



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0022067
(43) 공개일자 2025년02월14일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 5/078 (2006.01) C07K 1/08 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 5/06139 (2013.01)
C07K 1/08 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2024-7043121
- (22) 출원일자(국제) 2024년02월15일
심사청구일자 2025년01월08일
- (85) 번역문제출일자 2024년12월26일
- (86) 국제출원번호 PCT/CN2024/077215
- (87) 국제공개번호 WO 2024/169973
국제공개일자 2024년08월22일
- (30) 우선권주장
202310124318.X 2023년02월16일 중국(CN)

- (71) 출원인
엔타이 란나칭 바이오테크놀로지 컴퍼니 리미티드
중국 264199, 산둥, 엔타이, 무펑 디스트릭트, 빈하이 이스트 로드 넘버 500, 빌딩 52, 룸 101
- (72) 발명자
우 시아오밍
중국 264199, 산둥, 엔타이, 무펑 디스트릭트, 빈하이 이스트 로드 넘버 500, 빌딩 52, 룸 101
왕 시앙위
중국 264199, 산둥, 엔타이, 무펑 디스트릭트, 빈하이 이스트 로드 넘버 500, 빌딩 52, 룸 101
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
이정현

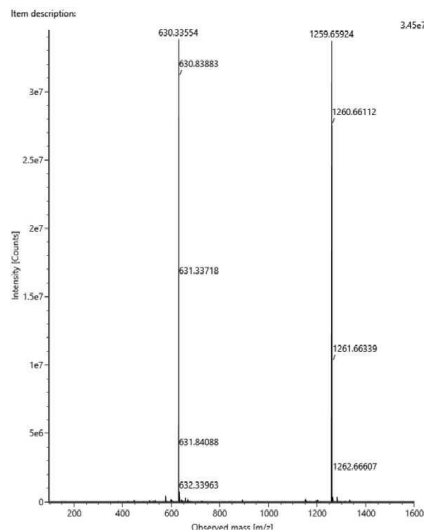
전체 청구항 수 : 총 28 항

(54) 발명의 명칭 FAPI 합성을 위한 중간체 및 그 제조방법과 응용

(57) 요약

본 발명은 에반스 블루로 수식된 FAPI 합성을 위한 중간체, 제조방법 및 에반스 블루로 수식된 FAPI의 합성에서의 그 응용을 제공한다.

대표도 - 도4



(72) 발명자

허 티엔

중국 264199, 산둥, 옌타이, 무펑 디스트릭트, 빈하이 이스트 로드 넘버 500, 빌딩 52, 룸 101

양 칭바오

중국 264199, 산둥, 옌타이, 무펑 디스트릭트, 빈하이 이스트 로드 넘버 500, 빌딩 52, 룸 101

청 린

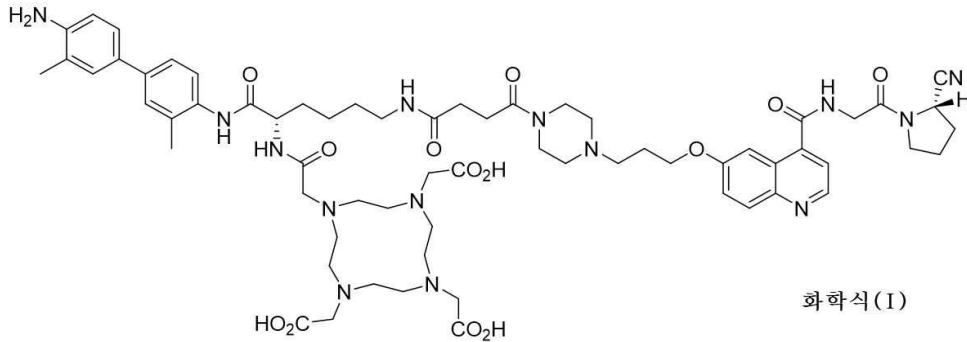
중국 264199, 산둥, 옌타이, 무펑 디스트릭트, 빈하이 이스트 로드 넘버 500, 빌딩 52, 룸 101

명세서

청구범위

청구항 1

에반스 블루로 수식된 FAPI 합성을 위한 중간체에 있어서,
 화학식(I)의 구조를 가지는 것을 특징으로 하는 중간체.



청구항 2

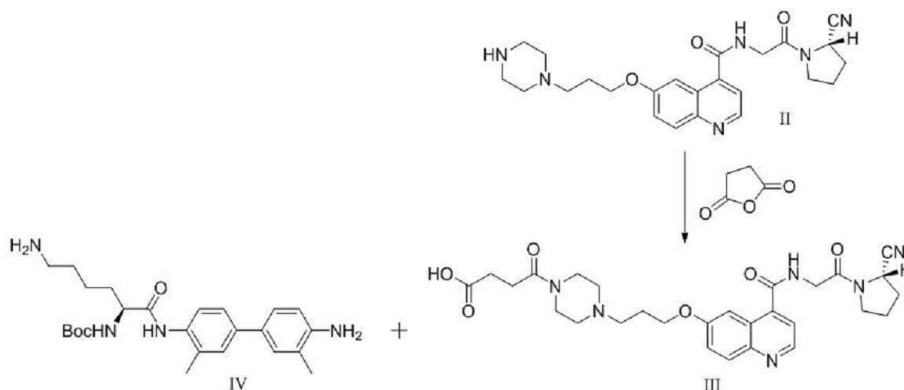
제1항에 있어서,
 이하의 단계,

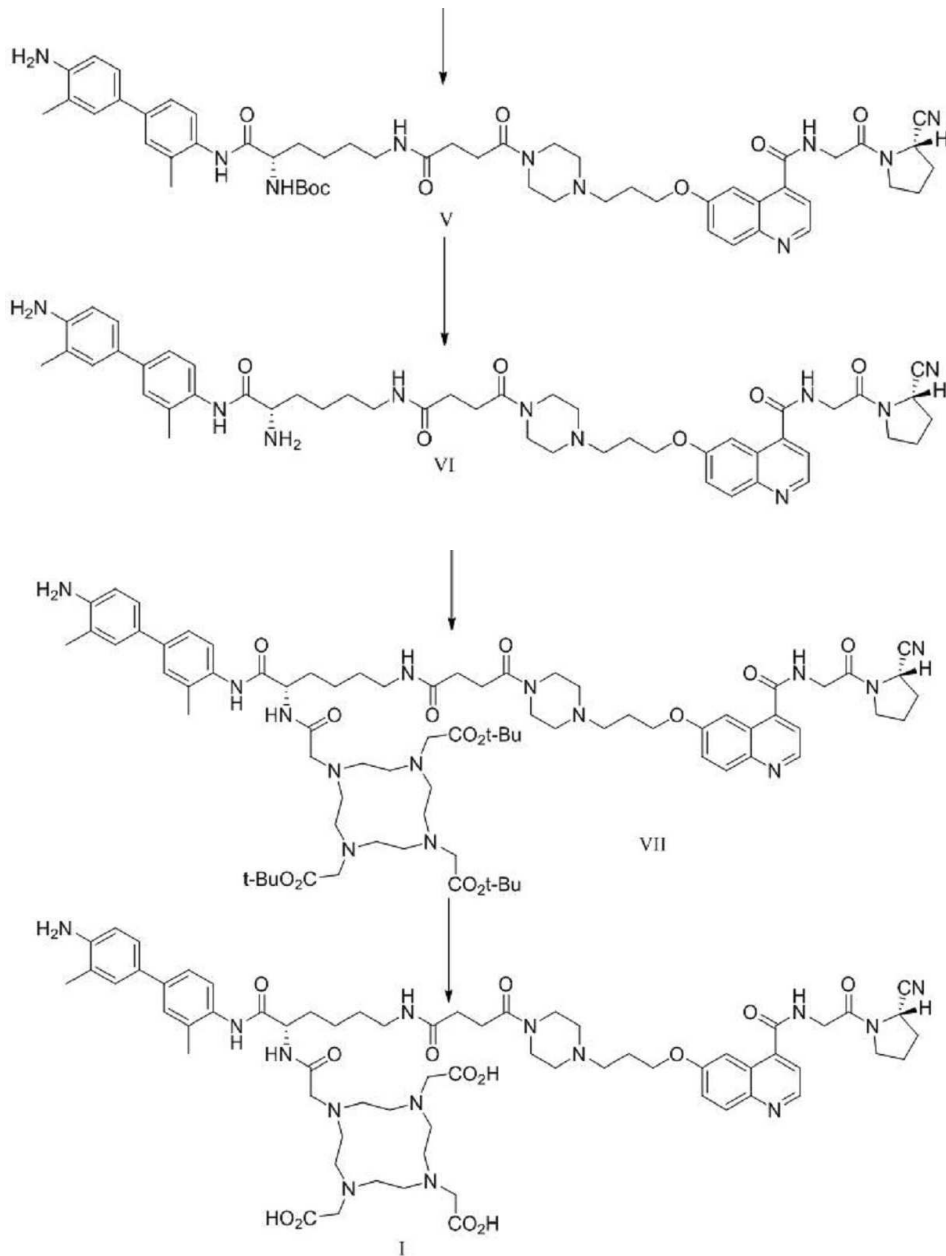
단계(a): (S)-N-(2-(2-시아노피롤리딘-1-일)-2-옥소에틸)-6-(3-(피페라진-1-일)프로폭시)퀴놀린-4-카르복스아미드(화합물(II))를 숙신산 무수물과 반응시켜 화합물(III)을 얻는 단계;

단계(b): 화합물(III)과 화합물(IV) tert-부틸(S)-(6-아미노-1-((4'-아미노-3,3'-디메틸-[1,1'-비페닐]-4-일)아미노)-1-옥소헥스-2-일)카르바메이트를 커플링 반응 및 처리하여 화합물(V)을 얻는 단계;

단계(c): 상기 화합물(V)을 탈보호 반응시켜 화합물(VI)을 얻고, 이어서 치환 반응 및 처리하여 화합물(VII)을 얻는 단계; 및

단계(d): 상기 화합물(VII)을 가수분해 반응 및 처리하여 화학식(I) 구조의 중간체를 얻는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는, 방법.





청구항 3

제2항에 있어서,

상기 단계(b)는 구체적으로:

N,N-디메틸포름아미드 용매 중에서, 단계(a)에서 얻은 화합물(III)과 tert-부틸(S)-(6-아미노-1-((4'-아미노-3,3'-디메틸-[1,1'-비페닐]-4-일)아미노)-1-옥소헥스-2-일)카르바메이트를 첨가한 후, 축합제와 유기염기를 첨가하고, 20 내지 45℃에서 1 내지 8시간 동안 교반 반응시키고, 처리하여 화합물(V)을 얻는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 축합제가 HATU, HBTU, TBTU, TSTU, PyAOP, PyBOP 중 어느 하나인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 5

제3항에 있어서,

상기 촉합제가 HATU인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 6

제3항에 있어서,

상기 유기염기가 N,N-디이소프로필에틸아민, 트리에틸아민 중 어느 하나인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 7

제3항에 있어서,

상기 유기염기가 N,N-디이소프로필에틸아민인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 8

제2항에 있어서,

상기 단계(c)는 구체적으로,

유기용매 중에서, 단계(b)에서 얻은 상기 화합물(V)을 첨가하고, 이어서 유기산을 첨가하여 20 내지 45℃에서 1 내지 8시간 동안 교반 반응시켜 화합물(VI)을 얻고, 이어서 과량의 유기염기를 첨가한 후, 2,2',2''-(10-(2-((2,5-디옥소피롤리딘-1-일)옥시)-2-옥소에틸)-1,4,7,10-테트라아자시클로데칸-1,4,7-트리일)트리아세트산 트리-tert-부틸 에스터를 첨가하여, 15 내지 45℃에서 1 내지 8시간 동안 교반 반응시키고, 처리하여 화합물(VI)을 얻는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 유기용매가 디클로로메탄, N,N-디메틸포름아미드 또는 이들의 혼합물 중 어느 하나인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 10

제8항에 있어서,

상기 유기용매가 N,N-디메틸포름아미드인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 11

제8항에 있어서,

상기 유기산이 트리플루오로아세트산, p-톨루엔술폰산 중 어느 하나인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 12

제8항에 있어서,

상기 유기산이 트리플루오로아세트산인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 13

제8항에 있어서,

상기 유기염기가 N,N-디이소프로필에틸아민, 트리에틸아민 중 어느 하나인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 14

제8항에 있어서,

상기 유기염기가 N,N-디이소프로필에틸아민인 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 15

제18항에 있어서,

상기 염산 용액의 몰 농도가 1 내지 3mol/L인 것을 특징으로 하는, 응용.

청구항 21

제18항에 있어서,

상기 염산 용액 첨가 후 염산과 상기 중간체의 몰비가 1.0 내지 3.0인 것을 특징으로 하는, 응용.

청구항 22

제18항에 있어서,

상기 염산 용액 첨가 후 염산과 상기 중간체의 몰비가 1.5 내지 2.0인 것을 특징으로 하는, 응용.

청구항 23

제18항에 있어서,

상기 아질산나트륨과 상기 중간체의 몰비가 1.0 내지 3.0인 것을 특징으로 하는, 응용.

청구항 24

제18항에 있어서,

상기 아질산나트륨과 상기 중간체의 몰비가 1.0 내지 1.5인 것을 특징으로 하는, 응용.

청구항 25

제18항에 있어서,

상기 1-아미노-8-나프톨-2,4-디술폰산 모노나트륨염과 상기 중간체의 몰비가 1.0 내지 3.0인 것을 특징으로 하는, 응용.

청구항 26

제18항에 있어서,

상기 1-아미노-8-나프톨-2,4-디술폰산 모노나트륨염과 상기 중간체의 몰비가 1.0 내지 1.5인 것을 특징으로 하는, 응용.

청구항 27

제18항에 있어서,

상기 탄산수소나트륨과 상기 중간체의 몰비가 5.0 내지 10.0인 것을 특징으로 하는, 응용.

청구항 28

제18항에 있어서,

상기 탄산수소나트륨과 상기 중간체의 몰비가 8.0 내지 10.0인 것을 특징으로 하는, 응용.

발명의 설명

기술 분야

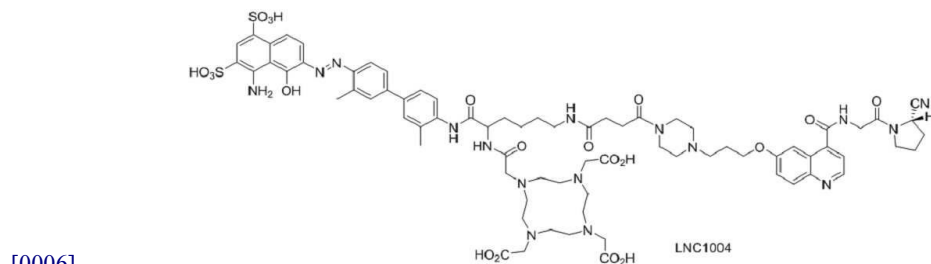
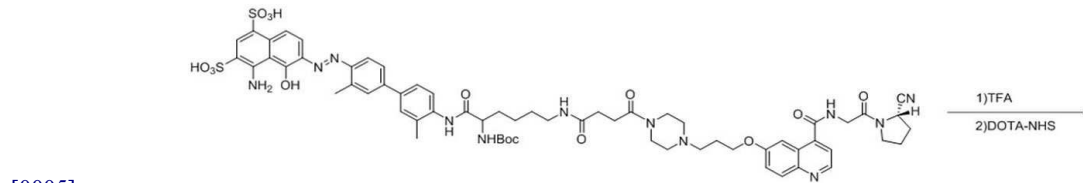
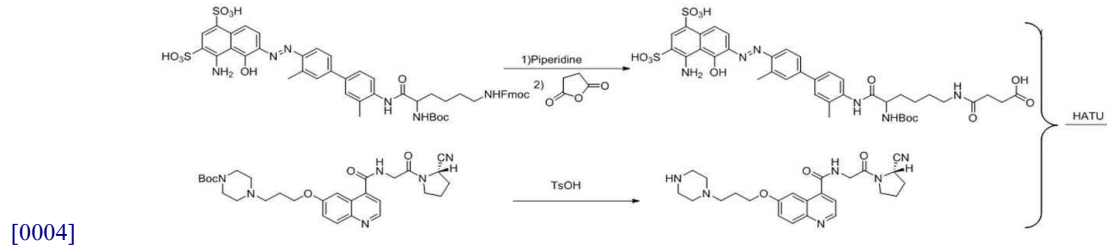
[0001] 본 발명은 의약품 합성 분야에 관한 것으로, 구체적으로는 에반스 블루로 수식된 FAPI(LNC1004) 합성을 위한 중간체, 제조방법 및 그 응용에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 섬유아세포 활성화 단백질(FAP)을 표적으로 하는 분자 이미징 방사성 추적자가 종양 진단에서 우수한 전임상 및 임상 결과를 보여주었다. LNC1004는 새롭게 개발된 에반스 블루로 수식된 섬유아세포 활성화 단백질 억제제(에

반스 블루로 수식된 FAPI)로서, 그 화학명은 2,2',2''-(10-(2-(((S)-1-((4'-(E)-(8-아미노-1-하이드록시-5,7-디술포나프트-2-일)디아제닐)-3,3'-디메틸-[1,1'-비페닐]-4-일)아미노)-6-(4-(4-(3-((4-((2-((S)-2-시아노피롤리딘-1-일)-2-옥소에틸)아미노)카르보닐)퀴놀린-6-일)옥시)프로필)피페라진-1-일)-4-옥소부타노일아미드)-1-옥소헥실-2-일)아미노)-2-옥소에틸)-1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1,4,7-트리일)트리아세트산 트리플루오로아세테이트이다. 기존 기술에서 LNC1004를 ¹⁷⁷Lu로 표지한 후 종양 표적 치료에 사용한 결과, 에반스 블루 조각의 도입으로 순환 반감기가 연장되어 약물동태학(PK)이 개선되었고, 이로 인해 종양 섭취가 증가하고 방사선 치료 효과가 향상되었다. 따라서 방사성 표지된 LNC1004는 새로운 유형의 장기 지속형 항암 치료제로 사용될 수 있다.

[0003] 기존 기술(문헌: Evans blue-modified radiolabeled fibroblast activation protein inhibitor as long-acting cancer therapeutics, *Theranostics* 2022; 12(1): 422-433)에서는 LNC1004의 합성 경로를 보고하였다.



[0007] 상기 경로는 목표 생성물을 얻을 수 있지만 다음과 같은 단점이 있다. 1) 술포산기를 포함하는 에반스 블루 조각을 출발 물질로 하여 해당 에반스 블루로 수식된 FAPI(LNC1004)를 합성하면, 전체 합성 경로에서 중간체들의 극성이 매우 커져서 전통적인 후처리 방법(예: 추출, 컬럼 크로마토그래피 등)으로 분리 정제하기 어렵고, 제조용 액체 크로마토그래피로 정제하면 분리가 어려우며 효율이 낮아 산업화 생산에 적합하지 않다. 2) DOTA-NHS를 사용하여 최종 조각을 커플링할 때, DOTA-NHS 자체가 구조적으로 불안정하여 고온에서 쉽게 분해되고 개환되어 부반응이 많이 발생하여 수율이 낮고, DOTA-NHS 자체가 고가여서 전체 비용이 높아진다.

[0008] 따라서 LNC1004의 산업화 대량 생산을 위해서는 그 합성 방법을 개선할 필요가 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 상기 기술적 배경을 감안하여, 본 발명이 해결하고자 하는 기술적 과제는 LNC1004의 합성 수율을 높이고 비용을 낮추어 산업화 대량 생산에 더욱 적합하게 하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0010] 본 발명의 첫 번째 목적은 에반스 블루로 수식된 FAPI 합성을 위한 핵심 중간체로서 새로운 화합물을 제공하는 것으로, 이 핵심 중간체를 통해 에반스 블루로 수식된 FAPI를 합성하면 생산 비용을 낮출 수 있을 뿐만 아니라

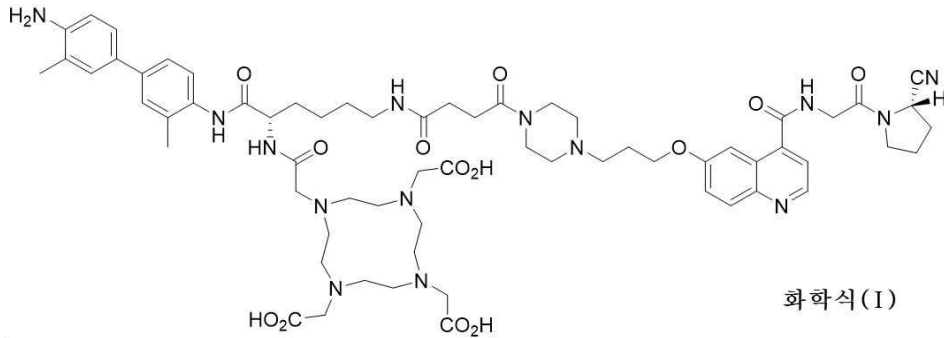
생산 효율과 수율을 크게 향상시킬 수 있어 대규모 산업화 생산에 적합하다.

[0011] 본 발명의 두 번째 목적은 상기 핵심 중간체의 제조방법을 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 핵심 중간체를 이용한 에반스 블루로 수식된 FAPI의 합성방법, 즉 상기 핵심 중간체의 에반스 블루로 수식된 FAPI 합성에서의 응용을 제공하는 것이다.

[0013] 상기 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 다음과 같은 기술적 해결책을 채택한다.

[0014] 제1 측면에서, 본 발명은 에반스 블루로 수식된 FAPI(LNC1004) 합성을 위한 중간체를 제공하며, 그 구조는 화학식(I)과 같다.



[0015] 제2 측면에서, 본 발명은 상기 중간체(즉, 화학식(I) 화합물)의 제조방법을 제공하며, 다음 단계들을 포함한다.

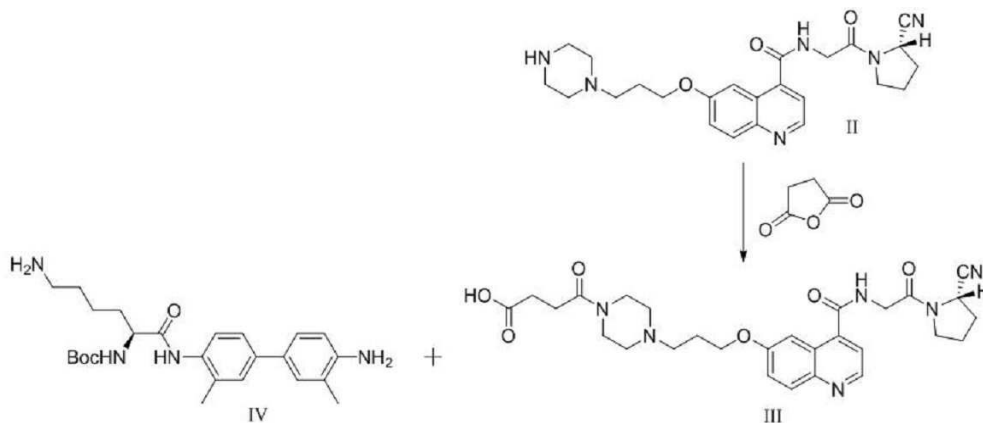
[0017] 단계(a): (S)-N-(2-(2-시아노피롤리딘-1-일)-2-옥소에틸)-6-(3-(피페라진-1-일)프로폭시)퀴놀린-4-카르복스아미드(즉, 화합물(II))와 숙신산 무수물을 반응시켜 화합물(III)을 얻는다.

[0018] 단계(b): 화합물(III)과 tert-부틸(S)-(6-아미노-1-((4'-아미노-3,3'-디메틸-[1,1'-비페닐]-4-일)아미노)-1-옥소헥스-2-일)카르바메이트(즉, 화합물(IV))를 커플링 반응 및 처리하여 화합물(V)을 얻는다.

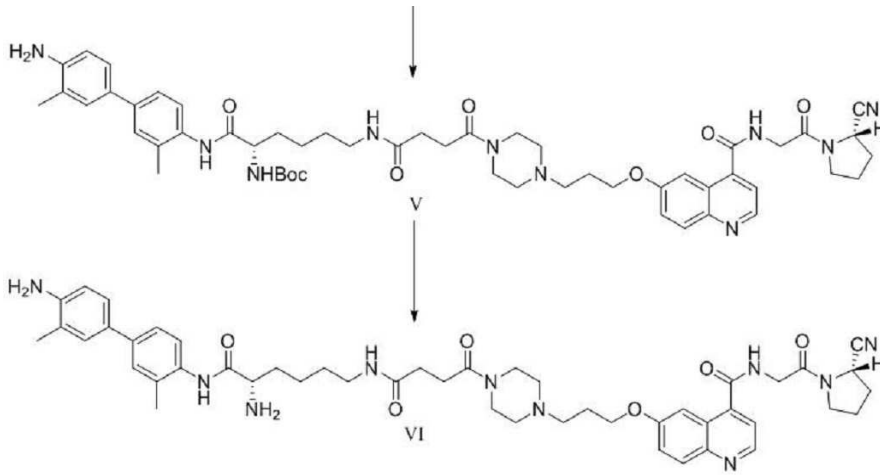
[0019] 단계(c): 상기 화합물(V)을 탈보호 반응시켜 화합물(VI)을 얻고, 이어서 치환 반응 및 처리하여 화합물(VII)을 얻는다.

[0020] 단계(d): 상기 화합물(VII)을 가수분해 반응 및 처리하여 화학식(I) 구조의 중간체를 얻는다.

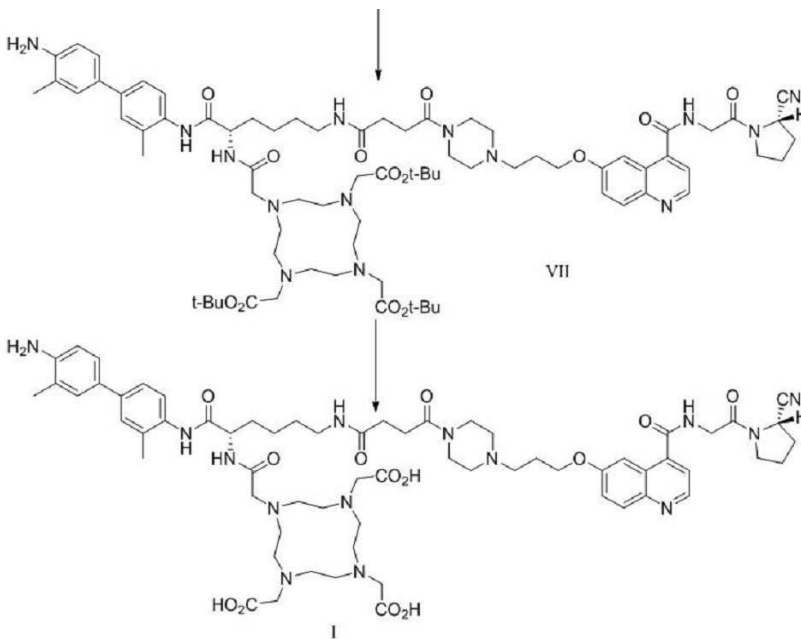
[0021] 구체적으로, 본 발명에서 상기 중간체(즉, 화학식(I) 화합물)의 반응 경로는 다음과 같다.



[0022]



[0023]



[0024]

[0025]

본 발명의 바람직한 실시형태에서, 상기 단계(b)는 구체적으로 다음과 같다. N,N-디메틸포름아미드 용매 중에서, 단계(a)에서 얻은 화합물(III)과 tert-부틸(S)-(6-아미노-1-((4'-아미노-3,3'-디메틸-[1,1'-비페닐]-4-일)아미노)-1-옥소헥스-2-일)카르바메이트(즉, 화합물(IV))를 첨가하고, 이어서 축합제와 유기염기를 첨가한 후, 20 내지 45℃에서 1 내지 8시간 동안 교반 반응시키고, 처리하여 화합물(V)을 얻는다.

[0026]

본 발명의 더욱 바람직한 실시형태에서, 단계(b)의 상기 축합제는 HATU, HBTU, TBTU, TSTU, PyAOP, PyBOP 중 어느 하나이며, 가장 바람직하게는 HATU이다; 단계(b)의 상기 유기염기는 N,N-디이소프로필에틸아민, 트리에틸아민 중 어느 하나이며, 가장 바람직하게는 N,N-디이소프로필에틸아민이다.

[0027]

본 발명의 바람직한 실시형태에서, 상기 단계(c)는 구체적으로 다음과 같다. 유기용매 중에서, 단계(b)에서 얻은 상기 화합물(V)을 첨가하고, 이어서 유기산을 첨가하여 20 내지 45℃에서 1 내지 8시간 동안 교반 반응시켜 화합물(VI)을 얻고, 이어서 과량의 유기염기를 첨가한 후, 2,2',2''-(10-(2-((2,5-디옥소피롤리딘-1-일)옥시)-2-옥소에틸)-1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1,4,7-트리일)트리아세트산 트리-tert-부틸 에스터(DOTA-TRIS-TBU-ESTER NHS)를 첨가하여, 15 내지 45℃에서 1 내지 8시간 동안 교반 반응시키고, 처리하여 화합물(VII)을 얻는다.

[0028]

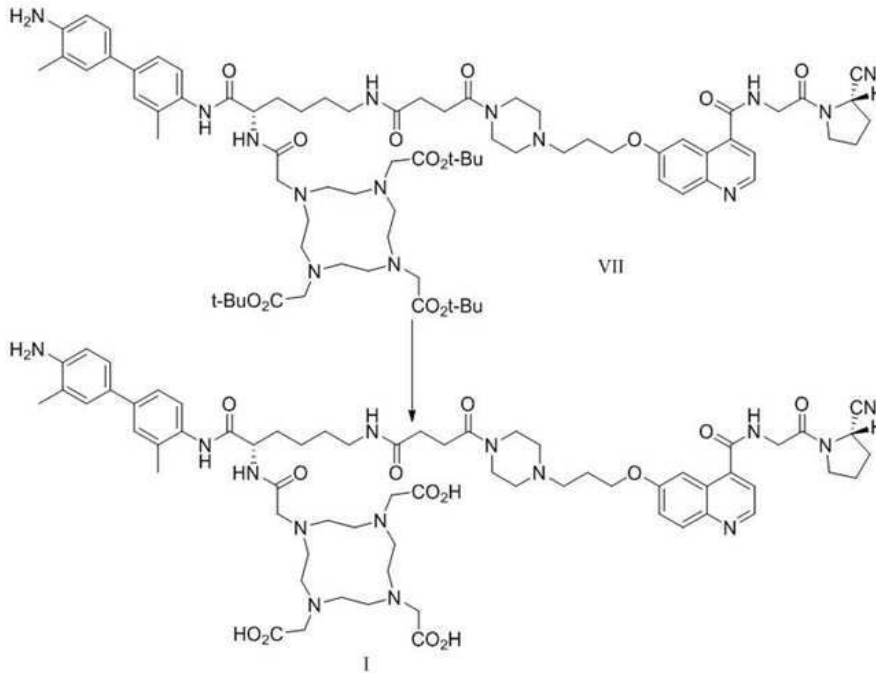
본 발명의 더욱 바람직한 실시형태에서, 단계(c)의 상기 유기용매는 디클로로메탄, N,N-디메틸포름아미드 또는 이들의 혼합물 중 어느 하나이며, 가장 바람직하게는 N,N-디메틸포름아미드이다. 단계(c)의 상기 유기산은 트리플루오로아세트산, p-톨루엔술폰산 중 어느 하나이며, 가장 바람직하게는 트리플루오로아세트산이다; 단계(c)의 상기 유기염기는 N,N-디이소프로필에틸아민, 트리에틸아민 중 어느 하나이며, 가장 바람직하게는 N,N-디이소프로필에틸아민이다.

[0029] 본 발명의 바람직한 실시형태에서, 상기 단계(d)는 구체적으로 다음과 같다. 유기용매 중에서, 단계(c)에서 얻은 상기 화합물(VII)을 첨가하고, 이어서 유기산을 첨가하여 20 내지 45°C에서 1 내지 8시간 동안 교반 반응시키고, 처리하여 화학식(I) 구조의 중간체를 얻는다.

[0030] 본 발명의 더욱 바람직한 실시형태에서, 단계(d)의 상기 유기용매는 디클로로메탄 또는 아세트니트릴이다.

[0031] 본 발명의 더욱 바람직한 실시형태에서, 단계(d)의 상기 유기산은 트리플루오로아세트산, p-톨루엔술폰산 중 어느 하나이며, 가장 바람직하게는 트리플루오로아세트산이다.

[0032] 본 발명은 상기 중간체(즉, 화학식(I) 화합물)의 제조방법을 제공하며, 상기 화학식(I) 화합물은 화학식(VII) 화합물의 가수분해 반응으로 제조되며, 그 제조 경로는 다음과 같다.



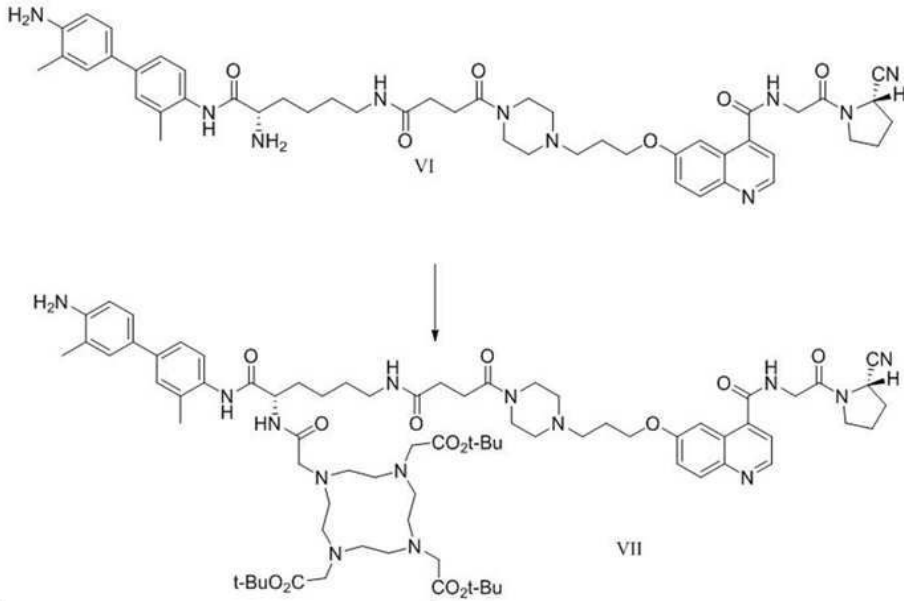
[0033]

[0034] 상기 화학식(VII) 화합물로부터 화학식(I) 화합물을 제조하는 바람직한 제조방법은 다음과 같다. 유기용매 중에서, 상기 화학식(VII) 화합물을 첨가하고, 이어서 유기산을 첨가하여 20 내지 45°C에서 1 내지 8시간 동안 교반 반응시키고, 처리하여 화학식(I) 구조의 중간체를 얻는다.

[0035] 바람직하게는, 상기 제조방법에서 상기 유기용매는 디클로로메탄 또는 아세트니트릴이 바람직하다.

[0036] 바람직하게는, 상기 제조방법에서 상기 유기산은 트리플루오로아세트산, p-톨루엔술폰산 중 어느 하나가 바람직하며, 더욱 바람직하게는 트리플루오로아세트산이다.

[0037] 나아가, 상기 화학식(VII) 화합물은 화학식(VI) 화합물의 치환 반응으로 얻어지며, 그 제조 경로는 다음과 같다.



[0038]

[0039]

상기 화학식(VI) 화합물로부터 화학식(VII) 화합물을 제조하는 바람직한 제조방법은 다음과 같다. 유기용매 중에서, 화합물(VI)을 첨가하고, 이어서 과량의 유기염기를 첨가한 후, 2,2',2''-(10-(2-((2,5-디옥소피롤리딘-1-일)옥시)-2-옥소에틸)-1,4,7,10-테트라아자시클로데칸-1,4,7-트리일)트리아세트산 트리-tert-부틸 에스터(DOTA-TRIS-TBU-ESTER NHS)를 첨가하여, 15 내지 45℃에서 1 내지 8시간 동안 교반 반응시키고, 처리하여 화합물(VII)을 얻는다.

[0040]

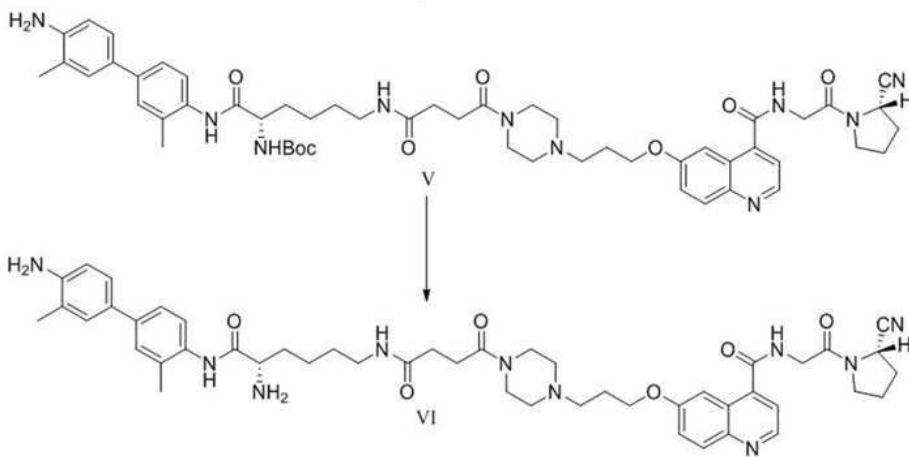
바람직하게는, 상기 제조방법에서 상기 유기용매는 디클로로메탄, N,N-디메틸포름아미드 또는 이들의 혼합물 중 어느 하나이며, 가장 바람직하게는 N,N-디메틸포름아미드이다.

[0041]

바람직하게는, 상기 제조방법에서 상기 유기염기는 N,N-디이소프로필에틸아민, 트리에틸아민 중 어느 하나이며, 가장 바람직하게는 N,N-디이소프로필에틸아민이다.

[0042]

더 나아가, 상기 화학식(VI) 화합물은 화학식(V) 화합물의 탈보호 반응으로 얻어지며, 그 제조 경로는 다음과 같다.



[0043]

[0044]

상기 화학식(V) 화합물로부터 화학식(VI) 화합물을 제조하는 바람직한 제조방법은 다음과 같다. 유기용매 중에서, 화합물(V)를 첨가하고, 이어서 유기산을 첨가하여 20 내지 45℃에서 1 내지 8시간 동안 교반 반응시켜 화합물(VI)을 얻는다.

[0045]

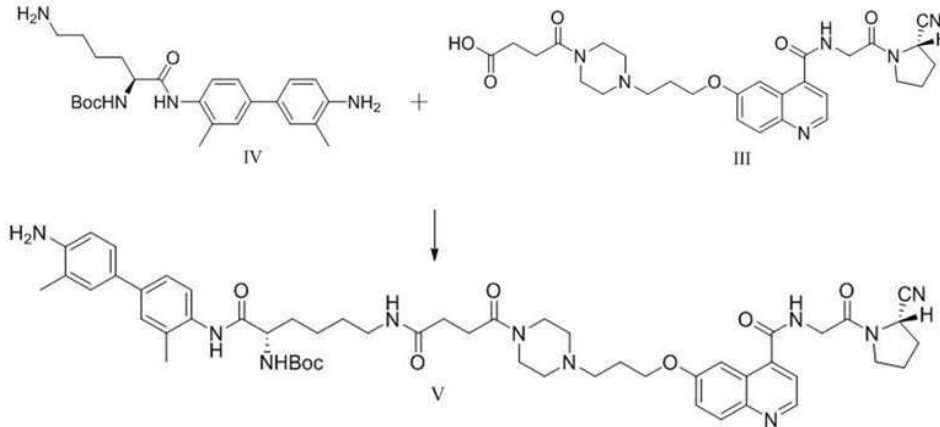
바람직하게는, 상기 제조방법에서 상기 유기용매는 디클로로메탄, N,N-디메틸포름아미드 또는 이들의 혼합물 중 어느 하나이며, 가장 바람직하게는 N,N-디메틸포름아미드이다.

[0046]

바람직하게는, 상기 제조방법에서 상기 유기산은 트리플루오로아세트산, p-톨루엔술폰산 중 어느 하나이며, 가

장 바람직하게는 트리플루오로아세트산이다.

[0047] 더 나아가, 상기 화학식(V) 화합물은 화학식(IV) 화합물과 화학식(III) 화합물의 커플링으로 얻어지며, 그 제조 경로는 다음과 같다.



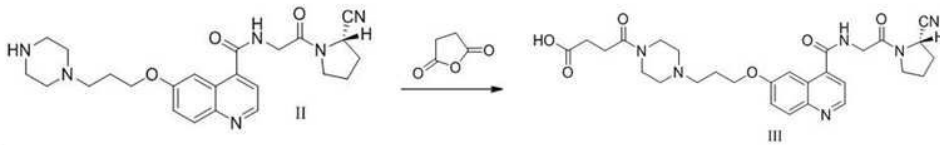
[0048]

[0049] 상기 화학식(IV) 화합물과 화학식(III) 화합물로부터 화학식(V) 화합물을 제조하는 바람직한 제조방법은 다음과 같다. N,N-디메틸포름아미드 용매 중에서, 화합물(III)과 화합물(IV)를 첨가하고, 이어서 촉합제와 유기염기를 첨가한 후, 20 내지 45℃에서 1 내지 8시간 동안 교반 반응시키고, 처리하여 화합물(V)를 얻는다.

[0050] 바람직하게는, 상기 제조방법에서 상기 촉합제는 HATU, HBTU, TBTU, TSTU, PyAOP, PyBOP 중 어느 하나이며, 가장 바람직하게는 HATU이다.

[0051] 바람직하게는, 상기 제조방법에서 상기 유기염기는 N,N-디이소프로필에틸아민, 트리에틸아민 중 어느 하나이며, 가장 바람직하게는 N,N-디이소프로필에틸아민이다.

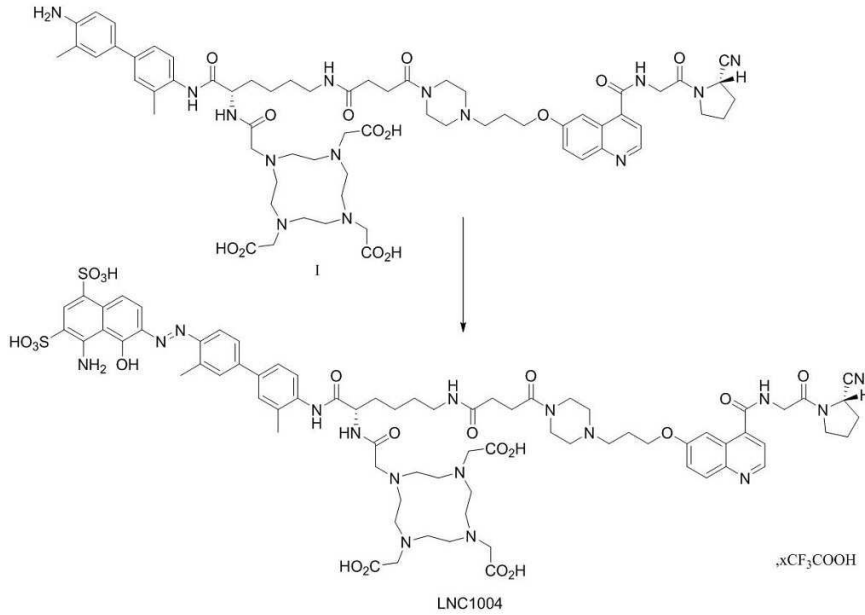
[0052] 더 나아가, 상기 화학식(III) 화합물은 화학식(II) 화합물과 숙신산 무수물의 반응으로 얻어지며, 그 제조 경로는 다음과 같다.



[0053]

[0054] 제3 측면에서, 본 발명은 본 발명에서 제공하는 중간체(즉, 화학식(I) 화합물)를 이용한 에반스 블루로 수식된 FAPI(LNC1004)의 합성 방법을 제공하며, 본 발명은 또한 상기 중간체(즉, 화학식(I) 화합물)의 에반스 블루로 수식된 FAPI(LNC1004) 합성에서의 응용을 제공한다.

[0055] 구체적으로, 상기 방법 또는 응용은 다음과 같은 반응 경로를 포함한다:



[0056]

[0057] 상기 방법 또는 응용의 반응 단계는 다음과 같다. 화학식(I)의 상기 중간체를 물에 용해시키고, 교반 조건 하에서 -5 내지 25℃에서 순차적으로 염산 용액, 아질산나트륨을 첨가하여 디아조늄염 용액을 생성시키고, 이어서 1-아미노-8-나프톨-2,4-디술폰산 모노나트륨염과 탄산수소나트륨을 혼합하여 산-염기 중화반응을 통해 1-아미노-8-나프톨-2,4-디술폰산 모노나트륨염과 탄산수소나트륨 수용액을 생성시키고, -5 내지 25℃에서 교반하면서 상기 디아조늄염 용액을 상기 1-아미노-8-나프톨-2,4-디술폰산 모노나트륨염과 탄산수소나트륨 수용액에 적가하여 1 내지 8시간 동안 반응시킨 후 처리하여 에반스 블루로 수식된 FAPI(즉, LNC1004)를 얻는다.

[0058] 본 발명의 바람직한 실시형태에서, 상기 반응 단계에서 상기 염산 용액의 몰 농도는 0.5mol/L 내지 6mol/L이며, 더욱 바람직하게는 1 내지 3mol/L이다. 염산의 사용당량(상기 중간체와의 몰비)은 1.0 내지 3.0이며, 더욱 바람직하게는 1.5 내지 2.0이다; 아질산나트륨의 사용당량(상기 중간체와의 몰비)은 1.0 내지 3.0이며, 더욱 바람직하게는 1.0 내지 1.5이다; 1-아미노-8-나프톨-2,4-디술폰산 모노나트륨염의 사용당량(상기 중간체와의 몰비)은 1.0 내지 3.0이며, 더욱 바람직하게는 1.0 내지 1.5이다; 탄산수소나트륨의 사용당량(상기 중간체와의 몰비)은 5.0 내지 10.0이며, 더욱 바람직하게는 8.0 내지 10.0이다.

발명의 효과

[0059] 본 발명에서 제공하는 에반스 블루로 수식된 FAPI(LNC1004)의 합성 방법은 본 발명에서 제공하는 중간체(화학식(I) 화합물)의 합성을 전제로 하며, 최종적으로 이 중간체와 1-아미노-8-나프톨-2,4-디술폰산 모노나트륨염을 커플링하여 LNC1004를 얻는다. 기존의 합성 방법과 비교하여, 본 발명의 전체 합성 방법의 차이점은 주로 다음과 같다. 1-아미노-8-나프톨-2,4-디술폰산 모노나트륨염과의 반응을 마지막 단계에 배치한다. DOTA기 도입 시 먼저 카르복시기 보호된 DOTA기를 커플링한 후 탈보호하는 방식을 채택한다. 상기 차이점에 근거하여, 본 발명의 장점은 다음과 같다.

[0060] 1) 1-아미노-8-나프톨-2,4-디술폰산 모노나트륨염과 상기 중간체의 커플링을 합성의 마지막 단계에 배치함으로써, 기존 합성 방법에 비해 반응 중간체들의 극성을 낮추어, 상기 중간체를 얻기 전까지의 합성 과정에서 제조되는 화합물들을 모두 추출, 컬럼 크로마토그래피 등의 후처리 방법으로 분리 정제할 수 있게 되었다. 이를 통해 전체 합성 과정의 생산 효율과 수율을 크게 향상시켜 대규모 산업화 생산에 적합하게 되었다.

[0061] 2) DOTA기 도입 시 먼저 카르복시기 보호된 DOTA기를 커플링한 후 탈보호하는 방식을 채택하여, 즉 2,2',2''-(10-(2-((2,5-디옥소피롤리딘-1-일)옥시)-2-옥소에틸)-1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1,4,7-트리일)트리아세트산 트리-tert-부틸 에스터(DOTA-TRIS-TBU-ESTER NHS)를 DOTA-NHS 대신 반응에 사용하고, 이후 tert-부틸 에스터를 제거함으로써 합성 과정을 더욱 효율적이고 수율이 높으며 비용이 낮게 만들었다. 먼저, 2,2',2''-(10-(2-((2,5-디옥소피롤리딘-1-일)옥시)-2-옥소에틸)-1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1,4,7-트리일)트리아세트산 트리-tert-부틸 에스터(DOTA-TRIS-TBU-ESTER NHS)가 DOTA-NHS에 비해 화학적으로 더 안정하여 반응 중

자체 구조가 파괴되기 어렵기 때문에, 본 발명은 부반응이 적고 단계별 반응 수율이 더 높다. 둘째, 2,2',2''-(10-(2-((2,5-디옥소피롤리딘-1-일)옥시)-2-옥소에틸)-1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1,4,7-트리일)트리아세트산 트리-tert-부틸 에스터(DOTA-TRIS-TBU-ESTER NHS)의 극성이 DOTA-NHS보다 작기 때문에 해당 화합물(VII)을 얻은 후에도 컬럼 크로마토그래피로 분리 정제할 수 있어 산업화 생산에 적합하다. 셋째, 2,2',2''-(10-(2-((2,5-디옥소피롤리딘-1-일)옥시)-2-옥소에틸)-1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1,4,7-트리일)트리아세트산 트리-tert-부틸 에스터(DOTA-TRIS-TBU-ESTER NHS)(약 1,500위안/g)의 시장 가격이 DOTA-NHS(약 10,000위안/g)보다 낮기 때문에, 본 발명에서 2,2',2''-(10-(2-((2,5-디옥소피롤리딘-1-일)옥시)-2-옥소에틸)-1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1,4,7-트리일)트리아세트산 트리-tert-부틸 에스터(DOTA-TRIS-TBU-ESTER NHS)를 DOTA-NHS 대신 사용함으로써 생산 비용을 크게 낮출 수 있다.

도면의 간단한 설명

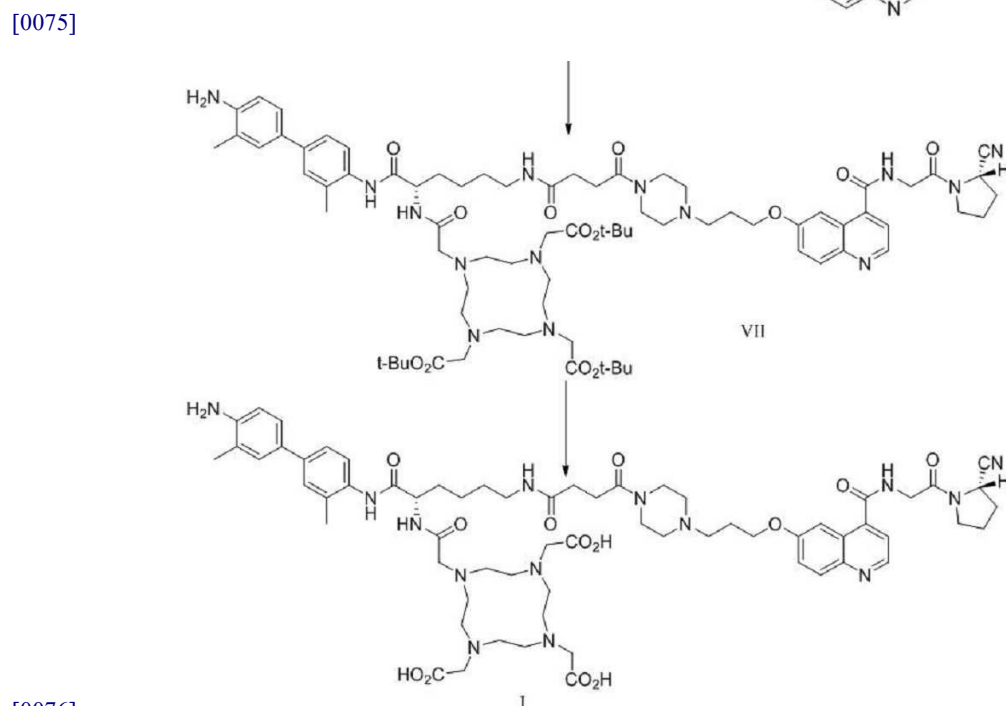
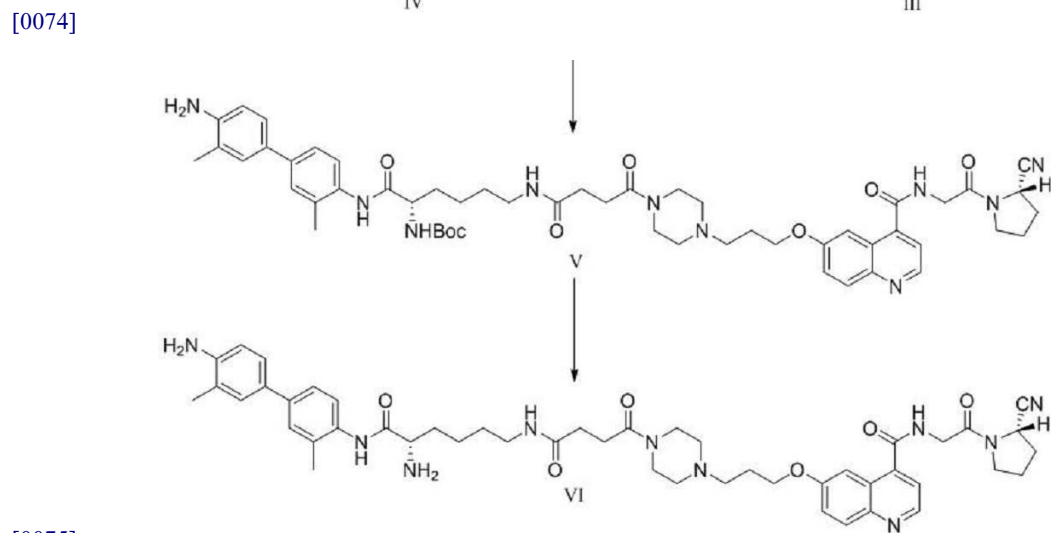
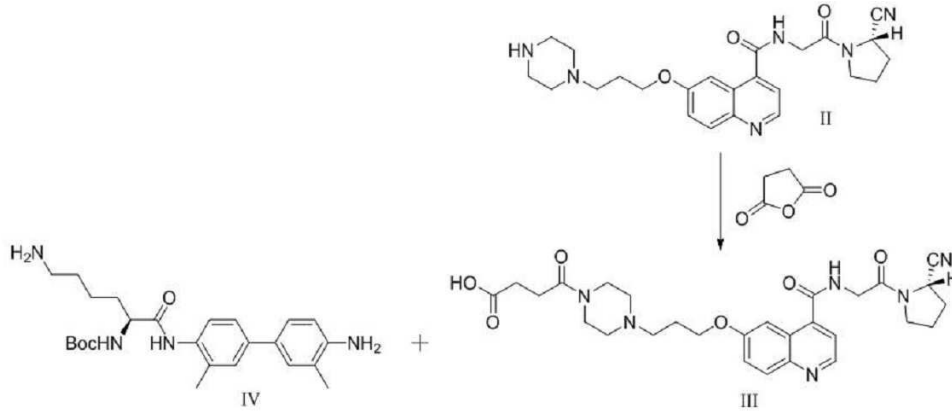
- [0062] 도 1은 실시예 1에서 기재된 화합물(III)의 질량 스펙트럼이다.
- 도 2는 실시예 1에서 기재된 화합물(V)의 질량 스펙트럼이다.
- 도 3은 실시예 1에서 기재된 화합물(VII)의 질량 스펙트럼이다.
- 도 4는 실시예 1에서 기재된 화학식(I) 중간체의 질량 스펙트럼이다.
- 도 5는 실시예 2에서 기재된 에반스 블루로 수식된 FAPI(LNC1004)의 질량 스펙트럼이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0063] 하기 실시예를 통해 본 발명을 더 잘 이해할 수 있다. 그러나 본 분야의 기술자들은 실시예에서 기재된 구체적인 물질 비율, 공정 조건 및 그 결과가 본 발명을 설명하기 위한 것일 뿐, 청구범위에 상세히 기재된 본 발명을 제한하지 않는다는 것을 쉽게 이해할 수 있을 것이다.
- [0064] 실시예 1: 화학식(I) 화합물의 제조
- [0065] 화합물(III)의 제조
- [0066] (S)-N-(2-(2-시아노피롤리딘-1-일)-2-옥소에틸)-6-(3-(피페라진-1-일)프로폭시)퀴놀린-4-카르복스아미드(즉, 화합물(II)) 10.06g을 70ml 디클로로메탄에 용해시키고, 이어서 DIPEA 16.9ml, 숙신산 무수물 2.81g을 차례로 첨가한 후, 실온에서 2시간 동안 교반 반응시키고, 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 화합물(III) 7.32g을 얻었다. 수율은 59.54%이며, 이론값 [M-H]⁻=549.25, 실측값 [M-H]⁻=549.24826이다. 그 구조 분석 스펙트럼은 도 1과 같다.
- [0067] 화합물(V)의 제조
- [0068] N,N-디메틸포름아미드 70ml 중에서, 화합물(III) 7.20g, (S)-(6-아미노-1-((4'-아미노-3,3'-디메틸-[1,1'-비페닐]-4-일)아미노)-1-옥소헥스-2-일)카르바메이트(화합물(IV)) 5.83g, HATU 6.12g, DIPEA 2.66g을 차례로 첨가하고, 실온에서 2시간 동안 교반 반응시킨 후, 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 화합물(V) 11.66g을 얻었다. 수율은 91.30%이며, 이론값 [M+H]⁺=973.53, 실측값 [M+H]⁺=973.52750이다. 그 구조 분석 스펙트럼은 도 2와 같다.
- [0069] 화합물(VII)의 제조
- [0070] N,N-디메틸포름아미드 200ml 중에서, 화합물(V) 11.50g을 첨가하고, 이어서 트리플루오로아세트산 77.86ml를 첨가하여 40 내지 45℃에서 1시간 동안 교반 반응시켜 화합물(VI)을 얻은 후, N,N-디이소프로필에틸아민 234ml를 첨가하고, 이어서 2,2',2''-(10-(2-((2,5-디옥소피롤리딘-1-일)옥시)-2-옥소에틸)-1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1,4,7-트리일)트리아세트산 트리-tert-부틸 에스터(DOTA-TRIS-TBU-ESTER NHS) 7.5g을 첨가하여, 실온에서 6시간 동안 교반 반응시켰다. 반응액을 감압 농축한 후 디클로로메탄 200ml를 첨가하여 용해시키고, 유기상을 물로 2회 세척한 후 무수 황산나트륨으로 건조하고, 유기상을 감압 농축한 후 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 화합물(VII) 20.85g을 얻었다. 수율은 123.51%(무기염 포함)이며, 이론값 [M+H]⁺=1427.85, 실측값 [M+H]⁺=1427.84403이다. 그 구조 분석 스펙트럼은 도 3과 같다.
- [0071] 화학식(I) 화합물의 제조
- [0072] 화합물(VII) 20.5g에 디클로로메탄 350ml와 트리플루오로아세트산 350ml를 첨가하여 40 내지 45℃에서 1시간 동

안 교반 반응시킨 후, 반응액을 메틸 tert-부틸 에테르 3.5L에 적가하면서 교반하여 고체를 석출시키고, 여과한 후 제조용 액체 크로마토그래피로 정제하여 화학식(I) 화합물 10.36g을 얻었다. 수율은 56.30%이며, 이론값 $[M+H]^+=1259.66$, $([M+2H]/2)^+=630.33$, 실측값 $([M+2H]/2)^+=630.33554$ 이다. 그 구조 분석 스펙트럼은 도 4와 같다.

[0073] 본 실시예의 반응 경로는 다음과 같다.

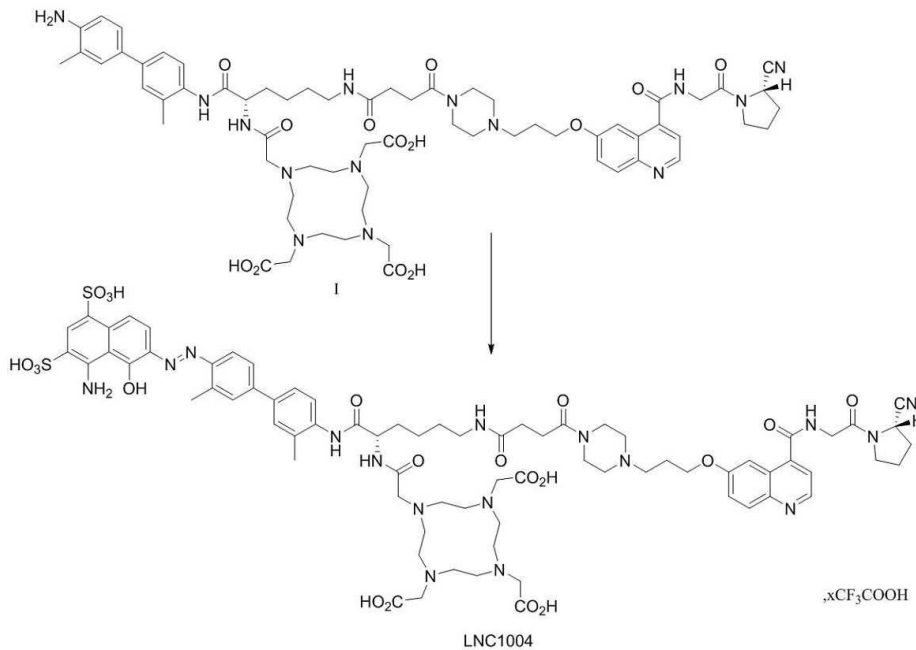


[0076]

[0077] 실시예 2: 에반스 블루로 수식된 FAPI(LNC1004)의 제조

[0078] 실시예 1에서 제조한 화학식(I) 화합물 10.3g을 물 135ml에 용해시키고, 교반하면서 0 내지 10℃에서 2mol/L 염산 용액 8.7ml와 아질산나트륨 0.618g을 차례로 첨가하여 디아조늄염 용액을 생성시켰다. 이어서 탄산수소나트륨 6.9g을 물 135ml에 용해시키고, 1-아미노-8-나프톨-2,4-디술폰산 모노나트륨염 3.1g을 첨가하여 산-염기 중화반응을 통해 1-아미노-8-나프톨-2,4-디술폰산 모노나트륨염과 탄산수소나트륨 수용액을 생성시켰다. 0 내지 10℃에서 교반하면서 상기 디아조늄염 용액을 상기 1-아미노-8-나프톨-2,4-디술폰산 모노나트륨염과 탄산수소나트륨 수용액에 적가하여 1시간 동안 반응시킨 후 반응액을 감압 농축하고, 제조용 액체 크로마토그래피로 정제하여 방사성 표지가 가능한 에반스 블루로 수식된 섬유아세포 활성화 단백질 억제제(LNC1004) 7.01g을 얻었다. 수율은 53.91%이며, 이론값 $([M+2H]/2)^+ = 795.31$, 실측값 $([M+2H]/2)^+ = 795.30666$ 이다. 그 구조 분석 스펙트럼은 도 5와 같다.

[0079] 본 실시예의 반응 경로는 다음과 같다.



[0080]

[0081] 비교실시예 1

[0082] 화합물(2)의 합성

[0083] 50ml 플라스크에 tert-부틸(4'-아미노-3,3'-디메틸-[1,1'-비페닐]-4-일)카르바메이트(화합물(1))(0.31g, 1.0mmol)와 아세트니트릴 4ml를 각각 투입하고, 얼음 중탕에서 2M 염산 1.5ml를 반응 플라스크에 적가하여 15분간 반응시킨 후, 아질산나트륨(0.068g, 1.0mmol)을 물 2ml에 용해시켜 다시 반응 플라스크에 적가하여 30분간 반응시켜 A액으로 준비하였다. 별도로 50ml 반응 플라스크에 1-아미노-8-나프톨-2,4-디술폰산 모노나트륨염(0.33g, 1.0mmol), 탄산나트륨(0.105g, 1.0mmol) 및 물 5ml를 넣어 B액을 만들고, 얼음 중탕에서 A액을 B액에 천천히 적가하여 얼음 중탕에서 2시간 동안 교반 반응시켰다. 제조용 액체 크로마토그래피로 정제하고 동결 건조하여 순수한 화합물(2)를 얻었으며, 수율은 47%였다.

[0084] 화합물(3)의 합성

[0085] 얼음 중탕 조건에서 화합물(2)(0.52g, 1.0mmol)를 트리플루오로아세트산에 용해시키고, 계를 실온으로 승온하여 2시간 동안 반응시킨 후, 반응 종료 후 감압 증류로 용매를 제거하여 조 생성물을 얻었다. 조 생성물을 제조용 액체 크로마토그래피로 정제하고 동결 건조하여 순수한 화합물(3)을 얻었으며, 수율은 73%였다.

[0086] 화합물(4)의 합성

[0087] 100ml 플라스크에 화합물(3)(0.54g, 1.0mmol), Boc-Lys(Fmoc)-OH(0.47g, 1.0mmol), HATU(0.38g, 1.0mmol), N,N-디이소프로필에틸아민(0.26g, 2.0mmol) 및 N,N-디메틸포름아미드 10ml를 각각 투입하였다. 반응 혼합물은 반응이 완료될 때까지 교반한 후, 감압 증류로 용매를 제거하여 조 생성물을 얻었다. 조 생성물을 제조용 액체

크로마토그래피로 정제하고 동결 건조하여 순수한 화합물(4)를 얻었으며, 수율은 47%였다.

[0088] 화합물(5)의 제조

[0089] 화합물(4)를 피페리딘(20%[v/v])을 사용하여 실온에서 Fmoc를 탈보호하였다. 반응 혼합물을 1시간 동안 교반한 후, 고진공에서 DMF를 제거하였다. 잔류물을 제조용 액체 크로마토그래피로 정제하였다. 분리 수율은 67%였다. 숙신산 무수물(500mg, 5mmol)을 DMF 5ml에 용해시킨 후, Fmoc 보호가 제거된 화합물(4) 중간체(0.5mmol, 375mg)에 첨가하고, DIPEA 10mmol을 추가로 첨가하였다. 혼합물을 화합물(5)로 완전히 전환될 때까지 실온에서 12시간 동안 교반하였다. 그 후, 고진공에서 DMF를 제거하였다. 잔류물을 제조용 액체 크로마토그래피로 정제하였다(278mg, 수율 64%).

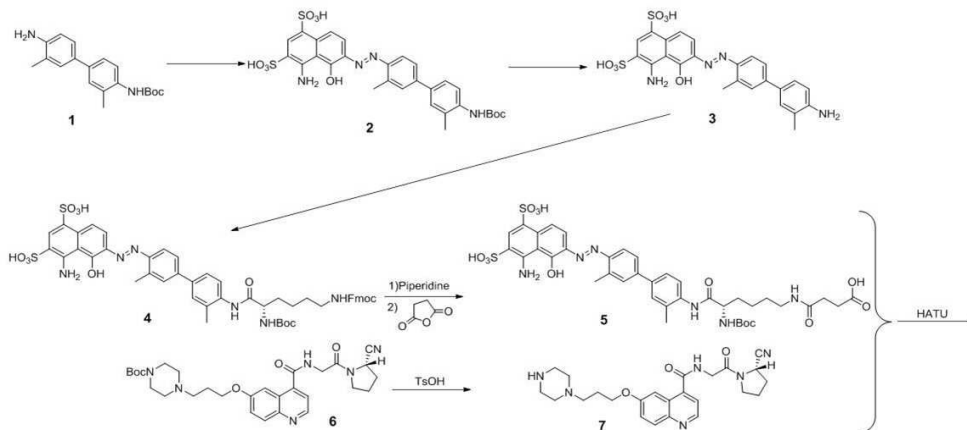
[0090] 화합물(8)의 제조

[0091] (S)-4-(3-((4-((2-(2-시아노피롤리딘-1-일)-2-옥소에틸)아미노카르보닐)퀴놀린-6-일)옥시)프로필)피페라진-1-카르복실산 tert-부틸 에스터(화합물(6))(110mg, 0.2mmol)와 p-톨루엔술폰산 일수화물(380mg, 2mmol)을 아세트 니트릴 10ml에 용해시켰다. 반응물을 45°C에서 하룻밤 동안 진탕하여 화합물(7)을 얻었다. 감압 증류로 아세트 니트릴을 제거하고 잔류물을 DMF에 용해시켰다. 이어서 화합물(5)(174mg, 0.2mmol), N,N-디이소프로필에틸아민(129mg, 1mmol)과 HATU(76mg, 0.2mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 6시간 동안 교반하여 화합물(8)을 얻었다. 고진공에서 DMF를 제거하고 잔류물을 제조용 액체 크로마토그래피로 정제하였다(210mg, 수율 81%).

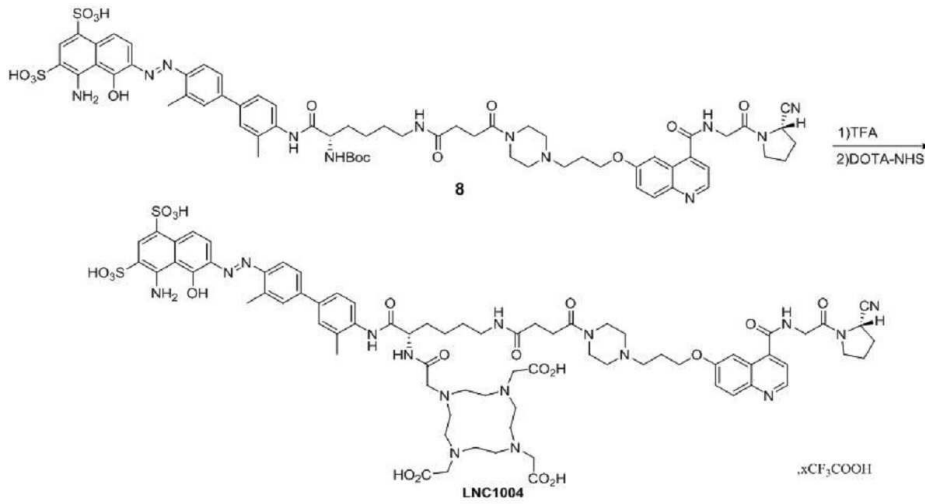
[0092] LNC1004의 제조

[0093] 실온에서, DCM(v/v) 중 10% TFA로 화합물(8)(26mg, 0.02mmol)의 BOC기를 1시간 동안 제거하였다. 이어서 아르곤 기류로 TFA와 DCM을 제거한 후, 잔류물을 1.2당량의 DOTA-NHS 에스터와 8당량의 DIPEA와 함께 DMF 중에서 반응시켰다. 실온에서 2 내지 3시간 동안 교반한 후, 반응 혼합물을 제조용 액체 크로마토그래피로 정제하여 목적 생성물을 얻었다(23mg, 수율 73%).

[0094] 그 반응 경로는 다음과 같다.



[0095]



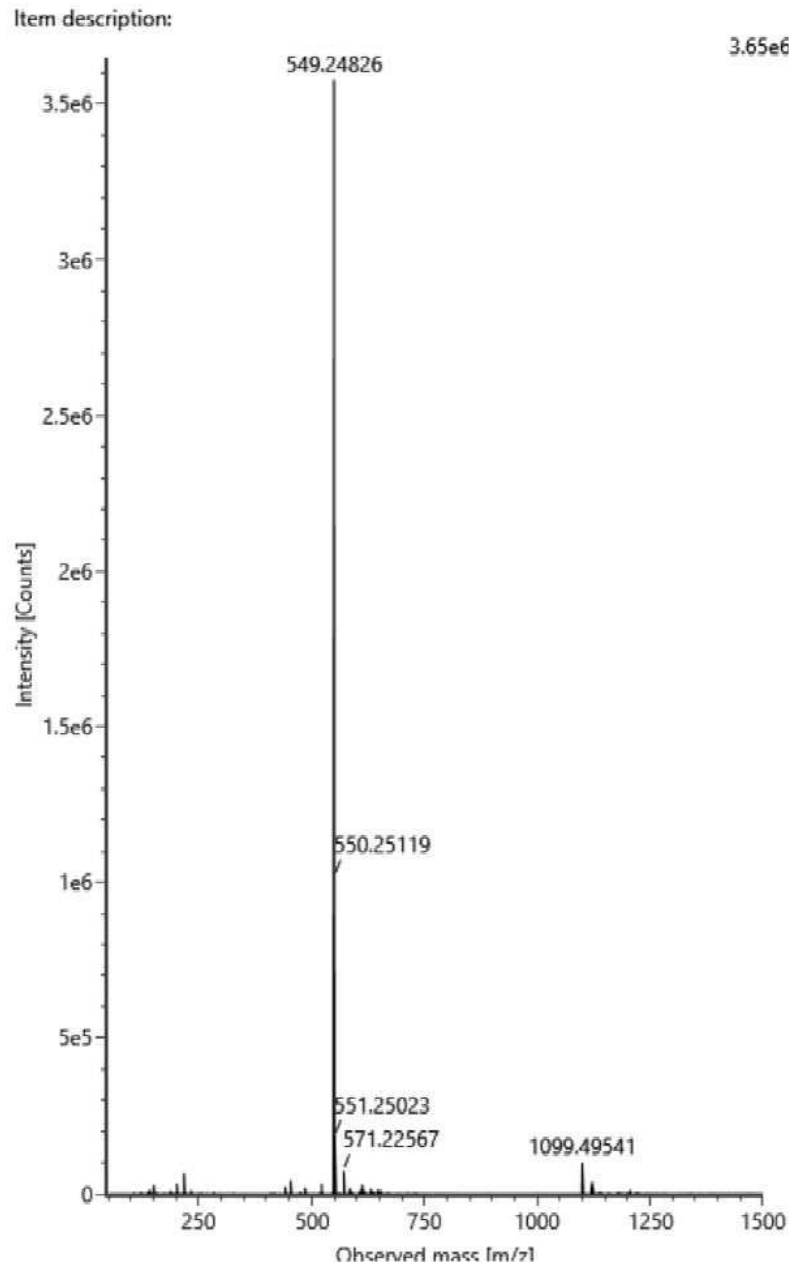
[0096]

[0097]

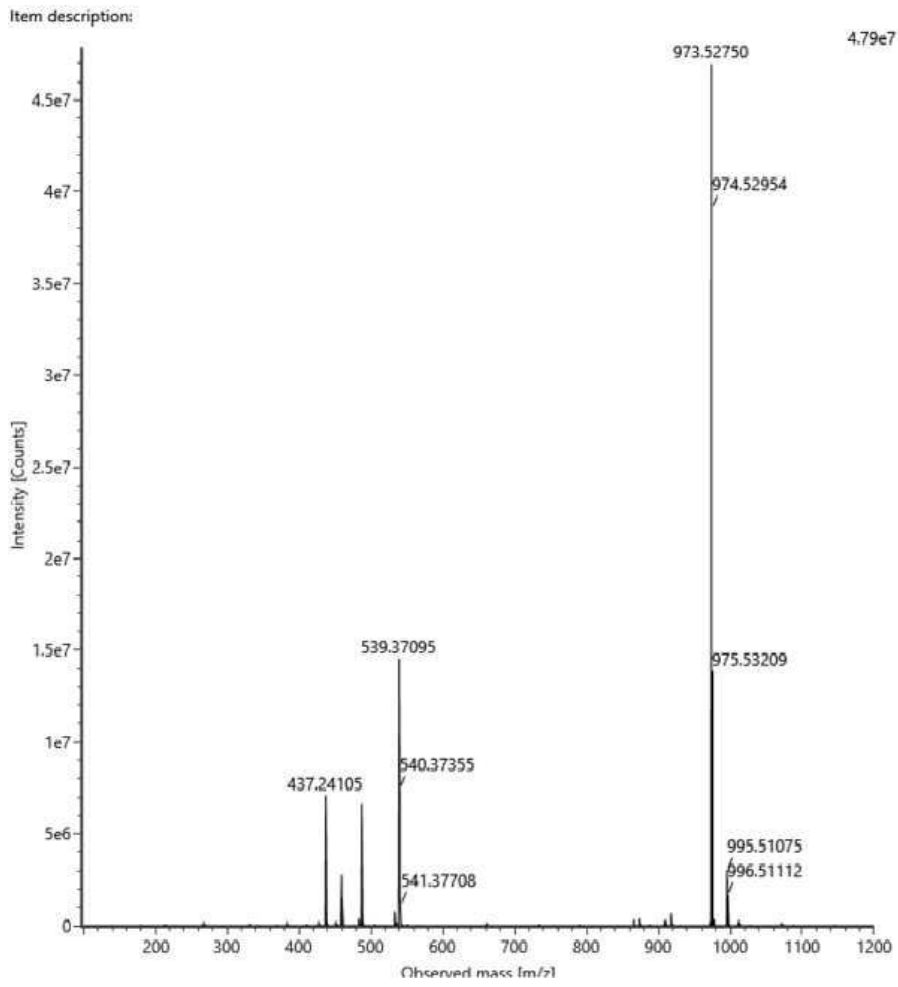
본 발명의 실시예 1, 2와 비교실시예 1을 비교하면, 비교실시예 1은 7단계 반응을 거쳐 LNC1004를 합성하고, 각 단계의 반응 후 처리에 모두 제조용 액체 크로마토그래피 정제가 필요하며, 총수율은 4.09%이다. 반면, 본 발명의 실시예 1과 2의 전체 합성 경로는 6단계 반응으로 LNC1004를 합성하며, 이 중 마지막 두 단계만 제조용 액체 크로마토그래피 정제가 필요하고, 총수율은 20.38%이다. 이를 통해 본 발명의 합성 방법이 LNC1004의 수율을 크게 향상시킬 수 있음을 알 수 있다.

도면

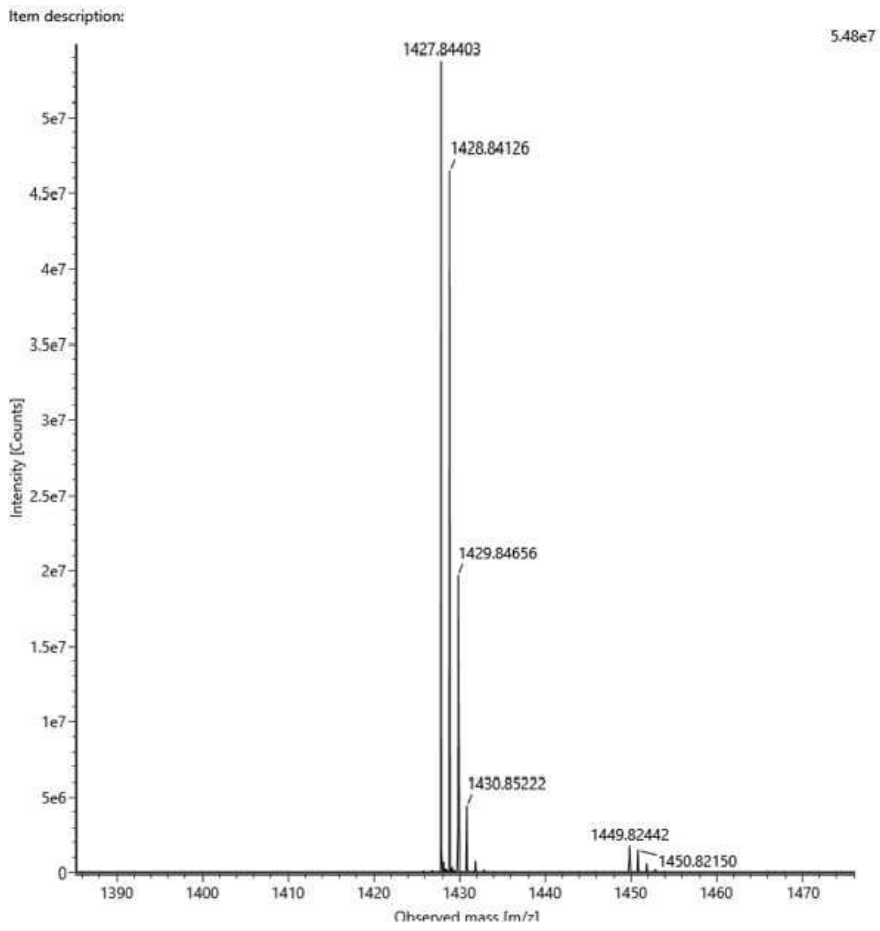
도면1



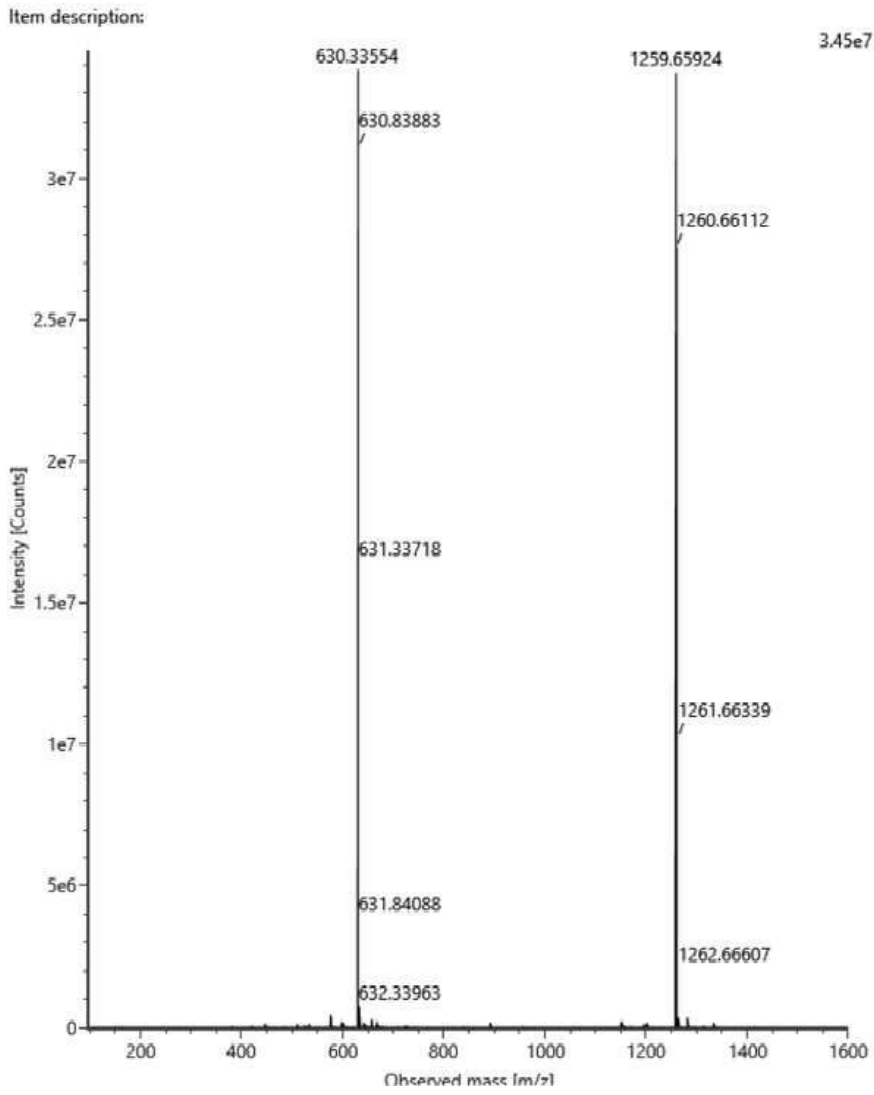
도면2



도면3



도면4



도면5

