】