



등록특허 10-2567590



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년08월17일

(11) 등록번호 10-2567590

(24) 등록일자 2023년08월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 47/68 (2017.01) A61K 31/7084 (2006.01)

A61K 47/65 (2017.01) A61P 35/00 (2006.01)

A61P 35/02 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)

C07H 21/02 (2006.01) C07K 16/32 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 47/6807 (2017.08)

A61K 31/7084 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2021-7009642

(22) 출원일자(국제) 2019년09월06일

심사청구일자 2021년07월19일

(85) 번역문제출일자 2021년03월31일

(65) 공개번호 10-2021-0057066

(43) 공개일자 2021년05월20일

(86) 국제출원번호 PCT/JP2019/035198

(87) 국제공개번호 WO 2020/050406

국제공개일자 2020년03월12일

(30) 우선권주장

JP-P-2018-167369 2018년09월06일 일본(JP)

(56) 선행기술조사문헌

W02017161349 A1

(73) 특허권자

다이이찌 산쿄 가부시키키가이샤

일본 도쿄도 츄오구 니혼바시 혼쵸 3-5-1

(72) 발명자

츠다 도시후미

일본 도쿄도 츄오구 니혼바시 혼쵸 3-5-1 다이이찌 산쿄 가부시키키가이샤 나이

다부치 도시키

일본 도쿄도 츄오구 니혼바시 혼쵸 3-5-1 다이이찌 산쿄 가부시키키가이샤 나이

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인코리아나

전체 청구항 수 : 총 18 항

심사관 : 이재정

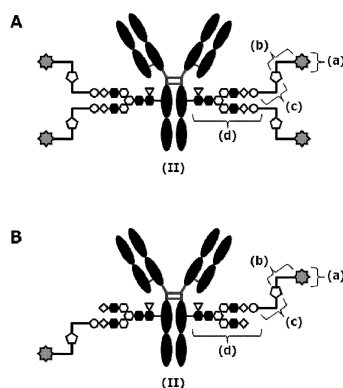
(54) 발명의 명칭 신규 고리형 디뉴클레오타이드 유도체 및 그 항체 약물 콘쥬게이트

(57) 요약

(과제) STING 아고니스트 활성을 갖는 신규 CDN 유도체 및 그 신규 CDN 유도체를 사용한 STING 아고니스트 활성이 관련하는 질환의 치료제 및/또는 치료법의 개발이 요망되고 있다. 또, 그 신규 CDN 유도체를 목적으로 하는 세포나 장기에 특이적으로 송달할 수 있는, STING 아고니스트 활성이 관련하는 질환의 치료제 및/또는 치료법의 개발이 요망되고 있다.

(해결 수단) 본 발명에 의해, 강한 STING 아고니스트 활성을 갖는 신규 CDN 유도체, 신규 CDN 유도체를 포함하는 항체 CDN 유도체 콘쥬게이트가 제공된다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 47/65 (2017.08)
A61P 35/00 (2018.01)
A61P 35/02 (2018.01)
A61P 43/00 (2018.01)
C07H 21/02 (2013.01)
C07K 16/32 (2013.01)
C07K 2317/56 (2013.01)

(72) 발명자

와타나베 히데아키

일본 도쿄도 츄오쿠 니혼바시 혼쵸 3-5-1 다이이찌
 산쿄 가부시키키가이샤 나이

고바야시 히로유키

일본 도쿄도 츄오쿠 니혼바시 혼쵸 3-5-1 다이이찌
 산쿄 가부시키키가이샤 나이

이시자키 마사유키

일본 도쿄도 츄오쿠 니혼바시 혼쵸 3-5-1 다이이찌
 산쿄 가부시키키가이샤 나이

하라 교코

일본 도쿄도 츄오쿠 니혼바시 혼쵸 3-5-1 다이이찌
 산쿄 가부시키키가이샤 나이

와다 테이지

일본 도쿄도 츄오쿠 니혼바시 혼쵸 3-5-1 다이이찌
 산쿄 가부시키키가이샤 나이

아라이 마사미

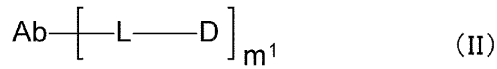
일본 도쿄도 츄오쿠 니혼바시 혼쵸 3-5-1 다이이찌
 산쿄 가부시키키가이샤 나이

명세서

청구범위

청구항 1

다음 식 (II) :



(식 중, m^1 은 3 내지 5 의 범위이고,

Ab 는, 항HER2 항체를 나타내고, 그 항체의 당사슬은 리모델링된 당사슬 N297-(Fuc)SG 이고,

L 은, Ab 와 D 를 연결하는 링커를 나타내고,

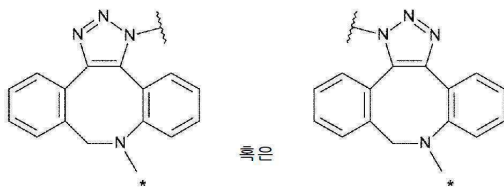
링커 L 이 -Lb-La-Lp-Lc-* 로 나타내고,

식 중, 아스테리스크는, 약물 D 와 결합하고 있는 것을 나타내고,

Lp 는, -GGFG- 이고,

La 는, -C(=O)-CH₂CH₂-C(=O)- 를 나타내고,

Lb 는, 다음 식 :

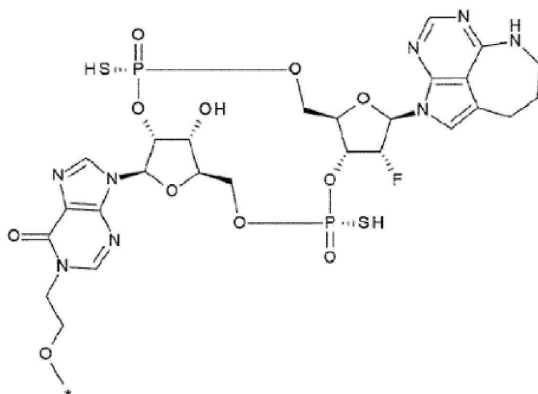


를 나타내고, 상기에서 나타내는 Lb 의 구조식에 있어서, 아스테리스크는 La 와 결합하고 있는 것을 나타내고, 파선은 Ab 의 리모델링된 당사슬과 결합하고 있는 것을 나타내고, 및

Lc 는, -NH-CH₂- 를 나타내고,

Ab 는, 항체의 Asn297 에 결합하는 당사슬 (N297-(Fuc)SG)로부터 L 에 결합하고 있고, 그리고,

D 는, 다음 식 (I) :



(여기서, 아스테리스크는, L 과 결합하고 있는 것을 나타낸다) 로 나타내는 화합물을 나타낸다)

로 나타내는 항체 약물 콘쥬게이트.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

항체가, 하기 (i) 내지 (iii) 중 어느 하나인 것인, 항체 약물 콘주게이트.

(i) 서열 번호 28 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 및 서열 번호 29 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬을 포함하는 항체, 또는 서열 번호 28 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 및 서열 번호 30 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬을 포함하는 항체 ;

(ii) 정상 영역의 아미노산 잔기의 일부가 치환된, (i) 에서 정의된 항체 ; 및

(iii) (i) 에서 정의된 항체의 유전자 (b) 로부터 유전자 공학에 의해 개변된 유전자 (a) 를 사용하여 숙주 세포에서 산생된 단백질.

청구항 3

제 2 항에 있어서,

치환이, EU 인덱스 넘버링에 의해 특정되는 234 위치 및 235 위치의 류신의 알라닌으로의 치환을 포함하는, 항체 약물 콘주게이트.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

항체가, 서열 번호 28 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 및 서열 번호 29 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬을 포함하는 항체이고,

그 항체의 정상 영역의 아미노산 잔기의 일부가 치환된, 항체 약물 콘주게이트.

청구항 5

제 4 항에 있어서,

항체가 IgG1 인, 항체 약물 콘주게이트.

청구항 6

제 1 항에 있어서,

항체가, 서열 번호 28 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 및 서열 번호 29 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬을 포함하는 항체이고,

그 항체의 정상 영역이, EU 인덱스 넘버링에 의해 특정되는 234 위치 및 235 위치의 류신의 알라닌으로의 치환을 포함하는, 항체 약물 콘주게이트.

청구항 7

제 1 항에 있어서,

항체가, 서열 번호 28 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 및 서열 번호 30 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬을 포함하는 항체이고,

그 항체의 정상 영역의 아미노산 잔기의 일부가 치환된, 항체 약물 콘주게이트.

청구항 8

제 7 항에 있어서,

항체가 IgG1 인, 항체 약물 콘주게이트.

청구항 9

제 1 항에 있어서,

항체가, 서열 번호 28 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 및 서열 번호 30 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬을 포함하는 항체이고,

그 항체의 정상 영역이, EU 인덱스 넘버링에 의해 특정되는 234 위치 및 235 위치의 류신의 알라닌으로의 치환을 포함하는, 항체 약물 콘주게이트.

청구항 10

제 4 항에 있어서,

항체의 중사슬 카르복실 말단에 있어서 1 또는 2 개의 아미노산이 결실되어 있는, 항체 약물 콘주게이트.

청구항 11

제 6 항에 있어서,

항체의 중사슬 카르복실 말단에 있어서 1 또는 2 개의 아미노산이 결실되어 있는, 항체 약물 콘주게이트.

청구항 12

제 7 항에 있어서,

항체의 중사슬 카르복실 말단에 있어서 1 또는 2 개의 아미노산이 결실되어 있는, 항체 약물 콘주게이트.

청구항 13

제 9 항에 있어서,

항체의 중사슬 카르복실 말단에 있어서 1 또는 2 개의 아미노산이 결실되어 있는, 항체 약물 콘주게이트.

청구항 14

제 1 항 내지 제 13 항 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘주게이트를 포함하는, 암 치료용 STING 아고니스트.

청구항 15

제 1 항 내지 제 13 항 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘주게이트를 포함하는, 암 치료용 의약 조성물.

청구항 16

제 1 항 내지 제 13 항 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘주게이트를 포함하는, 항종양제.

청구항 17

제 16 항에 있어서,

종양이, 폐암, 신장암, 요로 상피암, 대장암, 전립선암, 다형 신경교아종, 난소암, 췌암, 유방암, 멜라노마, 간암, 방광암, 위암, 식도암, 자궁체암, 정소암, 자궁경암, 태반 융모암, 다형 신경교아종, 뇌종양, 두경부암, 갑상선암, 중피종, 소화관 간질 종양 (GIST), 담낭암, 담관암, 부신암, 유극세포암, 백혈병, 악성 림프종, 형질 세포종, 골수종 또는 육종인, 항종양제.

청구항 18

제 17 항에 있어서,

종양이, 폐암, 대장암, 전립선암, 난소암, 췌암, 유방암, 방광암, 위암, 식도암, 자궁체암, 자궁경암, 두경부암, 담관암, 골수종 또는 육종인, 항종양제.

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

청구항 85

삭제

청구항 86

삭제

청구항 87

삭제

청구항 88

삭제

청구항 89

삭제

청구항 90

삭제

청구항 91

삭제

청구항 92

삭제

청구항 93

삭제

청구항 94

삭제

청구항 95

삭제

청구항 96

삭제

청구항 97

삭제

청구항 98

삭제

청구항 99

삭제

청구항 100

삭제

청구항 101

삭제

청구항 102

삭제

청구항 103

삭제

청구항 104

삭제

청구항 105

삭제

청구항 106

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은, STING 아고니스트 활성을 갖는 신규 구조를 갖는 고리형 디뉴클레오타이드 유도체, 그 신규 고리형 디뉴클레오타이드 유도체와 표적 세포에 대한 항체를 링커를 개재하여 결합시킨 항체 약물 콘쥬게이트, 그 항체 약물 콘쥬게이트를 함유하는 의약 조성물 등에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] STING (Stimulator of Interferon Genes) 은, 소포체에 국재하는 막 관통형의 어댑터 단백질이다 (비특허문헌 1). STING 은, 포유 동물에 있어서의 자연 면역 활성화의 중추 분자로서 기능하고 있고, 세균이나 바이러스와 같은 병원체의 진입에 대한 방어의 최전선을 담당하고 있다. STING 의 활성화는, 복수의 세포질 DNA 센서가, 외인성 및 내인성의 DNA 를 감지했을 때의 시그널에 의해 야기되는 것이 알려져 있다. 세포질 DNA 센서 중에서는, cGAS (Cyclic GMP-AMP Synthase) 가 중요한 DNA 센서라고 생각되고 있다. cGAS 가 DNA 를 감지하면 고리형 디뉴클레오타이드 (2',3'-cGAMP) 가 산생되고, 이 2',3'-cGAMP 가 STING 에 직접 결합하여, STING 을 활성화시킨다 (비특허문헌 2). 활성화한 STING 은 골지체로 이동하고, 거기서 TBK1 (Tank-binding kinase 1) 의 자기 인산화를 재촉한다. 자기 인산화하여 활성화한 TBK-1 은, IRF3 (Interferon regulatory factor 3) 전사 경로 (비특허문헌 3) 및 NF κ B 전사 경로 (비특허문헌 4) 의 양방을 활성화하고, 인터페론이나 사이토카인 (I 형 IFN (Interferon), IL-6 (Interleukin-6), TNF- α (Tumor Necrosis Factor- α)) 이라고 불리는 염증성 단백질의 산생을 증가시킨다. 이들 단백질은, 복잡한 캐스케이드를 통해서 병원체나 암 세포를 파괴하는 T 세포를 포함하는 획득 면역계를 시동시킨다.

[0003] 최근 연구에 의해, STING 은 미생물에 대한 숙주 방어 뿐만 아니라, 항종양 면역을 촉진하는 것이 나타났다. 예를 들어, STING 결손 마우스에 면역원성 종양을 이식한 경우, 종양은, 야생형 마우스나 TRIF (Toll/Interleukin-1 (IL-1) receptor domain containing adaptor-inducing interferon- β) 결손 마우스보다 급속히 증식한다. 또, STING 결손 마우스에서는, TLR (Toll-like receptor), MyD88 (Myeloid differentiation primary response 88), MAVS (Mitochondrial antiviral-signaling protein) 결손 마우스와는 달리, 종양에 대한 자발적인 CD8⁺ T 세포의 프라이밍도 소실하였다. 이것은 세포질 DNA 감지에 의해 시동하는 STING 경로가 종양 증식의 제어에 관여하고 있는 것을 시사하고 있다 (비특허문헌 5). 다른 연구에서는,

STING 이 방사선 치료 (비특허문헌 6) 또는 항CD47 항체 요법 (비특허문헌 7) 의 항종양 효과에 필요한 것도 나타나 있다. 방사선 또는 항CD47 항체로 처리한 후의, 죽은 종양 세포 유래의 DNA 는, 수상 세포의 세포질로 이동하여 cGAS-STING 경로를 활성화한 후, IFN 산생을 유도하여 자연 면역과 획득 면역의 중개 역할을 한다. 이 연구는, STING 경로에 의해 활성화된 수상 세포를 개재하는 크로스 프라이밍이 종양에 대한 획득 면역을 일으키기 위해서 중요한 것을 시사하고 있다.

[0004] 혈관 파괴제로서 알려져 있는 플라보노이드계 저분자 화합물 DMXAA 는, 매크로파지의 I 형 IFN 을 유도하기 때문에, 마우스 종양 모델에 있어서, 강력한 항종양 활성을 갖는 것이 나타났다 (비특허문헌 8). DMXAA 는 전 (前) 임상에서의 우수한 항종양 효과 때문에, 비소세포 폐암의 면역요법약으로서 기대되고 있었지만, 인간 임상 시험에는 실패하였다 (비특허문헌 9). 최근 연구에 의해, DMXAA 는 마우스의 STING 에 대한 특이적인 아고니스트이고, 인간의 STING 에는 중 교차성이 없기 때문에, 결합할 수 없는 것이 밝혀졌다 (비특허문헌 10). DMXAA 는, 결과적으로 인간에서는 무효하였지만, 마우스 모델에 있어서의 연구에 의해, 저분자약이 STING 을 개재하여, 효과적으로 CD8⁺ T 세포를 프라이밍하고, 항종양 면역을 증강할 수 있는 것이 시사되었다.

[0005] 다른 저분자 화합물로서, 고리형 디뉴클레오타이드 (Cyclic dinucleotide, CDN) 는, 담암 (tumour-bearing) 마우스에 투여하면 STING 개재에 의한 항종양 면역 응답이 증강하여 종양 증식이 현저하게 저해되고, 마우스의 생존률을 개선하는 것이 나타났다 (비특허문헌 11). CDN 은, 세균 유래의 표준적인 2 개의 3'-5'인산 결합을 갖는 CDN (cyclic-di-GMP, cyclic-di-AMP, 3',3'-cGAMP) 과, 포유 동물의 cGAS 가 산생하는 비표준적인 2'-5'인산 결합을 갖는 혼합 결합형의 CDN (2',3'-cGAMP) 으로 분류된다. 최근 연구에 의해, 표준적인 CDN 보다 혼합 결합형의 CDN 쪽이 다양한 STING 을 보편적으로 활성화 가능한 것이 나타나 있다 (비특허문헌 12).

[0006] 천연형의 CDN 은, 많은 핵산 분자와 같이 혈액 중의 핵산 분해 효소에 의해 신속하게 분해되기 때문에, 그대로의 형태로 투여할 수는 없다. 그 때문에, 생체내에서 STING 아고니스트 활성을 갖는 합성 저분자 화합물이 개발되고 있다 (예를 들어, 특허문헌 1 ~ 26).

[0007] 현재, 항종양제로서 임상 시험이 진행되고 있는 STING 아고니스트의 MIW-815 (ADU-S100, ML RR-S2 CDA 또는 ML-RR-CDA · 2Na⁺ 라고 불리는 경우도 있다) 는, 종양 내에 직접 투여된다. STING 아고니스트를 종양에 직접 투여하는 방법으로는, 종양 내의 한정된 범위 밖에 약제를 투여할 수 없고, 또, 복수의 원격 전이 종양 전부에 직접 투여하는 것은 곤란하기 때문에, 치료 가능한 종양이 한정되어 버린다는 문제가 있다. 비특허문헌 13 에는, ML RR-S2 CDA 투여에 의해 항종양 효과가 나타난 것이 기재되지만, 종양내 투여 뿐이며, 전신 투여 (예를 들어, 정맥내 투여) 에 의한 항종양 효과는 개시되어 있지 않다. 비특허문헌 14 에는, STING 아고니스트의 SB11285 를 마우스 종양 모델에 정맥내 투여하면 항종양 효과가 나타난 것이 기재되지만, SB11285 가 구체적으로 어떠한 구조를 갖는 화합물인지는 밝혀져 있지 않다. 특허문헌 14 에는, 면역 자극 화합물과 항체 구축물과 링커를 함유하는 콘쥬게이트가 기재되어 있지만, 면역 자극 화합물로서 STING 아고니스트를 사용한 콘쥬게이트의 구체에는 기재되어 있지 않다. 특허문헌 26 에는, 특정한 구조를 갖는 CDN 과 항체를 링커를 개재하여 결합시킨 콘쥬게이트가 기재되어 있지만, 콘쥬게이트를 in vivo 에서 투여한 실시예의 기재가 없고, 콘쥬게이트의 항종양 효과는 확인되어 있지 않다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0008] (특허문헌 0001) W02014/099824
(특허문헌 0002) W02014/179335
(특허문헌 0003) W02014/189805
(특허문헌 0004) W02014/189806
(특허문헌 0005) W02015/074145
(특허문헌 0006) W02015/185565
(특허문헌 0007) W02016/096714
(특허문헌 0008) W02016/012305

(특허문헌 0009) W02016/145102
 (특허문헌 0010) W02017/027646
 (특허문헌 0011) W02017/027645
 (특허문헌 0012) W02017/075477
 (특허문헌 0013) W02017/093933
 (특허문헌 0014) W02017/100305
 (특허문헌 0015) W02017/123669
 (특허문헌 0016) W02017/161349
 (특허문헌 0017) W02017/175147
 (특허문헌 0018) W02017/175156
 (특허문헌 0019) W02018/009466
 (특허문헌 0020) W02018/045204
 (특허문헌 0021) W02018/060323
 (특허문헌 0022) W02018/067423
 (특허문헌 0023) W02018/065360
 (특허문헌 0024) W02014/093936
 (특허문헌 0025) W02018/009648
 (특허문헌 0026) W02018/100558

비특허문헌

[0009]

(비특허문헌 0001) Nature 2008, 455, 674-678
 (비특허문헌 0002) Mol. Cell, 2013, 51, 226-235
 (비특허문헌 0003) Science 2015a, 347, aaa2630
 (비특허문헌 0004) J. Virol. 2014, 88, 5328-5341
 (비특허문헌 0005) Immunity 2014, 41, 830-842
 (비특허문헌 0006) Immunity 2014, 41, 843-852
 (비특허문헌 0007) Nat. Med. 2015, 21, 1209-1215
 (비특허문헌 0008) J. Immunol. 1994, 153, 4684-4693
 (비특허문헌 0009) J. Clin. Oncol. 2011, 29, 2965-2971
 (비특허문헌 0010) J. Immunol. 2013, 190, 5216-5225
 (비특허문헌 0011) Sci. Rep. 2016, 6, 19049
 (비특허문헌 0012) Mol. Cell, 2015, 59, 891-903
 (비특허문헌 0013) Cell Rep. 2015, 11, 1018-1030
 (비특허문헌 0014) AACR Tumor Immunology and Immunotherapy, 2017, Poster #A25

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] STING 아고니스트 활성을 갖고, 인터페론이나 사이토카인 등의 염증성 단백질의 생성을 증가시켜 면역 세포를 부활화하는, 신규 골격을 갖는 CDN 유도체 및 그 신규 CDN 유도체를 사용한 STING 아고니스트 활성이 관련하는 질환, 예를 들어, 면역 부활화에 의한 치료가 가능한 질환 (예를 들어, 암) 의 치료제 및/또는 치료법의 개발이 요망되고 있다. 또, 전신 투여가 가능하고, 또한, 목적으로 하는 세포나 장기 (예를 들어, 종양 부위) 에 특이적으로 STING 아고니스트를 송달할 수 있는 그 신규 CDN 유도체와 표적 세포에 대한 항체를 링커를 개재하여 결합시킨 항체 약물 콘쥬게이트 및 그 항체 약물 콘쥬게이트를 사용한 STING 아고니스트 활성이 관련하는 질환, 예를 들어, 면역 부활화에 의한 치료가 가능한 질환 (예를 들어, 암) 의 치료제 및/또는 치료법의 개발이 요망되고 있다.

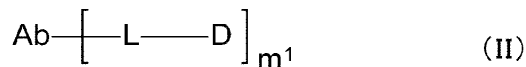
과제의 해결 수단

[0011] 본 발명자들은, 상기의 과제를 해결하기 위해서, 축합 3 고리성 치환기를 갖는 것을 특징으로 하는 신규 CDN 유도체를 알아내어, 그 신규 CDN 유도체가, 강한 STING 아고니스트 활성을 갖고, 강한 항종양 활성을 나타내는 것을 알아냈다. 본 발명자들은 또한, 본원 발명의 신규 CDN 유도체와 항체를 링커를 개재하여 결합시킨 항체 약물 콘쥬게이트를 알아내어, 그 항체 약물 콘쥬게이트를 전신 투여하면, 항원이 발현하고 있는 종양에서 항종양 효과가 나타나는 것을 알아내어, 본 발명을 완성시켰다.

[0012] 즉 본원 발명은 이하에 관한 것이다.

[0013] [1] 다음 식 (II) :

[0014] [화학식 1]



[0015]

[0016] (식 중, m^1 은 1 내지 10 의 범위이고,

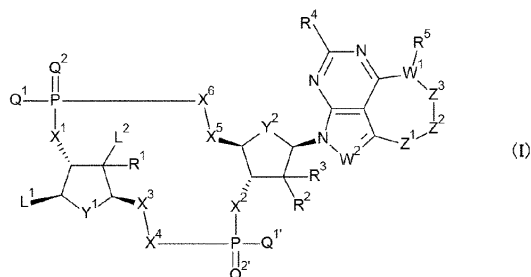
[0017] Ab 는, 항체 또는 그 항체의 기능성 단편을 나타내고, 그 항체의 당사슬은 리모델링 되어 있어도 되고,

[0018] L 은, Ab 와 D 를 연결하는 링커를 나타내고,

[0019] Ab 는 그 아미노산 잔기로부터 직접 L 에 결합하거나, Ab 의 당사슬 또는 리모델링 된 당사슬로부터 L 에 결합하고 있어도 되고,

[0020] D 는, 다음 식 (I) :

[0021] [화학식 2]



[0022]

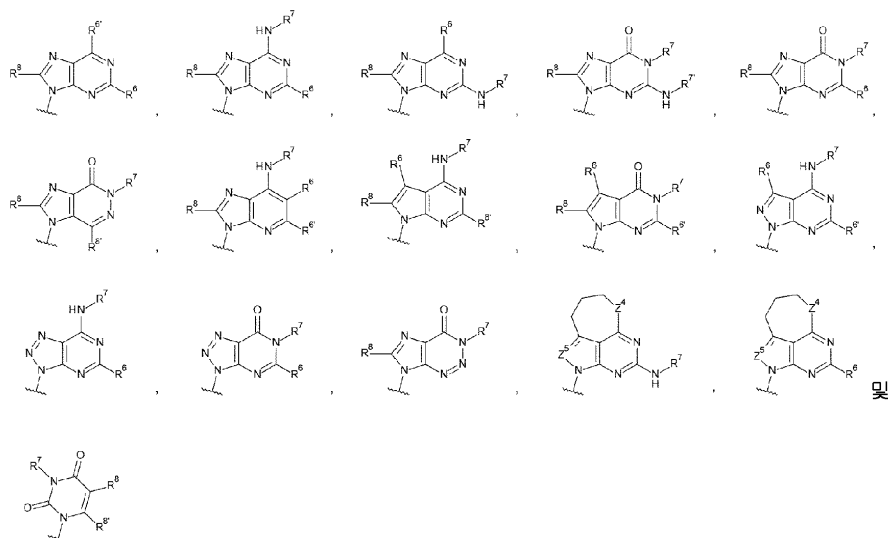
[0023] (여기서,

[0024] L 은, L^1 또는 L^2 에 포함되는 임의의 $-\text{NH}_2$ 또는 하이드록시기와 결합하고,

[0025] L^1 은, 하이드록시기, $-\text{NH}_2$, 2-하이드록시아세틸아미노메틸기 및 2-[(2-하이드록시아세틸)아미노]에틸기로 이루

어지는 군에서 선택되는 1 내지 3 개의 기에 의해 임의의 위치에서 치환되어 있어도 되는, 다음 식

[화학식 3]



(여기서,

R⁶ 및 R^{6'} 는, 각각 독립적으로, 수소 원자, 할로겐 원자, 하이드록시기, -NH₂, C1-C6 알킬기, C2-C6 알케닐기 또는 C2-C6 알키닐기를 나타내고,

R^7 및 $R^{7'}$ 는, 각각 독립적으로, 수소 원자 또는 C1-C6 알킬기를 나타내고, 그 C1-C6 알킬기는, 할로젠 원자 및 옥소기로 이루어지는 군에서 선택되는 1 또는 2 개의 치환기에 의해 치환되어 있어도 되고,

R^8 및 $R^{8'}$ 는, 각각 독립적으로, 수소 원자 또는 할로젠 원자를 나타내고,

Z^4 는, $-\text{CH}_2-$, $-\text{NH}-$ 또는 산소 원자를 나타내고,

Z^5 는, 질소 원자 또는 $-CH=$ 를 나타낸다)

으로 이루어지는 군에서 선택되는 기를 나타내고,

L^2 는, 하기 (i) 또는 (ii) :

(i) L 과 결합할 때, L² 는, -NHR', 하이드록시 C1-C6 알킬기 또는 아미노 C1-C6 알킬기를 나타내고, 여기서, R' 는, 수소 원자, C1-C6 알킬기, C2-C6 알케닐기, C2-C6 알키닐기 또는 C3-C6 시클로알킬기를 나타내고, 그 C1-C6 알킬기, C2-C6 알케닐기 또는 C2-C6 알키닐기는, 1 내지 6 개의 할로젠 원자로 치환되어도 된다 ; 또는

(ii) L 과 결합하지 않을 때, L^2 는, 수소 원자 또는 할로젠 원자를 나타낸다.

에서 선택되는 기를 나타내고,

Q^1 및 $Q^{1'}$ 는, 각각 독립적으로, 하이드록시기, 티올기 또는 보라노기 (BH_3^-) 를 나타내고,

Q^2 및 $Q^{2'}$ 는, 각각 독립적으로, 산소 원자 또는 황 원자를 나타내고,

X^1 및 X^2 는, 각각 독립적으로, 산소 원자, 황 원자 또는 $-\text{CH}_2-$ 를 나타내고,

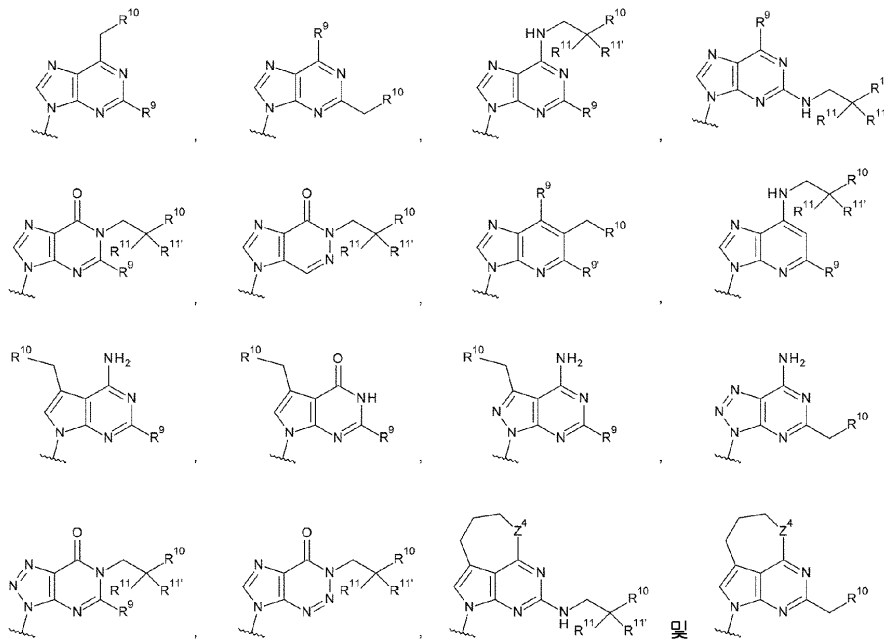
Y^1 및 Y^2 는, 산소 원자 또는 $-\text{CH}_2-$ 를 나타내고,

X^3 및 X^4 는, 하기 (iii) 또는 (iv) :

- [0044] (iii) Y^1 이 산소 원자일 때, X^3-X^4 는, $-CH_2-O-$, $-CH_2-S-$, $-CH_2-CH_2-$ 또는 $-CH_2-CF_2-$ 를 나타낸다 ; 또는
- [0045] (iv) Y^1 이 $-CH_2-$ 일 때, X^3-X^4 는, $-O-CH_2-$ 를 나타낸다,
- [0046] 에서 선택되는 기를 나타내고,
- [0047] X^5 및 X^6 은, 하기 (v) 또는 (vi) :
- [0048] (v) Y^2 가 산소 원자일 때, X^5-X^6 은, $-CH_2-O-$, $-CH_2-S-$, $-CH_2-CH_2-$ 또는 $-CH_2-CF_2-$ 를 나타낸다 ; 또는
- [0049] (vi) Y^2 가 $-CH_2-$ 일 때, X^5-X^6 은, $-O-CH_2-$ 를 나타낸다,
- [0050] 에서 선택되는 기를 나타내고,
- [0051] R^1 , R^2 및 R^3 은, 각각 독립적으로, 수소 원자, 할로젠 원자, $-OR'$, $-OC(=O)R'$, $-N_3$, $-NHR'$, $-NR'R''$ 또는 $-NHC(=O)R'$ (여기서, R' 는, 앞에 정의한 바와 같고, R'' 는, C1-C6 알킬기, C2-C6 알케닐기, C2-C6 알키닐기 또는 C3-C6 시클로알킬기를 나타낸다) 를 나타내고,
- [0052] W^1 은, 질소 원자, 산소 원자, 황 원자 또는 $-CH-$ 를 나타내고,
- [0053] W^2 는, 질소 원자 또는 $-CH=$ 를 나타내고,
- [0054] R^4 는, 수소 원자, 할로젠 원자 또는 $-NH_2$ 를 나타내고,
- [0055] R^5 는, 하기 (vii) 내지 (x) :
- [0056] (vii) W^1 이 질소 원자일 때, R^5 는 수소 원자, C1-C6 알킬기, 하이드록시 C1-C6 알킬기 또는 아미노 C1-C6 알킬기를 나타낸다 ;
- [0057] (viii) W^1 이 산소 원자일 때, R^5 는 존재하지 않고 ;
- [0058] (ix) W^1 이 황 원자일 때, R^5 는 존재하지 않고 ; 또는
- [0059] (x) W^1 이 $-CH-$ 일 때, R^5 는 수소 원자, 할로젠 원자, 하이드록시기, $-NH_2$ 또는 C1-C6 알킬기를 나타낸다,
- [0060] 에서 선택되는 기를 나타내고,
- [0061] $Z^1-Z^2-Z^3$ 은, 하나가 되어, $-CH_2-CH_2-CH_2-$, $-CH_2-CH_2-R''''-$, $-CH=CH-CH_2-$, $-CH=CX-CH_2-$, $-CX=CH-CH_2-$, $-CX=CX-CH_2-$, $-C(=O)-CH_2-CH_2-$, $-CH_2-CH_2-C(=O)-$, $-CH_2-CH(CH_3)-CH_2-$ 또는 $-CH_2-CH_2-CH(CH_3)-$ (여기서, R'''' 는, $-O-$ 또는 $-CH_2-CH_2-$ 를 나타내고, X 는, 할로젠 원자를 나타낸다) 또는 하기 식 중 어느 것으로 나타내는 기
- [0062] [화학식 4]
- 혹은
- [0063]
- [0064] (여기서, 아스테리스크는, W^1 에 결합하고 있는 것을 나타내고, 파선은, $=C-$ 의 탄소 원자에 결합하고 있는 것을 나타낸다) 에서 선택되는 기를 나타낸다)
- [0065] 로 나타내는 화합물을 나타낸다)
- [0066] 로 나타내는 항체 약물 콘쥬게이트 ;

- [0067] [2] W^1 이 질소 원자인, [1] 에 기재된 항체 약물 콘쥬게이트 ;
- [0068] [3] W^1 이 질소 원자이고, R^5 가 수소 원자인, [2] 에 기재된 항체 약물 콘쥬게이트 ;
- [0069] [4] W^1 이 산소 원자인, [1] 에 기재된 항체 약물 콘쥬게이트 ;
- [0070] [5] W^1 이 황 원자인, [1] 에 기재된 항체 약물 콘쥬게이트 ;
- [0071] [6] W^1 이 $-CH-$ 인, [1] 에 기재된 항체 약물 콘쥬게이트 ;
- [0072] [7] W^1 이 $-CH-$ 이고, R^5 가 수소 원자인, [6] 에 기재된 항체 약물 콘쥬게이트 ;
- [0073] [8] Z^1 , Z^2 및 Z^3 이, 하나가 되어, $-CH_2-CH_2-CH_2-$ 또는 $-CH=CH-CH_2-$ 인, [1] ~ [7] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘쥬게이트 ;
- [0074] [9] Z^1 , Z^2 및 Z^3 이, 하나가 되어, $-CH_2-CH(CH_3)-CH_2-$ 또는 $-CH_2-CH_2-CH(CH_3)-$ 인, [1] ~ [7] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘쥬게이트 ;
- [0075] [10] Z^1 , Z^2 및 Z^3 이, 하나가 되어, $-CH_2-CH_2-R'''-$ (여기서, R''' 는, $-O-$ 또는 $-CH_2-CH_2-$ 를 나타낸다) 인, [1] ~ [7] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘쥬게이트 ;
- [0076] [11] W^2 가 $-CH=$ 인, [1] ~ [10] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘쥬게이트 ;
- [0077] [12] W^2 가 질소 원자인, [1] ~ [10] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘쥬게이트 ;
- [0078] [13] R^4 가, 수소 원자를 나타내는, [1] ~ [12] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘쥬게이트 ;
- [0079] [14] R^4 가, 불소 원자를 나타내는, [1] ~ [12] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘쥬게이트 ;
- [0080] [15] L^1 중의 R^8 및 $R^{8'}$ 가, 각각 독립적으로, 수소 원자인, [1] ~ [14] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘쥬게이트 ;
- [0081] [16] L^1 이, 다음 식으로 이루어지는 군에서 선택되는 기

[0082] [화학식 5]



[0083]

[0084] (여기서, R^9 및 $R^{9'}$ 는, 수소 원자, 할로겐 원자, 하이드록시기 또는 $-NH_2$ 를 나타내고,

[0085] R^{10} 은, 하이드록시기, $-NH_2$, $-NHC(=O)CH_2OH$, $-CH_2NHC(=O)CH_2OH$, $-CH_2CH_2NHC(=O)CH_2OH$, 하이드록시 C1-C3 알킬기 또는 아미노 C1-C3 알킬기를 나타내고,

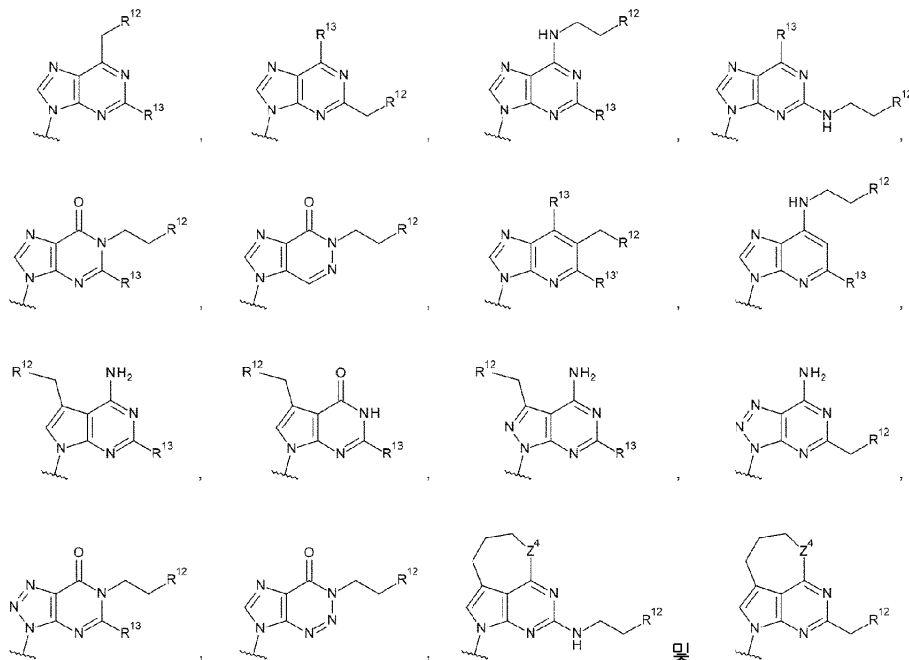
[0086] R^{11} 및 $R^{11'}$ 는, 각각 독립적으로, 수소 원자, 불소 원자 혹은 메틸기를 나타내거나, 또는, R^{11} 및 $R^{11'}$ 가 결합하여 시클로프로판을 나타내고,

[0087] Z^4 는, $-CH_2-$, $-NH-$ 또는 산소 원자를 나타낸다)

[0088] 인, [1] ~ [15] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘주게이트 ;

[0089] [17] L^1 이, 다음 식으로 이루어지는 군에서 선택되는 기

[0090] [화학식 6]



[0091]

[0092] (여기서, R^{13} 및 $R^{13'}$ 는, 각각 독립적으로, 수소 원자, 하이드록시기 또는 $-NH_2$ 를 나타내고,

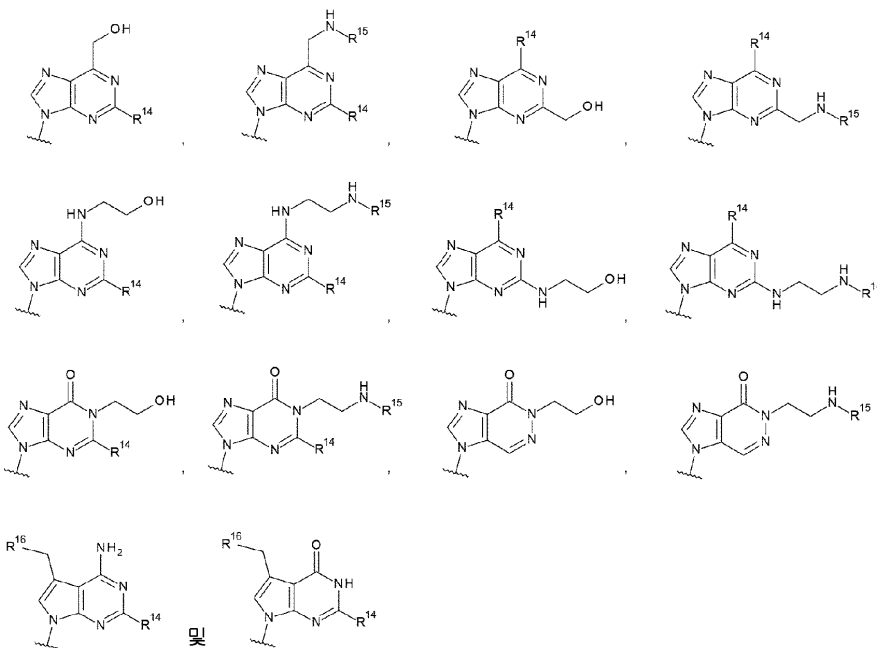
[0093] R^{12} 는, 하이드록시기, $-NH_2$, $-CH_2OH$, $-NHC(=O)CH_2OH$, $-CH_2NHC(=O)CH_2OH$ 또는 $-CH_2CH_2NHC(=O)CH_2OH$ 를 나타내고,

[0094] Z^4 는, 앞에 정의한 바와 같다)

[0095] 인, [1] ~ [15] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘주게이트 ;

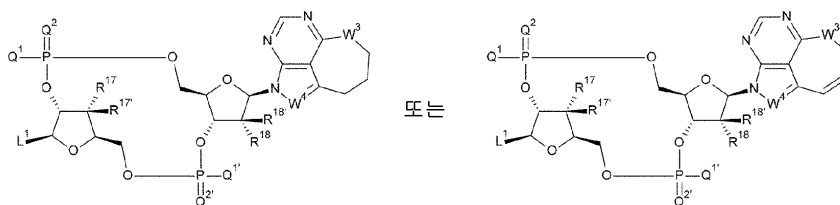
[0096] [18] L^1 이, 다음 식으로 이루어지는 군에서 선택되는 기

[0097] [화학식 7]



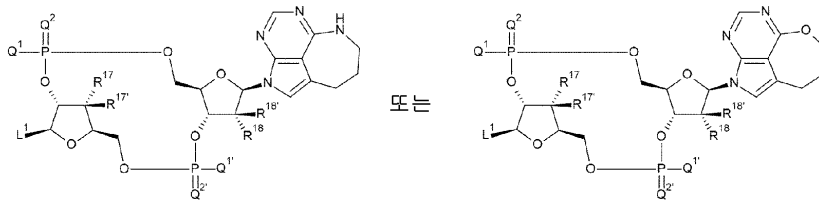
[0098]

- [0099] (여기서, R^{14} 는, 수소 원자 또는 $-NH_2$ 를 나타내고,
- [0100] R^{15} 는, 수소 원자 또는 $-C(=O)CH_2OH$ 를 나타내고,
- [0101] R^{16} 은, 하이드록시기, $-NH_2$, $-CH_2OH$, $-CH_2CH_2OH$, $-CH_2NH_2$ 또는 $-CH_2CH_2NH_2$ 를 나타낸다)
- [0102] 인, [1] ~ [15] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘주게이트 ;
- [0103] [19] L^2 가, L 과 결합하고, $-NH_2$, $-CH_2NH_2$ 또는 $-CH_2OH$ 를 나타내는, [1] ~ [18] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘주게이트 ;
- [0104] [20] L^2 가, L 과 결합하지 않고, 수소 원자 또는 불소 원자를 나타내는, [1] ~ [18] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘주게이트 ;
- [0105] [21] Q^1 및 $Q^{1'}$ 가, 각각 독립적으로, 하이드록시기 또는 티올기를 나타내는, [1] ~ [20] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘주게이트 ;
- [0106] [22] X^1 및 X^2 가, 산소 원자를 나타내는, [1] ~ [21] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘주게이트 ;
- [0107] [23] Y^1 및 Y^2 가, 산소 원자를 나타내는, [1] ~ [22] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘주게이트 ;
- [0108] [24] X^3 및 X^4 가, $-CH_2-O-$ 를 나타내는, [1] ~ [23] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘주게이트 ;
- [0109] [25] X^5 및 X^6 이, $-CH_2-O-$ 를 나타내는, [1] ~ [24] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘주게이트 ;
- [0110] [26] R^1 , R^2 및 R^3 이, 각각 독립적으로, 수소 원자, 하이드록시기 또는 불소 원자인, [1] ~ [25] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘주게이트
- [0111] [27] D 가, 이하의 2 식 :
- [0112] [화학식 8]



- [0113]
- [0114] (여기서, L^1 , Q^1 , $Q^{1'}$, Q^2 및 $Q^{2'}$ 는, 앞에 정의한 바와 같고,
- [0115] R^{17} , $R^{17'}$, R^{18} 및 $R^{18'}$ 는, 각각 독립적으로, 수소 원자, 할로겐 원자, 하이드록시기 또는 $-NH_2$ 를 나타내고,
- [0116] W^3 은, $-NH-$, 산소 원자, 황 원자 또는 $-CH_2-$ 를 나타내고,
- [0117] W^4 는, $-CH=$ 또는 질소 원자를 나타낸다)
- [0118] 중 어느 것으로 나타내는, [1] ~ [26] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘주게이트 ;
- [0119] [28] D 가, 이하의 2 식 :

[0120] [화학식 9]



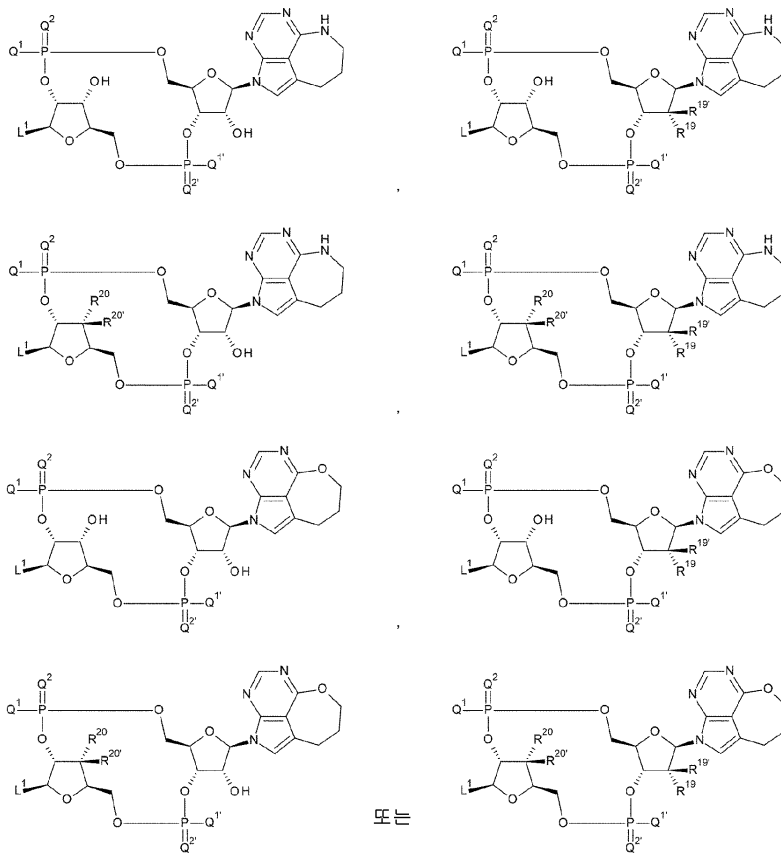
[0121]

[0122] (여기서, L^1 , Q^1 , $Q^{1'}$, Q^2 , $Q^{2'}$, R^{17} , $R^{17'}$, R^{18} 및 $R^{18'}$ 는, 앞에 정의한 바와 같다)

[0123] 중 어느 것으로 나타내는, [27] 에 기재된 항체 약물 콘주게이트 ;

[0124] [29] D 가, 이하의 8 식 :

[0125] [화학식 10]



[0126]

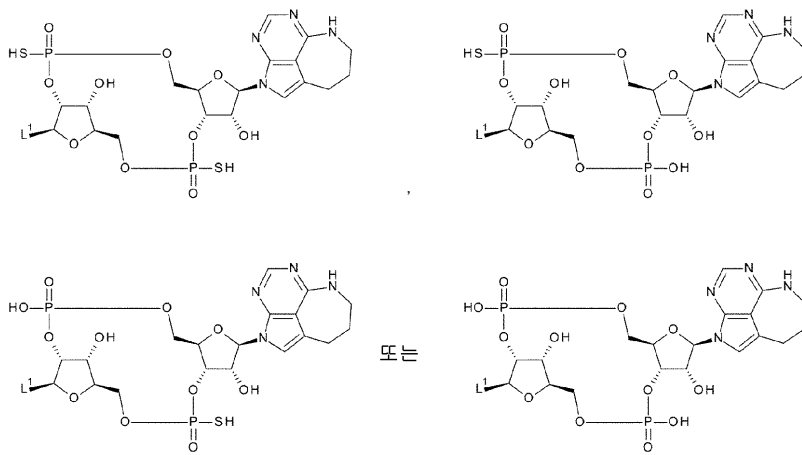
[0127] (여기서, L^1 , Q^1 , $Q^{1'}$, Q^2 및 $Q^{2'}$ 는, 앞에 정의한 바와 같고,

[0128] R^{19} , $R^{19'}$, R^{20} 및 $R^{20'}$ 는, 각각 독립적으로, 수소 원자 또는 불소 원자를 나타낸다)

[0129] 중 어느 것으로 나타내는, [27] 또는 [28] 에 기재된 항체 약물 콘주게이트 ;

[0130] [30] D 가, 이하의 4 식 :

[0131] [화학식 11]



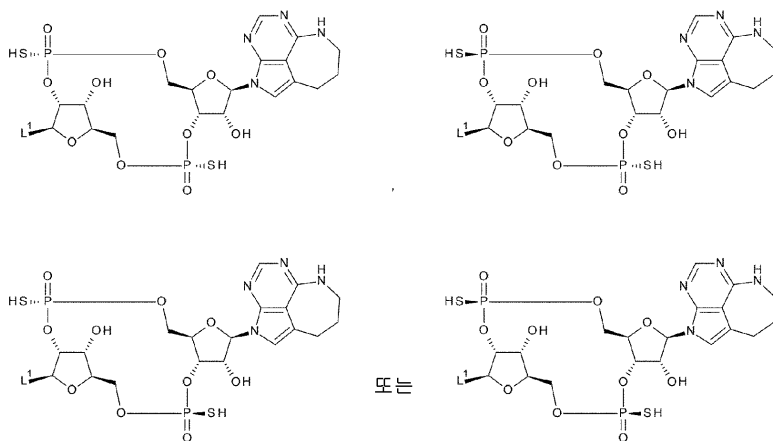
[0132]

[0133] (여기서, L^1 은, 앞에 정의한 바와 같다)

[0134] 중 어느 것으로 나타내는, [27] ~ [29] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘쥬게이트 ;

[0135] [31] D 가, 이하의 4 식 :

[0136] [화학식 12]



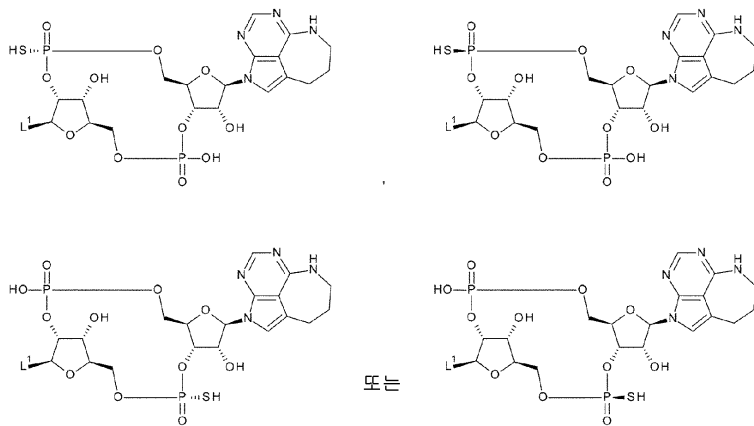
[0137]

[0138] (여기서, L^1 은, 앞에 정의한 바와 같다)

[0139] 중 어느 것으로 나타내는, [27] ~ [30] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘쥬게이트 ;

[0140] [32] D 가, 이하의 4 식 :

[0141] [화학식 13]



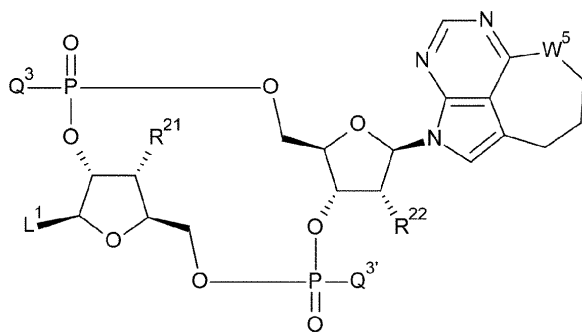
[0142]

[0143] (여기서, L^1 은, 앞에 정의한 바와 같다)

[0144] 중 어느 것으로 나타내는, [27] ~ [30] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘쥬게이트 ;

[0145] [33] D 가, 다음 식 :

[0146] [화학식 14]



[0147]

[0148] (여기서, L^1 은, 앞에 정의한 바와 같고,

[0149] Q^3 및 $Q^{3'}$ 는, 각각 독립적으로, 하이드록시기 또는 티올기를 나타내고,

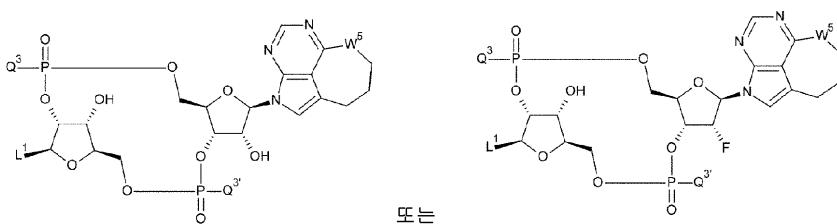
[0150] R^{21} 및 R^{22} 는, 각각 독립적으로, 하이드록시기 또는 불소 원자를 나타내고,

[0151] W^5 는, -NH- 또는 황 원자를 나타낸다)

[0152] 으로 나타내는, [1] ~ [26] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘쥬게이트 ;

[0153] [34] D 가, 이하의 2 식 :

[0154] [화학식 15]



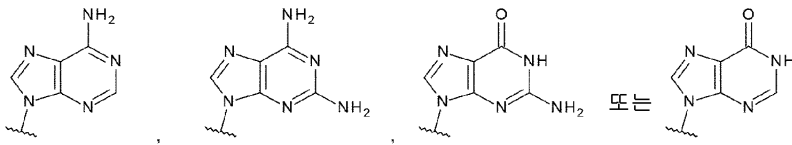
[0155]

[0156] (여기서, L^1 , Q^3 및 $Q^{3'}$, W^5 는, 앞에 정의한 바와 같다)

[0157] 중 어느 것으로 나타내는, [33] 에 기재된 항체 약물 콘쥬게이트 ;

[0158] [35] L¹ 이, 이하의 4 식 :

[0159] [화학식 16]

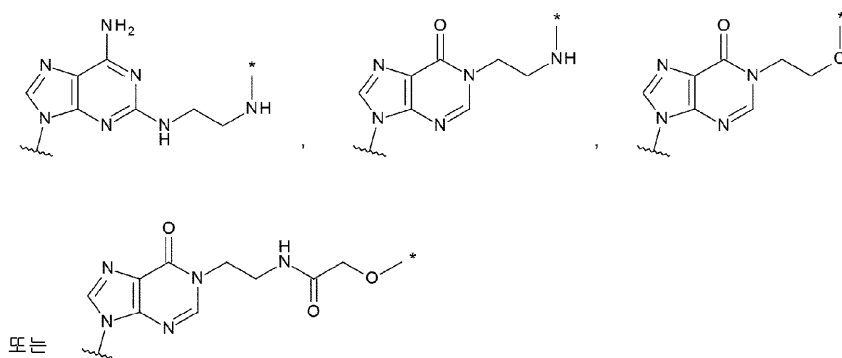


[0160]

[0161] 중 어느 것으로 나타내는, [1] ~ [34] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘쥬게이트 ;

[0162] [36] L¹ 이, 이하의 4 식 :

[0163] [화학식 17]



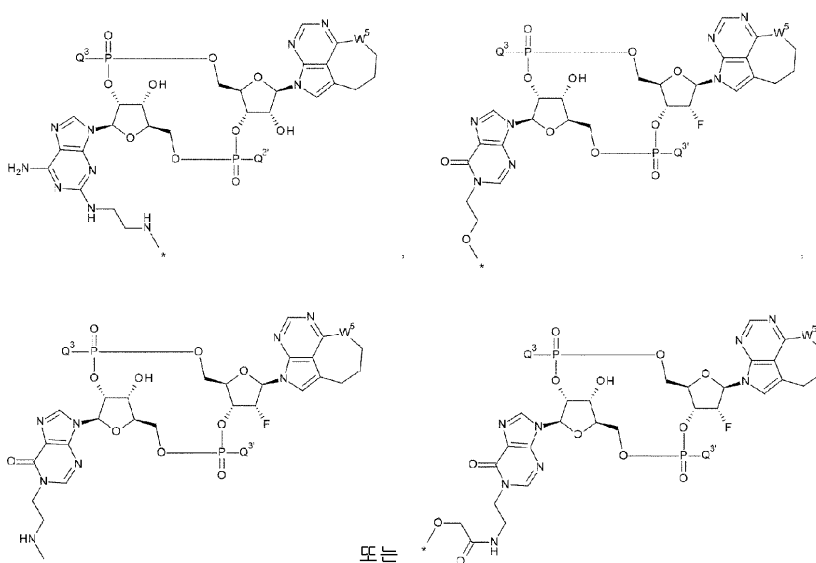
[0164]

[0165] (식 중, 아스테리스크는 L 과 결합하고 있는 것을 나타낸다)

[0166] 중 어느 것으로 나타내는, [1] ~ [34] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘쥬게이트 ;

[0167] [37] D 가, 이하의 4 식 :

[0168] [화학식 18]



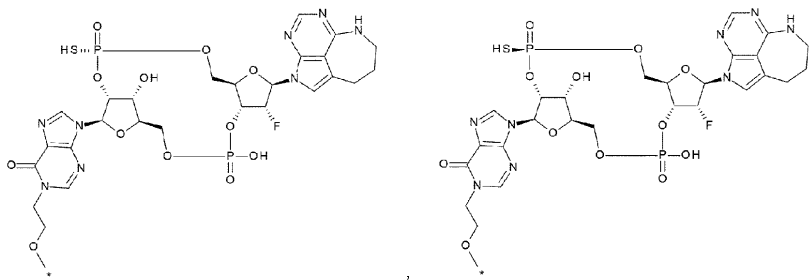
[0169]

[0170] (여기서, 아스테리스크는 L 과 결합하고 있는 것을 나타내고, Q³, Q^{3'} 및 W⁵ 는, 앞에 정의한 바와 같다)

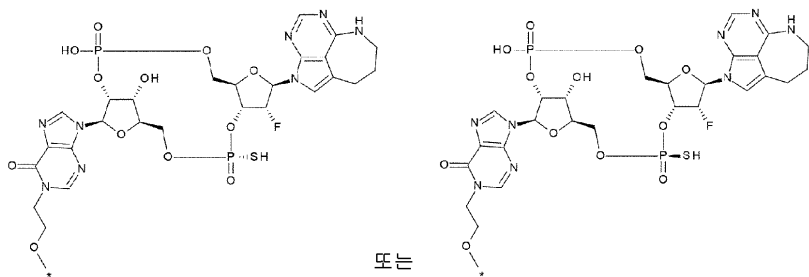
[0171] 중 어느 것으로 나타내는, [33], [34] 또는 [36] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘쥬게이트 ;

[0172] [38] D 가, 이하의 4 식 :

[0173] [화학식 19]



또는



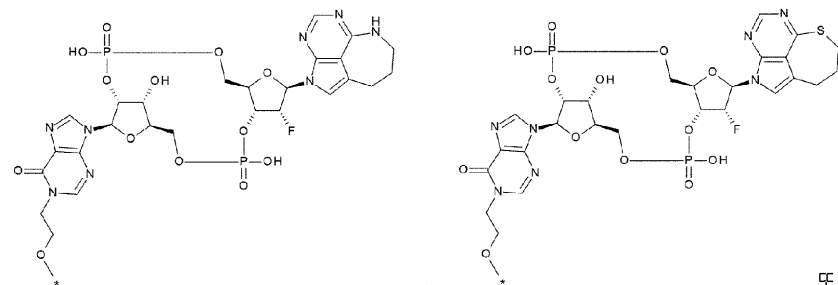
[0174]

[0175] (여기서, 아스테리스크는 L 과 결합하고 있는 것을 나타낸다)

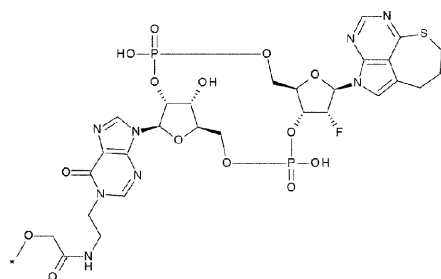
[0176] 중 어느 것으로 나타내는, [33], [34], [36] 또는 [37] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘주게이트 ;

[0177] [39] D 가, 이하의 3 식 :

[0178] [화학식 20]



또는



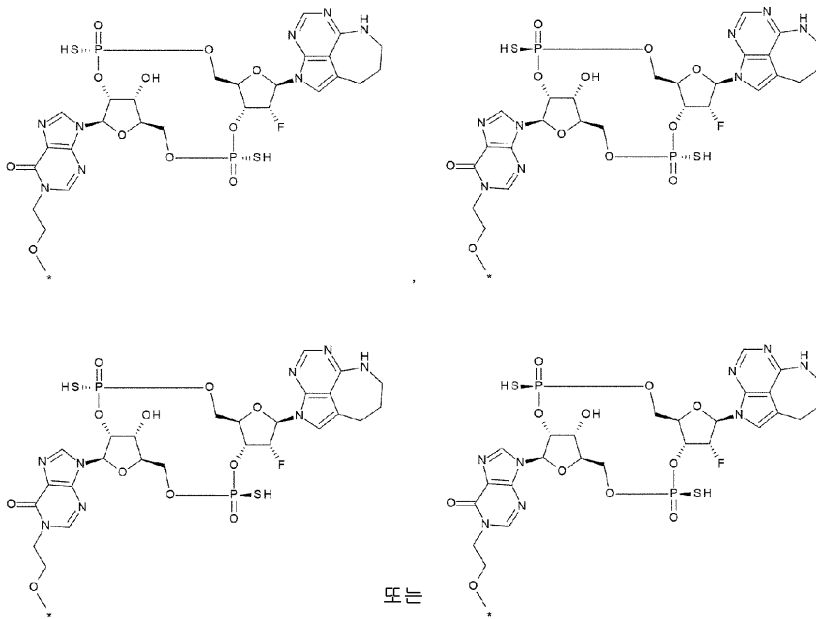
[0179]

[0180] (여기서, 아스테리스크는 L 과 결합하고 있는 것을 나타낸다)

[0181] 중 어느 것으로 나타내는, [33], [34], [36] 또는 [37] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘주게이트 ;

[0182] [40] D 가, 이하의 4 식 :

[0183] [화학식 21]



[0184]

[0185] (여기서, 아스테리스크는 L 과 결합하고 있는 것을 나타낸다)

[0186] 중 어느 것으로 나타내는, [33], [34], [36] 또는 [37] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘주게이트 ;

[0187] [41] 링커 L 이, -Lb-La-Lp-Lc-* 로 나타내고,

[0188] 식 중, 아스테리스크는, 약물 D 와 결합하고 있는 것을 나타내고,

[0189] Lp 는, 표적 세포에 있어서 절단 가능한 아미노산 서열로 이루어지는 링커를 나타내거나 또는 존재하지 않고,

[0190] La 는, 이하의 군에서 선택되는 어느 1 개를 나타내고,

[0191] $-C(=O)-(CH_2CH_2)_n^2-C(=O)-$,

[0192] $-C(=O)-(CH_2CH_2)_n^2-CH_2-C(=O)-$,

[0193] $-C(=O)-(CH_2CH_2)_n^2-C(=O)-NH-(CH_2CH_2)_n^3-C(=O)-$,

[0194] $-C(=O)-(CH_2CH_2)_n^2-C(=O)-NH-(CH_2CH_2)_n^3-CH_2-C(=O)-$,

[0195] $-C(=O)-(CH_2CH_2)_n^2-C(=O)-NH-(CH_2CH_2)_n^3-CH_2-C(=O)-$,

[0196] $-(CH_2)_n^4-O-C(=O)-$, 및,

[0197] $-(CH_2)_n^9-C(=O)-$

[0198] (여기서, n^2 는 1 ~ 3 의 정수를 나타내고, n^3 은 1 ~ 5 의 정수를 나타내고, n^4 는 0 ~ 2 의 정수를 나타내고, n^9 는 2 ~ 7 의 정수를 나타낸다),

[0199] Lb 는, La 와 Ab 의 당사슬 또는 리모델링 된 당사슬을 결합하는 스페이서 또는 La 와 Ab 의 시스테인 잔기를 결합하는 스페이서를 나타내고, 그리고,

[0200] Lc 는, $-NH-CH_2-$, $-페닐기-CH_2-O-C(=O)-$ 또는 $-NH-헤테로아릴기-CH_2-O-C(=O)-$ 를 나타내거나 또는 존재하지 않는

[0201] [1] ~ [40] 중 어느 하나에 기재된 항체 약물 콘주게이트 ;

[0202] [42] Lc 가 존재하지 않는, [41] 에 기재된 항체 약물 콘쥬게이트 ;

[0203] [43] Lc 가 -NH-CH₂- 인, [41] 에 기재된 항체 약물 콘쥬게이트 ;

[0204] [44] Lp 가, 이하 :

[0205] -GGVA-, -VA-, -GGFG-, -FG-, -GGPI-, -PI-, -GGVCit-, -VCit-, -GGVK-, -VK-, -GGFCit-, -FCit-, -GGFM-, -FM-, -GGLM-, -LM-, -GGICit- 및 -ICit-

[0206] 로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나를 나타내는, [41] ~ [43] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘쥬게이트 ;

[0207] [45] Lp 가, -GGVA-, -VA-, -GGFG-, -FG-, -GGVCit-, -VCit-, -GGFCit- 또는 -FCit- 중 어느 1 개인, [44] 에 기재된 항체 약물 콘쥬게이트 ;

[0208] [46] Lp 가, -GGFG-, -GGPI-, -GGVA-, -GGFM-, -GGVCit-, -GGFCit-, -GGICit-, -GGPL-, -GGAQ- 또는 -GGPP- 중 어느 1 개인, [41] ~ [43] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘쥬게이트 ;

[0209] [47] Lp 가, -GGFG- 또는 -GGPI- 인, [46] 에 기재된 항체 약물 콘쥬게이트 ;

[0210] [48] La 가, 이하 :

[0211] -C(=O)-CH₂CH₂-C(=O)-,

[0212] -C(=O)-CH₂CH₂-C(=O)-NH-(CH₂CH₂O)₃-CH₂-C(=O)-,

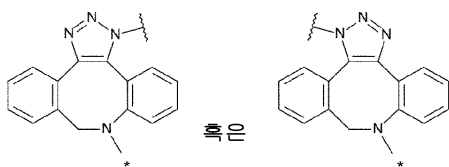
[0213] -C(=O)-CH₂CH₂-C(=O)-NH-(CH₂CH₂O)₄-CH₂-C(=O)-, 및

[0214] -(CH₂)₅-C(=O)-

[0215] 로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 1 개를 나타내는, [41] ~ [47] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘쥬게이트 ;

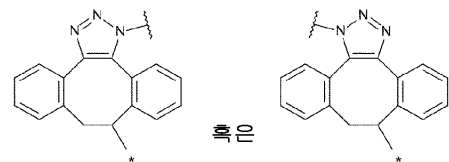
[0216] [49] Lb 가, 다음 식

[0217] [화학식 22]



[0218]

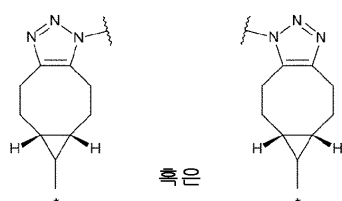
[0219] [화학식 23]



[0220]

[0221] 또는,

[0222] [화학식 24]



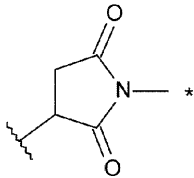
[0223]

[0224] (상기에서 나타내는 Lb 의 구조식에 있어서, 아스테리스크는 La 와 결합하고 있는 것을 나타내고, 파선은 Ab 의 당사슬 또는 리모델링 된 당사슬과 결합하고 있는 것을 나타낸다) 중 어느 것으로 나타내는, [41] ~ [48] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘쥬게이트 ;

[0225] [50] Lb 가, -(숙신이미드-3-일-N)- 이고,

[0226] 여기서, -(숙신이미드-3-일-N)- 는, 이하의 구조식 :

[0227] [화학식 25]



[0228]

[0229] 을 나타내고,

[0230] 여기서, 아스테리스크는 La 와 결합하고 있는 것을 나타내고, 파선은 항체의 시스테인 잔기의 측사슬과 티오에테르를 형성하여 결합하고 있는 것을 나타내는, [41] ~ [48] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘쥬게이트 ;

[0231] [51] 링커 L 이, -Lb-La-Lp-Lc-* 로 나타내고,

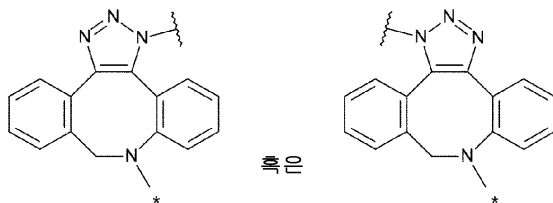
[0232] 식 중, 아스테리스크는, 약물 D 와 결합하고 있는 것을 나타내고,

[0233] Lp 가, -GGFG-, 또는 -GGPI- 이고,

[0234] La 가, -C(=O)-CH₂CH₂-C(=O)- 를 나타내고,

[0235] Lb 가, 다음 식

[0236] [화학식 26]



[0237]

[0238] (상기에서 나타내는 Lb 의 구조식에 있어서, 아스테리스크는 La 와 결합하고 있는 것을 나타내고, 파선은 Ab 의 당사슬 또는 리모델링 된 당사슬과 결합하고 있는 것을 나타낸다) 을 나타내고,

[0239] Lc 가, -NH-CH₂- 를 나타내는, [41], [46] ~ [49] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘쥬게이트 ;

[0240] [52] 항체 약물 콘쥬게이트에 있어서의 항체 1 분자당의 평균 약물 결합수가, 1 내지 10 개의 범위인, [1] ~ [51] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘쥬게이트 ;

[0241] [53] 항체 약물 콘쥬게이트에 있어서의 항체 1 분자당의 평균 약물 결합수가, 1 내지 5 개의 범위인, [52] 에 기재된 항체 약물 콘쥬게이트 ;

[0242] [54] 항체가, 항체의 Asn297 에 결합하는 당사슬 (N297 당사슬)로부터 L 에 결합하고 있는, [1] ~ [53] 중 어느 하나에 기재된 항체 약물 콘쥬게이트 ;

[0243] [55] N297 당사슬이, 리모델링 된 당사슬인, [54] 에 기재된 항체 약물 콘쥬게이트 ;

[0244] [56] N297 당사슬이, N297-(Fuc)MSG1 또는 N297-(Fuc)SG 인, [54] 또는 [55] 에 기재된 항체 약물 콘쥬게이트 ;

[0245] [57] 항체가, 항HER2 항체, 항HER3 항체, 항DLL3 항체, 항FAP 항체, 항CDH11 항체, 항CDH6 항체, 항A33 항체, 항CanAg 항체, 항CD19 항체, 항CD20 항체, 항CD22 항체, 항CD30 항체, 항CD33 항체, 항CD56 항체, 항CD70

항체, 항CD98 항체, 항TROP2 항체, 항CEA 항체, 항Cripto 항체, 항EphA2 항체, 항G250 항체, 항MUC1 항체, 항GPNMB 항체, 항Integrin 항체, 항PSMA 항체, 항Tenascin-C 항체, 항SLC44A4 항체, 항Mesothelin 항체, 항ENPP3 항체, 항CD47 항체, 항EGFR 항체, 항GPR20 항체 또는 항DR5 항체인, [1] ~ [56] 중 어느 한 항에 기재된 항체 약물 콘주게이트 ;

[0246] [58] 항체가, 항HER2 항체인, [57] 에 기재된 항체 약물 콘주게이트 ;

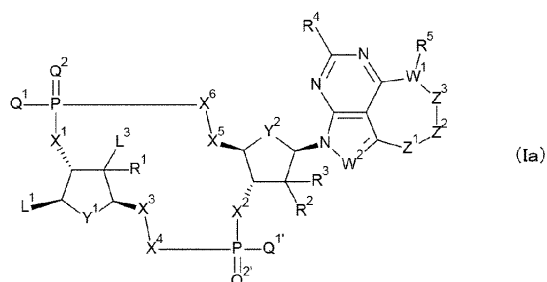
[0247] [59] 항체가, 서열 번호 1 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 및 서열 번호 2 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬을 포함하는 항체, 또는, 서열 번호 1 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 및 서열 번호 3 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬을 포함하는 항체인, [58] 에 기재된 항체 약물 콘주게이트 ;

[0248] [60] 항체가, 서열 번호 28 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 및 서열 번호 29 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬을 포함하는 항체, 또는, 서열 번호 28 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 및 서열 번호 30 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬을 포함하는 항체인, [58] 에 기재된 항체 약물 콘주게이트 ;

[0249] [61] 항체가, 서열 번호 31 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 및 서열 번호 32 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬을 포함하는 항체, 서열 번호 33 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 및 서열 번호 34 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬을 포함하는 항체, 또는, 서열 번호 35 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 및 서열 번호 36 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬을 포함하는 항체인, [57] 에 기재된 항체 약물 콘주게이트 ;

[0250] [62]다음 식 (Ia) :

[0251] [화학식 27]

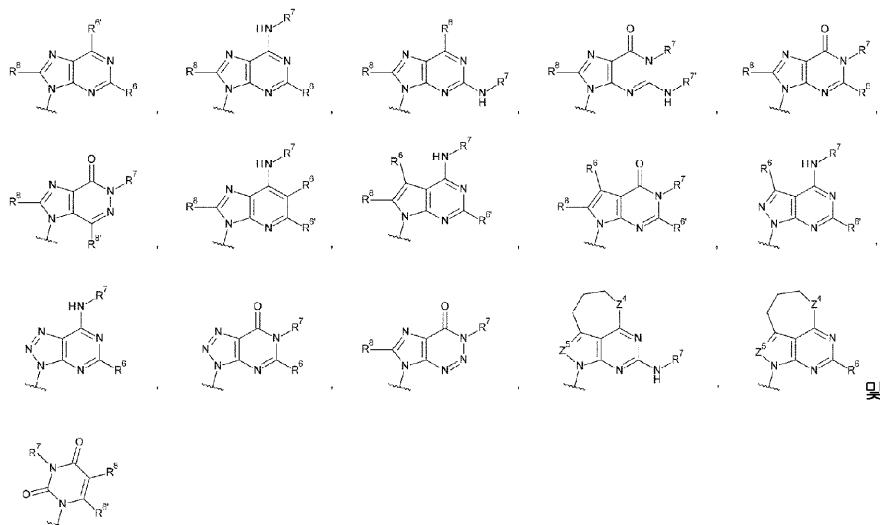


[0252]

[0253] (여기서,

[0254] L^1 은, 하이드록시기, $-NH_2$, 2-하이드록시아세틸아미노메틸기 및 2-[(2-하이드록시아세틸)아미노]에틸기로 이루어지는 군에서 선택되는 1 내지 3 개의 기에 의해 임의의 위치에서 치환되어 있어도 되는, 다음 식

[0255] [화학식 28]



[0256]

[0257] (여기서,

[0258] R^6 및 $R^{6'}$ 는, 각각 독립적으로, 수소 원자, 할로젠 원자, 하이드록시기, $-NH_2$, C1-C6 알킬기, C2-C6 알케닐기 또는 C2-C6 알키닐기를 나타내고,

[0259] R^7 및 $R^{7'}$ 는, 각각 독립적으로, 수소 원자 또는 C1-C6 알킬기를 나타내고, 그 C1-C6 알킬기는, 할로젠 원자 및 옥소기로 이루어지는 군에서 선택되는 1 또는 2 개의 치환기에 의해 치환되어 있어도 되고,

[0260] R^8 및 $R^{8'}$ 는, 각각 독립적으로, 수소 원자 또는 할로젠 원자를 나타내고,

[0261] Z^4 는, $-CH_2-$, $-NH-$ 또는 산소 원자를 나타내고,

[0262] Z^5 는, 질소 원자 또는 $-CH=$ 를 나타낸다)

[0263] 으로 이루어지는 군에서 선택되는 기를 나타내고,

[0264] L^3 은, 수소 원자, 할로젠 원자, $-NH_2$, 하이드록시 C1-C3 알킬기 또는 아미노 C1-C3 알킬기를 나타내고,

[0265] Q^1 및 $Q^{1'}$ 는, 각각 독립적으로, 하이드록시기, 티올기 또는 보라노기 (BH_3^-) 를 나타내고,

[0266] Q^2 및 $Q^{2'}$ 는, 각각 독립적으로, 산소 원자 또는 황 원자를 나타내고,

[0267] X^1 및 X^2 는, 각각 독립적으로, 산소 원자, 황 원자 또는 $-CH_2-$ 를 나타내고,

[0268] Y^1 및 Y^2 는, 산소 원자 또는 $-CH_2-$ 를 나타내고,

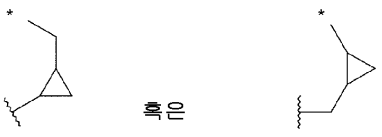
[0269] X^3 및 X^4 는, 하기 (iii) 또는 (iv) :

[0270] (iii) Y^1 이 산소 원자일 때, X^3-X^4 는, $-CH_2-O-$, $-CH_2-S-$, $-CH_2-CH_2-$ 또는 $-CH_2-CF_2-$ 를 나타낸다 ; 또는

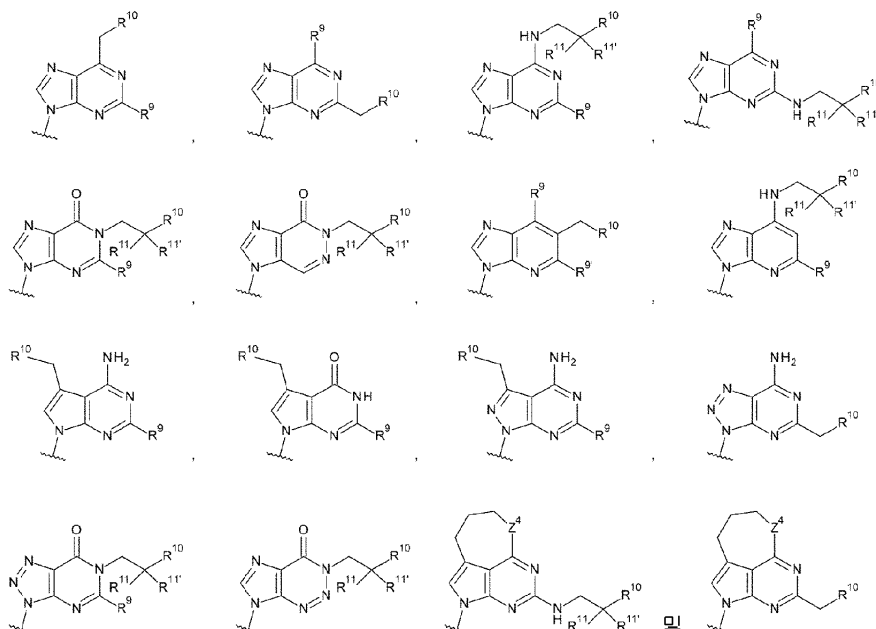
[0271] (iv) Y^1 이 $-CH_2-$ 일 때, X^3-X^4 는, $-O-CH_2-$ 를 나타낸다,

[0272] 에서 선택되는 기를 나타내고,

[0273] X^5 및 X^6 은, 하기 (v) 또는 (vi) :

- [0274] (v) Y^2 가 산소 원자일 때, X^5-X^6 은, $-CH_2-O-$, $-CH_2-S-$, $-CH_2-CH_2-$ 또는 $-CH_2-CF_2-$ 를 나타낸다 ; 또는
- [0275] (vi) Y^2 가 $-CH_2-$ 일 때, X^5-X^6 은, $-O-CH_2-$ 를 나타낸다,
- [0276] 에서 선택되는 기를 나타내고,
- [0277] R^1 , R^2 및 R^3 은, 각각 독립적으로, 수소 원자, 할로젠 원자, $-OR'$, $-OC(=O)R'$, $-N_3$, $-NHR'$, $-NR'R''$ 또는 $-NHC(=O)R'$ (여기서, R' 는, 수소 원자, C1-C6 알킬기, C2-C6 알케닐기, C2-C6 알키닐기 또는 C3-C6 시클로알킬기를 나타내고, 그 C1-C6 알킬기, C2-C6 알케닐기 또는 C2-C6 알키닐기는, 1 내지 6 개의 할로젠 원자로 치환되어도 된다, R'' 는, C1-6 알킬기, C2-6 알케닐기, C2-6 알키닐기 또는 C3-C6 시클로알킬기를 나타낸다) 를 나타내고,
- [0278] W^1 은, 질소 원자, 산소 원자, 황 원자 또는 $-CH-$ 를 나타내고,
- [0279] W^2 는, 질소 원자 또는 $-CH=$ 를 나타내고,
- [0280] R^4 는, 수소 원자, 할로젠 원자 또는 $-NH_2$ 를 나타내고,
- [0281] R^5 는, 하기 (vii) 내지 (x) :
- [0282] (vii) W^1 이 질소 원자일 때, R^5 는 수소 원자, C1-C6 알킬기, 하이드록시 C1-C6 알킬기 또는 아미노 C1-C6 알킬기를 나타낸다 ;
- [0283] (viii) W^1 이 산소 원자일 때, R^5 는 존재하지 않고 ;
- [0284] (ix) W^1 이 황 원자일 때, R^5 는 존재하지 않고 ; 또는
- [0285] (x) W^1 이 $-CH-$ 일 때, R^5 는 수소 원자, 할로젠 원자, 하이드록시기, $-NH_2$ 또는 C1-C6 알킬기를 나타낸다,
- [0286] 에서 선택되는 기를 나타내고,
- [0287] $Z^1-Z^2-Z^3$ 은 하나가 되어, $-CH_2-CH_2-CH_2-$, $-CH_2-CH_2-R'''-$, $-CH=CH-CH_2-$, $-CH=CX-CH_2-$, $-CX=CH-CH_2-$, $-CX=CX-CH_2-$, $-C(=O)-CH_2-CH_2-$, $-CH_2-CH_2-C(=O)-$, $-CH_2-CH(CH_3)-CH_2-$ 또는 $-CH_2-CH_2-CH(CH_3)-$ (여기서, R''' 는, $-O-$ 또는 $-CH_2-CH_2-$ 를 나타내고, X 는, 할로젠 원자를 나타낸다) 또는 하기 식 중 어느 것으로 나타내는 기
- [0288] [화학식 29]
- [0289] 
- [0290] (여기서, 아스테리스크는, W^1 에 결합하고 있는 것을 나타내고, 파선은, $=C-$ 의 탄소 원자에 결합하고 있는 것을 나타낸다) 에서 선택되는 기를 나타낸다)
- [0291] 로 나타내는 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;
- [0292] [63] W^1 이 질소 원자인, [62] 에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;
- [0293] [64] W^1 이 질소 원자이고, R^5 가 수소 원자인, [63] 에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;
- [0294] [65] W^1 이 산소 원자인, [62] 에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;
- [0295] [66] W^1 이 황 원자인, [62] 에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;

- [0296] [67] W^1 이 -CH- 인, [62] 에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;
- [0297] [68] W^1 이 -CH- 이고, R^5 가 수소 원자인, [67] 에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;
- [0298] [69] Z^1 , Z^2 및 Z^3 이, 하나가 되어, -CH₂-CH₂-CH₂- 또는 -CH=CH-CH₂- 인, [62] ~ [68] 중 어느 한 항에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;
- [0299] [70] Z^1 , Z^2 및 Z^3 이, 하나가 되어, -CH₂-CH(CH₃)-CH₂- 또는 -CH₂-CH₂-CH(CH₃)- 인, [62] ~ [68] 중 어느 한 항에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;
- [0300] [71] Z^1 , Z^2 및 Z^3 이, 하나가 되어, -CH₂-CH₂-R'''- (여기서, R''' 는, -O- 또는 -CH₂-CH₂- 를 나타낸다) 인, [62] ~ [68] 중 어느 한 항에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;
- [0301] [72] W^2 가 -CH= 인, [62] ~ [71] 중 어느 한 항에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;
- [0302] [73] W^2 가 질소 원자인, [62] ~ [71] 중 어느 한 항에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;
- [0303] [74] R^4 가, 수소 원자를 나타내는, [62] ~ [73] 중 어느 한 항에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;
- [0304] [75] R^4 가, 불소 원자를 나타내는, [62] ~ [73] 중 어느 한 항에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;
- [0305] [76] L^1 중의 R^8 및 $R^{8'}$ 가, 각각 독립적으로, 수소 원자인, [62] ~ [75] 중 어느 한 항에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;
- [0306] [77] L^1 이, 다음 식으로 이루어지는 군에서 선택되는 기
- [0307] [화학식 30]



- [0308]
- [0309] (여기서, R^9 및 $R^{9'}$ 는, 수소 원자, 할로젠 원자, 하이드록시기 또는 -NH₂ 를 나타내고,
- [0310] R^{10} 은, 하이드록시기, -NH₂, -NHC(=O)CH₂OH, -CH₂NHC(=O)CH₂OH, -CH₂CH₂NHC(=O)CH₂OH, 하이드록시 C1-C3 알킬기

또는 아미노 C1-C3 알킬기를 나타내고,

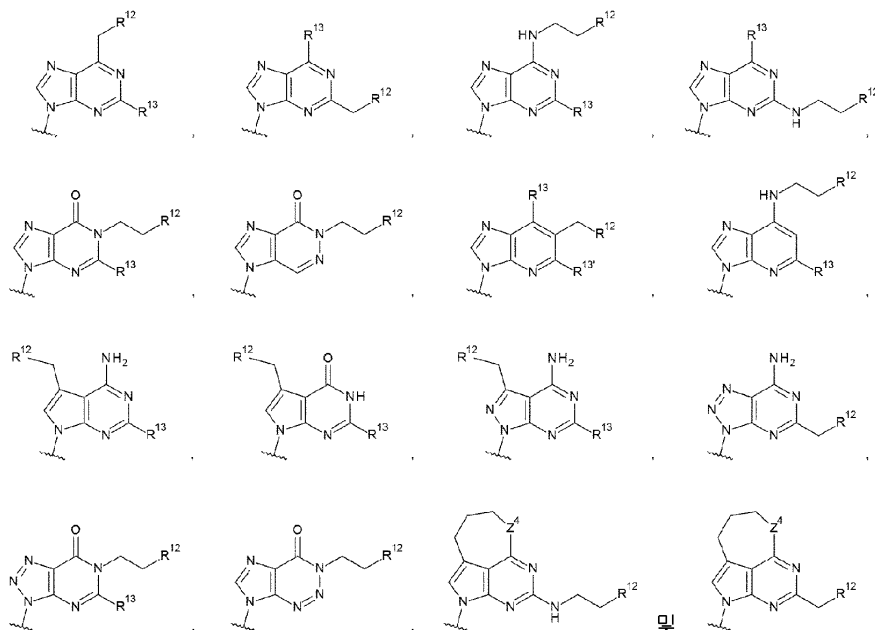
[0311] R^{11} 및 $R^{11'}$ 는, 각각 독립적으로, 수소 원자, 불소 원자 혹은 메틸기를 나타내거나, 또는, R^{11} 및 $R^{11'}$ 가 결합하여 시클로프로판을 나타내고,

[0312] Z^4 는, $-\text{CH}_2-$, $-\text{NH}-$ 또는 산소 원자를 나타낸다)

[0313] 인, [62] ~ [76] 중 어느 한 항에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;

[0314] [78] L^1 이, 다음 식으로 이루어지는 군에서 선택되는 기

[0315] [화학식 31]



[0316]

[0317] (여기서, R^{13} 및 $R^{13'}$ 는, 각각 독립적으로, 수소 원자, 하이드록시기 또는 $-\text{NH}_2$ 를 나타내고,

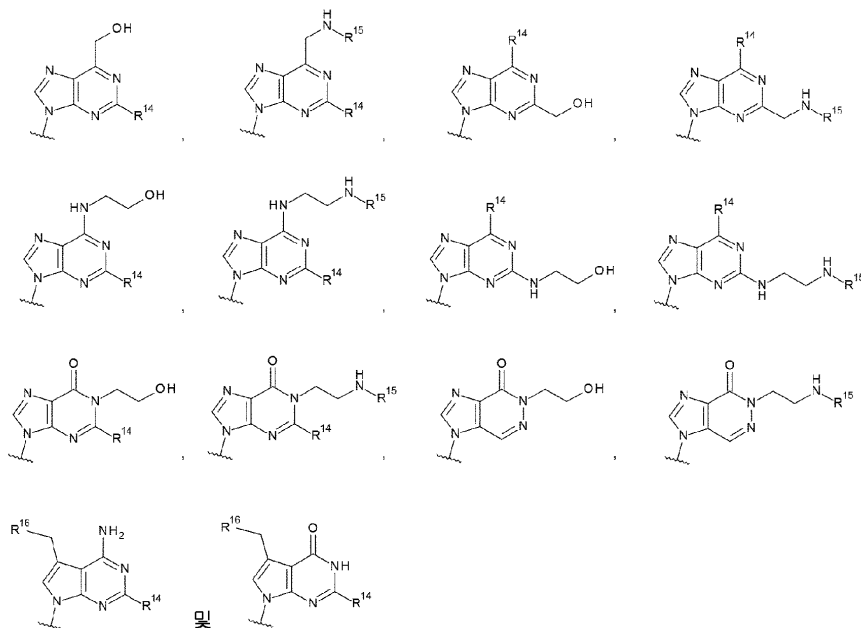
[0318] R^{12} 는, 하이드록시기, $-\text{NH}_2$, $-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{NHC}(=\text{O})\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{NHC}(=\text{O})\text{CH}_2\text{OH}$ 또는 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHC}(=\text{O})\text{CH}_2\text{OH}$ 를 나타내고,

[0319] Z^4 는, 앞에 정의한 바와 같다)

[0320] 인, [62] ~ [76] 중 어느 한 항에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;

[0321] [79] L^1 이, 다음 식으로 이루어지는 군에서 선택되는 기

[0322] [화학식 32]



[0323]

[0324] (여기서, R^{14} 는, 수소 원자 또는 $-NH_2$ 를 나타내고,

[0325] R^{15} 는, 수소 원자 또는 $-C(=O)CH_2OH$ 를 나타내고,

[0326] R^{16} 은, 하이드록시기, $-NH_2$, $-CH_2OH$, $-CH_2CH_2OH$, $-CH_2NH_2$ 또는 $-CH_2CH_2NH_2$ 를 나타낸다)

[0327] 인, [62] ~ [76] 중 어느 한 항에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;

[0328] [80] L^3 이, 수소 원자, 불소 원자, $-NH_2$, $-CH_2OH$ 또는 $-CH_2NH_2$ 를 나타내는, [62] ~ [79] 중 어느 한 항에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;

[0329] [81] Q^1 및 $Q^{1'}$ 가, 각각 독립적으로, 하이드록시기 또는 티올기를 나타내는, [62] ~ [80] 중 어느 한 항에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;

[0330] [82] X^1 및 X^2 가, 산소 원자를 나타내는, [62] ~ [81] 중 어느 한 항에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;

[0331] [83] Y^1 및 Y^2 가, 산소 원자를 나타내는, [62] ~ [82] 중 어느 한 항에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;

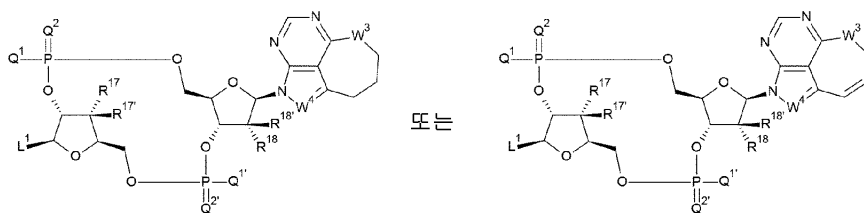
[0332] [84] X^3 및 X^4 가, $-CH_2-O-$ 를 나타내는, [62] ~ [83] 중 어느 한 항에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;

[0333] [85] X^5 및 X^6 이, $-CH_2-O-$ 를 나타내는, [62] ~ [84] 중 어느 한 항에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;

[0334] [86] R^1 , R^2 및 R^3 이, 각각 독립적으로, 수소 원자, 하이드록시기 또는 불소 원자인, [62] ~ [85] 중 어느 한 항에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;

[0335] [87] 이하의 2 식 :

[0336] [화학식 33]



[0337]

[0338] (여기서, L^1 , Q^1 , $Q^{1'}$, Q^2 및 $Q^{2'}$ 는, 앞에 정의한 바와 같고,

[0339] R^{17} , $R^{17'}$, R^{18} 및 $R^{18'}$ 는, 각각 독립적으로, 수소 원자, 할로젠 원자, 하이드록시기 또는 $-NH_2$ 를 나타내고,

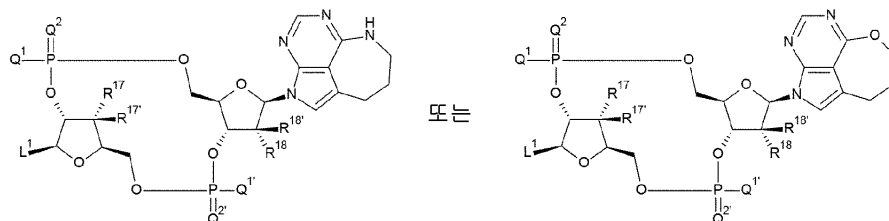
[0340] W^3 은, $-NH-$, 산소 원자, 황 원자 또는 $-CH_2-$ 를 나타내고,

[0341] W^4 는, $-CH=$ 또는 질소 원자를 나타낸다)

[0342] 중 어느 것으로 나타내는, [62] ~ [86] 중 어느 한 항에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;

[0343] [88] 이하의 2 식 :

[0344] [화학식 34]



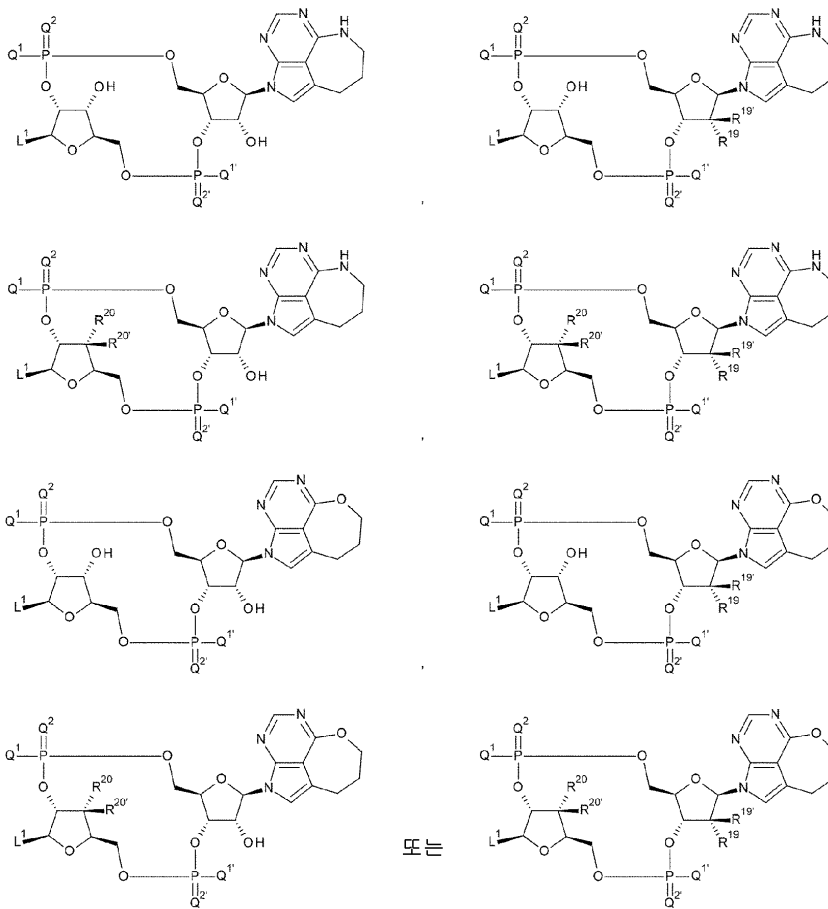
[0345]

[0346] (여기서, L^1 , Q^1 , $Q^{1'}$, Q^2 , $Q^{2'}$, R^{17} , $R^{17'}$, R^{18} 및 $R^{18'}$ 는, 앞에 정의한 바와 같다)

[0347] 중 어느 것으로 나타내는, [87] 에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;

[0348] [89] 이하의 8 식 :

[0349] [화학식 35]



[0350]

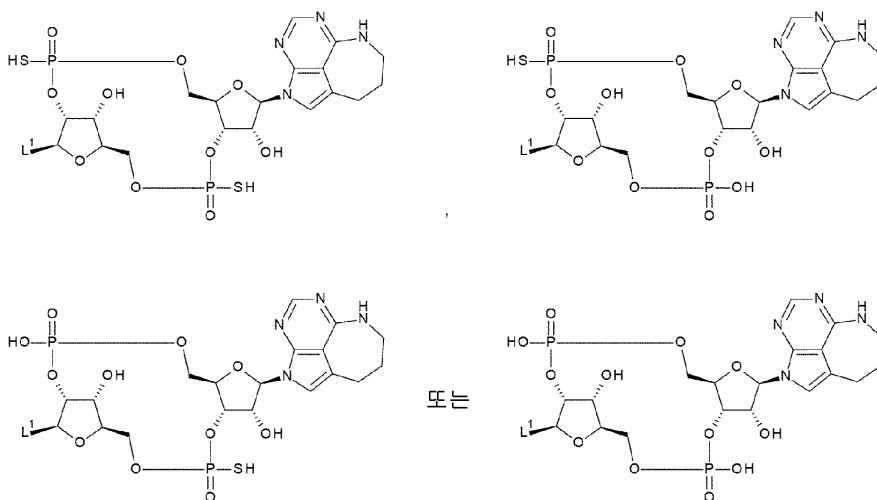
[0351] (여기서, L^1 , Q^1 , $Q^{1'}$, Q^2 및 $Q^{2'}$ 는, 앞에 정의한 바와 같고,

[0352] R^{19} , $R^{19'}$, R^{20} 및 $R^{20'}$ 는, 각각 독립적으로, 수소 원자 또는 불소 원자를 나타낸다)

[0353] 중 어느 것으로 나타내는, [87] 또는 [88] 에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;

[0354] [90] 이하의 4 식 :

[0355] [화학식 36]



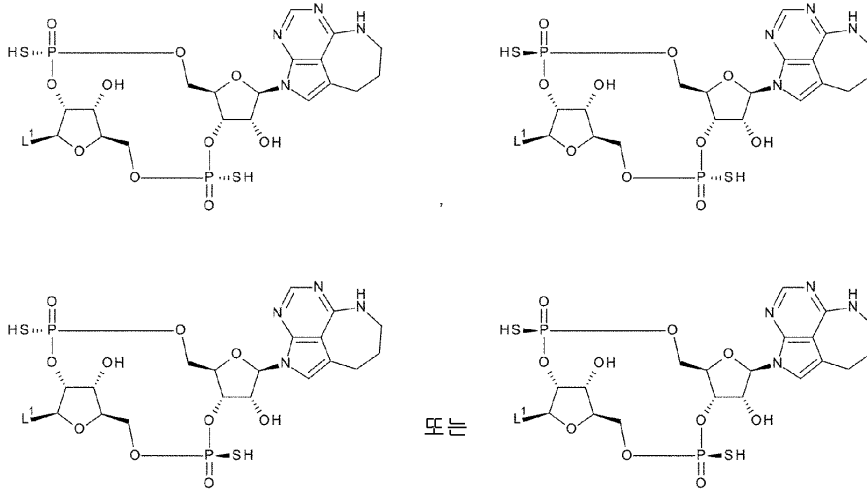
[0356]

[0357] (여기서, L^1 은, 앞에 정의한 바와 같다)

[0358] 중 어느 것으로 나타내는, [87] ~ [89] 중 어느 한 항에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;

[0359] [91] 이하의 4 식 :

[0360] [화학식 37]



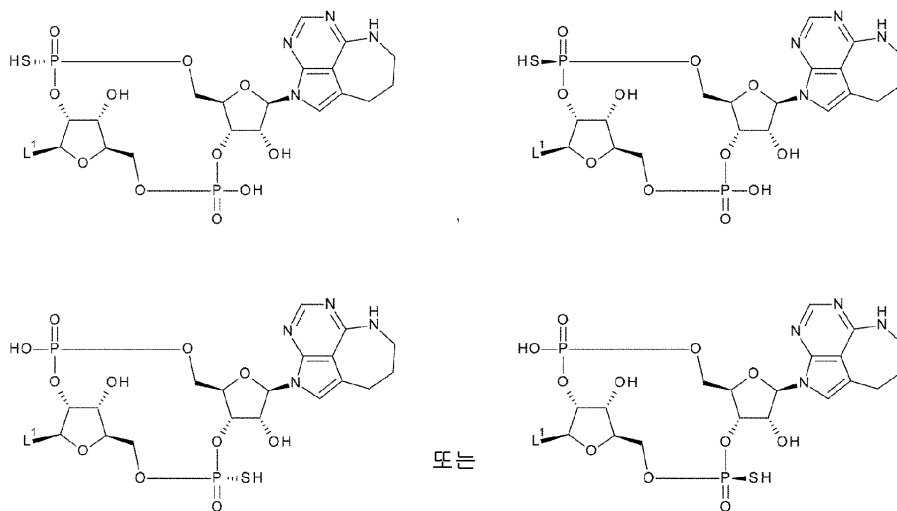
[0361]

[0362] (여기서, L^1 은, 앞에 정의한 바와 같다)

[0363] 중 어느 것으로 나타내는, [87] ~ [90] 중 어느 한 항에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;

[0364] [92] 이하의 4 식 :

[0365] [화학식 38]



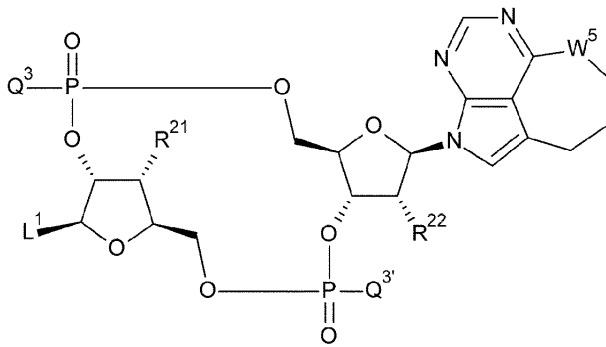
[0366]

[0367] (여기서, L^1 은, 앞에 정의한 바와 같다)

[0368] 중 어느 것으로 나타내는, [87] ~ [90] 중 어느 한 항에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;

[0369] [93] 다음 식 :

[0370] [화학식 39]



[0371]

[0372] (여기서, L^1 은, 앞에 정의한 바와 같고,

[0373] Q^3 및 $Q^{3'}$ 는, 각각 독립적으로, 하이드록시기 또는 티올기를 나타내고,

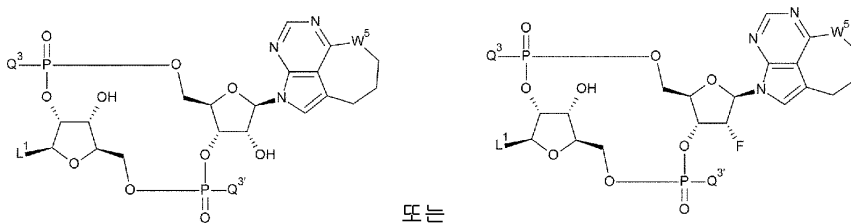
[0374] R^{21} 및 R^{22} 는, 각각 독립적으로, 하이드록시기 또는 불소 원자를 나타내고,

[0375] W^5 는, -NH- 또는 황 원자를 나타낸다)

[0376] 으로 나타내는, [62] ~ [86] 중 어느 한 항에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;

[0377] [94] 이하의 2 식 :

[0378] [화학식 40]



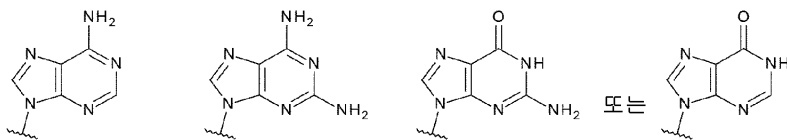
[0379]

[0380] (여기서, L^1 , Q^3 및 $Q^{3'}$, W^5 는, 앞에 정의한 바와 같다)

[0381] 중 어느 것으로 나타내는, [93] 에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;

[0382] [95] L^1 이, 이하의 :

[0383] [화학식 41]

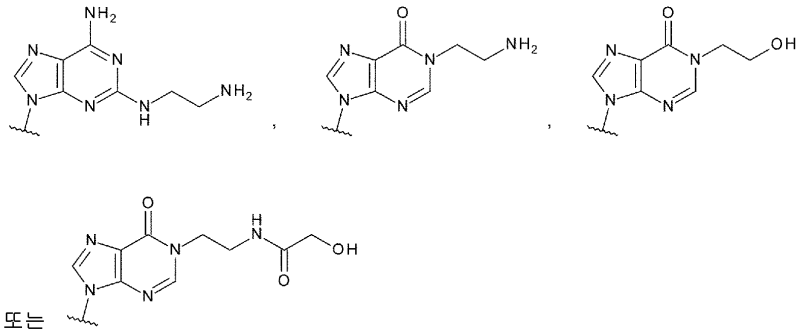


[0384]

[0385] 중 어느 것으로 나타내는, [62] ~ [94] 중 어느 한 항에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;

[0386] [96] L_1 이, 이하의 4 식 :

[0387] [화학식 42]

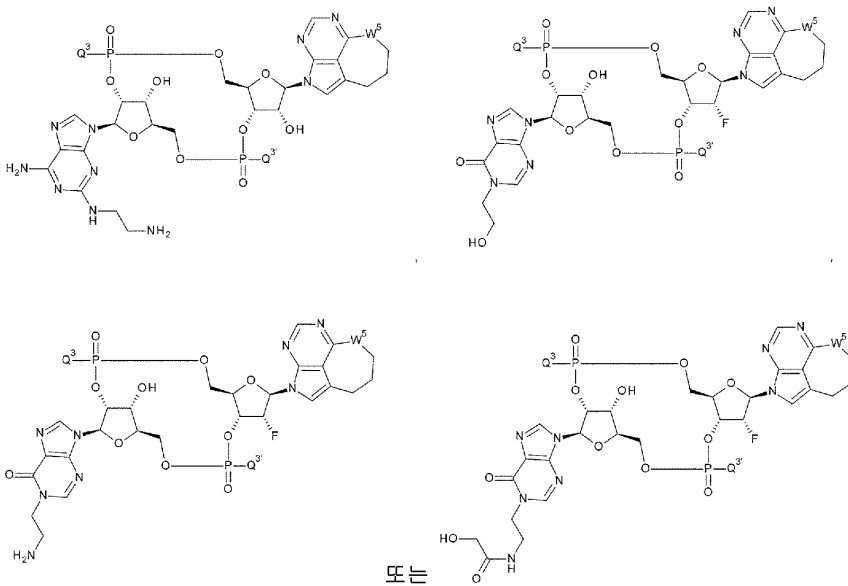


[0388]

[0389] 중 어느 것으로 나타내는, [62] ~ [94] 중 어느 한 항에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;

[0390] [97] D 가, 이하의 4 식 :

[0391] [화학식 43]



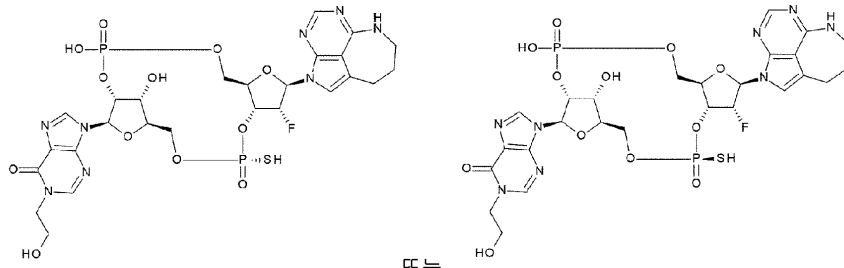
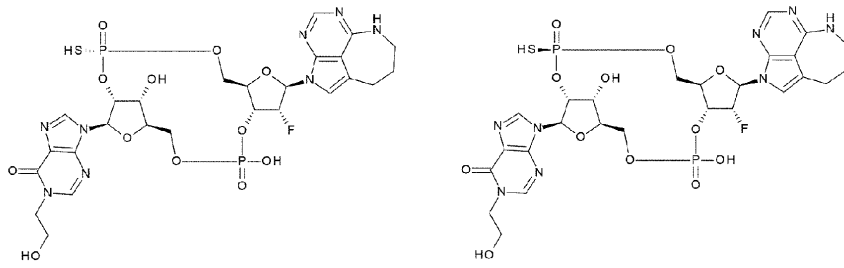
[0392]

[0393] (여기서, Q^3 , $Q^{3'}$ 및 W^5 는, 앞에 정의한 바와 같다)

[0394] 중 어느 것으로 나타내는, [93], [94] 또는 [96] 중 어느 한 항에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;

[0395] [98] D 가, 이하의 4 식 :

[0396] [화학식 44]



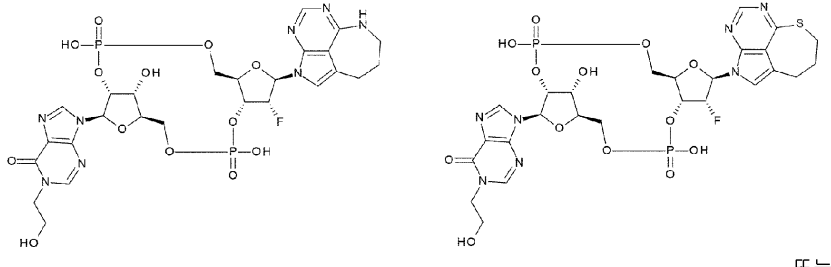
또는

[0397]

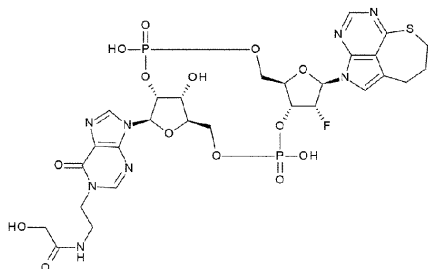
[0398] 중 어느 것으로 나타내는, [93], [94], [96] 또는 [97] 중 어느 한 항에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;

[0399] [99] D 가, 이하의 3 식 :

[0400] [화학식 45]



또는

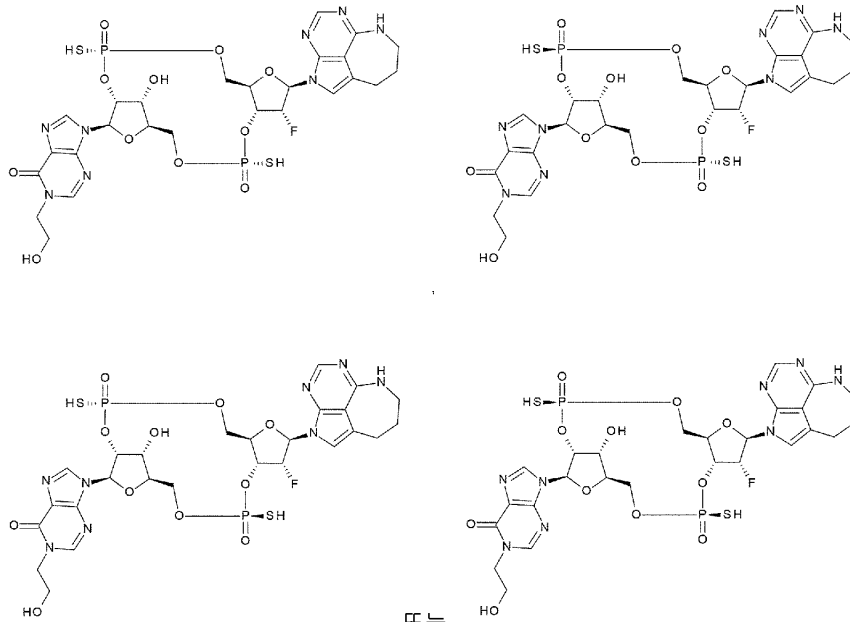


[0401]

[0402] 중 어느 것으로 나타내는, [93], [94], [96] 또는 [97] 중 어느 한 항에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;

[0403] [100] D 가, 이하의 4 식 :

[0404] [화학식 46]



[0405]

[0406] 중 어느 것으로 나타내는, [93], [94], [96] 또는 [97] 중 어느 한 항에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염 ;

[0407] [101] [1] ~ [61] 에 기재된 항체 약물 콘주게이트 및 [62] ~ [100] 에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 것을 함유하는, STING 아고니스트 ;

[0408] [102] [1] ~ [61] 에 기재된 항체 약물 콘주게이트 및 [62] ~ [100] 에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 것을 함유하는, 의약 조성물 ;

[0409] [103] [1] ~ [61] 에 기재된 항체 약물 콘주게이트 및 [62] ~ [100] 에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 것을 함유하는, 항종양제 ;

[0410] [104] 종양이, 폐암, 신장암, 요로 상피암, 대장암, 전립선암, 다형 신경교아종, 난소암, 췌암, 유방암, 멜라노마, 간암, 방광암, 위암, 식도암, 자궁체암, 정소암, 자궁경암, 태반 용모암, 다형 신경교아종, 뇌종양, 두경부암, 갑상선암, 중피종, 소화관 간질 종양 (GIST), 담낭암, 담관암, 부신암, 유극세포암, 백혈병, 악성 림프종, 형질 세포종, 골수종 또는 육종인, [103] 에 기재된 항종양제 ;

[0411] [105] [1] ~ [61] 에 기재된 항체 약물 콘주게이트, [62] ~ [100] 에 기재된 화합물 또는 그 약리상 허용되는 염, [101] 에 기재된 STING 아고니스트, [102] 에 기재된 의약 조성물, 및 [103] 또는 [104] 에 기재된 항종양제로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 것을 투여하는 것을 포함하는, 암의 치료 방법 ;

[0412] [106] 암이, 폐암, 신장암, 요로 상피암, 대장암, 전립선암, 다형 신경교아종, 난소암, 췌암, 유방암, 멜라노마, 간암, 방광암, 위암, 식도암, 자궁체암, 정소암, 자궁경암, 태반 용모암, 다형 신경교아종, 뇌종양, 두경부암, 갑상선암, 중피종, 소화관 간질 종양 (GIST), 담낭암, 담관암, 부신암, 유극세포암, 백혈병, 악성 림프종, 형질 세포종, 골수종 또는 육종인, [105] 에 기재된 방법,

[0413] 에 관한 것이다.

발명의 효과

[0414] 본 발명에 의해, 신규 CDN 유도체가 제공된다. 본 발명의 신규 CDN 유도체는 강한 STING 아고니스트 활성을 갖고, 높은 항종양 활성을 나타낸다. 또, 본 발명에 의해, 전신 투여할 수 있고, 또한, 항원이 발현하고 있는 종양에서 항종양 효과를 나타내는, 신규 항체 CDN 유도체 콘주게이트가 제공된다.

도면의 간단한 설명

[0415] 도 1 은, 본 발명의 약물 콘주게이트체 ((II) 의 분자) 인, SG 형 당사슬 리모델링 항체로부터 얻어진 약물 콘

쥬게이트체 (도 1 의 A 의 (II) 의 분자) 및, MSG 형 당사슬 리모델링 항체로부터 얻어진 약물 콘쥬게이트체 (도 1 의 B 의 (II) 의 분자) 를 모식적으로 나타낸 것이다. (a) 는 약물 D, (b) 는 링커 L, (c) 는 PEG 링커 (L(PEG)), (d) 는 N297 당사슬 (여기서, 백색 원은 NeuAc(Sia), 백색 육각형은 Man, 흑색 육각형은 GlcNAc, 백색 마름모꼴은 Gal, 및, 백색 역삼각형은 Fuc) 을 각각 나타낸다. 백색 오각형은, 링커 L 유래의 알킨과 PEG 링커 유래의 아지드기가 반응하여 생성된 트리아졸 고리를 나타낸다. Y 자형은, 항체 Ab 를 나타낸다. PEG 링커는, 비환원 말단에 위치하는 시알산의 2 위치의 카르복실기와 아미드 결합을 개재하여 연결되어 있다. 이와 같은 표시 방법은, 특별히 언급이 없는 한, 본 명세서의 전체를 통해 적용된다.

도 2 는, 본 발명의 약물 콘쥬게이트체의 제조 중간체인, (Fuc α 1,6)GlcNAc-항체 (도 2 의 A 의 (III) 의 분자), SG 형 당사슬 리모델링 항체 (도 2 의 B 의 (IV) 의 분자), 및 MSG 형 당사슬 리모델링 항체 (도 2 의 C 의 (IV) 의 분자) 의 구조를 나타내는 모식도이다. 모든 도면에 있어서, Y 자형은 도 1 과 마찬가지로 항체 Ab 를 나타낸다. 도 2 의 A 에 있어서, (e) 는 Fuc 의 1 위치와, GlcNAc 의 6 위치에 있어서 α 글리코시드 결합한 이당으로 이루어지는 N297 당사슬을 나타낸다. 도 2 의 B 및 C 에 있어서, (d) 는 도 1 과 동일한 N297 당사슬을 나타내고, (f) 는 아지드기를 갖는 PEG 링커이며, 말단에 링커 L 과의 결합에 제공되는 아지드기를 나타낸다. 아지드기를 갖는 PEG 링커의 결합 양식은, 도 1 의 PEG 링커와 동일하다.

도 3 은, 동물 세포에서 산생된 항체로부터 SG 형 당사슬 리모델링 항체 및 MSG 형 당사슬 리모델링 항체를 제조하는 공정의 모식도이다. 도면 중의 분자 (III) 및 (IV) 는, 도 2 와 마찬가지로, (Fuc α 1,6)GlcNAc-항체 및 SG 형 당사슬 리모델링 항체 또는 MSG 형 당사슬 리모델링 항체를 각각 나타낸다. (V) 의 분자는 동물 세포에서 산생된 항체이며, N297 당사슬이 불균일한 분자의 혼합물이다. 도 3A 는, (V) 의 불균일한 N297 당사슬을, EndoS 와 같은 가수분해 효소로 처리함으로써, 균일한 (Fuc α 1,6)GlcNAc-항체 (III) 이 제조되는 공정을 나타낸다. 도 3B 는, 항체 (III) 의 N297 당사슬의 GlcNAc 에 대하여, EndoS D233Q/Q303L 변이체와 같은 당전이 효소를 사용하여, SG 형 당사슬 도너 분자를 당사슬 전이시킴으로써, (IV) 의 SG 형 당사슬 리모델링 항체가 제조되는 공정을 나타낸다. 도 3C 는, 도 3B 와 마찬가지로, 항체 (III) 에 대하여, MSG 형 당사슬 도너 분자를 당사슬 전이시킴으로써 (IV) 의 MSG 형 당사슬 리모델링 항체가 제조되는 공정을 나타낸다. 여기서 사용되는 SG 형 당사슬 도너 분자 및 MSG 형 당사슬 도너 분자는, 각각의 비환원 말단의 시알산이 아지드기를 갖는 PEG 링커로 수식된 것이고, 제조되는 SG 형 N297 당사슬 리모델링 항체 및 MSG 형 N297 당사슬 리모델링 항체에 있어서도, 도 2 의 B 및 C 에서 도시한 바와 같이, 비환원 말단의 시알산이 동일한 수식을 받은 것이 된다.

도 4 는, 트라스투주맙의 경사슬의 아미노산 서열 (서열 번호 1) 및 중사슬의 아미노산 서열 (서열 번호 2) 을 나타낸다.

도 5 는, 개변 항HER2 항체의 경사슬의 아미노산 서열 (서열 번호 1) 및 중사슬의 아미노산 서열 (서열 번호 3) 을 나타낸다.

도 6 은, (a) 인간 STING 야생형의 아미노산 서열, (b) 인간 STING REF 변이형 (R232H) 의 아미노산 서열, 및, (c) 인간 STING HAQ 변이체 (R71H, G230A, R293Q) 의 아미노산 서열을 나타낸다.

도 7 은, CDN 유도체의 종양내 투여에 의한 항종양 효과를 나타낸다. 도면 중의 흑색 사각선은 비히클군, 백색 사각선은 화합물 번호 6a 투여군, 백색 역삼각선은 화합물 번호 8b 투여군, 백색 동그라미선은 화합물 번호 9b 투여군을 나타낸다. 세로축은 종양 체적 (mm³), 가로축은 종양 이식 후의 일수를 나타내고 있다.

도 8 은, 항HER2 항체 - CDN 콘쥬게이트 (1) 및 항LPS 항체 - CDN 콘쥬게이트 (1) 의 정맥내 투여에 의한 항종양 효과를 나타낸다. 도면 중의 흑색 사각선은 비히클군, 백색 삼각선은, 참고예 1 에서 제조한 개변 항HER2 항체에 실시예 8b 의 화합물을 콘쥬게이트시킨 항HER2 항체 - CDN 콘쥬게이트 (1) 투여군, 흑색 삼각선은, 참고예 2 에서 제조한 개변 항LPS 항체에 동일하게 실시예 8b 의 화합물을 콘쥬게이트시킨 항LPS 항체 - CDN 콘쥬게이트 (1) 투여군을 나타낸다. 세로축은 종양 체적 (mm³), 가로축은 종양 이식 후의 일수를 나타내고 있다.

도 9 는, 항HER2 항체 - CDN 콘쥬게이트 (2) 및 (3) 의 정맥내 투여에 의한 항종양 효과를 나타낸다. 도면 중의 흑색 사각선은 비히클군, 백색 사각선은 항HER2 항체 - CDN 콘쥬게이트 (2) 투여군, 백색 삼각선은 항HER2 항체 - CDN 콘쥬게이트 (3) 투여군을 나타낸다. 세로축은 종양 체적 (mm³), 가로축은 종양 이식 후의 일수를 나타내고 있다.

도 10 은, 항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 (19) 의 정맥내 투여에 의한 항종양 효과를 나타낸다. 도면 중의 흑색 사각선은 비히클군, 백색 삼각선은 항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 (19) 투여군을 나타낸다. 항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 (19) 는 약물 링커가 시스테인 콘주게이션으로 항체에 결합되어 있다. 세로축은 종양 체적 (mm³), 가로축은 종양 이식 후의 일수를 나타내고 있다.

도 11 은, 항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 (1) 및 (9) ~ (12) 의 정맥내 투여에 의한 항종양 효과를 나타낸다. 도면 중의 흑색 사각선은 비히클군, 백색 삼각선은 항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 (9) 투여군, 백색 역삼각선은 항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 (10) 투여군, 백색 마름모꼴선은 항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 (11) 투여군, 백색 동그라미선은 항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 (12) 투여군, 백색 사각선은 항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 (1) 투여군을 나타낸다. 항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 (9), (10), (11), (12), (1) 은 각각 상이한 링커로 실시예 8b 의 화합물이 콘주게이션되어 있다. 세로축은 종양 체적 (mm³), 가로축은 종양 이식 후의 일수를 나타내고 있다.

도 12 는, 항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트 (1), 항HER2 항체 2 및 화합물 번호 8b 의 정맥내 투여에 의한 항종양 효과를 나타낸다. 도면 중의 흑색 사각선은 비히클군, 백색 삼각선은 항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트 (1) 의 60 μ g 투여군, 흑색 역삼각선은 항HER2 항체 2 의 59 μ g 투여군, 흑색 동그라미선은 화합물 번호 8b 의 1.2 μ g 투여군을 나타낸다. 항HER2 항체 2 및 화합물 번호 8b 의 투여량은, 항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트 (1) 을 구성하는 각 성분의 당량이다. 세로축은 종양 체적 (mm³), 가로축은 종양 이식 후의 일수를 나타내고 있다.

도 13 은, (a) 항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트 (2) 및 (3) 의 정맥내 투여에 의한 항종양 효과를 나타낸다. (b) 항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트 (4), (5), (7) 및 (8) 의 정맥내 투여에 의한 항종양 효과를 나타낸다. (c) 항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트 (6) 의 정맥내 투여에 의한 항종양 효과를 나타낸다. 도면 중의 흑색 사각선은 비히클군, 각 백색 심볼선은 평가한 각 항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트 (2) ~ (8) 투여군을 나타낸다. 세로축은 종양 체적 (mm³), 가로축은 종양 이식 후의 일수를 나타내고 있다.

도 14 는, 항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트 (9) 및 (10) 의 정맥내 투여에 의한 항종양 효과를 나타낸다. 도면 중의 흑색 사각선은 비히클군, 백색 삼각선은 항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트 (9) 투여군, 백색 동그라미선은 항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트 (10) 투여군을 나타낸다. 항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트 (9), (10) 은 약물 평균 결합수가 약 2 인 MSG 형 당사슬 리모델링 항체를 사용한 항체 - CDN 콘주게이트이다. 세로축은 종양 체적 (mm³), 가로축은 종양 이식 후의 일수를 나타내고 있다.

도 15 는, 항EphA2 항체 및 항EphA2 항체 - CDN 콘주게이트 (1) 의 정맥내 투여에 의한 항종양 효과를 나타낸다. 도면 중의 흑색 사각선은 비히클군, 백색 동그라미선은 항EphA2 항체 투여군, 백색 삼각선은 항EphA2 항체 - CDN 콘주게이트 (1) 투여군을 나타낸다. 세로축은 종양 체적 (mm³), 가로축은 종양 이식 후의 일수를 나타내고 있다.

도 16 은, 항CD33 항체 및 항CD33 항체 - CDN 콘주게이트 (1) 의 정맥내 투여에 의한 항종양 효과를 나타낸다. 도면 중의 흑색 사각선은 비히클군, 백색 동그라미선은 항CD33 항체 투여군, 백색 삼각선은 항CD33 항체 - CDN 콘주게이트 (1) 투여군을 나타낸다. 세로축은 종양 체적 (mm³), 가로축은 종양 이식 후의 일수를 나타내고 있다.

도 17 은, 페르투주맙의 경사슬의 아미노산 서열 (서열 번호 28) 및 중사슬의 아미노산 서열 (서열 번호 29) 을 나타낸다.

도 18 은, 개변 항HER2 항체 2 의 경사슬의 아미노산 서열 (서열 번호 28) 및 중사슬의 아미노산 서열 (서열 번호 30) 을 나타낸다.

도 19 는, 항CD33 항체의 경사슬의 아미노산 서열 (서열 번호 31) 및 중사슬의 아미노산 서열 (서열 번호 32) 을 나타낸다.

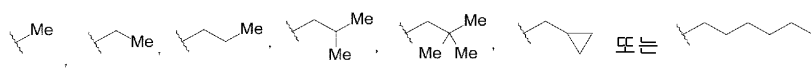
도 20 은, 항EphA2 항체의 경사슬의 아미노산 서열 (서열 번호 33) 및 중사슬의 아미노산 서열 (서열 번호 34) 을 나타낸다.

도 21 은, 항CDH6 항체의 경사슬의 아미노산 서열 (서열 번호 35) 및 중사슬의 아미노산 서열 (서열 번호 36) 을 나타낸다.

도 22 는, 항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트 (11) 및 (12) 의 정맥내 투여에 의한 항종양 효과를 나타낸다.

도면 중의 흑색 사각선은 비히클군, 백색 삼각선은 항HER2 항체 2 - CDN 콘쥬게이트 (11) 투여군, 백색 동그라미선은 항HER2 항체 2 - CDN 콘쥬게이트 (12) 투여군을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0416] 본 발명은, STING 아고니스트 활성을 갖는 신규 CDN 유도체 및 그 항체 약물 콘쥬게이트, 그리고 이들의 사용에 관한 것이다. 본 발명의 신규 CDN 유도체는, STING 아고니스트 활성을 갖고, 면역 세포를 부활화하여 인터페론이나 사이토카인의 산생을 유도한다. 또, 본 발명의 신규 CDN 유도체는, 당해 면역 세포의 부활화에 의해 항종양 효과를 발휘한다. 신규 CDN 유도체는, 면역 기능을 부활화하고자 하는 목적의 조직에 직접 투여되어도 되고, 또는, 표적 세포 (예를 들어, 종양 세포 또는 면역 세포) 를 인식하여 결합할 수 있는 항체에 임의의 링커를 개재하여 연결되어 전신 투여되어도 된다.
- [0417] STING (Stimulator of Interferon Genes) 란, 소포체에 국재하는 막 관통형의 어댑터 단백질이다. STING 에는, 선천적인 다형 (多型) 이 높은 빈도로 존재하는 것이 알려져 있다 (PLoS One, 2013 Oct, 21, 8 (10), e77846). STING 변이형으로는, 예를 들어, 232 번째의 아르기닌 (R) 으로부터 히스티딘 (H) 으로 변이한 R232H 변이나, 71 번째의 아르기닌 (R) 이 히스티딘 (H) 으로, 230 번째의 글리신 (G) 이 알라닌 (A) 으로, 293 번째의 아르기닌 (R) 이 글루타민 (Q) 으로 변이한 HAQ 변이가 알려져 있다. 이와 같은 STING 의 다형에서는, STING 아고니스트 자극에 의해 유도되는 사이토카인 산생량 등의 응답의 강도에 차이가 있는 것이 알려져 있다 (Genes and Immunity, 2011, 12, 263-269). 그 때문에, 인간에게 있어서 안정적으로 STING 아고니스트가 작용하기 위해서는, 각 STING 의 형 (型) 에 대하여 활성을 갖는 것이 바람직하다.
- [0418] 본 명세서에 있어서, 「암」, 「암」 및 「종양」 은 동일한 의미로 사용하고 있다.
- [0419] 본 발명에 있어서, 「면역 부활화 활성」 이란, 어떠한 형태로, 단구, 매크로파지, 수상 세포, T 세포, B 세포, NK 세포, 호중구 등의 항종양 면역에 관여하는 면역 세포의 활성화를 일으키는 것을 말하며, 예를 들어 사이토카인 및 케모카인의 산생, 면역 활성화 마커의 발현 상승, 면역 억제성 마커의 발현 저하, 세포내 시그널 전달계의 인산화 등의 변화, 유전자 발현의 변화 등, 모든 면역 세포의 구조나 기능 상의 변화를 일으키는 것을 말한다. 또, 종양 세포가 항종양 면역을 유도하는 변화를 일으키는 것도 포함하며, 예를 들어 면역 세포를 부활화 또는 유주를 유도하는 사이토카인 및 케모카인의 산생, 면역 세포에 대한 감수성 항진 등을 유도하는 것을 말한다.
- [0420] 본 발명에 있어서, 「항종양 효과」 란, 약물에 의해 종양 세포에 대하여 직접적 또는 간접적으로 영향을 미침으로써, 종양의 감소 또는 축퇴를 유도하는 것을 말한다. 예를 들어, 종양 세포에 대하여 약물이 직접적인 상해를 주거나, 종양 세포가 약물의 자극에 의해 항종양 면역을 부활화하거나, 종양 세포에 송달된 약물이 세포외로 방출되는 등 하여 종양 세포 주변의 항종양 면역이 부활화하는 것 등에 의해, 종양 세포수의 감소 및 상해, 또는 종양의 축퇴를 일으키는 것을 항종양 효과라고 한다.
- [0421] 본 발명에 있어서, 「세포 상해 활성」 이란, 어떠한 형태로, 세포에 병리적인 변화를 일으키는 것을 말하며, 직접적인 외상에 그치지 않고, DNA 의 절단이나 염기의 2량체의 형성, 염색체의 절단, 세포 분열 장치의 손상, 각종 효소 활성의 저하 등 모든 세포의 구조나 기능 상의 손상을 일으키는 것을 말한다.
- [0422] 본 발명에 있어서, 「세포」 에는, 동물 개체 내의 세포, 배양 세포도 포함하고 있다.
- [0423] 본 명세서에 있어서, 「할로젠 원자」 란, 불소 원자, 염소 원자, 브롬 원자, 요오드 원자를 의미한다.
- [0424] 본 명세서에 있어서, 「C1-C6 알킬기」 란, 탄소수 1 ~ 6 의 직사슬 또는 분기 사슬의 알킬기를 의미한다. 「C1-C6 알킬기」 는, 총탄소수가 6 을 넘지 않으면, 알킬기 상에 시클로프로판을 갖고 있어도 된다. 「C1-C6 알킬기」 로는, 예를 들어, 이하의 구조 :
- [0425] [화학식 47]
- [0426] 
- [0427] (파선은 치환 위치를 나타낸다.) 를 들 수 있지만, 이들에 한정되지 않는다.
- [0428] 본 명세서에 있어서, 「C2-C6 알케닐기」 란, 탄소수 2 ~ 6 의 직사슬 또는 분기 사슬의 알케닐기를 의미한다.

[0429] 본 명세서에 있어서, 「C2-C6 알킬닐기」란, 탄소수 2 ~ 6 의 직사슬, 분기 사슬의 알킬닐기를 의미한다.

[0430] 본 명세서에 있어서, 「C3-C6 시클로알킬기」란, 탄소수 3 ~ 6 의 포화 고리형 탄화수소를 의미한다. 「C3-C6 시클로알킬기」는, 총탄소수가 6 을 넘지 않으면, 복수의 알킬기로 치환되어 있어도 된다. 「C3-C6 시클로알킬기」로는, 예를 들어, 이하의 구조 :

[0431] [화학식 48]

[0432]

[0433] (파선은 치환 위치를 나타낸다.) 를 들 수 있지만, 이들에 한정되지 않는다.

[0434] 본 명세서에 있어서, 「하이드록시 C1-C6 알킬기」란, 탄소수 1 ~ 6 의 직사슬, 분기 사슬의 알킬기의 임의의 위치에 1 또는 2 개의 하이드록시기가 치환하고 있는 알킬기를 의미한다. 「하이드록시 C1-C6 알킬기」는, 총탄소수가 6 을 넘지 않으면, 알킬기 상에 시클로프로판을 갖고 있어도 된다. 「하이드록시 C1-C6 알킬기」로는, 예를 들어, 이하의 구조 :

[0435] [화학식 49]

[0436]

[0437] (파선은 치환 위치를 나타낸다.) 를 들 수 있지만, 이들에 한정되지 않는다.

[0438] 본 발명에 있어서, 「아미노 C1-C6 알킬기」란, 탄소수 1 ~ 6 의 직사슬 또는 분기 사슬의 알킬기의 임의의 위치에 1 또는 2 개의 아미노기가 치환하고 있는 알킬기를 의미한다. 「아미노 C1-C6 알킬기」란, 총탄소수가 6 을 넘지 않으면, 알킬기 상에 시클로프로판을 갖고 있어도 된다. 「아미노 C1-C6 알킬기」로는, 예를 들어, 이하의 구조 :

[0439] [화학식 50]

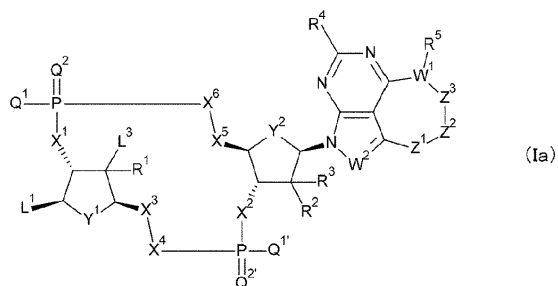
[0440]

[0441] (파선은 치환 위치를 나타낸다.) 를 들 수 있지만, 이들에 한정되지 않는다.

[0442] <1. 신규 CDN 유도체>

[0443] 본 발명의 신규 CDN 유도체는, 다음 식 (Ia) :

[0444] [화학식 51]

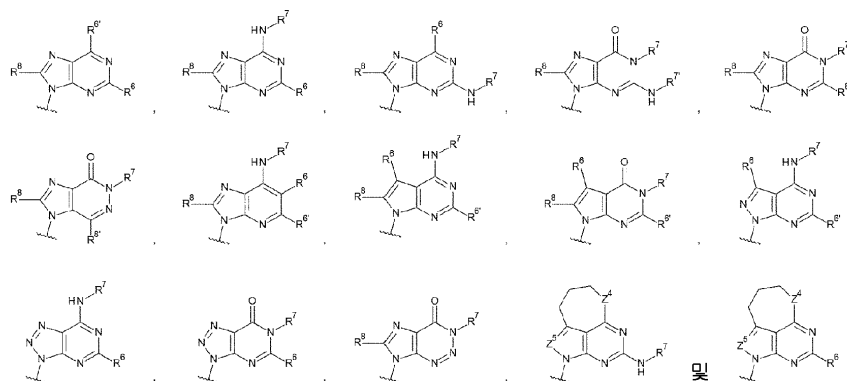


[0445]

[0446] 로 나타내는 구조를 갖는다.

[0447] L¹ 은, 하이드록시기, -NH₂, 2-하이드록시아세틸아미노메틸기 및 2-[(2-하이드록시아세틸)아미노]에틸기로 이루어지는 군에서 선택되는 1 ~ 3 개의 기에 의해 임의의 위치에서 치환되어 있어도 되는, 다음 식

[0448] [화학식 52]



[0449]

[0450] (여기서,

[0451] R^6 및 $R^{6'}$ 는, 각각 독립적으로, 수소 원자, 할로겐 원자, 하이드록시기, $-NH_2$, C1-C6 알킬기, C2-C6 알케닐기 또는 C2-C6 알키닐기를 나타내고,

[0452] R^7 및 $R^{7'}$ 는, 각각 독립적으로, 수소 원자 또는 C1-C6 알킬기를 나타내고, 그 C1-C6 알킬기는, 할로젠 원자 및 옥소기로 이루어지는 군에서 선택되는 1 또는 2 개의 치환기에 의해 치환되어 있어도 되고,

[0453] R^8 및 $R^{8'}$ 는, 각각 독립적으로, 수소 원자 또는 할로겐 원자를 나타내고,

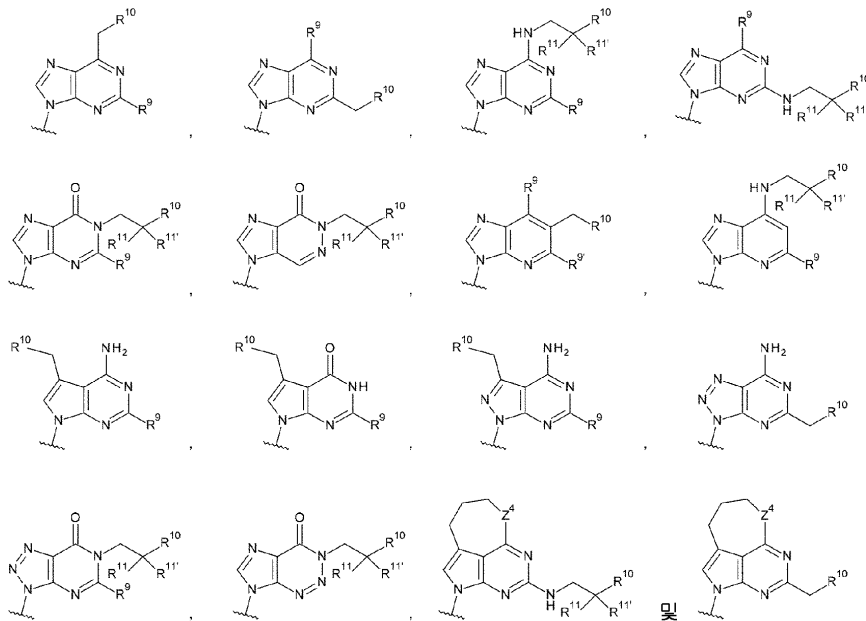
[0454] Z^4 는, $-CH_2-$, $-NH-$ 또는 산소 원자를 나타내고,

[0455] Z^5 는, 질소 원자 또는 $-CH=$ 를 나타낸다)

[0456] 으로 이루어지는 군에서 선택되는 기를 나타낸다.

[0457] 또, L¹ 은, 하이드록시기, -NH₂, 2-하이드록시아세틸아미노메틸기 및 2-[(2-하이드록시아세틸)아미노]에틸기로 이루어지는 군에서 선택되는 1 ~ 3 개의 기에 의해 임의의 위치에서 치환되어 있어도 되는, 다음 식

[0468] [화학식 54]



[0469]

[0470] (여기서, R^9 및 $R^{9'}$ 는, 수소 원자, 할로겐 원자, 하이드록시기 또는 $-NH_2$ 를 나타내고,

[0471] R^{10} 은, 하이드록시기, $-NH_2$, $-NHC(=O)CH_2OH$, $-CH_2NHC(=O)CH_2OH$, $-CH_2CH_2NHC(=O)CH_2OH$, 하이드록시 C1-C3 알킬기 또는 아미노 C1-C3 알킬기를 나타내고,

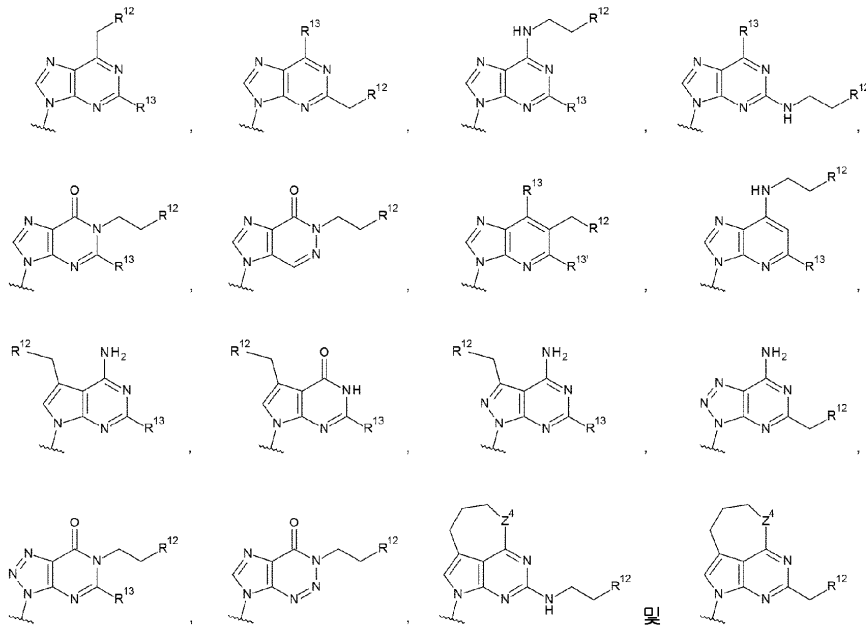
[0472] R^{11} 및 $R^{11'}$ 는, 각각 독립적으로, 수소 원자, 불소 원자 혹은 메틸기를 나타내거나, 또는, R^{11} 및 $R^{11'}$ 가 결합하여 시클로프로판을 나타내고,

[0473] Z^4 는, $-CH_2-$, $-NH-$ 또는 산소 원자를 나타낸다)

[0474] 이다.

[0475] 또, L^1 은, 바람직하게는, 다음 식으로 이루어지는 군에서 선택되는 기

[0476] [화학식 55]



[0477]

[0478] (여기서, R^{13} 및 $R^{13'}$ 는, 각각 독립적으로, 수소 원자, 하이드록시기 또는 $-NH_2$ 를 나타내고,

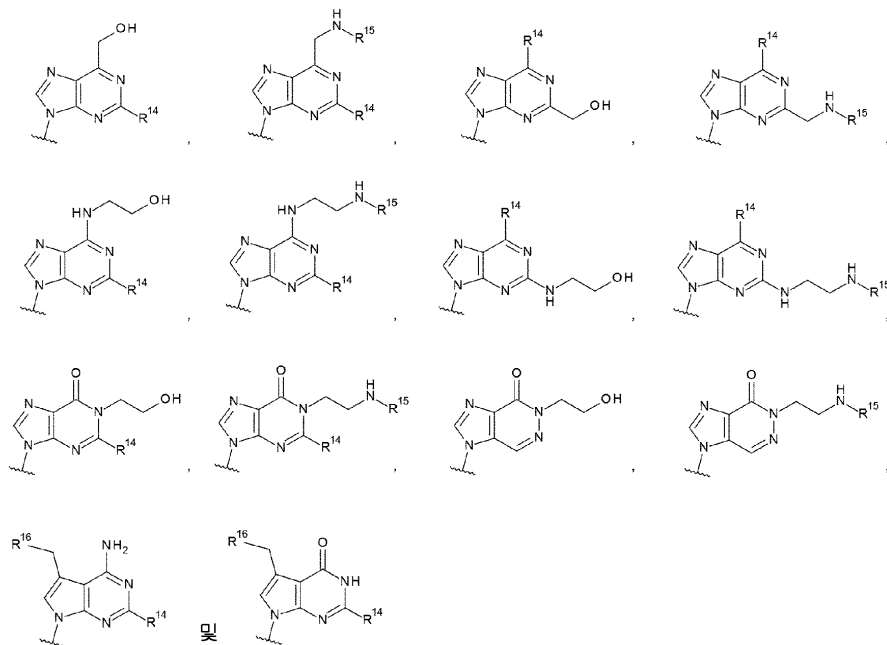
[0479] R^{12} 는, 하이드록시기, $-NH_2$, $-CH_2OH$, $-NHC(=O)CH_2OH$, $-CH_2NHC(=O)CH_2OH$ 또는 $-CH_2CH_2NHC(=O)CH_2OH$ 를 나타내고,

[0480] Z^4 는, 앞에 정의한 바와 같다)

[0481] 이다.

[0482] 나아가 또한, L^1 은, 바람직하게는, 다음 식으로 이루어지는 군에서 선택되는 기

[0483] [화학식 56]



[0484]

[0485] (여기서, R^{14} 는, 수소 원자 또는 $-NH_2$ 를 나타내고,

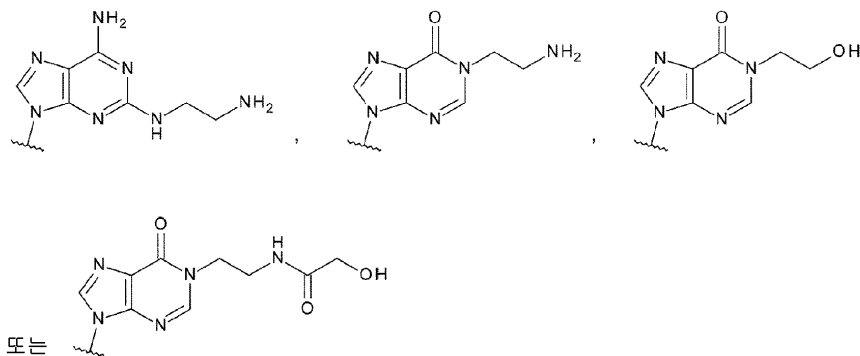
[0486] R^{15} 는, 수소 원자 또는 $-C(=O)CH_2OH$ 를 나타내고,

[0487] R^{16} 은, 하이드록시기, $-NH_2$, $-CH_2OH$, $-CH_2CH_2OH$, $-CH_2NH_2$ 또는 $-CH_2CH_2NH_2$ 를 나타낸다)

[0488] 이다.

[0489] L^1 은, 보다 바람직하게는, 다음 식으로 이루어지는 군에서 선택되는 기

[0490] [화학식 57]



[0491] 또는

[0492] 이다.

[0493] L^3 은, 수소 원자, 할로젠 원자, $-NH_2$, 하이드록시 C1-C3 알킬기 또는 아미노 C1-C3 알킬기에서 선택된다.

[0494] Q^1 및 $Q^{1'}$ 는, 각각 독립적으로, 하이드록시기, 티올기 또는 보라노기 (BH_3^-) 를 나타낸다. Q^1 은, 바람직하게는, 하이드록시기 또는 티올기이다. $Q^{1'}$ 는, 바람직하게는, 하이드록시기 또는 티올기이다. 보다 바람직하게는, Q^1 및 $Q^{1'}$ 의 조합은, Q^1 및 $Q^{1'}$ 가 티올기이거나, 또는, Q^1 및 $Q^{1'}$ 가 하이드록시기이다.

[0495] Q^2 및 $Q^{2'}$ 는, 각각 독립적으로, 산소 원자 또는 황 원자를 나타낸다. 바람직하게는, Q^2 및 $Q^{2'}$ 는, 함께 산소 원자이거나 또는 함께 황 원자이다.

[0496] Q^1 및 Q^2 의 조합은, 바람직하게는, Q^1 이 티올기이고 또한 Q^2 가 산소 원자이거나, 혹은, Q^1 이 티올기이고 또한 Q^2 가 황 원자이다.

[0497] $Q^{1'}$ 및 $Q^{2'}$ 의 조합은, 바람직하게는, $Q^{1'}$ 가 티올기이고 또한 $Q^{2'}$ 가 산소 원자이거나, $Q^{1'}$ 가 하이드록시기이고 또한 $Q^{2'}$ 가 산소 원자이거나, 혹은 $Q^{1'}$ 가 티올기이고 또한 $Q^{2'}$ 가 황 원자이다.

[0498] X^1 및 X^2 는, 각각 독립적으로, 산소 원자, 황 원자 또는 $-CH_2-$ 를 나타낸다. X^1 은, 바람직하게는, 산소 원자이다. X^2 는, 바람직하게는, 산소 원자이다. 보다 바람직하게는, X^1 및 X^2 가 산소 원자이다.

[0499] Y^1 및 Y^2 는, 산소 원자 또는 $-CH_2-$ 를 나타낸다. Y^1 은, 바람직하게는, 산소 원자이다. Y^2 는, 바람직하게는, 산소 원자이다. 보다 바람직하게는, Y^1 및 Y^2 가 산소 원자이다.

[0500] X^3 및 X^4 는, 하기 (iii) 또는 (iv) :

[0501] (iii) Y^1 이 산소 원자일 때, X^3-X^4 는, $-CH_2-O-$, $-CH_2-S-$, $-CH_2-CH_2-$ 또는 $-CH_2-CF_2-$ 를 나타낸다 ; 또는

[0502] (iv) Y^1 이 $-CH_2-$ 일 때, X^3-X^4 는, $-O-CH_2-$ 를 나타낸다,

- [0503] 에서 선택되는 기를 나타낸다. X^3 및 X^4 는, 바람직하게는, 상기 (iii) 의 $-\text{CH}_2\text{-O}-$ 이다.
- [0504] X^5 및 X^6 은, 하기 (v) 또는 (vi) :
- [0505] (v) Y^2 가 산소 원자일 때, $X^5\text{-}X^6$ 은, $-\text{CH}_2\text{-O}-$, $-\text{CH}_2\text{-S}-$, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2-$ 또는 $-\text{CH}_2\text{-CF}_2-$ 를 나타낸다 ; 또는
- [0506] (vi) Y^2 가 $-\text{CH}_2-$ 일 때, $X^5\text{-}X^6$ 은, $-\text{O-CH}_2-$ 를 나타낸다,
- [0507] 에서 선택되는 기를 나타낸다. X^5 및 X^6 은, 바람직하게는, 상기 (v) 의 $-\text{CH}_2\text{-O}-$ 이다.
- [0508] R^1 , R^2 및 R^3 은, 각각 독립적으로, 수소 원자, 할로젠 원자, $-\text{OR}'$, $-\text{OC}(=\text{O})\text{R}'$, $-\text{N}_3$, $-\text{NHR}'$, $-\text{NR}'\text{R}''$ 또는 $-\text{NHC}(=\text{O})\text{R}'$ (여기서, R' 는, 수소 원자, C1-C6 알킬기, C2-C6 알케닐기, C2-C6 알키닐기 또는 C3-C6 시클로알킬기를 나타내고, 그 C1-C6 알킬기, C2-C6 알케닐기 또는 C2-C6 알키닐기는, 1 내지 6 개의 할로젠 원자로 치환되어도 된다, R'' 는, C1-C6 알킬기, C2-C6 알케닐기, C2-C6 알키닐기 또는 C3-C6 시클로알킬기를 나타낸다) 를 나타낸다.
- [0509] R^1 은, 바람직하게는, 수소 원자, 하이드록시기 또는 불소 원자이다.
- [0510] R^2 는, 바람직하게는, 수소 원자, 하이드록시기 또는 불소 원자이다.
- [0511] R^3 은, 바람직하게는, 수소 원자, 하이드록시기 또는 불소 원자이다.
- [0512] W^1 은, 질소 원자, 산소 원자, 황 원자 또는 $-\text{CH}-$ 를 나타낸다.
- [0513] R^5 는, 하기 (vii) 내지 (x) :
- [0514] (vii) W^1 이 질소 원자일 때, R^5 는 수소 원자, C1-C6 알킬기, 하이드록시 C1-C6 알킬기 또는 아미노 C1-C6 알킬기를 나타낸다 ;
- [0515] (viii) W^1 이 산소 원자일 때, R^5 는 존재하지 않고 ;
- [0516] (ix) W^1 이 황 원자일 때, R^5 는 존재하지 않고 ; 또는
- [0517] (x) W^1 이 $-\text{CH}-$ 일 때, R^5 는 수소 원자, 할로젠 원자, 하이드록시기, $-\text{NH}_2$ 또는 C1-C6 알킬기를 나타낸다,
- [0518] 에서 선택되는 기를 나타낸다. W^1 이 질소 원자일 때, R^5 는, 바람직하게는, 수소 원자이다. W^1 이 $-\text{CH}-$ 일 때, R^5 는, 바람직하게는, 수소 원자이다.
- [0519] W^2 는, 질소 원자 또는 $-\text{CH=}$ 를 나타낸다. W^2 는, 바람직하게는 $-\text{CH=}$ 이다.
- [0520] R^4 는, 수소 원자, 할로젠 원자 또는 $-\text{NH}_2$ 를 나타낸다. R^4 는, 바람직하게는, 수소 원자이다.
- [0521] $Z^1\text{-}Z^2\text{-}Z^3$ 은 하나가 되어, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-R}''''-$, $-\text{CH=CH-CH}_2-$, $-\text{CH=CX-CH}_2-$, $-\text{CX=CH-CH}_2-$, $-\text{CX=CX-CH}_2-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{-CH}_2\text{-CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-C}(=\text{O})-$, $-\text{CH}_2\text{-CH}(\text{CH}_3)\text{-CH}_2-$ 또는 $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}(\text{CH}_3)-$ (여기서, R'''' 는, $-\text{O}-$ 또는 $-\text{CH}_2\text{-CH}_2-$ 를 나타내고, X 는, 할로젠 원자를 나타낸다) 또는 하기 식 중 어느 것으로 나타내는 기
- [0522] [화학식 58]

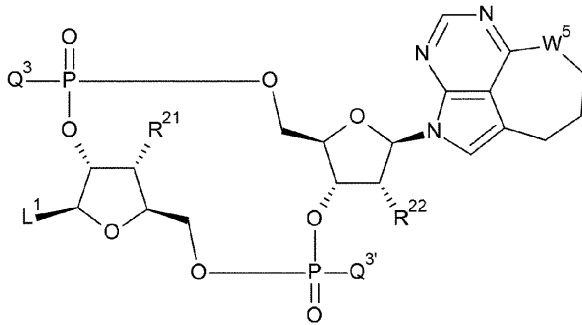


[0523]

[0524] (여기서, 아스테리스크는, W^1 에 결합하고 있는 것을 나타내고, 파선은, =C- 의 탄소 원자에 결합하고 있는 것을 나타낸다) 에서 선택되는 기를 나타낸다. Z^1 , Z^2 및 Z^3 은, 바람직하게는, 하나가 되어, $-CH_2-CH_2-CH_2-$, $-CH=CH-CH_2-$, $-CH_2-CH(CH_3)-CH_2-$, $-CH_2-CH_2-CH(CH_3)-$, 또는, $-CH_2-CH_2-R'''-$ (여기서, R''' 는, -O- 또는 $-CH_2-CH_2-$ 를 나타낸다) 이다.

[0525] 또, 본 발명의 신규 CDN 유도체는, 바람직하게는, 다음 식 :

[0526] [화학식 59]



[0527]

[0528] 으로 나타내는 구조를 갖는다.

[0529] L^1 은, 앞에 정의한 바와 같다.

[0530] Q^3 및 $Q^{3'}$ 는, 각각 독립적으로, 하이드록시기 또는 티올기를 나타낸다. 바람직하게는, Q^3 및 $Q^{3'}$ 는, 함께 티올기이다.

[0531] R^{21} 및 R^{22} 는, 각각 독립적으로, 하이드록시기 또는 불소 원자를 나타낸다. R^{21} 은, 바람직하게는, 하이드록시기이다. R^{22} 는, 바람직하게는, 불소 원자이다.

[0532] W^5 는, -NH- 또는 황 원자를 나타낸다.

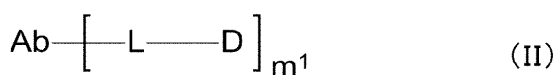
[0533] 본 발명의 신규 CDN 유도체의 제조 방법은, 후술하는 <3. 제조 방법> 에 기재한다.

[0534] <2. 항체 약물 콘쥬게이트>

[0535] 본 발명의 신규 CDN 유도체는, 목적으로 하는 조직에 직접 투여 (예를 들어, 종양내 투여) 되어도 되고, 혹은, 표적 세포 (예를 들어, 종양 세포 또는 면역 세포) 를 인식하여 결합할 수 있는 항체에 임의의 링커를 개재하여 연결된 항체 약물 콘쥬게이트로서 투여되어도 된다.

[0536] 본 발명의 항체 약물 콘쥬게이트는, 다음 식 (II) :

[0537] [화학식 60]



[0538]

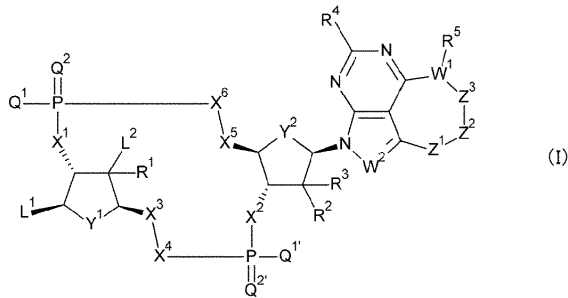
[0539] 로 나타낸다. m^1 은 항체 약물 콘쥬게이트에 있어서의 항체 1 분자당의 약물 결합수를 나타내고, Ab 는, 항체 또는 그 항체의 기능성 단편을 나타내고, L 은, Ab 와 D 를 연결하는 링커를 나타내고, D 는 상기 서술한 신규 CDN 유도체 (본 명세서 중, 신규 CDN 유도체가 항체 약물 콘쥬게이트의 일부로서 사용되는 경우, 간단히 「약물」 이라고도 칭한다) 를 나타낸다.

[0540] 약물 D 는, 면역 세포를 부활화하는 활성, 구체적으로는, STING 아고니스트 활성을 갖는 화합물이다. 약물 D 는, 링커의 일부 또는 전부가 표적 세포 (예를 들어, 종양 세포 또는 면역 세포) 내에서 절단되면, 본래의 구조로 유리되고, 면역 부활화 효과가 발휘된다. 면역 세포에 대한 표적 세포의 감수성 항진 또는 표적 세포를 개재한 면역 세포의 부활화에 의해, 목적으로 하는 기능이 발휘된다. 목적으로 하는 기능으로는, STING

아고니스트 활성화에 관련하는 기능이면 특별히 한정되지 않지만, 바람직하게는, 항종양 활성화이다. 즉, 종양을 표적으로 하는 항체 (예를 들어, 항HER2 항체) 에 임의의 링커를 개재하여 연결된 약물 D 는, 표적의 세포 또는 조직에 송달되고, 링커의 일부 또는 전부가 절단되어, 면역 세포에 대한 표적 세포의 감수성 항진 또는 표적 세포를 개재한 면역 세포의 부활화 (예를 들어, 인터페론이나 사이토카인의 산생) 를 통해서 항종양 효과를 발휘한다.

[0541] 본 발명의 항체 약물 콘주게이트에 결합되는 약물 D 는, 다음 식 (I) :

[0542] [화학식 61]



[0543]

[0544] (여기서,

[0545] L 은, L¹ 또는 L² 에 포함되는 임의의 -NH₂ 또는 하이드록시기와 결합하고,

[0546] L¹ 은, 상기 <1. 신규 CDN 유도체> 에서 규정한 바와 같고,

[0547] L² 는, 하기 (i) 또는 (ii) :

[0548] (i) L 과 결합할 때, L² 는, -NHR', 하이드록시 C1-C6 알킬기 또는 아미노 C1-C6 알킬기를 나타내고, 여기서, R' 는, 수소 원자, C1-C6 알킬기, C2-C6 알케닐기, C2-C6 알키닐기 또는 C3-C6 시클로알킬기를 나타내고, 그 C1-C6 알킬기, C2-C6 알케닐기 또는 C2-C6 알키닐기는, 1 내지 6 개의 할로젠 원자로 치환되어도 된다 ; 또는

[0549] (ii) L 과 결합하지 않을 때, L² 는, 수소 원자 또는 할로젠 원자를 나타낸다,

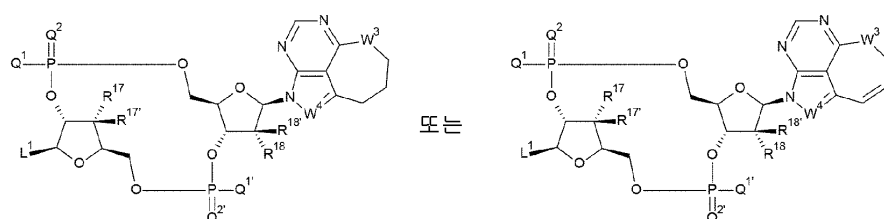
[0550] 에서 선택되는 기를 나타내고,

[0551] Q¹, Q^{1'}, Q², Q^{2'}, X¹, X², X³, X⁴, X⁵, X⁶, Y¹, Y², R¹, R², R³, R⁴, R⁵, W¹, W², Z¹, Z² 및 Z³ 은, 상기 <1. 신규 CDN 유도체> 에서 규정한 바와 같다.

[0552] L² 는, L 과 결합하는 경우, 바람직하게는, -NH₂, -CH₂NH₂ 또는 -CH₂OH 이다. L² 는, L 과 결합하지 않는 경우, 바람직하게는, 수소 원자 또는 불소 원자이다.

[0553] 본 발명의 신규 CDN 유도체 또는 본 발명의 항체 약물 콘주게이트에 사용되는 약물 D 는, 바람직하게는, 이하의 2 식 :

[0554] [화학식 62]



[0555]

[0556] (여기서, L¹, Q¹, Q^{1'}, Q² 및 Q^{2'} 는, 앞에 정의한 바와 같고,

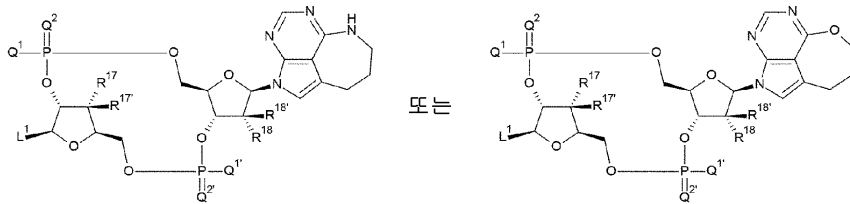
[0557] R^{17} , $R^{17'}$, R^{18} 및 $R^{18'}$ 는, 각각 독립적으로, 수소 원자, 할로겐 원자, 하이드록시기 또는 $-NH_2$ 를 나타내고,

[0558] W^3 은, $-NH-$, 산소 원자, 황 원자 또는 $-CH_2-$ 를 나타내고,

[0559] W^4 는, $-CH=$ 또는 질소 원자를 나타낸다) 중 어느 것으로 나타낸다.

[0560] 또, 본 발명의 신규 CDN 유도체 또는 본 발명의 항체 약물 콘주게이트에 사용되는 약물 D 는, 바람직하게는, 이하의 2 식 :

[0561] [화학식 63]



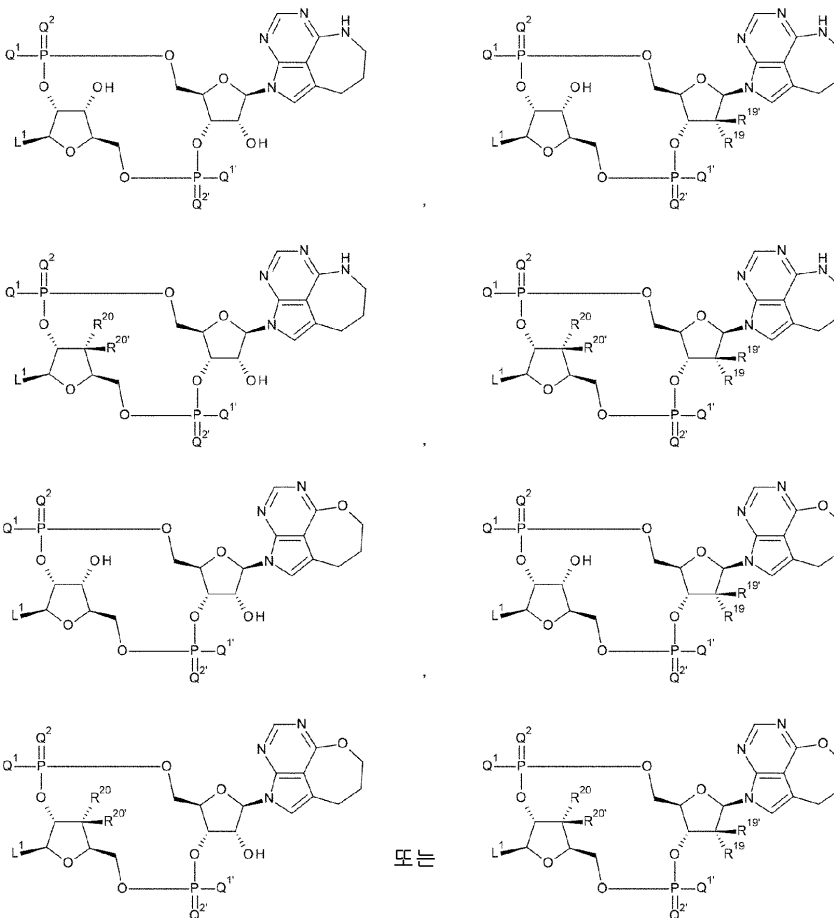
[0562]

[0563] (여기서, L^1 , Q^1 , $Q^{1'}$, Q^2 , $Q^{2'}$, R^{17} , $R^{17'}$, R^{18} 및 $R^{18'}$ 는, 앞에 정의한 바와 같다)

[0564] 중 어느 것으로 나타낸다.

[0565] 또, 본 발명의 신규 CDN 유도체 또는 본 발명의 항체 약물 콘주게이트에 사용되는 약물 D 는, 바람직하게는, 이하의 8 식 :

[0566] [화학식 64]



[0567]

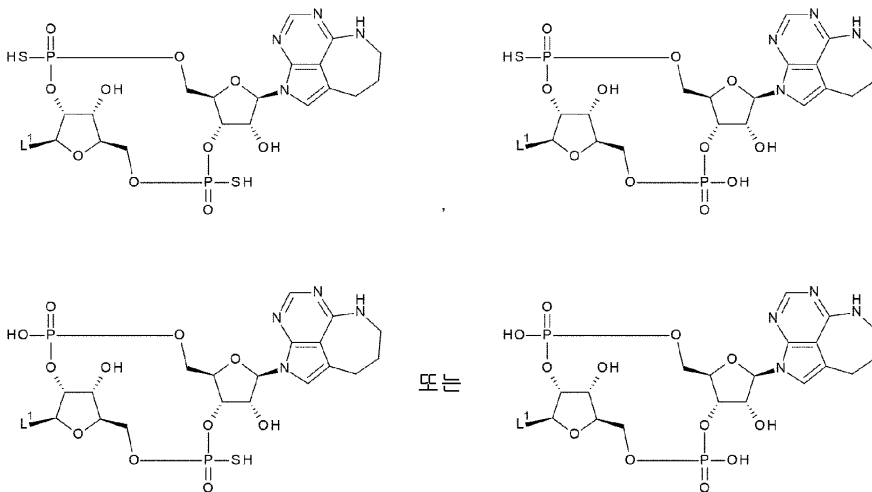
[0568] (여기서, L^1 , Q^1 , $Q^{1'}$, Q^2 및 $Q^{2'}$ 는, 앞에 정의한 바와 같고,

[0569] R^{19} , $R^{19'}$, R^{20} 및 $R^{20'}$ 는, 각각 독립적으로, 수소 원자 또는 불소 원자를 나타낸다)

[0570] 중 어느 것으로 나타낸다.

[0571] 또, 본 발명의 신규 CDN 유도체 또는 본 발명의 항체 약물 콘주게이트에 사용되는 약물 D 는, 바람직하게는, 이하의 4 식 :

[0572] [화학식 65]



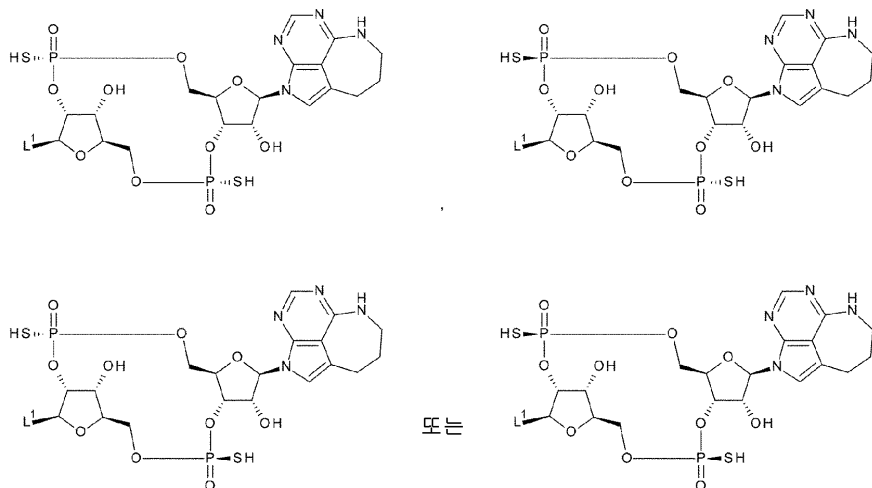
[0573]

[0574] (여기서, L^1 은, 앞에 정의한 바와 같다)

[0575] 중 어느 것으로 나타낸다.

[0576] 나아가 또한, 본 발명의 신규 CDN 유도체 또는 본 발명의 항체 약물 콘주게이트에 사용되는 약물 D 는, 바람직하게는, 이하의 4 식 :

[0577] [화학식 66]



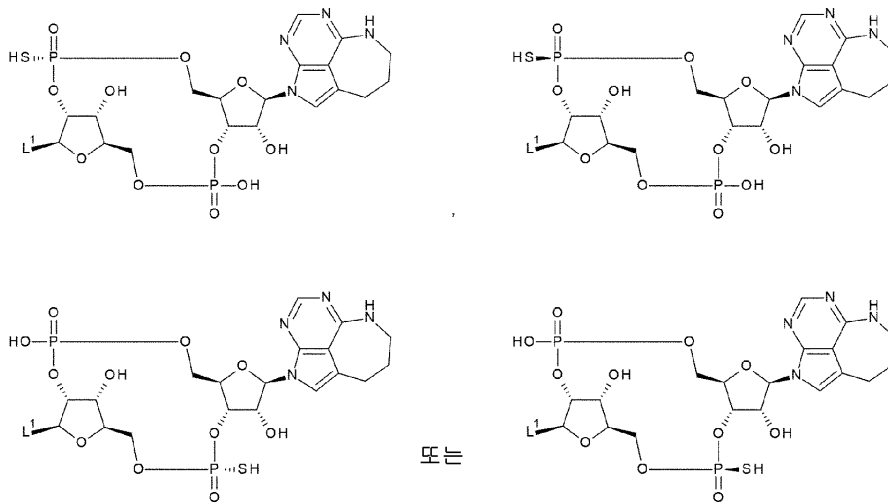
[0578]

[0579] (여기서, L^1 은, 앞에 정의한 바와 같다)

[0580] 중 어느 것으로 나타낸다.

[0581] 또, 본 발명의 신규 CDN 유도체 또는 본 발명의 항체 약물 콘주게이트에 사용되는 약물 D 는, 바람직하게는, 이하의 4 식 :

[0582] [화학식 67]



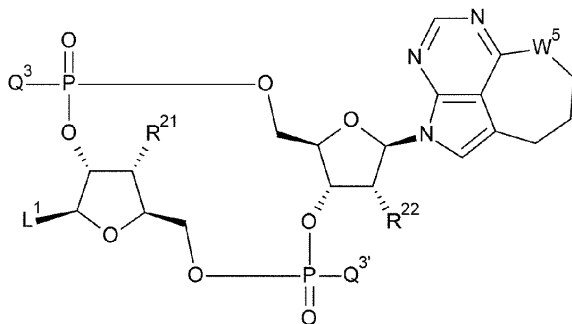
[0583]

[0584] (여기서, L^1 은, 앞에 정의한 바와 같다)

[0585] 중 어느 것으로 나타낸다.

[0586] 또, 본 발명의 신규 CDN 유도체 또는 본 발명의 항체 약물 콘주게이트에 사용되는 약물 D 는, 바람직하게는, 다음 식 :

[0587] [화학식 68]

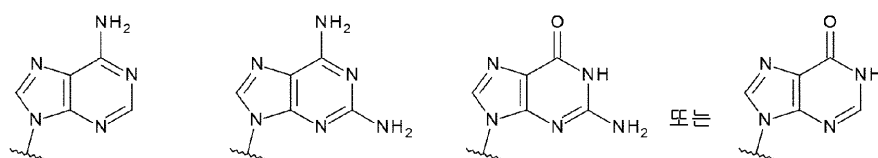


[0588]

[0589] (여기서, L^1 , Q^3 , $Q^{3'}$, R^{21} , R^{22} 및 W^5 는, 상기 <1. 신규 CDN 유도체> 에서 규정한 바와 같다) 으로 나타낸다.

[0590] 또, 본 발명의 신규 CDN 유도체 또는 본 발명의 항체 약물 콘주게이트에 사용되는 약물 D 에 있어서, L^1 은, 바람직하게는, 이하 :

[0591] [화학식 69]

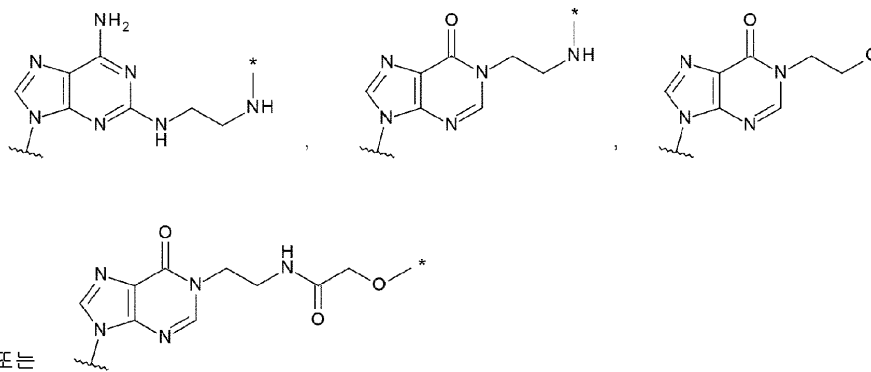


[0592]

[0593] 중 어느 것으로 나타낸다.

[0594] 또, 본 발명의 신규 CDN 유도체 또는 본 발명의 항체 약물 콘주게이트에 사용되는 약물 D 에 있어서, L^1 은, 바람직하게는, 이하의 4 식 :

[0595] [화학식 70]

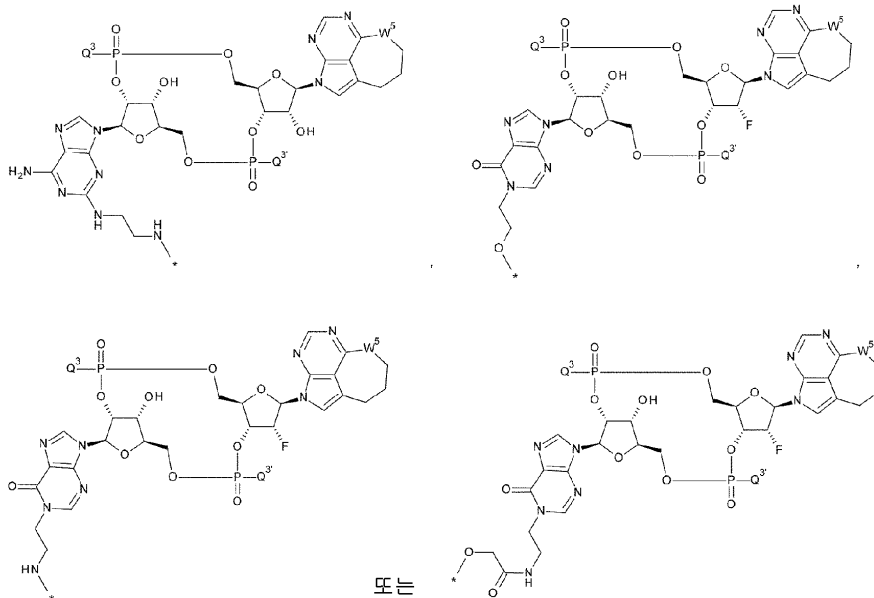


[0596]

[0597] (식 중, 아스테리스크는 L 과 결합하고 있는 것을 나타낸다) 중 어느 것으로 나타낸다.

[0598] 또, 본 발명의 신규 CDN 유도체 또는 본 발명의 항체 약물 콘주게이트에 사용되는 약물 D 는, 바람직하게는, 이하의 4 식 :

[0599] [화학식 71]



[0600]

[0601] (여기서, 아스테리스크는 L 과 결합하고 있는 것을 나타내고, Q³, Q^{3'} 및 W⁵ 는, 상기 <1. 신규 CDN 유도체>에서 규정한 바와 같다) 중 어느 것으로 나타낸다.

[0602] <2.1. 링커 구조>

[0603] 본 발명의 항체 약물 콘주게이트에 있어서 약물을 항체에 결합시키는 링커 구조에 대해서 설명한다. 본 발명의 항체 약물 콘주게이트에 사용되는 링커는, 항체와 약물을 연결시키는 링커로서 당업자가 이해하는 것이면 특별히 한정되지 않는다. 본 발명의 항체 약물 콘주게이트에 사용되는 링커로는, 예를 들어, Protein Cell, 2018, 9 (1) : 33-46, Pharm Res, 2015, 32 : 3526-3540, 또는, Int. J. Mol. Sci., 2016, 17, 561 에 기재되는 링커를 들 수 있지만, 이들에 한정되지 않는다. 링커는, 생체내에서 절단되는 링커여도 되고, 생체내에서 절단되지 않는 링커여도 되지만, 바람직하게는, 생체내에서 절단되는 링커이다.

[0604] 본 발명의 항체 약물 콘주게이트에 사용되는 링커로는, 예를 들어, 약물을 항체의 Fc 부분의 당사슬 또는 리모델링 된 당사슬에 결합시키는 (본 명세서 중, 「당사슬 콘주게이션」 이라고 하는 경우가 있다) 링커 (예를 들어, W02018/003983 에 기재된다), 또는, 약물을 항체의 임의의 아미노산 잔기 (예를 들어, 시스테인 잔기 또는 리신 잔기) 에 결합시키는 링커 (예를 들어, W02014/057687 에 기재된다) 를 들 수 있지만, 이들에 한정되지 않

는다. 약물을 항체의 임의의 아미노산 잔기에 결합시키는 링커로는, 바람직하게는, Ab 의 시스테인의 술프하이드릴기 (SH 기) 와 티오에테르 결합하는 경우 (본 명세서 중, 「시스테인 콘주게이션」 이라고 하는 경우가 있다) 또는 Ab 의 리신의 아미노기 (NH₂ 기) 와 아마이드 결합하는 경우 (본 명세서 중, 「리신 콘주게이션」 이라고 하는 경우가 있다) 를 들 수 있으며, 바람직하게는, 시스테인 콘주게이션이다.

[0605] 본 발명의 바람직한 링커 L 은, 다음의 식으로 나타낸다.

[0606] -Lb-La-Lp-Lc-*

[0607] (여기서, 아스테리스크는, 약물 D 의 L¹ 또는 L² 에 포함되는 임의의 아미노기 또는 하이드록시기와 결합하고 있는 것을 나타낸다.) 로 나타낸다.

[0608] 먼저, Lp 에 대해서 설명한다.

[0609] Lp 는, 생체내 또는 표적 세포에 있어서 절단 가능한 아미노산 서열로 이루어지는 링커 (이하, 본 명세서 중, 펩티드 링커라고도 한다) 를 나타내거나, 또는 존재하지 않는다.

[0610] Lp 는, 예를 들어, 펩티다아제나 에스테라아제 등의 효소의 작용에 의해, 절단된다. Lp 는, 2 내지 7 개 (바람직하게는, 2 내지 4 개) 의 아미노산으로 구성되는 펩티드이다. Lp 는, 그 N 말단에 있어서 후술하는 La 의 우단의 카르보닐기와 아마이드 결합을 형성하고, C 말단에 있어서 Lc 의 아미노기 (-NH-) 와 아마이드 결합을 형성한다. 상기 펩티다아제 등의 효소에 의해, Lp 의 C 말단측의 아마이드 결합이 절단된다.

[0611] Lp 를 구성하는 아미노산은 특별히 한정되지는 않지만, 예를 들어, L- 또는 D-아미노산이며, 바람직하게는 L-아미노산이다. 또, α-아미노산 외에, β-알라닌, ε-아미노카프로산, γ-아미노부티르산 등의 구조의 아미노산이어도 되고, 나아가서는, 예를 들어, N-메틸화 된 아미노산 등의 비천연형의 아미노산이어도 된다. Lp 의 아미노산 서열은, 특별히 한정되지는 않지만, 구성하는 아미노산으로서, 글리신 (Gly ; G), 발린 (Val ; V), 알라닌 (Ala ; A), 페닐알라닌 (Phe ; F), 글루타민산 (Glu ; E), 이소류신 (Ile ; I), 프롤린 (Pro ; P), 시트룰린 (Cit), 류신 (Leu ; L), 메티오닌 (Met ; M), 세린 (Ser ; S), 리신 (Lys ; K) 및 아스파르트산 (Asp ; D) 등을 들 수 있다. 이들 중에서 바람직하게는, 글리신 (Gly ; G), 발린 (Val ; V), 알라닌 (Ala ; A), 페닐알라닌 (Phe ; F), 시트룰린 (Cit) 이다. 이들 아미노산은 중복해도 되며, 임의로 선택된 아미노산을 포함하는 아미노산 서열을 갖는다. 또, 아미노산의 종류에 따라, 약물 유리의 패턴을 컨트롤할 수 있다.

[0612] Lp 의 구체예로는, 예를 들어, -GGVA-, -VA-, -GGFG-, -FG-, -GGPI-, -PI-, -GGVCit-, -VCit-, -GGVK-, -VK-, -GGFCit-, -FCit-, -GGFM-, -FM-, -GGLM-, -LM-, -GGICit-, -ICit- 를 들 수 있다. 링커 Lp 는, 바람직하게는, -GGVA-, -VA-, -GGFG-, -FG-, -GGVCit-, -VCit-, -GGFCit-, -FCit- 이다. 링커 Lp 는, 보다 바람직하게는, -GGVA-, -GGFG-, -GGVCit- 이다. 또, 링커 Lp 는, 바람직하게는, -GGFG- 또는 -GGPI- 이다.

[0613] 다음으로, La 에 대해서 설명한다.

[0614] La 는, 이하 :

[0615] -C(=O)-(CH₂CH₂)_n²-C(=O)-,

[0616] -C(=O)-(CH₂CH₂)_n²-CH₂-C(=O)-,

[0617] -C(=O)-(CH₂CH₂)_n²-C(=O)-NH-(CH₂CH₂)_n³-C(=O)-,

[0618] -C(=O)-(CH₂CH₂)_n²-C(=O)-NH-(CH₂CH₂)_n³-CH₂-C(=O)-,

[0619] -C(=O)-(CH₂CH₂)_n²-C(=O)-NH-(CH₂CH₂)_n³-CH₂-C(=O)-,

[0620] -(CH₂)_n⁴-O-C(=O)-, 및,

[0621] -(CH₂)_n⁹-C(=O)-

[0622] (여기서, 식 중, n² 는 1 ~ 3 의 정수 (바람직하게는, 1 또는 2) 를 나타내고, n³ 은 1 ~ 5 의 정수 (바람직

하계는, 2 ~ 5 의 정수, 보다 바람직하게는, 3 또는 4) 를 나타내고, n^4 는 0 ~ 2 의 정수 (바람직하게는, 0 또는 1) 를 나타내고, n^9 는 2 ~ 7 의 정수 (바람직하게는, 2 ~ 5 의 정수, 보다 바람직하게는, 2, 3 또는 5) 를 나타낸다) 로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 1 개를 나타낸다.

[0623] La 는, 바람직하게는, 이하 :

[0624] $-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-$,

[0625] $-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-NH-(CH_2CH_2O)_3-CH_2-C(=O)-$,

[0626] $-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-NH-(CH_2CH_2O)_4-CH_2-C(=O)-$,

[0627] $-C(=O)-(CH_2CH_2)_2-C(=O)-$,

[0628] $-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-NH-(CH_2CH_2)_2-C(=O)-$,

[0629] $-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-NH-(CH_2CH_2)_2-CH_2-C(=O)-$,

[0630] $-CH_2-OC(=O)-$,

[0631] $-OC(=O)-$,

[0632] $-(CH_2)_5-C(=O)-$, 및,

[0633] 로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 1 개를 나타낸다.

[0634] La 는, 보다 바람직하게는,

[0635] $-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-$,

[0636] $-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-NH-(CH_2CH_2O)_3-CH_2-C(=O)-$,

[0637] 또는

[0638] $-(CH_2)_5-C(=O)-$

[0639] 이다.

[0640] La 는, 보다 더 바람직하게는, $-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-$ 이다.

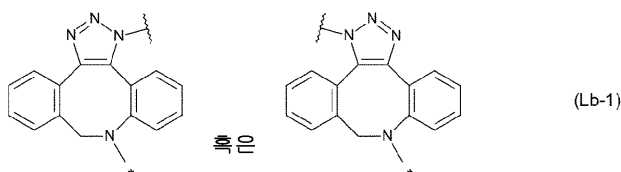
[0641] 다음으로, Lb 에 대해서 설명한다.

[0642] Lb 는, 당사슬 콘쥬게이션의 링커에 사용되는 스페이서 (본 명세서 중, 「당사슬 콘쥬게이션의 링커의 스페이서」 라고도 한다), 또는, 시스테인 콘쥬게이션에 사용되는 스페이서 (본 명세서 중, 「시스테인 콘쥬게이션의 링커의 스페이서」 라고도 한다) 를 나타낸다.

[0643] <Lb 가 「당사슬 콘쥬게이션의 링커의 스페이서」 인 경우>

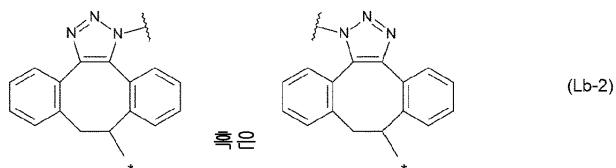
[0644] Lb 가 「당사슬 콘쥬게이션의 링커의 스페이서」 인 경우, Lb 는, 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어, 다음 식으로 나타내는 스페이서를 들 수 있다.

[0645] [화학식 72]



[0646]

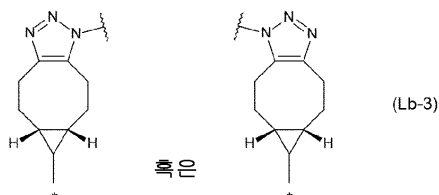
[0647] [화학식 73]



[0648]

[0649] 또는,

[0650] [화학식 74]



[0651]

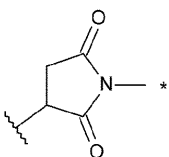
[0652] 상기에서 나타내는 각각의 구조식에 있어서, 아스테리스크 (*) 는 La 의 좌단의 $-(C=O)-$ 또는 $-CH_2-$ 와 결합하고 있는 것을 나타내고, 파선은 Ab 의 당사슬 또는 리모델링 된 당사슬과 결합하고 있는 것을 나타낸다.

[0653] Lb 에 Lb-1, Lb-2 또는 Lb-3 중 어느 것을 선택하는 경우, 트리아졸 고리 부위는, 기하 이성 구조를 갖고, 1 개의 Lb 중에, 2 종류의 구조 중 어느 일방을 포함하거나, 또는, 그들의 혼합물을 포함한다. 본 발명의 항체 약물 콘쥬게이트는, 항체 1 분자에 복수의 약물을 결합시킬 수 있다. 항체 1 분자에 복수의 약물을 결합시키는 경우, Lb 도 복수 존재하게 된다 (예를 들어, 후술하는 <3. 제조 방법> 의 E 법에 나타난 항체 약물 콘쥬게이트의 모식도 (1e) 를 참조할 것). Lb 가 Lb-1, Lb-2 또는 Lb-3 중 어느 것에서 선택되고, 그 Lb 가 항체 1 분자에 대하여 복수 존재하는 경우 (예를 들어, 후술하는 m^2 가 1 또는 2 인 경우), 각각의 Lb 에 있어서, 트리아졸 고리 부위는 기하 이성 구조를 갖고, 1 개의 Lb 중에, 2 종류의 구조 중 어느 일방을 포함하거나, 또는, 그들의 혼합물을 포함한다.

[0654] <Lb 가 「시스테인 콘쥬게이션의 링커의 스페이서」 인 경우>

[0655] Lb 가, 「시스테인 콘쥬게이션의 링커의 스페이서」 인 경우, Lb 는, 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어, $-(\text{숙신이미드-3-일-N})-$ 를 들 수 있다. 본 발명에 있어서, 「 $-(\text{숙신이미드-3-일-N})-$ 」 는, 다음 식 :

[0656] [화학식 75]



[0657]

[0658] 으로 나타내는 구조를 갖는다. 상기에서 나타내는 구조식에 있어서, 아스테리스크는 La 와 결합하고 있는 것을 나타내고, 파선은 항체의 시스테인 잔기의 측사슬과 티오에테르를 형성하여 결합하고 있다.

[0659] 다음으로, Lc 에 대해서 설명한다.

[0660] Lc 는, $-NH-CH_2-$, $-페닐기-CH_2-O(C=O)-$ 또는 $-NH-헤테로아릴기-CH_2-O(C=O)-$ 를 나타내거나, 혹은, 존재하지 않는다. 여기서, 페닐기로는, 바람직하게는, 1,4-페닐기이고, 헤테로아릴기로서 바람직하게는, 2,5-피리딜기, 3,6-피리딜기, 2,5-피리미딜기 또는 2,5-티에닐기이다. Lc 는, 바람직하게는, $-NH-CH_2-$ 이거나, 또는 존재하지 않는다.

[0661] 본 발명의 보다 바람직한 링커 L 은,

[0662] 약물과 항체의 결합 양식이 「당사슬 콘쥬게이션」 인 경우,

[0663] $-Z^{L1}-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-GGFG-$,

[0664] $-Z^{L1}-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-GGVA-$,

[0665] $-Z^{L1}-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-GGVCit-$,

[0666] $-Z^{L1}-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-GGFCit-$,

[0667] $-Z^{L1}-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-GGICit-$,

[0668] $-Z^{L1}-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-GGFM-$,

[0669] $-Z^{L1}-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-GGPI-$,

[0670] $-Z^{L1}-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-GGLM-$,

[0671] $-Z^{L1}-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-FG-$,

[0672] $-Z^{L1}-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-VA-$,

[0673] $-Z^{L1}-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-GGFG-NH-CH_2-$,

[0674] $-Z^{L1}-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-GGVA-NH-CH_2-$

[0675] $-Z^{L1}-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-GGVCit-NH-CH_2-$,

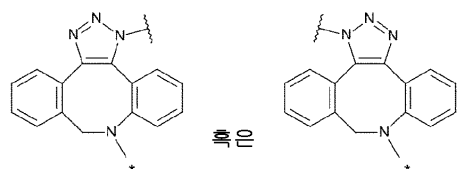
[0676] $-Z^{L1}-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-GGFCit-NH-CH_2-$,

[0677] $-Z^{L1}-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-NH-(CH_2CH_2O)_3-CH_2-C(=O)-$, 또는

[0678] $-Z^{L1}-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-NH-(CH_2CH_2O)_4-CH_2-C(=O)-$,

[0679] (여기서, Z^{L1} 은, 상기 Lb 의 이하로 나타내는 구조식 :

[0680] [화학적식 76]



[0681]

[0682] 을 나타낸다) 이고, 혹은,

[0683] 약물과 항체의 결합 양식이 「시스테인 콘쥬게이션」 인 경우,

[0684] $-Z^{L2}-(CH_2)_5-C(=O)-GGFG-$,

[0685] $-Z^{L2}-(CH_2)_5-C(=O)-GGVA-$,

[0686] $-Z^{L2}-(CH_2)_5-C(=O)-GGVCit-$,

[0687] $-Z^{L2}-(CH_2)_5-C(=O)-GGFCit-$,

[0688] $-Z^{L2}-(CH_2)_5-C(=O)-GGICit-$,

[0689] $-Z^{L2}-(CH_2)_5-C(=O)-GGFM-$,

[0690] $-Z^{L2}-(CH_2)_5-C(=O)-GGPI-$,

[0691] $-Z^{L2}-(CH_2)_5-C(=O)-GGLM-$,

[0692] $-Z^{L2}-(CH_2)_5-C(=O)-FG-$,

[0693] $-Z^{L2}-(CH_2)_5-C(=O)-VA-$,

[0694] $-Z^{L2}-(CH_2)_5-C(=O)-GGFG-NH-CH_2-$,

[0695] $-Z^{L2}-(CH_2)_5-C(=O)-GGVA-NH-CH_2-$,

[0696] $-Z^{L2}-(CH_2)_5-C(=O)-GGVCit-NH-CH_2-$,

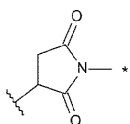
[0697] $-Z^{L2}-(CH_2)_5-C(=O)-GGFCit-NH-CH_2-$,

[0698] $-Z^{L2}-(CH_2)_5-C(=O)-NH-(CH_2CH_2O)_3-CH_2-C(=O)-$, 또는

[0699] $-Z^{L2}-(CH_2)_5-C(=O)-NH-(CH_2CH_2O)_4-CH_2-C(=O)-$,

[0700] (여기서, Z^{L2} 는, 상기 Lb 의 이하로 나타내는 구조식 :

[0701] [화학식 77]



[0702]

[0703] 으로 나타내는 -(숙신이미드-3-일-N)- 를 나타낸다.)

[0704] 이다.

[0705] 본 발명의 보다 바람직한 링커 L 은, 약물과 항체의 결합 양식이 「당사슬 콘쥬게이션」 이며,

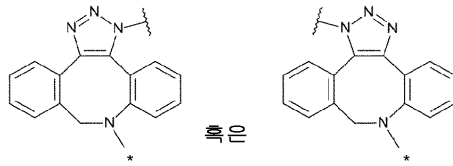
[0706] $-Z^{L1}-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-GGFG-NH-CH_2-$,

[0707] 또는

[0708] $-Z^{L1}-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-GGPI-NH-CH_2-$,

[0709] (여기서, Z^{L1} 은, 상기 Lb 의 이하로 나타내는 구조식 :

[0710] [화학식 78]



[0711]

[0712] 을 나타낸다) 이다.

[0713] 상기의 「바람직한 링커 L」 및 「보다 바람직한 링커 L」 에 있어서의 우단은, 식 (I) 의 L^1 또는 L^2 에 포함되는 임의의 $-NH_2$ 또는 하이드록시기와 결합하고 있다.

[0714] <2.2. 항체 및 그 당사슬 수식>

[0715] <2.2.1 항체>

[0716] 본 명세서에 있어서, 「유전자」란, 단백질의 아미노산을 코드하는 뉴클레오티드 서열이 포함되는 뉴클레오티드 혹은 뉴클레오티드 서열, 또는 그 상보 사슬을 의미하며, 예를 들어, 단백질의 아미노산을 코드하는 뉴클레오티드 서열이 포함되는 뉴클레오티드 서열 또는 그 상보 사슬인 폴리 뉴클레오티드, 올리고 뉴클레오티드, DNA, mRNA, cDNA, RNA 등은 「유전자」의 의미에 포함된다.

[0717] 본 명세서에 있어서, 「뉴클레오티드」, 「폴리 뉴클레오티드」 또는 「뉴클레오티드 서열」과 「핵산」은 동일한 의미이며, 예를 들어, DNA, RNA, 프로브, 올리고 뉴클레오티드, 폴리 뉴클레오티드, 프라이머 등도 「뉴클레오티드」 또는 「뉴클레오티드 서열」의 의미에 포함된다.

[0718] 본 명세서에 있어서는, 「폴리펩티드」, 「펩티드」, 「단백질」은 구별하지 않고 사용하고 있다.

[0719] 본 명세서에 있어서, 「항체의 기능성 단편」이란, 「항체의 항원 결합 단편」이라고도 불리고, 항원과의 결합 활성을 갖는 항체의 부분 단편을 의미하고 있으며, Fab, F(ab')₂, Fv, scFv, diabody, 선상 항체 및 항체 단편으로부터 형성된 다특이성 항체 등을 포함한다. 또, F(ab')₂를 환원 조건하에서 처리한 항체의 가변 영역의 1 개의 단편인 Fab'도 항체의 항원 결합 단편에 포함된다. 단, 항원과의 결합능을 갖고 있는 한 이들 분자에 한정되지 않는다. 또, 이들 항원 결합 단편에는, 항체 단백질의 전체 길이 분자를 적당한 효소로 처리한 것 뿐만 아니라, 유전자 공학에 의해 개변된 항체 유전자를 사용하여 적당한 숙주 세포에 있어서 산생된 단백질도 포함된다.

[0720] 본 발명의 기능성 단편은, IgG 중사슬의 Fc 영역에 있어서 잘 보존된 N 결합형 당사슬에 의한 수식을 받는 아스파라긴 (Asn297) 및 그 주변의 아미노산을 유지하고, 또한 항원과의 결합능을 갖고 있는 기능성 단편을 포함한다.

[0721] 본 발명의 항체 약물 콘쥬게이트에 사용되는 항체는, 면역 글로블린을 의미하며, 항원과 면역 특이적으로 결합하는 항원 결합 부위를 함유하는 분자이다. 본 발명의 항체로서, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 및 IgY 중 어느 클래스여도 되지만, IgG가 바람직하다. 또, 서브 클래스로서, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2 중 어느 것이어도 되지만, IgG1, IgG2 또는 IgG4가 바람직하다 (IgG 중사슬의 Fc 영역에 ADCC 및 ADCP 활성화에 영향을 미치는 변이를 갖는 항체를 포함한다).

[0722] 본 발명의 항체의 아이소타입으로서 IgG1을 사용하는 경우에는, 정상 영역의 아미노산 잔기의 일부를 치환함으로써, 이펙터 기능을 조정하는 것이 가능하다 (WO88/07089, WO94/28027, WO94/29351 참조). IgG1의 변이체로는, 예를 들어, IgG1 LALA 변이 (IgG1-L234A, L235A)를 들 수 있다. 상기 L234A, L235A는 EU index (Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, Vol. 63, No.1 (May 15, 1969), pp. 78-85)에 의해 특정되는 234 위치 및 235 위치의 류신의 알라닌으로의 치환을 나타낸다.

[0723] 항체는, 어느 종에서 유래해도 되지만, 바람직하게는, 인간, 래트, 마우스 및 토끼를 예시할 수 있다. 인간 이외의 종에서 유래하는 경우에는, 주지의 기술을 이용하여, 키메라화 또는 인간화하는 것이 바람직하다. 본 발명의 항체는, 폴리클로날 항체여도 되고, 모노클로날 항체여도 되지만, 모노클로날 항체가 바람직하다. 모노클로날 항체에는, 래트 항체, 마우스 항체, 토끼 항체 등의 비인간 동물 유래의 모노클로날 항체, 키메라 항체, 인간화 항체, 인간 항체, 그들의 기능성 단편, 또는 그들의 수식체가 포함된다.

- [0724] 항체는, 바람직하게는, 종양 세포 또는 면역 세포를 표적으로 하는 항체이지만, 이들에 한정되지 않는다. 항체는, 보다 바람직하게는, 종양 세포를 표적으로 하는 항체이다.
- [0725] 종양 세포를 표적으로 하는 항체가 사용되는 경우, 항체로는, 종양 세포를 인식할 수 있는 특성, 종양 세포에 결합할 수 있는 특성, 종양 세포내에 도입되어 내재화하는 특성, 나아가서는 종양 세포를 상해하는 특성 중 1 또는 그 이상의 특성을 구비하고 있는 것이 바람직하다. 본 발명의 항체에 링커를 개재하여 결합되는 약물은, STING 아고니스트 활성을 갖는다. 본 발명의 약물은 인터페론 제어 인자 3 (interferon regulatory factor-3 (IRF3)) 의 시그널을 활성화하여 인터페론을 유도한다. 따라서, 본 발명의 항체 약물 콘쥬게이트에 종양 세포를 표적으로 하는 항체가 사용되는 경우, 항체 약물 콘쥬게이트는 체내에 투여된 후, 종양 부위에 송달되어, 종양 세포내에 도입된 후 펩티다아제 등에 의해 링커 부분이 절단되어 약물 부분이 유리된다. 유리된 약물 부분은 STING 아고니스트 활성을 통해서 항종양 면역을 부활화하여, 항종양 효과를 발휘시키는 것으로 생각된다.
- [0726] 항체의 종양 세포에 대한 결합성은, 플로 사이토메트리를 사용하여 확인할 수 있다. 종양 세포내로의 항체의 도입은, (1) 치료 항체에 결합하는 2 차 항체 (형광 표지) 를 사용하여 세포내에 도입된 항체를 형광 현미경으로 가시화하는 어세이 (Cell Death and Differentiation (2008) 15, 751-761), (2) 치료 항체에 결합하는 2 차 항체 (형광 표지) 를 사용하여 세포내에 도입된 형광량을 측정하는 어세이 (Molecular Biology of the Cell Vol. 15, 5268-5282, December 2004) 또는 (3) 치료 항체에 결합하는 이뮤노톡신을 사용하여, 세포내에 도입되면 독소가 방출되어 세포 증식이 억제된다는 Mab-ZAP 어세이 (Bio Techniques 28 : 162-165, January 2000) 를 사용하여 확인할 수 있다. 이뮤노톡신으로는, 디프테리아 독소의 촉매 영역과 프로테인 G 의 리콤비넌트 복합 단백질도 사용 가능하다.
- [0727] 본 발명에 있어서, 「높은 내재화능」 이란, 당해 항체와 사포린 표지 항마우스 또는 래트 IgG 항체를 첨가한 표적 항원 발현 세포 (예를 들어, 항HER2 항체를 사용하는 경우에는, HER2 발현 세포) 의 생존율 (항체 미첨가 시의 세포 생존율을 100 % 로 한 상대율로 나타낸 것) 이, 바람직하게는 70 % 이하, 보다 바람직하게는 60 % 이하인 것을 의미한다.
- [0728] 본 발명의 항체 약물 콘쥬게이트에 종양 세포를 표적으로 한 항체를 사용하는 경우, 항체 자체가 항종양 효과를 갖는 것은, 바람직하지만, 필수는 아니다. 본 발명의 항체 약물 콘쥬게이트에 사용되는 항체는, 종양 세포내로 이행하는 내재화의 성질을 갖는 것이 바람직하다.
- [0729] 약물 그리고 항체 약물 콘쥬게이트의 항종양 활성은, 종양 세포에 대한 세포 상해 활성, 항세포 효과, 종양 체적의 축퇴를 말한다. 공지된 in vitro 또는 in vivo 의 평가계를 사용하여, 항종양 활성을 확인할 수 있다.
- [0730] 약물 그리고 항체 약물 콘쥬게이트의 면역 부활화 활성은, 면역 세포에 대한 종양 세포의 감수성 항진 또는 종양 세포를 개재한 면역 세포의 부활화를 말한다. 공지된 in vitro 또는 in vivo 의 평가계를 사용하여, 면역 부활화 활성을 확인할 수 있다.
- [0731] 본 발명에 사용되는 항체로는, 예를 들어, 항HER2 항체, 항HER3 항체, 항DLL3 항체, 항FAP 항체, 항CDH11 항체, 항CDH6 항체, 항A33 항체, 항CanAg 항체, 항CD19 항체, 항CD20 항체, 항CD22 항체, 항CD30 항체, 항CD33 항체, 항CD56 항체, 항CD70 항체, 항CD98 항체, 항TROP2 항체, 항CEA 항체, 항Cripto 항체, 항EphA2 항체, 항G250 항체, 항MUC1 항체, 항GPNMB 항체, 항Integrin 항체, 항PSMA 항체, 항Tenascin-C 항체, 항SLC44A4 항체, 항Mesothelin 항체, 항ENPP3 항체, 항CD47 항체, 항EGFR 항체, 항GPR20 항체 또는 항DR5 항체를 들 수 있지만, 이들에 한정되지 않는다. 본 발명의 항체로서, 바람직하게는, 항HER2 항체 (예를 들어, 트라스투주맙 또는 페르투주맙), 항CDH6 항체, 항CD33 항체 또는 항EphA2 항체이며, 보다 바람직하게는, 항HER2 항체이다.
- [0732] 본 발명의 항체는, 이 분야에서 통상적으로 실시되는 방법을 사용하여, 항원이 되는 폴리펩티드를 동물에게 면역하고, 생체내에 생성되는 항체를 채취, 정제함으로써 얻을 수 있다. 항원의 유래는 인간에 한정되지 않고, 마우스, 래트 등의 인간 이외의 동물에서 유래하는 항원을 동물에게 면역할 수도 있다. 이 경우에는, 취득된 이종 항원에 결합하는 항체와 인간 항원의 교차성을 시험함으로써, 인간의 질환에 적용 가능한 항체를 선별할 수 있다.
- [0733] 또, 공지된 방법 (예를 들어, Kohler and Milstein, Nature (1975) 256, p. 495-497, Kennett, R. ed., Monoclonal Antibodies, p. 365-367, Plenum Press, N. Y. (1980)) 에 따라서, 항원에 대한 항체를 생성하는 항체 생성 세포와 골수종 세포를 융합시킴으로써 하이브리도마를 수립하고, 모노클로날 항체를 얻을 수도 있다.

- [0734] 또한, 항원은 항원 단백질을 코드하는 유전자를 유전자 조작에 의해 숙주 세포에 산생시킴으로써 얻을 수 있다.
- [0735] 본 발명의 인간화 항체는 공지된 방법 (예를 들어, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 81, 6851-6855, (1984), Nature (1986) 321, p. 522-525, W090/07861) 에 따라서 취득할 수 있다.
- [0736] 예를 들어, 항HER2 항체 (US5821337, W02004/008099 등), 항CD33 항체 (W02014/057687 등), 항CD70 항체 (W02004/073656 등), 항EphA2 항체 (W02009/028639 등), 항CDH6 항체 (W02018/212136 등) 는, 공지된 수단에 의해 취득할 수 있다.
- [0737] 본 발명의 항HER2 항체는, 특별히 제한은 없지만, 예를 들어, 이하의 특성을 갖는 것이 바람직하다.
- [0738] (1) 이하의 특성을 갖는 것을 특징으로 하는 항HER2 항체 ;
- [0739] (a) HER2 에 특이적으로 결합한다.
- [0740] (b) HER2 와 결합함으로써 HER2 발현 세포에 내재화하는 활성을 갖는다.
- [0741] (2) HER2 의 세포외 도메인에 결합하는 상기 (1) 에 기재된 항체.
- [0742] (3) 상기 항체가 모노클로날 항체인 상기 (1) 또는 (2) 에 기재된 항체.
- [0743] (4) 항체 의존성 세포 상해 (ADCC) 활성 및/또는 보체 의존성 세포 상해 (CDC) 활성을 갖는 상기 (1) ~ (3) 중 어느 하나에 기재된 항체.
- [0744] (5) 마우스 모노클로날 항체, 키메라 모노클로날 항체 또는 인간화 모노클로날 항체인, 상기 (1) ~ (4) 중 어느 하나에 기재된 항체.
- [0745] (6) 중사슬 정상 영역이 인간 IgG1 의 중사슬 정상 영역이며, ADCC 및 ADCP 활성의 저감을 가져오는 변이를 포함하는, 상기 (1) ~ (3) 에 기재된 항체.
- [0746] (7) 서열 번호 2 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 및 서열 번호 1 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하여 이루어지는 인간화 모노클로날 항체인 상기 (1) ~ (4) 중 어느 하나에 기재된 항체.
- [0747] (8) 중사슬 정상 영역이 인간 IgG1 의 중사슬 정상 영역이며, EU 인덱스에 의해 나타내는 234 위치 및 235 위치의 류신이 알라닌으로 치환되어 있는, 상기 (5) 에 기재된 항체.
- [0748] (9) 서열 번호 3 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 및 서열 번호 1 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하여 이루어지는 인간화 모노클로날 항체인 상기 (8) 에 기재된 항체.
- [0749] (10) 서열 번호 29 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 및 서열 번호 28 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하여 이루어지는 인간화 모노클로날 항체인 상기 (1) ~ (4) 에 기재된 항체.
- [0750] (11) 서열 번호 30 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬 및 서열 번호 28 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬을 포함하여 이루어지는 인간화 모노클로날 항체인 상기 (1) ~ (4) 에 기재된 항체.
- [0751] (12) 중사슬 카르복실 말단에 있어서 1 또는 2 개의 아미노산이 결실되어 있는 상기 (1) ~ (11) 중 어느 하나에 기재된 항체.
- [0752] (13) 상기 (1) ~ (12) 중 어느 하나에 기재된 항체를 코드하는 폴리 뉴클레오티드를 함유하는 발현 벡터에 의해 형질 전환된 숙주 세포를 배양하는 공정 및 당해 공정에서 얻어진 배양물로부터 목적으로 하는 항체를 채취하는 공정을 포함하는 당해 항체의 제조 방법에 의해 얻어지는 항체.
- [0753] <2.2.2 항체의 당사슬 리모델링>
- [0754] 최근, 불균일한 항체의 당사슬을, 효소 반응에 의해 리모델링 하고, 관능기를 갖는 당사슬을 균일하게 도입하는 방법이 보고되어 있다 (ACS Chem. Biol. 2012, 7, 110-122, ACS Med. Chem. Lett. 2016, 7, 1005-1008). 이 당사슬 리모델링 기술을 이용하여, 부위 특이적으로 약물을 도입하고, 균일한 ADC 를 합성하는 시도도 이루어지고 있다 (Bioconjugate Chem. 2015, 26, 2233-2242, Angew. Chem. Int. Ed. 2016, 55, 2361-2367, US2016361436).
- [0755] 당사슬의 리모델링은 먼저 가수분해 효소를 이용하여, 단백질 (항체 등) 에 부가되어 있는 불균일한 당사슬을 말단의 GlcNAc 만 남기고 절제하고, GlcNAc 가 부가한 균일한 단백질 부분을 조제한다 (이하, 「엑셉터」 라고

한다). 다음으로, 별도 조제한 임의의 당사슬을 준비하고 (이하, 「도너」 라고 한다), 이 엑셉터와 도너를, 당전이 효소를 사용하여 연결한다. 이에 따라, 임의의 당사슬 구조를 가진 균일한 당단백질을 합성할 수 있다.

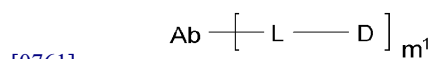
[0756] 본 발명에 있어서, 「당사슬」 이란, 2 개 이상의 단당이 글리코시드 결합에 의해 결합된 구조 단위를 의미한다. 구체적인 단당이나 당사슬을, 예를 들어 "GlcNAc-", "SG-" 와 같이, 약호로서 표기하는 경우가 있다. 구조식 중에서 이들 약호로 기재한 경우, 환원 말단에서 별도의 구조 단위와의 글리코시드 결합에 귀속하는 산소 원자 또는 질소 원자는, 특별한 정의가 있는 경우를 제외하고, 당해 당사슬을 나타내는 약호에는 포함되지 않는 것으로서 표시된다.

[0757] 본 발명에 있어서, 당사슬의 기본 단위가 되는 단당의 기재는, 별도로 정하는 경우를 제외하고, 편의상, 그 고리 구조에 있어서, 고리를 구성하는 산소 원자에 결합하고, 또한, 하이드록시기 (또는 글리코시드 결합에 귀속하는 산소 원자) 와 직접 결합한 탄소 원자를 1 위치 (시알산에 있어서만 2 위치) 로서 표기한다. 실시예 화합물의 명칭은, 화학 구조 전체적으로 붙여진 것이며, 이 룰은 반드시 적용되는 것은 아니다.

[0758] 본 발명에 있어서, 당사슬을 기호 (예를 들어, SG, MSG, GlcNAc 등) 로서 기재하는 경우, 별도로 정의되는 경우를 제외하고, 환원 말단의 탄소까지를, 당해 기호에 포함시키는 것으로 하고, N- 또는 O-글리코시드 결합에 귀속하는 N 또는 O 는, 당해 기호에는 포함되지 않는 것으로 한다.

[0759] 본 발명의 항체 약물 콘주게이트는, 다음 식

[0760] [화학식 79]



[0762] 으로 나타내고, 항체 Ab 또는 그 기능성 단편은, 그 아미노산 잔기 (예를 들어, 시스테인, 리신 등) 의 측사슬로부터 직접 L 에 결합하거나, Ab 의 당사슬 또는 리모델링 된 당사슬로부터 L 에 결합하고 있다.

[0763] 본 발명에 있어서의 Ab 의 당사슬은, N 결합형 당사슬이나 O 결합형 당사슬이고, 바람직하게는, N 결합형 당사슬이다.

[0764] N 결합형 당사슬은 N 글리코시드 결합, O 결합형 당사슬은 O 글리코시드 결합에 의해, 항체의 아미노산 측사슬과 결합하고 있다.

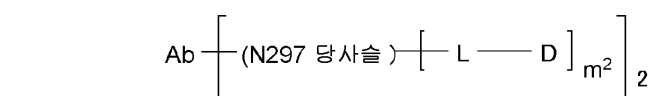
[0765] 본 발명의 Ab 는, IgG 이며, 바람직하게는, IgG1, IgG2 또는 IgG4 이다.

[0766] IgG 는 그 중사슬의 Fc 영역에 있어서의 297 번째의 아스파라긴 잔기 (이하, 「Asn297 또는 N297」 이라고 한다.) 에 잘 보존된 N 결합형 당사슬을 갖고 있고, 항체 분자의 활성이나 동태 등에 기여하는 것이 알려져 있다 (Eon-Duval, A. et al, Biotechnol. Prog. 2012, 28, 608-622, Sanglier-Cianferani, S., Anal. Chem. 2013, 85, 715-736).

[0767] IgG 의 정상 영역에 있어서의 아미노산 서열은 잘 보존되어 있고, Edelman 등의 보고 (Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 63, 78-85, (1969)) 에 있어서, 각각의 아미노산이 EU 번호 (EU INDEX) 로 특정되어 있다. 예를 들어, Fc 영역에 있어서 N 결합형 당사슬이 부가하는 Asn297 은, EU 번호에 있어서 297 위치에 상당하는 것이며, 분자의 단편화나 영역 결손에 의해 실제의 아미노산 위치가 변동한 경우이더라도 EU 번호로 표시함으로써 아미노산이 일의적으로 특정된다.

[0768] 아래 그림은 본 발명의 항체 약물 콘주게이트가 항체 또는 그 기능성 단편의 상기 N297 당사슬로부터 L 에 결합하고 있는 경우를 나타낸다.

[0769] [화학식 80]



[0771] 또한, 당해 리모델링 된 당사슬을 갖는 항체를 당사슬 리모델링 항체라고 한다.

[0772] SGP(α2,6-SGP) 는, Sialylglycopeptide 의 약칭이며, N 결합형 당펩티드의 대표적인 것이다. SGP 는, 예

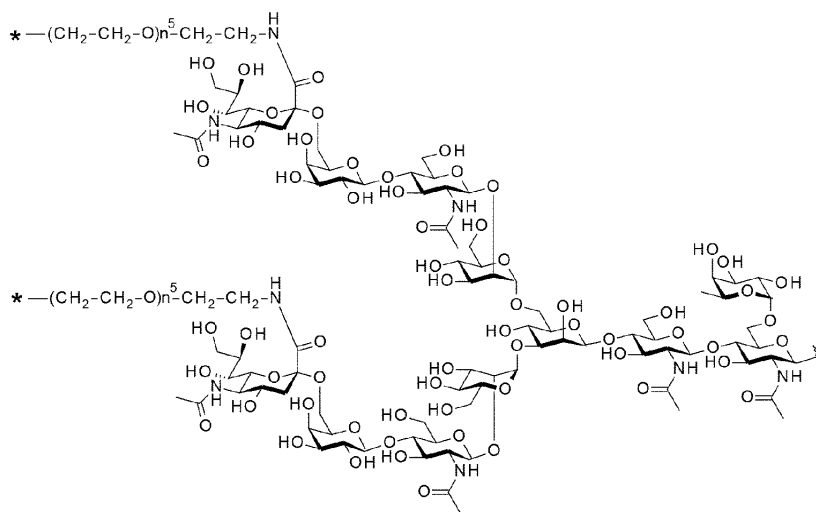
를 들어, W02011/027868 에 기재된 방법에 따라서, 계란의 난황으로부터 단리, 정제할 수 있다. 또, SGP 의 정제품이 도쿄 화성 공업 및 후시미 제약소에서 판매되고 있다. 본 명세서에 있어서, SGP 의 당사슬 부분을 SG 라고 표기하고, SG 의 환원 말단의 GlcNAc 가 1 개 결손된 당사슬을 SG(10) 으로 표기한다. SG(10) 은, 예를 들어, 우메가와 등의 보고 (Biochim. Biophys. Acta 2010, 1800, 1203-1209) 를 참조하여, SGP 의 효소적 인 가수분해에 의해 조제할 수 있다. 또, SG(10) 도 도쿄 화성 공업 및 후시미 제약소에서 구입할 수 있다.

[0773] 본 명세서에 있어서, SG(10)의 β -Man의 분기 사슬의 어느 일방에서만 비환원 말단의 시알산이 결실된 당사슬 구조를 MSG(9)로 표기하고, 분기 사슬의 1-3 당사슬에만 시알산을 갖는 것을 MSG1, 분기 사슬의 1-6 당사슬에만 시알산을 갖는 것을 MSG2라고 각각 표기한다.

[0774] 본 발명의 리모델링 된 당사슬은, N297-(Fuc)SG, N297-(Fuc)MSG1, N297-(Fuc)MSG2, 또는 N297-(Fuc)MSG1 과 N297-(Fuc)MSG2 의 혼합물이고, 바람직하게는, N297-(Fuc)SG, N297-(Fuc)MSG1 또는, N297-(Fuc)MSG2 이며, 보다 바람직하게는 N297-(Fuc)SG 또는 N297-(Fuc)MSG1 이다.

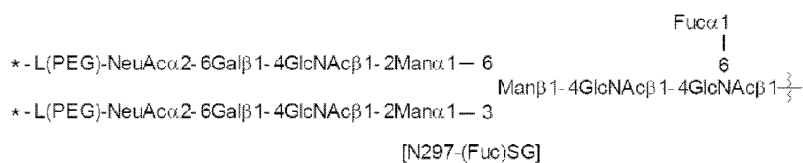
[0775] N297-(Fuc)SG 는 이하의 구조식 또는 서열식으로 나타낸다.

[0776] [화학식 81]



[0777]

[0778] [화학식 82]



[0779]

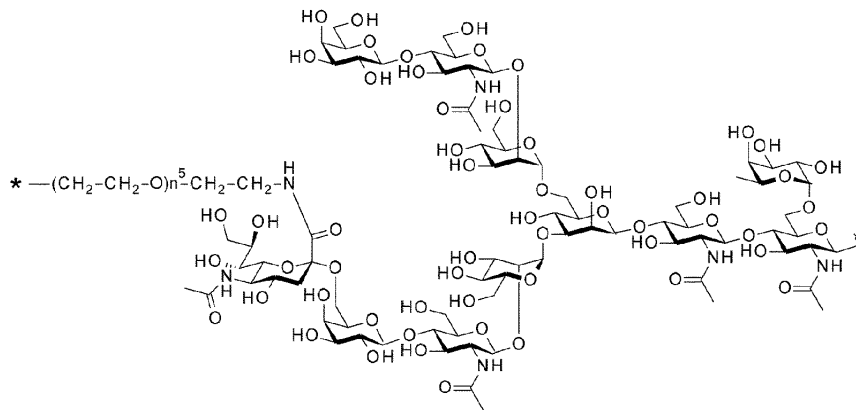
[0780] 상기 식 중, 파선은 항체의 Asn297 에 결합하고 있는 것을 나타내고,

[0781] L(PEG) 는, $-(CH_2-CH_2-O)_n^5-CH_2-CH_2-NH-$ 를 나타내고, 우단의 아미노기가 N297 당사슬의 β -Man 의 분기 사슬의 1-3 사슬측 및 1-6 사슬측의 양방의 비환원 말단의 시알산의 2 위치의 카르복실기와 아미드 결합하고 있는 것을 나타내고, 아스테리스크는, 상기 링커 L, 특히 링커 L 에 있어서의 Lb 의 1,2,3-트리아졸 고리 상의 1 위치 또는 3 위치의 질소 원자와 결합하고 있는 것을 나타내고,

[0782] 여기서, n^5 는 2 ~ 10 의 정수이며, 바람직하게는, 2 ~ 5 의 정수이다.

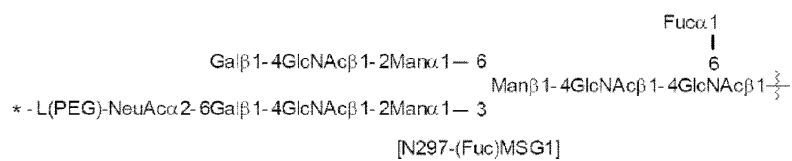
[0783] N297-(Fuc)MSG1 은 이하의 구조식 또는 서열식으로 나타낸다.

[0784] [화학식 83]



[0785]

[0786] [화학식 84]



[0787]

[0788] 상기 식 중, 파선은 항체의 Asn297 에 결합하고 있는 것을 나타내고,

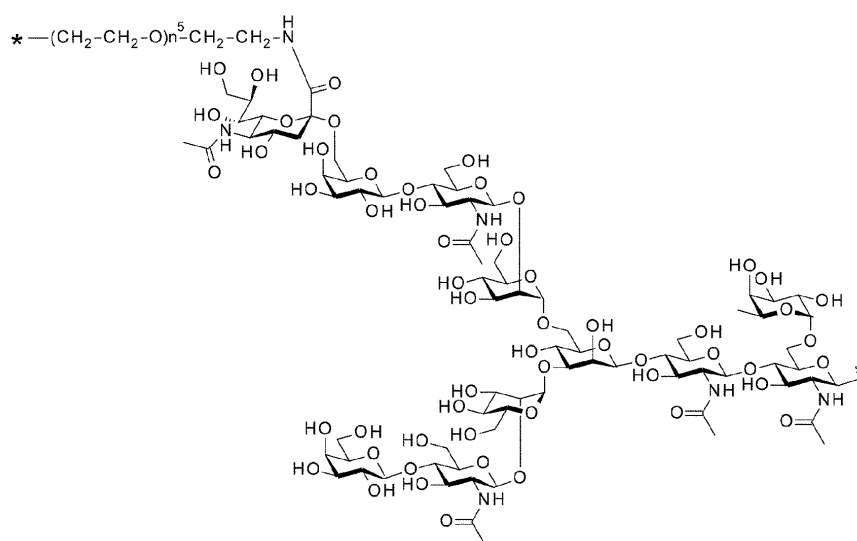
[0789] L(PEG) 는, $-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})^n-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-$ 를 나타내고, 우단의 아미노기가 N297 당사슬의 β -Man 의 분기 사슬의 1-3 사슬측의 비환원 말단의 시알산의 2 위치의 카르복실기와 아미드 결합하고 있는 것을 나타내고,

[0790] 아스테리스크는, 상기 링커 L, 특히 링커 L 에 있어서의 Lb 의 1,2,3-트리아졸 고리 상의 1 위치 또는 3 위치의 질소 원자와 결합하고 있는 것을 나타내고,

[0791] 여기서, n 는 2 ~ 10 의 정수이며, 바람직하게는, 2 ~ 5 의 정수이다.

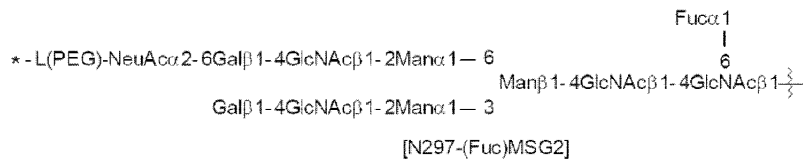
[0792] N297-(Fuc)MSG2 는 이하의 구조식 또는 서열식으로 나타낸다.

[0793] [화학식 85]



[0794]

[0795] [화학식 86]



[0796]

[0797] 상기 식 중, 파선은 항체의 Asn297 에 결합하고 있는 것을 나타내고,

[0798] L(PEG) 는, $-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_n-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-$ 를 나타내고, 우단의 아미노기가 N297 당사슬의 β -Man 의 분기 사슬의 1-6 사슬측의 비환원 말단의 시알산의 2 위치의 카르복실기와 아미드 결합하고 있는 것을 나타내고, 아스테리스크는, 상기 링커 L, 특히 링커 L 에 있어서의 Lb 의 1,2,3-트리아졸 고리 상의 1 위치 또는 3 위치의 질소 원자와 결합하고 있는 것을 나타내고,

[0799] 여기서, n^5 는 2 ~ 10 의 정수이며, 바람직하게는, 2 ~ 5 의 정수이다.

[0800] 본 발명의 항체 약물 콘주게이트에 있어서의 항체의 N297 당사슬이, N297-(Fuc)SG 인 경우, 항체는 2량체이기 때문에, 항체 약물 콘주게이트는 4 개의 링커 L 및 4 개의 약물 D 가 결합된 분자 (상기 $m^2 = 2$) 가 된다.

[0801] 본 발명의 항체 약물 콘주게이트에 있어서의 항체의 N297 당사슬이, N297-(Fuc)MSG1 혹은 N297-(Fuc)MSG2 또는 그들의 혼합물인 경우, 항체는 2량체이기 때문에, 항체 약물 콘주게이트는 2 개의 링커 L 및 2 개의 약물 D 가 결합된 분자 (상기 $m^2 = 1$) 가 된다 (도 1 참조).

[0802] N297 당사슬은, 바람직하게는, N297-(Fuc)SG 혹은 N297-(Fuc)MSG1 또는 N297-(Fuc)MSG2 이며, 보다 바람직하게는, N297-(Fuc)SG 이다.

[0803] 본 발명의 항체 약물 콘주게이트에 있어서의 항체의 N297 당사슬이 N297-(Fuc)SG 혹은 N297-(Fuc)MSG1 또는 N297-(Fuc)MSG2 인 경우, 균일성이 높은 ADC 를 취득할 수 있다.

[0804] <3. 제조 방법>

[0805] 본 발명의 신규 CDN 유도체 및 그 항체 약물 콘주게이트 또는 그들의 제조 중간체의 대표적인 제조 방법을 설명한다. 또한, 이하에 있어서, 화합물을 나타내기 위해서, 각 반응식 중에 나타내는 화합물의 번호를 사용한다. 즉, 「식 (1) 의 화합물」, 「화합물 (1)」 등으로 칭한다. 또, 이외의 번호의 화합물에 대해서도 동일하게 기재한다.

[0806] 하기의 A 법 ~ E 법에 있어서, 치환기 $R^1 \sim R^5$, L^1 , L^2 , W^1 , W^2 , $Z^1 \sim Z^3$ 은, 상기와 동일한 의미이다. 치환기 R^a , R^c , R^e 및 R^g 는, 천연형 α -아미노산의 측사슬을 나타낸다. 예를 들어, 메틸기, 이소프로필기, sec-부틸기, 이소부틸기, 벤질기 등이다. PRO^1 은, 제 1 급 알코올의 보호기를 나타낸다. 적합하게는, 4,4'-디메톡시트리틸기, 4-메톡시트리틸기 등이다. PRO^2 , PRO^3 , PRO^7 , PRO^8 은, 제 2 급 알코올의 보호기를 나타낸다. 적합하게는 tert-부틸디메틸실릴기, 트리이소프로필실릴옥시메틸기, 벤조일기, 2-니트로벤질기, 4-메톡시테트라하이드로피란-4-일기 등이다. PRO^6 은 카르복실산의 보호기를 나타낸다. 적합하게는, tert-부틸기, 벤질기 등이다. PRO^5 , PRO^9 는, 아민의 보호기를 나타낸다. PRO^5 는, 적합하게는, tert-부틸옥시카르보닐기, 9-플루오렌메틸옥시카르보닐기, 알릴옥시카르보닐기, 2,2,2-트리클로로에톡시카르보닐기, 벤질옥시카르보닐기 등이며, PRO^9 는, 적합하게는, 9-플루오렌메틸옥시카르보닐기 또는 2-(트리메틸실릴)에톡시카르보닐기이다. PRO^4 는, 알코올 또는 아민의 보호기를 나타낸다. 알코올의 경우, 적합하게는 tert-부틸디메틸실릴기, 벤조일기 등이며, 아민의 경우, 적합하게는 2-(트리메틸실릴)에톡시카르보닐기, 알릴옥시카르보닐기, tert-부틸옥시카르보닐기 등이다. Q^a 는 산소 원자 또는 황 원자를 나타내고, Q^b 는 하이드록시기 또는 티올기를 나타낸다. $Q^{a'}$ 및 $Q^{b'}$ 는, 각각 독립적으로, 부 (負) 로 하전한 산소 원자 (O^-) 또는 황 원자 (S^-) 를 나타낸다. R^x 및 R^y 는, 각각 독립적으로, 할로젠 원자 또는 $-O-PRO^2$ 를 나타낸다. n 은 1 내지

3 의 정수를 나타낸다.

[0807]

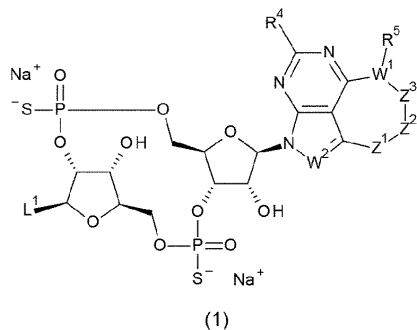
A 법

[0808]

본 발명의 (1) 로 나타내는 CDN 유도체는, 이하에 기재하는 A 법에 따라서 제조할 수 있다.

[0809]

[화학식 87]



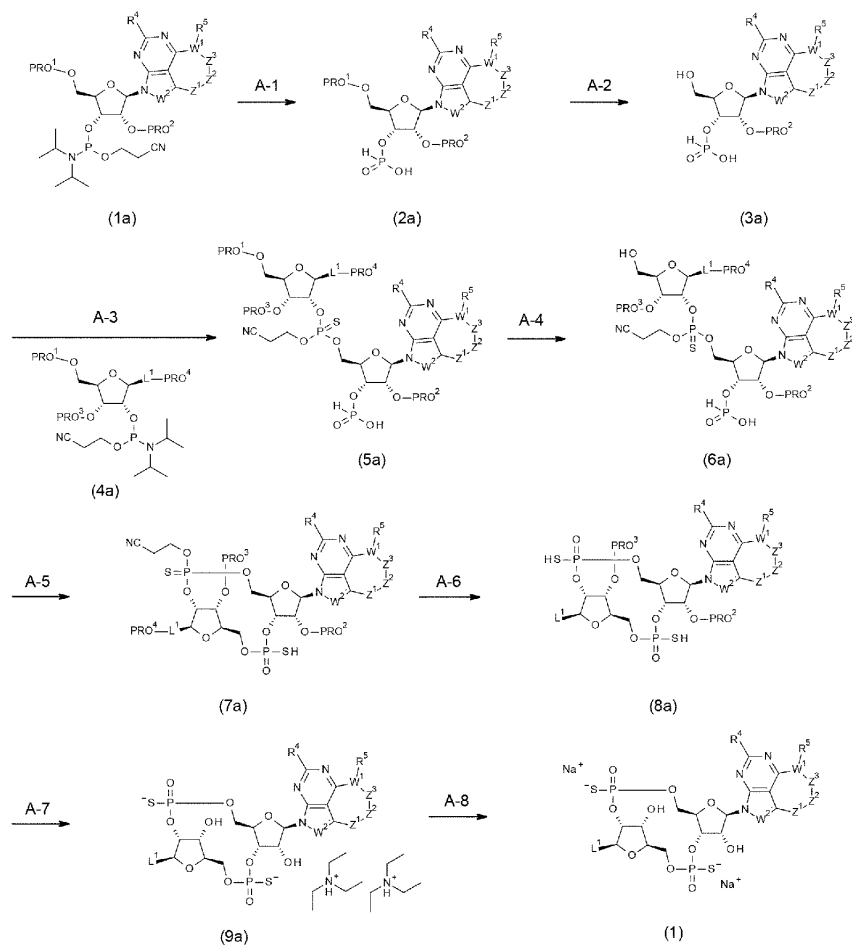
[0810]

[0811]

본 제조법은 일반식 (1) 로 나타내는 화합물을 제조하기 위한 방법이다. 본 제조법의 A-1 공정부터 A-5 공정까지는 원 포트 합성이 가능하지만, 이것은, Gaffney 등의 보고 (Org. Lett. 2010, 12, 3269-3271) 를 참조하여 실시할 수 있다.

[0812]

[화학식 88]



[0813]

[0814]

(A-1 공정)

[0815]

본 공정은, 식 (1a) 의 화합물에 대하여 공지된 유기 화학적 수법을 이용하여 가수분해 반응과 시아노에틸기의 제거를 연속해서 실시함으로써, 식 (2a) 의 화합물을 제조하는 공정이다.

- [0816] 화합물 (1a) 를 용매 (아세트니트릴, 테트라하이드로푸란, N,N-디메틸포름아미드 또는 그들의 혼합 용매) 중에서, -10 °C 부터 반응에 사용하는 용매의 비점까지, 바람직하게는 15 °C 부터 35 °C 까지에 있어서, 물 및 산 (피리딘트리플루오로아세트산염, 4,5-디시아노이미다졸, 1H-테트라졸 등) 으로 처리함으로써 가수분해 반응을 실시하였다. 화합물 (1a) 1 몰에 대하여, 물은 2 몰 내지 과잉 몰, 바람직하게는 2 몰 내지 10 몰 사용하고, 산은 1 몰 내지 과잉 몰, 바람직하게는 1 몰 내지 5 몰 사용하였다. 반응 시간은 1 분간 내지 3 시간, 바람직하게는 5 분간 내지 30 분간이다. 이어서, 이 반응액에 염기 (tert-부틸아민 등) 를 첨가하여 시아노에틸기를 제거하였다. 염기는, 화합물 (1a) 1 몰에 대하여 과잉 몰, 바람직하게는 30 몰 내지 50 몰 사용하였다. 반응 시간은, 5 분간 내지 6 시간, 바람직하게는 15 분간 내지 1 시간이다. 반응액을 감압하에서 농축하여, 화합물 (2a) 의 미정제체를 얻었다. 화합물 (2a) 의 미정제체는, 정제하지 않고 다음의 공정으로 진행할 수 있다.
- [0817] (A-2 공정)
- [0818] 본 공정은, 식 (2a) 의 화합물에 대하여 공지된 유기 화학적 수법을 이용하여 하이드록시기의 보호기를 제거하고, 식 (3a) 의 화합물을 제조하는 공정이다. 본 공정의 반응을 개시하기 전에, 필요에 따라, 아세트니트릴을 사용하여 1 회 내지 3 회 공비하고, 식 (2a) 의 미정제체를 건조시켰다.
- [0819] PRO¹ 이 4,4'-디메톡시트리틸기인 경우, 화합물 (2a) 를 용매 (디클로로메탄, 클로로포름, 디클로로에탄 등) 중에서, -10 °C 부터 반응에 사용하는 용매의 비점까지, 바람직하게는 15 °C 부터 35 °C 까지에 있어서, 물과 산 (디클로로아세트산, 트리플루오로아세트산 등) 으로 처리함으로써 4,4'-디메톡시트리틸기를 제거하였다. 화합물 (2a) 1 몰에 대하여, 물은 과잉 몰, 바람직하게는 10 몰 내지 20 몰 사용하고, 산은, 반응에 사용하는 용매로 1 % 내지 50 % (v/v), 바람직하게는 5 % 에서 10 % (v/v) 까지 희석하고, 그 희석 용액을 과잉 몰, 바람직하게는 5 몰 내지 15 몰 사용하였다. 반응 시간은 1 분간 내지 3 시간, 바람직하게는 5 분간 내지 30 분간이다. 반응액에 피리딘을 첨가하여 반응 정지 처리를 하였다. 피리딘은 사용한 산을 충분히 중화할 수 있는 양, 바람직하게는 산 1 몰에 대하여 2 몰 내지 10 몰 사용하였다. 반응액을 감압하에서 농축하여, 화합물 (3a) 의 미정제체를 얻었다. 화합물 (3a) 의 미정제체를, 탈수 아세트니트릴을 사용하여 3 회 내지 5 회 공비하였다. 마지막 공비 시에 아세트니트릴을 남기고, 화합물 (3a) 의 0.01 M 내지 1 M 의 아세트니트릴 용액을 얻었다. 얻어진 아세트니트릴 용액을, 그대로 다음의 공정으로 진행하였다.
- [0820] (A-3 공정)
- [0821] 본 공정은, 식 (3a) 의 화합물에 대하여 공지된 유기 화학적 수법을 이용하여 식 (4a) 의 화합물과의 커플링 반응 및 얻어진 커플링체의 황화 반응을 연속해서 실시함으로써, 식 (5a) 의 화합물을 제조하는 공정이다.
- [0822] 본 공정의 반응을 개시하기 전에, 화합물 (4a) 를, 탈수 아세트니트릴을 사용하여 3 회 내지 5 회 공비하였다. 마지막 공비 시에 아세트니트릴을 남기고, 화합물 (4a) 의 0.01 M 내지 1 M 의 아세트니트릴 용액을 조제하였다. 이 용액에 건조제 (분말상 또는 펠릿상의 분말상 또는 펠릿상의 분말상 시브스 3A 혹은 분말상 시브스 4A) 를 첨가하고, 용액을 사용할 때까지 질소 또는 아르곤 분위기하에서 보존하였다.
- [0823] 화합물 (3a) 의 아세트니트릴 용액에, 5 °C 부터 35 °C 까지에 있어서, 공비에 의해 건조시킨 화합물 (4a) 의 아세트니트릴 용액을 첨가함으로써 커플링 반응을 실시하였다. 반응 시간은, 1 분간 내지 24 시간, 바람직하게는 5 분간 내지 6 시간이다. 이어서, 이 반응액에 황화제 (N,N-디메틸-N'-(3-술폰닐리덴-3H-1,2,4-디티아졸-5-일)메탄이미드아미드, 3H-1,2-벤조디티올-3-온 등) 첨가하여 황화 반응을 실시하였다. 황화제는 화합물 (3a) 1 몰에 대하여 1 몰 내지 5 몰, 바람직하게는 1 몰 내지 2 몰 사용하였다. 반응 시간은 5 분간 내지 24 시간, 바람직하게는 30 분간 내지 6 시간이다. 반응액을 감압하에서 농축하여, 화합물 (5a) 의 미정제체를 얻었다. 얻어진 화합물 (5a) 의 미정제체는, 그대로 다음의 공정으로 진행하였다.
- [0824] (A-4 공정)
- [0825] 본 공정은, 식 (5a) 의 화합물에 대하여 공지된 유기 화학적 수법을 이용하여 하이드록시기의 보호기를 제거하고, 식 (6a) 의 화합물을 제조하는 공정이다.
- [0826] PRO¹ 이 4,4'-디메톡시트리틸기인 경우, 화합물 (5a) 의 화합물을 용매 (디클로로메탄, 클로로포름, 디클로로에탄 등) 중에서, -10 °C 부터 반응에 사용하는 용매의 비점까지, 바람직하게는 15 °C 부터 35 °C 까지에 있어서, 물과 산 (디클로로아세트산, 트리플루오로아세트산 등) 으로 처리함으로써 4,4'-디메톡시트리틸기를 제거하였다. 화합물 (5a) 1 몰에 대하여, 물은 과잉 몰, 바람직하게는 10 내지 20 몰을 사용하고, 산은, 반

응에 사용하는 용매로 1 % 내지 50 % (v/v), 바람직하게는 5 % 에서 10 % (v/v) 까지 희석하고, 그 희석 용액을 과잉 물, 바람직하게는 5 몰 내지 15 몰 사용하였다. 반응 시간은 1 분간 내지 3 시간, 바람직하게는 5 분간 내지 30 분간이다. 반응액에 피리딘을 첨가하여 반응 정지 처리를 하였다. 피리딘은 사용한 산을 충분히 중화할 수 있는 양, 바람직하게는 산 1 몰에 대하여 10 몰 내지 200 몰 사용하였다. 반응액을 감압하에서 농축하여, 화합물 (6a) 의 미정제체를 얻었다. 얻어진 화합물 (6a) 의 미정제체를, 그대로 다음의 공정으로 진행하였다.

[0827] (A-5 공정)

[0828] 본 공정은, 식 (6a) 의 화합물에 대하여 공지된 유기 화학적 수법을 이용하여 고리화 반응과 황화 반응을 연속해서 실시하고, 식 (7a) 의 화합물을 제조하는 공정이다.

[0829] 화합물 (6a) 를 피리딘에 용해 후, 감압하에서 농축하여 0.01 M 내지 0.5 M의 피리딘 용액을 조제하였다. 이 피리딘 용액에, 5 °C 부터 35 °C 까지에 있어서, 탈수 축합제 (2-클로로-5,5-디메틸-1,3,2λ⁵-디옥사포스포난-2-온 등) 를 첨가함으로써 고리화 반응을 실시하였다. 탈수 축합제는, 화합물 (6a) 1 몰에 대하여, 1 몰 내지 과잉 물, 바람직하게는 3 몰 내지 5 몰 사용하였다. 반응 시간은 1 분간 내지 6 시간, 바람직하게는 5 분간 내지 1 시간이다. 이어서, 이 반응액에 물과 황화제 (3H-1,2-벤조디티올-3-온, N,N-디메틸-N'-(3-술폰닐리덴-3H-1,2,4-디티아졸-5-일)메탄이미드아미드 등) 를 첨가하여 황화 반응을 실시하였다. 화합물 (6a) 1 몰에 대하여, 물은 과잉 물, 바람직하게는 30 몰 내지 50 몰 사용하고, 황화제는 1 몰 내지 5 몰, 바람직하게는 1 몰 내지 2 몰 사용하였다. 반응 시간은 5 분간 내지 12 시간, 바람직하게는 30 분간 내지 3 시간이다. 반응액을 탄산수소나트륨 수용액 (0.1 M 부터 1 M 까지) 에 첨가한 후, 15 분간 내지 24 시간 교반하여 반응 정지 처리를 하였다. 반응액을 유기 용매 (아세트산에틸, 디에틸에테르, 톨루엔 또는 그들의 혼합 용매) 로 1 회 내지 5 회 추출한 후, 추출액을 아울러 무수 염 (무수 황산나트륨 또는 무수 황산마그네슘) 으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고 여과액을 감압하에서 농축하였다. 얻어진 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [디클로로메탄/메탄올, 아세트산에틸/메탄올, 헥산/아세트산에틸 등], C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [완충액/아세트니트릴] 또는 그것들을 조합함으로써 정제하고, 화합물 (7a) 를 2 종류 이상의 디아스테레오머 혼합물 또는 2 종류 이상의 순수한 디아스테레오머로서 얻었다. 본 공정에서는 많은 경우, 2 종류의 디아스테레오머가 얻어지지만, 원료 (1a) 및 (4a) 에 의존하여, 추가로 1 종류 또는 2 종류의 디아스테레오머가 얻어지는 경우도 있다. 얻어진 화합물 (7a) 가 복수의 디아스테레오머 혼합물이라도, 그 이상의 정제를 하지 않고 다음의 공정으로 진행할 수 있다.

[0830] (A-6 공정)

[0831] 본 공정은, 식 (7a) 의 화합물에 대하여 공지된 유기 화학적 수법을 이용하여 시아노에틸기 및 모든 아실계 보호기를 동시에 제거하고, 식 (8a) 의 화합물을 제조하는 공정이다. 본 공정은, 필요에 따라 오토클레이브 안, 또는 실드 튜브 안에서 실시하였다.

[0832] PRO⁴ 가 벤조일기인 경우, 화합물 (7a) 의 화합물을 용매 (메탄올, 에탄올, 테트라하이드로퓨란 또는 그들의 혼합 용매) 중에서, 5 °C 부터 반응에 사용하는 용매의 비점까지에 있어서, 28 % (v/v) 암모니아수로 처리함으로써 시아노에틸기와 벤조일기를 제거하였다. 암모니아는, 화합물 (7a) 1 몰에 대하여 과잉 물, 바람직하게는 300 몰 내지 3000 몰 사용하였다. 반응 시간은 30 분간 내지 96 시간, 바람직하게는 2 시간 내지 48 시간이다. 필요에 따라 반응액을 농축하고, 잔류물을 분취 HPLC [완충액/아세트니트릴, 완충액/메탄올 등], C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [완충액/아세트니트릴, 완충액/메탄올 등] 또는 그것들을 조합함으로써 정제하고, 화합물 (8a) 를 얻었다. 얻어진 화합물 (8a) 가 디아스테레오머 혼합물이라도, 그 이상의 정제를 하지 않고 다음의 공정으로 진행할 수 있다. 또, 본 공정에서는 정제를 하지 않고 그대로 다음의 공정으로 진행할 수도 있다.

[0833] (A-7 공정)

[0834] 본 공정은, 식 (8a) 의 화합물에 대하여 공지된 유기 화학적 수법을 이용하여 모든 실릴계 보호기를 동시에 제거하고, 식 (9a) 의 화합물을 제조하는 공정이다.

[0835] PRO² 및 PRO³ 이 tert-부틸디메틸실릴기인 경우, 화합물 (8a) 를, 5 °C 부터 100 °C 까지, 바람직하게는 35 °C 부터 60 °C 까지에 있어서, 직접 트리에틸아민3불화수소산염으로 처리함으로써 tert-부틸디메틸실릴기를 제거하였다. 트리에틸아민3불화수소산염은, 화합물 (8a) 1 몰에 대하여 과잉 물, 바람직하게는 100 내지 200 몰

사용하였다. 반응 시간은 30 분간 내지 24 시간, 바람직하게는 2 시간 내지 12 시간이다. 반응액을 실온까지 냉각 후, 반응액에 병행한 1 M 탄산수소트리에틸암모늄 수용액과 트리에틸아민의 3 : 1 내지 10 : 1 (v/v) 의 혼합 용액을 조금씩 따라 반응 정지 처리를 하였다. 필요에 따라, 반응액을 병행한 1 M 탄산수소트리에틸암모늄 수용액과 트리에틸아민의 혼합 용액에 따라도 된다. 이 경우에는, 반응 용기를 아세토니트릴과 물로 세정하였다. 트리에틸아민은 반응액의 액성을 약염기성으로 변화시킬 수 있는 충분한량, 바람직하게는 트리에틸아민3불화수소산염 1 몰에 대하여, 트리에틸아민을 약 2 몰 사용한다. 반응액의 유기 용매 성분을 감압하에서 증류 제거한 후, 잔류한 수용액을 분취 HPLC [완충액/아세토니트릴, 완충액/메탄올 등], C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [완충액/아세토니트릴, 완충액/메탄올 등] 또는 그것들을 조합함으로써 정제하고, 화합물 (9a) 를 단일의 디아스테레오머로서 얻었다.

[0836] (A-8 공정)

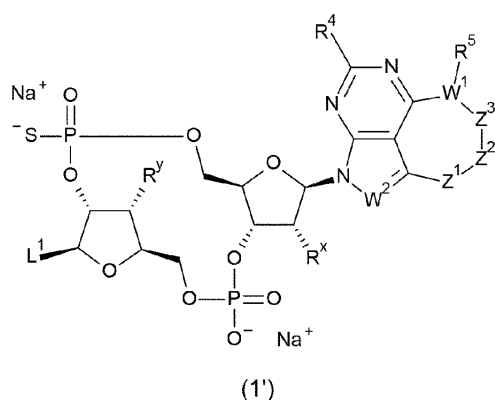
[0837] 본 공정은, 식 (9a) 의 화합물에 대하여 공지된 유기 화학적 수법을 이용하여 이온 교환하고, 식 (1) 의 화합물을 제조하는 공정이다.

[0838] 양이온 교환 수지 (BT AG (등록상표) 50W-X2 레진, 100-200 메시, 수소형) 를 순수에 현탁시키고, 빈 칼럼 카트리지에 충전하였다. 양이온 교환 수지는, 중량비로 화합물 (9a) 의 10 배 내지 50 배량 사용하였다. 과잉의 순수를 자연 유하시킨 후, 1 M 수산화나트륨 수용액을 3 칼럼 체적 자연 유하시키고, 이어서, 6 칼럼 체적의 순수를 자연 유하시켰다. 화합물 (9a) 를 약 3 칼럼 체적의 순수에 용해하여, 칼럼에 차지하였다. 화합물이 순수에 잘 용해되지 않는 경우에는, 소량의 유기 용매 (아세토니트릴, 메탄올 등) 와의 혼합액을 사용해도 된다. 자연 유하한 용액을 분취 후, 추가로 6 칼럼 체적의 순수 등으로 용출하고, 희분을 분취하였다. 목적물을 포함하는 희분을 아울러 동결 건조시켜, 화합물 (1) 을 단일의 디아스테레오머로서 얻었다.

[0839] A' 법

[0840] 본 발명의 (1') 로 나타내는 CDN 유도체는, 이하에 기재하는 A' 법에 따라서 제조할 수 있다.

[0841] [화학식 89]



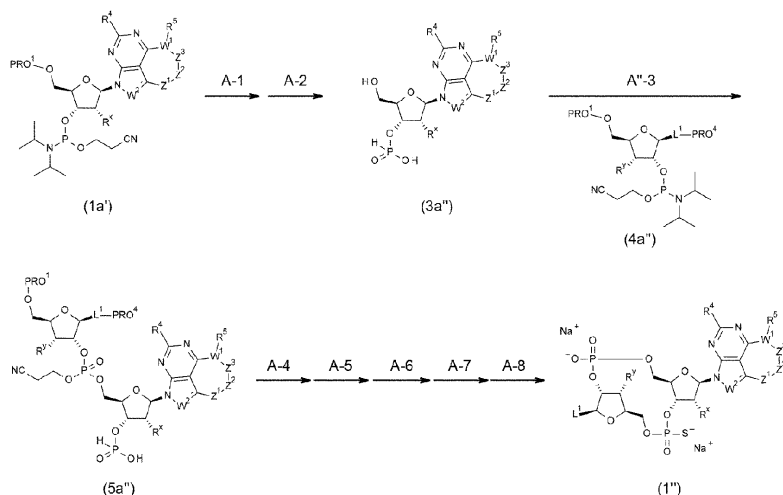
[0842]

[0843] 본 제조법은, A 법의 일부를 변경하여 일반식 (1') 로 나타내는 화합물을 제조하기 위한 방법이다. 구체적으로는, 일반식 (1') 의 화합물은 A 법 A-5 공정을 이하에 나타내는 A'-5 공정으로 변경하여 제조할 수 있다.

또, 치환기 R^x 와 R^y 가 양방 할로젠 원자인 경우에는, A-7 공정을 생략할 수 있다.

으로, 일반식 (1'')의 화합물은, A 법의 A-3 공정을 이하에 나타내는 A''-3 공정으로 변경하여 제조할 수 있다. 또, 치환기 R^x 와 R^y 가 양방 할로겐 원자인 경우에는, A-7 공정을 생략할 수 있다.

[0854] [화학식 92]



[0855]

[0856] (A''-3 공정)

[0857] 본 공정은, 식 (3a'')의 화합물에 대하여 공지된 유기 화학적 수법을 이용하여 식 (4a'')의 화합물과의 커플링 반응 및 얻어진 커플링체의 산화 반응을 연속해서 실시함으로써, 식 (5a'')의 화합물을 제조하는 공정이다.

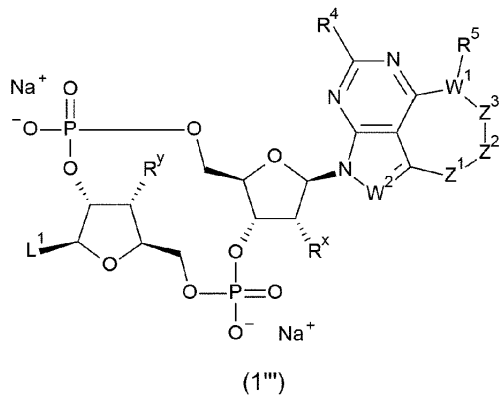
[0858] 본 공정의 반응을 개시하기 전에, 화합물 (4a'')를, 탈수 아세트니트릴을 사용하여 3 회 내지 5 회 공비하였다. 마지막 공비 시에 아세트니트릴을 남기고, 화합물 (4a'')의 0.01 M 내지 1 M의 아세트니트릴 용액을 조제하였다. 이 용액에 건조제 (분말상 또는 펠릿상의 몰레컬러 시브스 3A 혹은 몰레컬러 시브스 4A)를 첨가하고, 용액을 사용할 때까지 질소 또는 아르곤 분위기하에서 보존하였다.

[0859] 화합물 (3a'')의 아세트니트릴 용액에, 5 °C 부터 35 °C 까지에서, 공비에 의해 건조시킨 화합물 (4a'')의 아세트니트릴 용액을 첨가함으로써 커플링 반응을 실시하였다. 반응 시간은, 1 분간 내지 24 시간, 바람직하게는 5 분간 내지 6 시간이다. 이어서, 이 반응액에 산화제 (tert-부틸하이드로퍼옥사이드 등)를 첨가하여 산화 반응을 실시하였다. 산화제는 화합물 (3a'') 1 몰에 대하여 1 몰 내지 5 몰, 바람직하게는 2 몰 내지 3 몰 사용하였다. 반응 시간은 5 분간 내지 24 시간, 바람직하게는 30 분간 내지 6 시간이다. 반응액에 포화 티오황산나트륨 수용액을 첨가하고, 10 분간 내지 12 시간 교반하여 반응 정지 처리를 하였다. 반응액을 유기 용매 (디클로로메탄과 메탄올의 혼합 용매 등)로 1 회 내지 5 회 추출한 후, 추출액을 아올러무수 염 (무수 황산나트륨 또는 무수 황산마그네슘)으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고 여과액을 감압하에서 농축하여, 화합물 (5a'')의 미정제체를 얻었다. 얻어진 화합물 (5a'')의 미정제체를 그대로 다음의 공정으로 진행하였다.

[0860] A''' 법

[0861] 본 발명의 (1''')로 나타내는 CDN 유도체는, 이하에 기재하는 A''' 법에 따라서 제조할 수 있다.

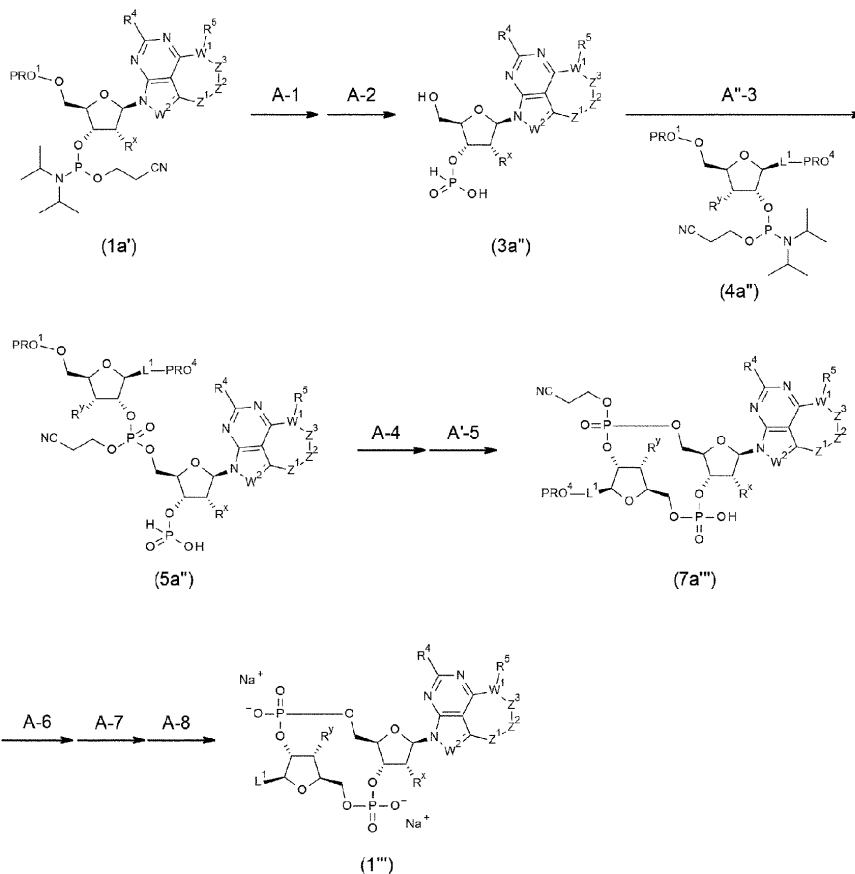
[0862] [화학식 93]



[0863]

[0864] 본 제조법은, A 법의 일부를 변경하여 일반식 (1''') 로 나타내는 화합물을 제조하기 위한 방법이다. 구체적으로는, 일반식 (1''') 의 화합물은, A 법의 A-3 공정을 A'-3 공정으로, A-5 공정을 A'-5 공정으로 변경하여 제조할 수 있다. 또, 치환기 R^x 와 R^y 가 양방 할로젠 원자인 경우에는, A-7 공정을 생략할 수 있다.

[0865] [화학식 94]

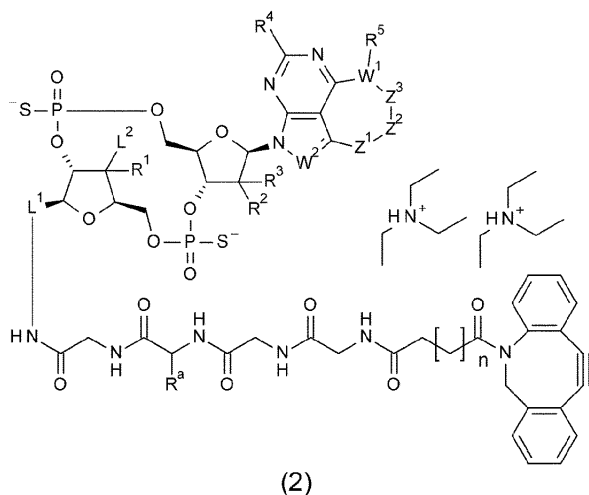


[0866]

[0867] B 법 : 콘쥬게이션 전구체 (당사들 콘쥬게이션)

[0868] 본 발명의 (2) 로 나타내는 콘쥬게이션 전구체는, 이하에 기재하는 B 법에 따라서 제조할 수 있다.

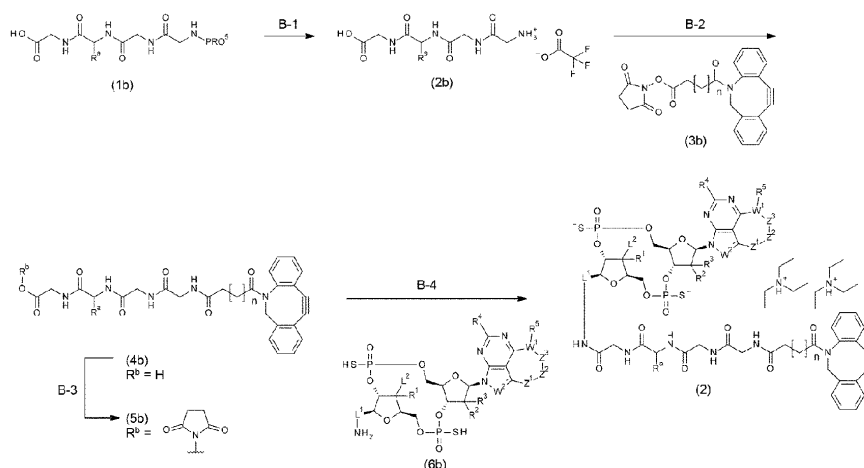
[0869] [화학식 95]



[0870]

[0871] 본 제조법은, L^1 의 임의의 위치에 $-NH_2$ 가 치환되어 있는 경우의 콘주게이션 전구체 (2)를 제조하기 위한 방법이다.

[0872] [화학식 96]



[0873]

[0874] (B-1 공정)

[0875] 본 공정은, 식 (1b)의 화합물에 대하여 공지된 유기 화학적 수법을 이용하여 보호기를 제거함으로써, 식 (2b)의 화합물을 제조하는 공정이다.

[0876] PRO^5 가 tert-부틸옥시카르보닐기인 경우, 화합물 (1b)를 용매 (디클로로메탄, 디옥산, 아세트니트릴, 아세트산에틸, 테트라하이드로푸란, 또는 그들의 혼합 용매) 중에서, $-10^\circ C$ 부터 반응에 사용하는 용매의 비점까지, 바람직하게는 $15^\circ C$ 부터 $35^\circ C$ 까지에 있어서, 트리플루오로아세트산으로 처리함으로써 보호기를 제거하였다.

트리플루오로아세트산은, 화합물 (1b) 1 몰에 대하여 과잉 몰, 바람직하게는 20 몰 내지 50 몰 사용하였다.

반응 시간은 5 분간 내지 24 시간, 바람직하게는 30 분간 내지 6 시간이다. 반응액을 감압하에서 농축한 후, 톨루엔에 현탁시켜 재차 감압하에서 농축하였다. 이 조작을 2 회 내지 5 회 반복하였다. 용매 (디에틸에테르, 디이소프로필에테르, 헥산, 디클로로메탄, 아세트산에틸 또는 그들의 혼합 용매)를 첨가하여 슬러리상으로 한 후, 고체를 여과 채취하고, 화합물 (2b)의 미정제체를 얻었다. 화합물 (2b)의 미정제체는, 이 이상의 정제를 하지 않고 다음의 공정으로 진행하였다.

[0877] (B-2 공정)

[0878] 본 공정은, 식 (2b)의 화합물에 대하여 공지된 유기 화학적 수법을 이용하여 식 (3b)의 화합물과의 아미드화

를 실시함으로써, 식 (4b)의 화합물을 제조하는 공정이다.

[0879] 화합물 (2b)를 용매 (N,N-디메틸포름아미드, N-메틸피롤리돈, N,N-디메틸아세트아미드, 아세토니트릴 등) 중에서, 5 °C 부터 35 °C 까지에 있어서, 염기 (트리에틸아민, N,N-디이소프로필에틸아민 등) 및 화합물 (3b)와 반응시킴으로써 아미드화를 실시하였다. 화합물 (2b) 1 몰에 대하여, 염기는 1 몰 내지 5 몰 사용하고, 화합물 (3b)는 0.5 몰 내지 1.5 몰 사용하였다. 반응 시간은 10 분간 내지 72 시간, 바람직하게는 1 시간 내지 24 시간이다. 반응액을 유기 용매 (디클로로메탄, 클로로포름, 아세트산에틸, 메탄올 또는 그 혼합 용매)와 물 또는 산성 수용액 (0.1 에서 1 M 의 염산, 시트르산 수용액 등)의 2 층에 따르고, 유기 용매로 1 회 내지 5 회 추출하였다. 추출액을 아울러 포화 식염수로 세정 후, 무수 염 (무수 황산나트륨 또는 무수 황산마그네슘)으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고 여과액을 감압하에서 농축하였다. 또한, 상기 분액조작을 생략하고, 반응액을 그대로 감압하에서 농축하여 다음의 실리카 겔 칼럼 정제로 진행할 수도 있다. 얻어진 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [디클로로메탄/메탄올, 아세트산에틸/메탄올 등]으로 정제하고, 화합물 (4b)를 얻었다. 필요에 따라, 얻어진 화합물 (4b)를 양용매 (아세트산에틸, 아세토니트릴, 디클로로메탄, 메탄올 또는 그들의 혼합 용매)에 용해한 후, 빈용매 (디에틸에테르, 디이소프로필에테르, 헥산 등)를 첨가하여 재침전하고, 고체를 여과 채취함으로써 순도를 올릴 수 있다.

[0880] (B-3 공정)

[0881] 본 공정은, 식 (4b)의 화합물에 대하여 공지된 유기 화학적 수법을 이용하여 에스테르화를 실시함으로써, 식 (5b)의 화합물을 제조하는 공정이다.

[0882] 화합물 (4b)를, 용매 (N,N-디메틸포름아미드, N,N-디메틸아세트아미드, N-메틸피롤리돈, 아세토니트릴 등) 중에서, 5 °C 부터 35 °C 까지에 있어서, N-하이드록시숙신이미드 및 축합제 (1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카르보디이미드염산염 등)과 반응시킴으로써 에스테르화를 실시하였다. N-하이드록시숙신이미드 및 축합제는, 화합물 (4b) 1 몰에 대하여, 각각 1 몰 내지 3 몰 사용하였다. 반응 시간은 30 분간 내지 72 시간, 바람직하게는 2 시간 내지 24 시간이다. 반응액을 유기 용매 (디클로로메탄, 클로로포름, 아세트산에틸 또는 그 혼합 용매)로 넓게 한 후, 빙수 (氷水)로 3 회 내지 5 회 세정하였다. 유기층을 무수 염 (무수 황산나트륨 또는 무수 황산마그네슘)을 사용하여 건조시켰다. 건조제를 여과 제거한 후, 여과액을 감압하에서 농축하여 화합물 (5b)의 미정제체를 얻었다. 필요에 따라, 얻어진 화합물 (5b)를 C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [아세토니트릴만]으로 정제해도 된다. 또, 얻어진 화합물 (5b)를 양용매 (아세트산에틸, 아세토니트릴, 디클로로메탄 또는 그들의 혼합 용매)에 용해한 후, 빈용매 (디에틸에테르, 디이소프로필에테르, 헥산 등)를 첨가하여 재침전하고, 고체를 여과 채취함으로써 순도를 올릴 수 있다.

[0883] (B-4 공정)

[0884] 본 공정은, 식 (5b)의 화합물에 대하여 공지된 유기 화학적 수법을 이용하여, 식 (6b)의 화합물과의 축합 반응을 실시함으로써, 식 (2)의 화합물을 제조하는 공정이다.

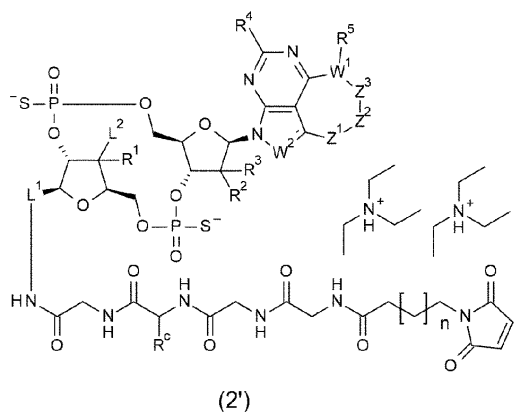
[0885] 화합물 (6b)를 용매 중 (N,N-디메틸포름아미드, N,N-디메틸아세트아미드, N-메틸피롤리돈, 아세토니트릴 등)에서, -10 °C 부터 100 °C 까지, 바람직하게는 15 °C 부터 35 °C 까지에 있어서, 염기 (트리에틸아민, N,N-디이소프로필에틸아민 등) 및 화합물 (5b)와 반응시킴으로써 축합 반응을 실시하였다. 화합물 (6b) 1 몰에 대하여, 염기는 2 몰 내지 5 몰 사용하고, 화합물 (5b)는 1 몰 내지 2 몰 사용하였다. 반응 시간은 5 분간 내지 24 시간, 바람직하게는 1 시간 내지 6 시간이다. 반응액에 벤질아민을 첨가하여 반응 정지 처리를 하였다. 벤질아민은 화합물 (6b) 1 몰에 대하여 4 몰 내지 10 몰 사용하였다. 필요에 따라 반응액을 감압하에서 부분적으로 농축하고, 잔류한 용액을 분취 HPLC [완충액/아세토니트릴, 완충액/메탄올 등], C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [완충액/아세토니트릴, 완충액/메탄올 등] 또는 그것들을 조합함으로써 정제하고, 화합물 (2)를 얻었다.

[0886] B' 법 : 콘주게이션 전구체 (시스테인 콘주게이션)

[0887] B' 법

[0888] 본 발명의 (2')로 나타내는 콘주게이션 전구체는, 이하에 기재하는 B' 법에 따라서 제조할 수 있다.

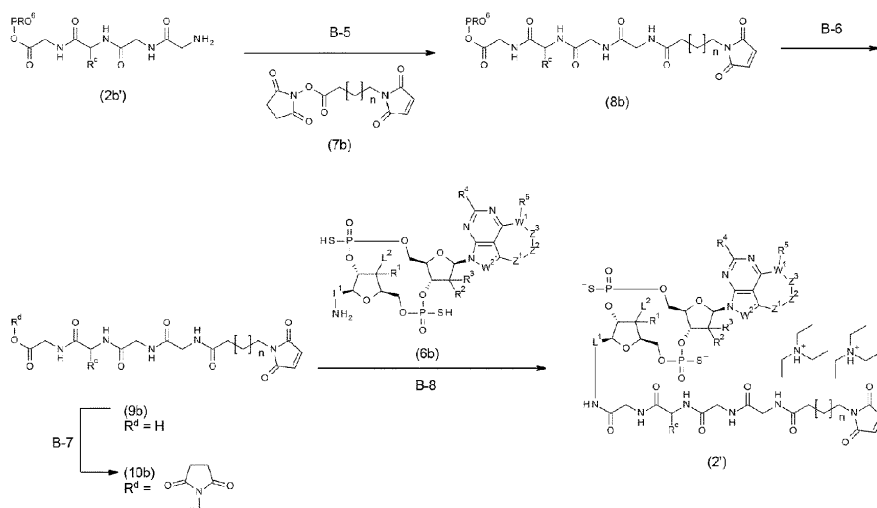
[0889] [화학식 97]



[0890]

[0891] 본 제조법은, L¹의 임의의 위치에 -NH₂가 치환되어 있는 경우의 콘쥬게이션 전구체 (2')를 제조하기 위한 방법이다.

[0892] [화학식 98]



[0893]

[0894] (B-5 공정)

[0895] 본 공정은, 식 (2b')의 화합물에 대하여 공지된 유기 화학적 수법을 이용하여 식 (7b)의 화합물과의 아미드화를 실시함으로써, 식 (8b)의 화합물을 제조하는 공정이다. 염기를 사용하지 않는 것 이외는, B 법 B-2 공정에 기재된 수법에 따라서 화합물 (8b)를 얻었다.

[0896] (B-6 공정)

[0897] 본 공정은, 식 (8b)의 화합물에 대하여 공지된 유기 화학적 수법을 이용하여 보호기를 제거함으로써 식 (9b)의 화합물을 제조하는 공정이다. PRO⁶이 tert-부틸기인 경우, 정제 조작에 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [디클로로메탄/메탄올]을 사용하는 것 이외는, B 법 B-1 공정에 기재된 수법에 따라서 화합물 (9b)를 얻었다.

[0898] (B-7 공정)

[0899] 본 공정은, 식 (9b)의 화합물에 대하여 공지된 유기 화학적 수법을 이용하여 에스테르화를 실시함으로써, 식 (10b)의 화합물을 제조하는 공정이다. B 법 B-3 공정에 기재된 수법에 따라서 화합물 (10b)를 얻었다.

[0900] (B-8 공정)

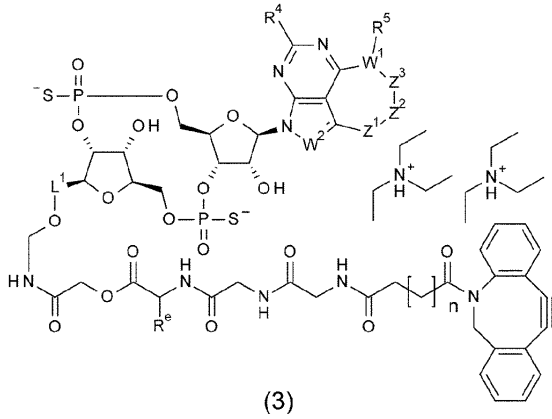
[0901] 본 공정은, 식 (6b)의 화합물에 대하여 공지된 유기 화학적 수법을 이용하여, 식 (10b)의 화합물과의 축합 반응을 실시함으로써, 식 (2')의 화합물을 제조하는 공정이다. B 법 B-4 공정에 기재된 수법에 따라서 화합

물 (2') 를 얻었다.

[0902] C 법

[0903] 본 발명의 (3) 으로 나타내는 콘쥬게이션 전구체는, 이하에 기재하는 C 법에 따라서 제조할 수 있다.

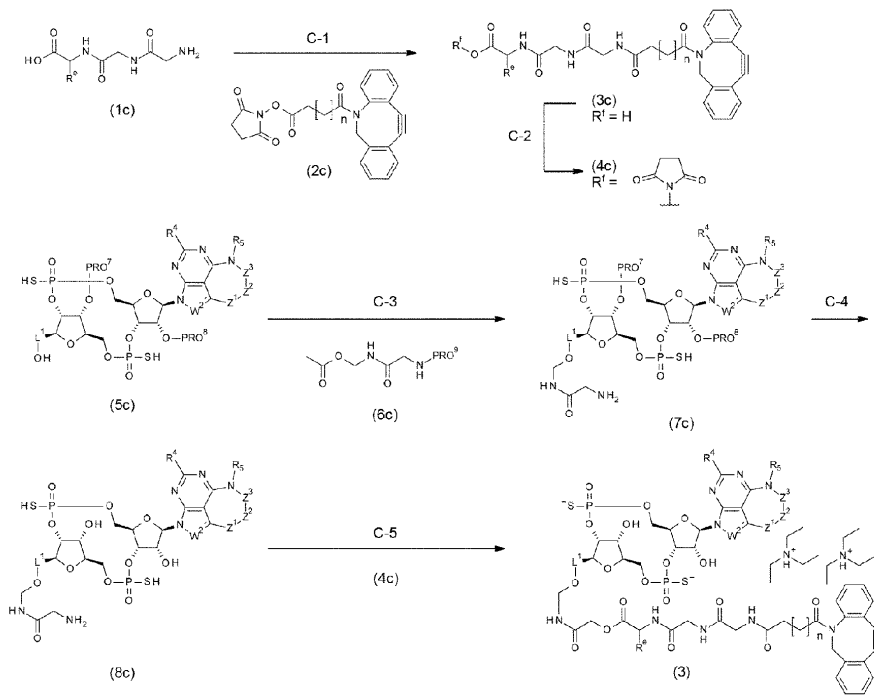
[0904] [화학식 99]



[0905]

[0906] 본 제조법은, L¹ 의 임의의 위치에 하이드록시기가 치환되어 있는 경우의 콘쥬게이션 전구체 (3) 을 제조하기 위한 방법이다.

[0907] [화학식 100]



[0908]

[0909] (C-1 공정)

[0910] 본 공정은, 식 (1c) 의 화합물에 대하여 공지된 유기 화학적 수법을 이용하여 식 (2c) 의 화합물과의 아미드화를 실시함으로써, 식 (3c) 의 화합물을 제조하는 공정이다. B 법 B-2 공정에 기재된 수법에 따라서 화합물 (3c) 를 얻었다.

[0911] (C-2 공정)

[0912] 본 공정은, 식 (3c) 의 화합물에 대하여 공지된 유기 화학적 수법을 이용하여 에스테르화를 실시함으로써, 식 (4c) 의 화합물을 제조하는 공정이다. B 법 B-3 공정에 기재된 수법에 따라서 화합물 (4c) 를 얻었다.

[0913] (C-3 공정)

[0914] 본 공정은, 식 (5c)의 화합물에 대하여 공지된 유기 화학적 수법을 이용하여 식 (6c)의 화합물과의 커플링 반응 (아미노메틸렌화)과 얻어진 커플링체의 탈보호를 연속해서 실시함으로써, 식 (7c)의 화합물을 제조하는 공정이다.

[0915] PRO^9 가 9-플루오레닐메틸옥시카르보닐기인 경우, 화합물 (5c)를, 테트라하이드로푸란 중에서, 5 °C 부터 35 °C 까지에 있어서, 화합물 (6c) 및 산 (p-톨루엔술폰산 등)과 반응시킴으로써 아미노메틸렌화를 실시하였다. 화합물 (5c) 1 몰에 대하여, 화합물 (6c)는 1 몰 내지 20 몰, 바람직하게는 2 몰 내지 10 몰 사용하고, 산은 0.05 몰 내지 과잉 몰, 바람직하게는 0.1 몰 내지 3 몰 사용하였다. 반응 시간은 30 분간 내지 72 시간, 바람직하게는 2 시간 내지 24 시간이다. 이어서, 반응액에 염기 (1,8-디아자비스클로[5.4.0]-7-운데센 등)를 첨가하고, 탈보호를 실시하였다. 반응액이 현탁해 있는 경우에는, 필요에 따라 용매 (N,N-디메틸포름아미드 등)를 추가하여 용해시킨 후에 반응시킬 수 있다. 염기는 화합물 (5c) 1 몰에 대하여 과잉 몰, 바람직하게는 5 몰 내지 20 몰 사용하였다. 반응 시간은 10 분간 내지 24 시간, 바람직하게는 2 시간 내지 12 시간이다. 반응액에 물을 첨가하여 그대로 C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [완충액/아세트오니트릴 등]으로 정제하고, 화합물 (7c)를 얻었다.

[0916] (C-4 공정)

[0917] 본 공정은, 식 (7c)의 화합물에 대하여 공지된 유기 화학적 수법을 이용하여 보호기를 제거하고, 식 (8c)의 화합물을 제조하는 공정이다. PRO^7 및 PRO^8 이 tert-부틸디메틸실릴기인 경우, A 법 A-7 공정에 기재된 수법에 따라서 화합물 (8c)를 얻었다.

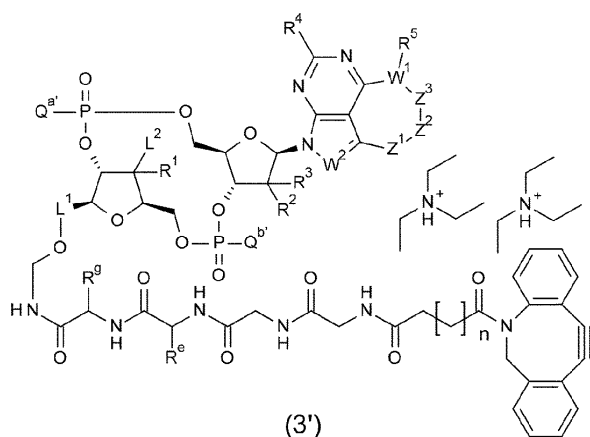
[0918] (C-5 공정)

[0919] 본 공정은, 식 (8c)의 화합물에 대하여 공지된 유기 화학적 수법을 이용하여, 식 (4c)의 화합물과의 축합 반응을 실시함으로써, 식 (3)의 화합물을 제조하는 공정이다. B 법 B-4 공정에 기재된 수법에 따라서 화합물 (3)을 얻었다.

[0920] C' 법

[0921] 본 발명의 (3')로 나타내는 콘쥬게이션 전구체는, 이하에 기재하는 C' 법에 따라서 제조할 수 있다.

[0922] [화학식 101]



[0923]

[0924] 본 제조법은, L¹의 임의의 위치에 하이드록시기가 치환되어 있는 경우의 콘쥬게이션 전구체 (3')를 제조하기 위한 방법이다.

[0936] 본 공정은, 식 (6c')의 화합물에 대하여 공지된 유기 화학적 수법을 이용하여 고리화 반응과 황화 반응 또는 산화 반응을 연속해서 실시하고, 식 (7c')의 화합물을 제조하는 공정이다. A 법 A-5 공정에 기재된 수법에 따라 화합물 (7c')를 얻었다.

[0937] (C'-6 공정)

[0938] 본 공정은, 식 (7c')의 화합물에 대하여 공지된 유기 화학적 수법을 이용하여 시아노에틸기 및 모든 아실계 보호기를 동시에 제거하고, 식 (8c')의 화합물을 제조하는 공정이다. A 법 A-6 공정에 기재된 수법에 따라 화합물 (8c')를 얻었다.

[0939] (C'-7 공정)

[0940] 본 공정은, 식 (8c')의 화합물에 대하여 공지된 유기 화학적 수법을 이용하여 모든 실릴계 보호기를 동시에 제거하고, 식 (9c')의 화합물을 제조하는 공정이다. PRO⁹가 2-(트리메틸실릴)에톡시카르보닐기인 경우, 화합물 (8c')를, 5 °C 부터 100 °C 까지, 바람직하게는 35 °C 부터 60 °C 까지에 있어서, 불화테트라부틸암모늄의 테트라하이드로푸란 용액으로 처리함으로써, 2-(트리메틸실릴)에톡시카르보닐기를 제거하였다. 불화테트라부틸암모늄은, 화합물 (8c') 1 몰에 대하여 과잉 몰, 바람직하게는 10 내지 30 몰 사용하였다. 반응 시간은 1 시간 내지 48 시간, 바람직하게는 4 시간 내지 24 시간이다. 반응액에 완충액을 첨가하여 희석 후, 필요에 따라 유기 용매 성분을 감압하에서 증류 제거하였다. 잔류물을 분취 HPLC [완충액/아세트오니트릴, 완충액/메탄올 등], C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [완충액/아세트오니트릴, 완충액/메탄올 등] 또는 그것들을 조합함으로써 정제하고, 화합물 (9c')를 얻었다.

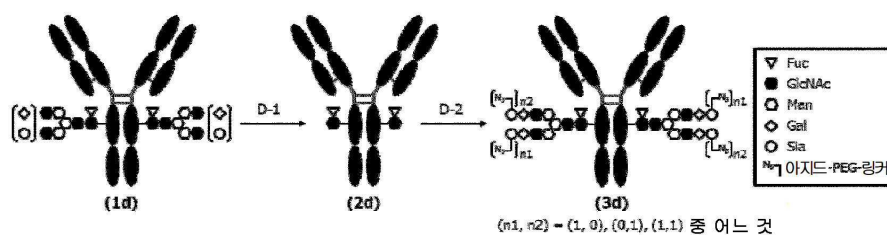
[0941] (C'-8 공정)

[0942] 본 공정은, 식 (9c')의 화합물에 대하여 공지된 유기 화학적 수법을 이용하여, 식 (4c)의 화합물과의 축합 반응을 실시함으로써, 식 (3')의 화합물을 제조하는 공정이다. B 법 B-4 공정에 기재된 수법에 따라 화합물 (3')를 얻었다.

[0943] D 법 : 당사슬 리모델링 항체의 제조

[0944] 당사슬 리모델링 항체는, 예를 들어 W02018/003983 등에 기재된 방법에 준하여, 다음 식에 나타내는 방법으로 제조할 수 있다.

[0945] [화학식 103]



[0946]

[0947] (D-1 공정)

[0948] 본 공정은, 목적으로 하는 항체에 대하여, 공지된 효소 반응을 이용하여 항체의 아미노산 서열 297 번째의 아스파라긴에 결합하는 N 결합형 당사슬 (N297 결합 당사슬)의 환원 말단 키토비오스 구조의 GlcNAcβ1 - 4GlcNAc 사이의 글리코시드 결합을 가수분해에 의해 절단하고, 당사슬 절단 항체를 제조하는 공정이다. 목적으로 하는 항체 (1d) (10 mg/ml)를 완충액 (인산 완충액 등) 중, 0 °C 부터 40 °C 까지에 있어서, 야생형 EndoS 효소 등의 가수분해 효소를 사용하여 환원 말단의 키토비오스 구조의 GlcNAcβ1 과 4GlcNAc 사이의 글리코시드 결합의 가수분해 반응을 실시하였다. 반응 시간은 10 분 내지 72 시간, 바람직하게는 1 시간 내지 6 시간이다.

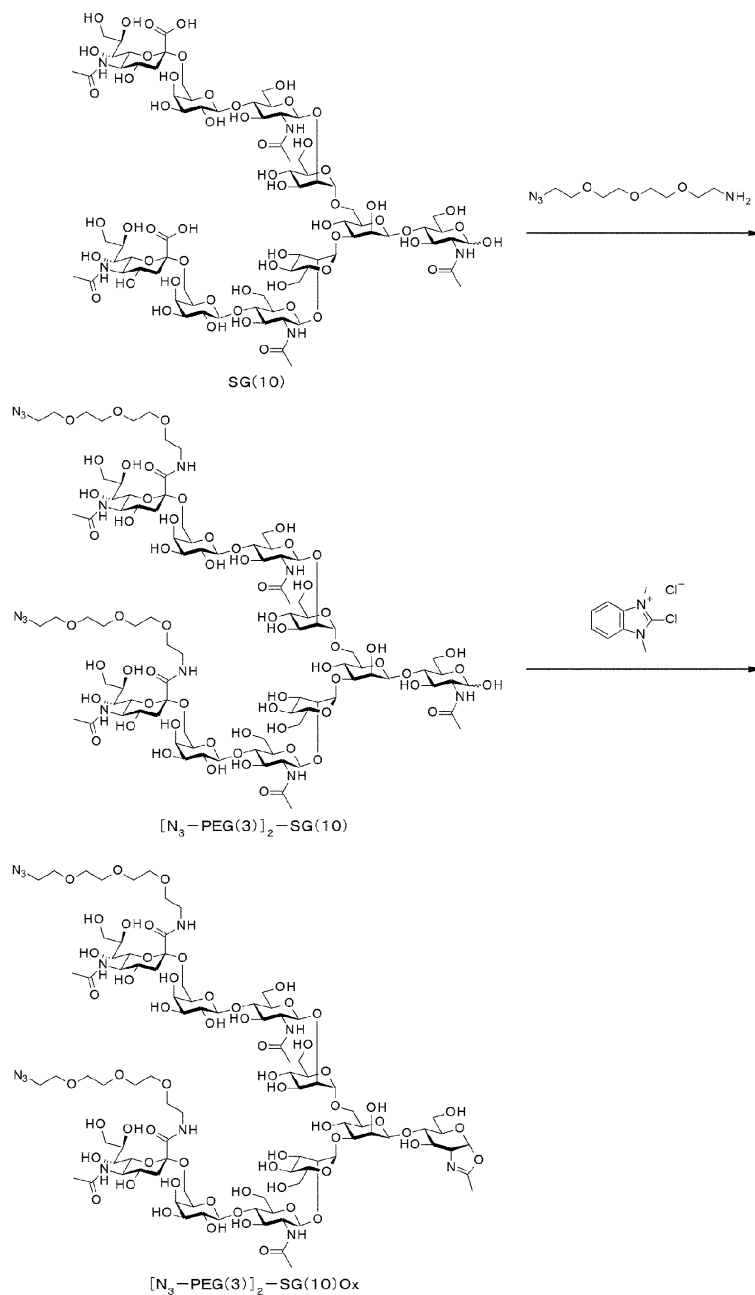
야생형 EndoS 효소는 항체 (1d) 100 mg 에 대하여, 0.1 mg 내지 10 mg, 바람직하게는 0.1 mg 내지 3 mg 을 사용하였다. 반응 종료 후, 어피니티 크로마토그래피 (HiTrap rProtein A FF (5 ml) (GE 헬스 케어 제조)) 및/또는 하이드록시 아파타이트 칼럼 (Bio-Scale Mini CHT Type I 카트리지 (5 ml) (BIO-RAD 제조)) 으로 정제하고, (Fuc α1,6)GlcNAc 항체 (2d)를 얻었다.

[0949] (D-2 공정)

- [0950] 본 공정은, D-1 공정에서 얻어진 (Fuc α1,6)GlcNAc 항체 (2d) 에 대하여, 공지된 효소 반응을 이용하여 아지드기를 포함하는 PEG 링커를 갖는 SG 형 또는 MSG (MSG1, MSG2) 형 당사슬 옥사졸린체 (이하, 「아지드 당사슬 옥사졸린체」) 를 결합시켜, 당사슬 리모델링 항체 (3d) 를 제조하는 공정이다.
- [0951] 항체 (2d) 를 완충액 (인산 완충액 등) 중, 0 °C 부터 40 °C 까지에 있어서, EndoS (D233Q/Q303L) 등의 당전이 효소 존재하, 아지드 당사슬 옥사졸린체와 반응시킴으로써, 당사슬 전이 반응을 실시하였다. 반응 시간은 10 분 내지 72 시간, 바람직하게는 1 시간 내지 6 시간이다. EndoS 효소 (D233Q/Q303L) 는 항체 100 mg 에 대하여, 1 mg 내지 10 mg, 바람직하게는 1 mg 내지 3 mg 을 사용하고, 아지드 당사슬 옥사졸린체는 2 당량 내지 과잉 당량, 바람직하게는 4 당량 내지 20 당량 사용하였다. 반응 종료 후, 어피니티 크로마토그래피 (HiTrap rProtein A FF (5 ml) (GE 헬스 케어 제조)) 및 하이드록시 아파타이트 칼럼 (Bio-Scale Mini CHT Type I 카트리지 (5 ml) (BIO-RAD 제조)) 으로 정제하고, 당사슬 리모델링 항체 (3d) 를 얻었다.
- [0952] 상기의 당사슬 리모델링 항체의 조제에 있어서, 항체 수용액의 농축, 농도 측정, 그리고 버퍼 교환은, 후술하는 공통 조작 A 내지 C 에 따라서 실시할 수 있다.
- [0953] 또한, SG 형의 아지드 당사슬 옥사졸린체는 W02018/003983 에 기재된 방법에 준하여 합성하였다. 일례로서 $[N_3\text{-PEG}(3)]_2\text{-SG}(10)\text{-Ox}$ (W02018/003983 에 기재된 화합물 1-10) 의 합성 방법을 다음 식에 나타낸다.

[0954]

[화학식 104]

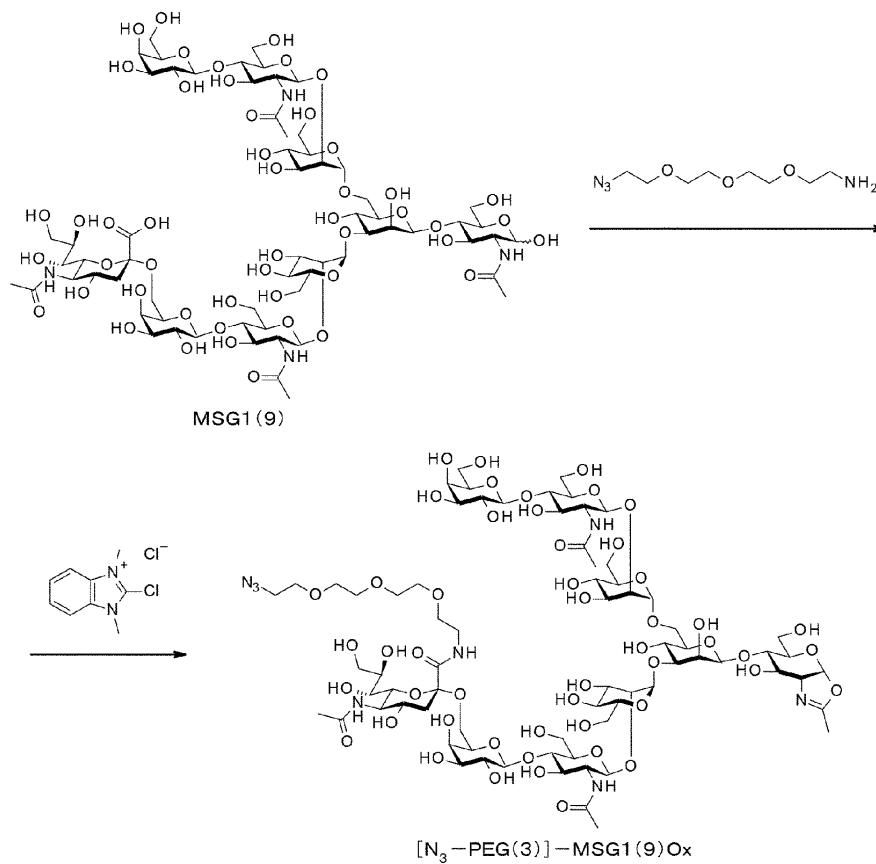


[0955]

[0956]

MSG 형의 아지드 당사슬 옥사졸린체도 W02018/003983 에 기재된 방법에 준하여 합성하였다. 일례로서 [N₃-PEG(3)]-MSG1(9)-Ox (W02018/003983 에 기재된 화합물 1-11) 의 합성 방법을 다음 식에 나타낸다.

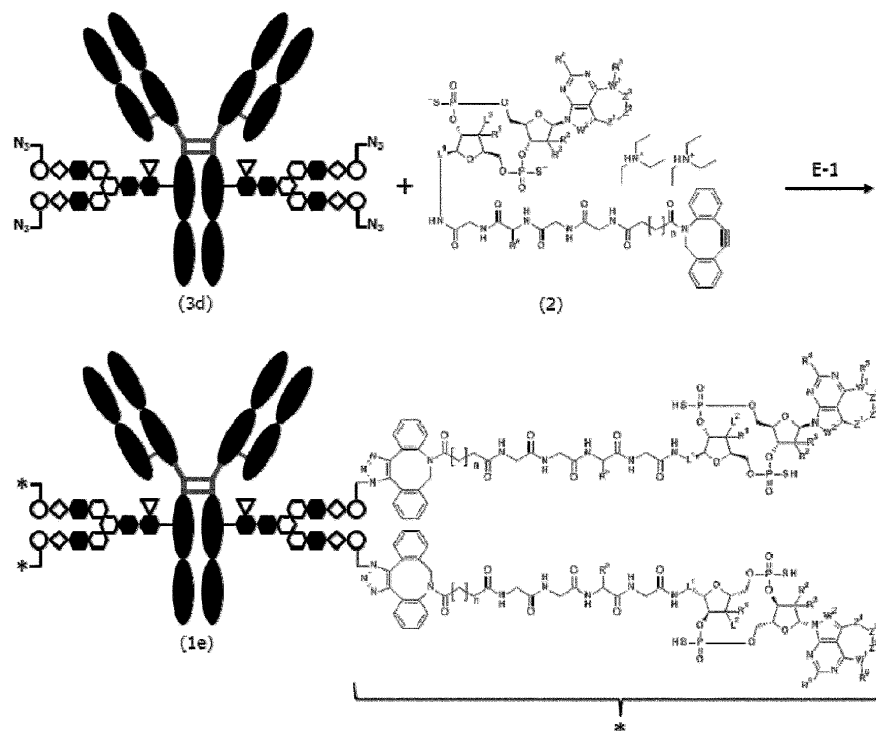
[0957] [화학식 105]



[0958]

[0959] E 법 : 항체와 약물의 콘쥬게이션 (당사슬 콘쥬게이션 1)

[0960] [화학식 106]



[0961]

[0962] (여기서, 항체 약물 콘쥬게이트 (1e) 의 좌측의 2 개의 아스테리스크 (*) 는 우측의 아스테리스크로 나타내는

약물 링커 부분을 나타낸다.)

[0963] 본 제조법은, D 법 D-2 공정에서 얻어진 당사슬 리모델링 항체 (3d) 와 B 법 B-4 공정에서 얻어진 콘쥬게이션 전구체 (2) 를 SPAAC (strain-promoted azide-alkyne cycloaddition : J. Am. Chem. Soc. 2004, 126, 15046-15047) 반응에 의해 결합시켜, 항체 약물 콘쥬게이트 (1e) 를 제조하는 방법이다.

[0964] (E-1 공정)

[0965] 당사슬 리모델링 항체 (3d) 의 완충 용액 (인산 완충액, 아세트산 완충액, 붕산 완충액 등) 과, 콘쥬게이션 전구체 (2) 를 적당한 용매 (디메틸설폭시드, N,N-디메틸포름아미드, N,N-디메틸아세트아미드, N-메틸피롤리돈, 프로필렌글리콜 또는 그들의 혼합 용매) 에 용해시킨 용액을 혼합함으로써, SPAAC 반응을 실시하였다. 콘쥬게이션 전구체 (2) 는, 당사슬 리모델링 항체 (3d) 1 몰에 대하여, 2 몰 내지 과잉 몰, 바람직하게는 4 몰 내지 30 몰이며, 유기 용매의 비율은, 항체의 완충 용액에 대하여 1 % 내지 200 % (v/v) 가 바람직하다. 반응 온도는 0 ℃ 내지 37 ℃, 바람직하게는 15 ℃ 내지 25 ℃ 이며, 반응 시간은 1 시간 내지 150 시간, 바람직하게는 6 시간 내지 72 시간이다. 반응 용액의 pH 는 5 내지 9 가 바람직하다. 반응 용액을 후술하는 공통 조작 D 에 기재된 방법에 따라서 정제하고, 항체 약물 콘쥬게이트 (1e) 를 얻었다.

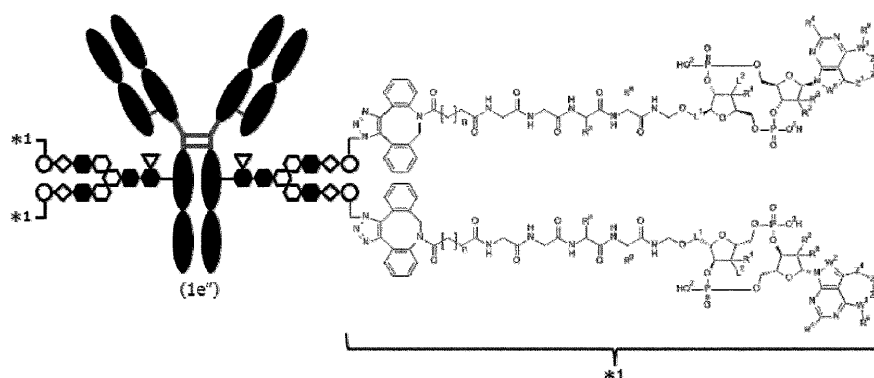
[0966] E' 법 : 항체와 약물의 콘쥬게이션 (시스테인 콘쥬게이션)

[0967] 시스테인 콘쥬게이션을 갖는 본 발명의 항체 약물 콘쥬게이트는, 참고예 1 등에 따라서 조제한 목적으로 하는 항체와 B' 법 B-8 공정에서 얻어진 말레이미드기를 갖는 콘쥬게이션 전구체 (2') 를 사용하여, W02014/057687 등에 기재된 방법에 준하여 제조할 수 있다.

[0968] E'' 법 : 항체와 약물의 콘쥬게이션 (당사슬 콘쥬게이션 2)

[0969] E 법에 있어서, 콘쥬게이션 전구체 (2) 를 C' 법 C'-8 공정에서 얻어진 콘쥬게이션 전구체 (3') 로 바꿈으로써, 다음 식에 나타내는 항체 약물 콘쥬게이트 (1e'') 를 얻었다.

[0970] [화학식 107]



[0971]

[0972] (여기서, 항체 약물 콘쥬게이트 (1e'') 의 좌측의 2 개의 아스테리스크 (*1) 는 우측의 아스테리스크로 나타내는 약물 링커 부분을 나타낸다.)

[0973] 항체 약물 콘쥬게이트는, 후술하는 공통 조작 D 내지 G 에 의해 버퍼 교환, 정제, 항체 농도의 측정 및 항체 1 분자당의 약물 평균 결합수의 측정을 실시하고, 항체 약물 콘쥬게이트의 동정 (同定) 을 실시할 수 있다.

[0974] 공통 조작 A : 항체 수용액의 농축

[0975] Amicon (등록상표) Ultra 원심식 필터 디바이스 (50,000 NMWL, Merck Millipore Ltd.) 에 항체 또는 항체 약물 콘쥬게이트 용액을 넣고, 원심기 (Allegra X-15R, Beckman Coulter, Inc.) 를 사용한 원심 조작 (2000 G 내지 4000 G 로 5 분간 내지 20 분간 원심) 에 의해, 항체 및 항체 약물 콘쥬게이트 용액을 농축하였다.

[0976] 공통 조작 B : 항체의 농도 측정

[0977] UV 측정기 (Nanodrop 1000, Thermo Fisher Scientific, Inc.) 를 사용하여, 메이커 규정의 방법에 따라서, 항체 농도의 측정을 실시하였다. 그 때에, 항체마다 상이한 280 nm 흡광 계수 ($1.3 \text{ mg}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 내지 1.8 mg^{-1})

cm^{-1}) 를 사용하였다.

[0978] 공통 조작 C : 항체의 버퍼 교환

[0979] 항체 수용액에 완충액 (인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0), 인산 완충액 (pH 6.0) 등) 을 첨가하고, 공통 조작 A 에 기재된 방법에 따라서 농축하였다. 이 조작을 수 회 실시한 후, 공통 조작 B 에 기재된 방법에 따라서 항체 농도를 측정하였다. 이 항체 완충 용액에, 적절히 완충액 (인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0), 인산 완충액 (pH 6.0) 등) 을 첨가하여, 목적으로 하는 농도 (예를 들어, 약 10 mg/ml) 의 항체 완충 용액을 조제하였다.

[0980] 공통 조작 D : 항체 약물 콘주게이트의 정제 (겔 여과 크로마토그래피)

[0981] 아세트산 완충액 (10 mM Acetate Buffer, 5 % Sorbitol, pH 5.5 ; 본 명세서에서는 ABS 라고 칭한다) 또는 그 이외의 적당한 완충액으로 NAP 칼럼 (NAP-5, NAP-10, NAP-25 (GE 헬스 케어 제조)) 을 평형화시켰다. 이 NAP 칼럼에, 항체 약물 콘주게이트 반응 용액을 차지하고, 메이커 규정량의 완충액을 자연 유하시켜, 항체 획분을 분취하였다. 이 획분을 재차 NAP 칼럼에 차지하고, 메이커 규정량의 완충액을 자연 유하시켜, 항체 획분을 분취하였다. 이 조작을 합계 2 회 내지 3 회 반복함으로써, 미결합의 약물 링커나 디메틸술폭시드, 프로필렌글리콜을 제외한 항체 약물 콘주게이트를 얻었다. 필요에 따라, 공통 조작 A 및 C 에 의해 항체 약물 콘주게이트 용액의 농도를 조절하였다.

[0982] 공통 조작 E : 항체 약물 콘주게이트에 있어서의 항체 농도 및 항체 1 분자당의 약물 평균 결합수의 측정 (UV 법)

[0983] 항체 약물 콘주게이트에 있어서의 결합 약물 농도는, 흡광 광도계 (UV/VIS Spectrometer Lambda 25, PerkinElmer, Inc.) 를 사용하여, 항체 약물 콘주게이트 수용액의 280 nm 및 260 nm (260 nm 이외의 파장을 사용하는 경우도 있다) 의 2 파장에 있어서의 흡광도를 측정한 후에, 하기의 계산을 실시함으로써 산출할 수 있다. 어느 파장에 있어서의 전체 흡광도는 계내에 존재하는 모든 흡수 화학종의 흡광도의 합에 동일 (흡광도의 가성성) 하기 때문에, 항체와 약물의 콘주게이션 전후에 있어서, 항체 및 약물의 몰 흡광 계수에 변화가 없다고 가정하면, 항체 약물 콘주게이트에 있어서의 항체 농도 및 약물 농도는, 하기의 관계식으로 나타낸다.

[0984] $A_{280} = A_{D, 280} + A_{A, 280} = \epsilon_{D, 280}C_D + \epsilon_{A, 280}C_A$ 식 (I)

[0985] $A_{260} = A_{D, 260} + A_{A, 260} = \epsilon_{D, 260}C_D + \epsilon_{A, 260}C_A$ 식 (II)

[0986] 여기서, A_{280} 은 280 nm 에 있어서의 항체 약물 콘주게이트 수용액의 흡광도를 나타내고, A_{260} 은 260 nm 에 있어서의 항체 약물 콘주게이트 수용액의 흡광도를 나타내고, $A_{A, 280}$ 은 280 nm 에 있어서의 항체의 흡광도를 나타내고, $A_{A, 260}$ 은 260 nm 에 있어서의 항체의 흡광도를 나타내고, $A_{D, 280}$ 은 280 nm 에 있어서의 콘주게이트 전구체의 흡광도를 나타내고, $A_{D, 260}$ 은 260 nm 에 있어서의 콘주게이트 전구체의 흡광도를 나타내고, $\epsilon_{A, 280}$ 은 280 nm 에 있어서의 항체의 몰 흡광 계수를 나타내고, $\epsilon_{A, 260}$ 은 260 nm 에 있어서의 항체의 몰 흡광 계수를 나타내고, $\epsilon_{D, 280}$ 은 280 nm 에 있어서의 콘주게이트 전구체의 몰 흡광 계수를 나타내고, $\epsilon_{D, 260}$ 은 260 nm 에 있어서의 콘주게이트 전구체의 몰 흡광 계수를 나타내고, C_A 는 항체 약물 콘주게이트에 있어서의 항체 농도를 나타내고, C_D 는 항체 약물 콘주게이트에 있어서의 약물 농도를 나타낸다. 여기서, $\epsilon_{A, 280}$, $\epsilon_{A, 260}$, $\epsilon_{D, 280}$, $\epsilon_{D, 260}$ 은, 사전에 준비한 값 (계산 추정값 또는 실측값) 이 사용된다. 예를 들어, $\epsilon_{A, 280}$ 은, 항체의 아미노산 서열로부터, 이미 알려진 계산 방법 (Protein Science, 1995, vol. 4, 2411-2423) 에 의해 추정할 수 있다. $\epsilon_{A, 260}$ 은, 항체의 UV 측정으로부터 얻어진 실측값과 $\epsilon_{A, 280}$ 의 추정값으로부터 계산한 값을 사용하였다. 실시예에 있어서, 개변 항HER2 항체의 몰 흡광 계수는, $\epsilon_{A, 280} = 215380$ 및 $\epsilon_{A, 260} = 110117$ 을 사용하였다. 개변 항 LPS 항체의 몰 흡광 계수는, $\epsilon_{A, 280} = 227300$ 및 $\epsilon_{A, 260} = 110710$ 을 사용하였다. $\epsilon_{D, 280}$ 및 $\epsilon_{D, 260}$ 은, 사용하는 콘주게이트 전구체를 어느 몰 농도로 용해시킨 용액의 흡광도를 측정함으로써, 램버트·비어의 법칙 (흡광도 = 몰 농도 $\times$ 몰 흡광 계수 $\times$ 셀 광로 길이) 에 의해, 얻을 수 있다. 실시예에 있어서의 콘주게이트 전구체의 몰 흡광 계수는, 그때마다 UV 측정으로 얻었다. 항체 약물 콘주게이트 수용액의 A_{280} 및 A_{260} 을 측정하고, 이들 값을 식 (I) 및 (II) 에 대입하여 연립 방정식을 풀음으로써, C_A 및 C_D 를 구할 수 있다. 또

한 C_D 를 C_A 로 나눔으로써, 항체 1 분자당의 약물 평균 결합수를 구할 수 있다.

- [0987] 공통 조작 F : 항체 약물 콘주게이트에 있어서의 항체 농도 및 항체 1 분자당의 약물 평균 결합수의 측정 (역상 고속 액체 크로마토그래피법 : RP-HPLC)
- [0988] 항체 약물 콘주게이트에 있어서의 항체 농도 및 항체 1 분자당의 약물 평균 결합수는, 전술한 공통 조작 E 에 더하여, 이하의 방법을 사용하는 고속 액체 크로마토그래피 분석에 의해 구할 수 있다.
- [0989] [F-1. HPLC 분석용 샘플의 조제 (항체 약물 콘주게이트의 환원)]
- [0990] 항체 약물 콘주게이트 용액 (약 1 mg/ml, 60 μ l) 을 디티오프레이톨 (DTT) 수용액 (100 mM, 15 μ l) 과 혼합하였다. 혼합물을 37 $^{\circ}$ C 에서 30 분간 인큐베이트하여, 항체 약물 콘주게이트의 L 사슬 및 H 사슬 사이의 디설파이드 결합을 절단하였다. 이 반응 용액을 그대로 HPLC 분석에 사용하였다.
- [0991] [F-2. HPLC 분석]
- [0992] 대표적인 분석 조건은 하기하는 바와 같음.
- [0993] HPLC 시스템 : Agilent 1290 HPLC 시스템 (Agilent Technologies)
- [0994] 검출기 : 자외 흡광도계 (측정 파장 : 280 nm)
- [0995] 칼럼 : Acquity BEH Phenyl (2.1 $\times$ 50 mm, 1.7 μ m, Waters 제조)
- [0996] 칼럼 온도 : 75 $^{\circ}$ C
- [0997] 유속 : 0.8 ml/분
- [0998] 샘플 주입량 : 10 μ l
- [0999] 이동상 A : 0.1 % 트리플루오로아세트산 (TFA), 15 % 이소프로필알코올 수용액
- [1000] 이동상 B : 0.075 % TFA, 15 % 이소프로필알코올아세트니트릴 용액
- [1001] 그라디언트 프로그램 (이동상 B) : 14 % - 36 % (0 분 - 15 분), 36 % - 80 % (15 - 17 분), 80 % - 14 % (17 분 - 17.1 분), 14 % - 14 % (17.1 분 - 23 분)
- [1002] [F-3. 데이터 해석]
- [1003] [F-3-1] 약물이 결합하고 있지 않은 항체의 L 사슬 (L0) 및 H 사슬 (H0) 에 대하여, 약물이 결합한 H 사슬 (약물이 1 개 결합한 H 사슬 : H1, 약물이 2 개 결합한 H 사슬 : H2) 은, 결합한 약물의 수에 비례하여 소수성이 증가하여 유지 시간이 커지기 때문에, 원칙적으로 L0, H0, H1, H2 의 순서로 용출된다. L0 및 H0 의 유지 시간을 비교함으로써 검출 피크를 L0, H0, H1, H2 중 어느 것에 할당할 수 있다.
- [1004] [F-3-2] 약물 링커에 UV 흡수가 있기 때문에, 약물 링커의 결합수에 따라, H 사슬 및 약물 링커의 몰 흡광 계수를 사용하여 하기 식에 따라서 피크 면적의 보정을 실시하였다.

수학식 1

- [1005]
$$H \text{ 사슬 피크 면적 보정값 (HPA}_i\text{)} = \text{피크 면적} \times \frac{H \text{ 사슬의 몰 흡광 계수}}{H \text{ 사슬의 몰 흡광 계수} + \text{결합 약물수} \times \text{약물 링커의 몰 흡광 계수}}$$

- [1006] 여기서, 각 항체에 있어서의 L 사슬 및 H 사슬의 몰 흡광 계수 (280 nm) 는, 공통 조작 E 에 기재한 이미 알려진 계산 방법으로 산출한 추정값을 사용하였다. 개변 항HER2 항체의 경우, L 사슬의 몰 흡광 계수로서 26213 을, H 사슬의 몰 흡광 계수로서 81478 을 사용하였다. 마찬가지로 개변 항LPS 항체의 경우, L 사슬의 몰 흡광 계수로서 27703 을, H 사슬의 몰 흡광 계수로서 85948 을 사용하였다. 약물 링커의 몰 흡광 계수 (280 nm) 는, SPAAC 반응에서의 콘주게이션인 경우에는, 콘주게이션 전구체의 실측값을 사용하고, 시스테인 콘주게이션인 경우에는, 각 콘주게이션 전구체를 메르캅토포에탄올 또는 N-아세틸시스테인으로 반응시키고, 말레이미드기를 숙신이미디티오에테르로 변환한 화합물의 실측값을 사용하였다.
- [1007] [F-3-3] 피크 면적 보정값 합계에 대한 각 사슬 피크 면적비 (%) 를 하기 식에 따라서 계산하였다.

수학식 2

[1008]
$$\text{H사슬 피크면적비 (\%HPA}_1\text{)} = \frac{\text{HPA}_1}{\text{HPA}_0 + \text{HPA}_1 + \text{HPA}_2} \times 100$$

[1009] [F-3-4] 항체-약물 콘쥬게이트에 있어서의 항체 1 분자당의 약물 평균 결합수 (DAR) 를, 하기 식에 따라서 계산하였다.

수학식 3

[1010]
$$\text{약물 평균 결합수 (DAR)} = \frac{0 \times \% \text{HPA}_0 + 1 \times \% \text{HPA}_1 + 2 \times \% \text{HPA}_2}{100} \times 2$$

[1011] [F-3-5] 항체-약물 콘쥬게이트에 있어서의 항체 농도를, 하기 식에 따라서 계산하였다.

수학식 4

[1012]
$$\text{항체 농도 (C}_A\text{)} [\text{mg/mL}] = \frac{\text{항체 약물 결합체의 흡광도} \times \text{희석 배수} \times \text{항체의 분자량}}{\text{항체의 몰 흡광 계수} + \text{약물 평균 결합수} \times \text{약물 링커의 몰 흡광 계수}}$$

[1013] 여기서 항체 약물 복합체의 흡광도 (280 nm) 는, 항체 약물 콘쥬게이트 수용액의 실측값을 사용하였다. 희석 배수는, 흡광도를 측정할 때에 항체 약물 콘쥬게이트 수용액을 몇 배로 희석했는지를 나타내며, 통상적으로 4 배 희석이다. 항체의 몰 흡광 계수 (280 nm) 는, 공통 조작 E 에 기재한 이미 알려진 계산 방법으로 산출한 추정값을 사용하였다. 약물 평균 결합수는 [F-3-4] 에서 얻어진 값을 사용하였다. 약물 링커의 몰 흡광 계수 (280 nm) 는, SPAAC 반응에 의한 콘쥬게이션인 경우에는, 콘쥬게이션 전구체의 실측값을 사용하고, 시스테인 콘쥬게이션인 경우에는, 각 약물 링커를 메르캅토에탄올 또는 N-아세틸시스테인으로 반응시키고, 말레이미드기를 숙신이미드티오에테르로 변환한 화합물의 실측값을 사용하였다.

[1014] 공통 조작 G : 항체 약물 콘쥬게이트에 있어서의 항체 농도 및 항체 1 분자당의 약물 평균 결합수의 측정 (소수성 상호 작용 - 고속 액체 크로마토그래피법 : HI - HPLC)

[1015] 항체 약물 콘쥬게이트에 있어서의 항체 농도 및 항체 1 분자당의 약물 평균 결합수는, 전술한 공통 조작 E 및 F 에 더하여, 이하의 방법을 사용하는 고속 액체 크로마토그래피 분석에 의해 구할 수 있다.

[1016] [G-1. HPLC 분석용 샘플의 조제]

[1017] 항체 약물 콘쥬게이트 용액 (약 1 mg/ml, 60 μ l) 을 그대로 HPLC 분석에 사용하였다.

[1018] [G-2. HPLC 분석]

[1019] 대표적인 분석 조건은 하기의 두가지.

[1020] HPLC 시스템 : SHIMADZU CBM-20A (시마즈 제작소)

[1021] 검출기 : 자외 흡광도계 (측정 파장 : 280 nm)

[1022] 칼럼 : TSK-gel Butyl-NPR (4.6 $\times$ 100 mm, 2.5 μ m, TOSOH 제조)

[1023] 칼럼 온도 : 25 $^{\circ}$ C 부근의 일정 온도

[1024] 이동상 A : 1.5 M 황산암모늄 함유 25 mM 인산 완충액 (pH = 7.0)

[1025] 이동상 B : 25 mM 인산 완충액 (pH = 7.0)/이소프로필알코올 혼합액 (3 : 1)

[1026] 유속 : 0.8 ml/분

- [1027] 샘플 주입량 : 15 μl
- [1028] 그라디언트 프로그램 (이동상 B) : 10 % - 15 % (0 분 - 5 분), 15 % - 65 % (5 분 - 20 분)
- [1029] 또는
- [1030] HPLC 시스템 : SHIMADZU CBM-20A (시마즈 제작소)
- [1031] 검출기 : 자외 흡광도계 (측정 파장 : 280 nm)
- [1032] 칼럼 : PolyPROPYL A (4.6 $\times$ 100 mm, 3 μm , 1500 Å, PolyLC 제조)
- [1033] 칼럼 온도 : 40 $^{\circ}\text{C}$ 부근의 일정 온도
- [1034] 이동상 A : 1.5 M 황산암모늄 함유 20 mM 인산 완충액 (pH = 7.4)
- [1035] 이동상 B : 20 mM 인산 완충액 (pH = 7.4)
- [1036] 유속 : 0.8 ml/분
- [1037] 샘플 주입량 : 15 μl
- [1038] 그라디언트 프로그램 (이동상 B) : 40 % - 80 % (0 분 - 20 분)
- [1039] [G-3. 데이터 해석]
- [1040] [G-3-1] 항체에 결합한 약물의 수에 비례하여 소수성이 증가하여 유지 시간이 커지기 때문에, SPAAC 반응에 의한 콘쥬게이션인 경우에는, 원칙적으로 DAR = 0, DAR = 2, DAR = 4 의 순서로 용출된다. DAR = 0 과의 유지 시간을 비교함으로써, 검출 피크를 DAR = 2 및 DAR = 4 중 어느 하나에 할당할 수 있다. 항체나 약물 링커의 종류에 의존하여 DAR = 1 및 DAR = 3 의 피크가 검출되는 경우도 있다. 검출 피크의 DAR 은, HI-HPLC 로 당해 피크를 분획 후, 매스 스펙트럼을 측정하여 추정하는 경우도 있다.
- [1041] [G-3-2] 약물 링커에 UV 흡수가 있기 때문에, 약물 링커의 결합수에 따라, 항체 및 약물 링커의 물 흡광 계수를 사용하여 하기 식에 따라서 피크 면적값의 보정을 실시하였다.

수학식 5

$$\text{항체 피크 면적 보정값 (WPA}_i\text{)} = \text{피크 면적} \times \frac{\text{항체의 물 흡광 계수}}{\text{항체의 물 흡광 계수} + \text{결합 약물수} \times \text{약물 링커의 물 흡광 계수}}$$

[1042]

[1043] 여기서, 항체의 물 흡광 계수 (280 nm) 는, 공통 조작 E 에 기재한 이미 알려진 계산 방법으로 산출한 추정값을 사용하였다. 약물 링커의 물 흡광 계수 (280 nm) 는, 콘쥬게이션 전구체의 실측값을 사용하였다.

[1044] [G-3-3] 피크 면적 보정값 합계에 대한 항체 피크 면적비 (%) 를 하기 식에 따라서 계산하였다.

수학식 6

$$\text{항체 피크 면적비 (\%WPA}_i\text{)} = \frac{\text{WPA}_i}{\text{WPA}_0 + \text{WPA}_1 + \text{WPA}_2 + \text{WPA}_3 + \text{WPA}_4} \times 100$$

[1045]

[1046] [G-3-4] 항체-약물 콘쥬게이트에 있어서의 항체 1 분자당의 약물 평균 결합수를, 하기 식에 따라서 계산하였다.

수학식 7

$$\text{약물 평균 결합수 (DAR)} = \frac{0 \times \% \text{WPA}_0 + 1 \times \% \text{WPA}_1 + 2 \times \% \text{WPA}_2 + 3 \times \% \text{WPA}_3 + 4 \times \% \text{WPA}_4}{100}$$

[1047]

- [1048] [G-3-5] 항체-약물 콘주게이트에 있어서의 항체 농도는, [F-3-5] 에 기재된 식에 따라서 계산하였다. 그 때, 약물 평균 결합수는 [G-3-4] 에서 얻어진 값을 사용하였다.
- [1049] 본 발명의 신규 CDN 유도체, 항체 약물 콘주게이트 또는 그들 제조 중간체에는, 입체 이성체 혹은 부제 탄소 원자에서 유래하는 광학 이성체, 기하 이성체, 호변 이성체 또는 d 체, l 체, 아트로프 이성체 등의 광학 이성체가 존재하는 경우도 있지만, 이들 이성체, 광학 이성체 및 이들 혼합물 모두 본 발명에 포함된다.
- [1050] 본 발명의 항체 약물 콘주게이트에 있어서, 항체 1 분자에 대한 약물의 결합수는, 그 유효성, 안전성에 영향을 미치는 중요 인자이다. 항체 약물 콘주게이트의 제조는, 약물의 결합수가 일정한 수가 되도록, 반응시키는 원료·시약의 사용량 등의 반응 조건을 규정하여 실시되지만, 저분자 화합물의 화학 반응과는 달리, 상이한 수의 약물이 결합한 혼합물로서 얻어지는 것이 통상적이다. 항체 1 분자에 대한 약물의 결합수는 평균값, 즉, 평균 약물 결합수 (DAR) 로서 특정할 수 있다. 항체 분자에 대한 고리형 디뉴클레오타이드 유도체의 결합수는 컨트롤 가능하고, 1 항체당의 약물 평균 결합수로서, 1 내지 10 의 범위의 고리형 디뉴클레오타이드 유도체를 결합시킬 수 있지만, 바람직하게는 1 내지 8 개이며, 보다 바람직하게는 1 내지 5 개이다.
- [1051] 본 발명의 항체 약물 콘주게이트에 있어서, 항체 Ab 가, 항체 Ab 의 리모델링 된 당사슬로부터 L 에 결합하고 있는 경우, 항체 약물 콘주게이트에 있어서의 항체 1 분자당의 약물 결합수 m^2 는 1 또는 2 의 정수이다. 당해 당사슬이 N297 당사슬이고, 당사슬이 N297-(Fuc)SG 인 경우, m^2 는 2 이고, DAR 은 3 ~ 5 의 범위 (바람직하게는, 3.2 ~ 4.8 의 범위이며, 보다 바람직하게는, 3.5 ~ 4.2 의 범위) 이다. N297 당사슬이 N297-(Fuc)MSG1, N297-(Fuc)MSG2 또는 N297-(Fuc)MSG1 과 N297-(Fuc)MSG2 의 혼합물인 경우, m^2 는 1 이고, DAR 은 1 ~ 3 의 범위 (바람직하게는, 1.0 ~ 2.5 의 범위, 보다 바람직하게는, 1.2 ~ 2.2 의 범위) 이다.
- [1052] 또한, 당업자이면 본원의 실시예의 기재로부터 항체에 필요한 수의 약물을 결합시키는 반응을 설계할 수 있고, 고리형 디뉴클레오타이드 유도체의 결합수를 컨트롤 한 항체를 취득할 수 있다.
- [1053] 또한, 본 발명의 CDN 유도체, 항체 약물 콘주게이트, 그들의 제조 중간체는, 대기 중에 방치하거나, 또는 재결정함으로써, 수분을 흡수하여, 흡착수가 묻거나, 수화물이 되는 경우가 있으며, 그와 같은 물을 포함하는 화합물 및 염도 본 발명에 포함된다.
- [1054] 본 발명의 CDN 유도체, 항체 약물 콘주게이트, 그들의 제조 중간체가, 아미노기 등의 염기성 기를 갖는 경우, 원하는 바에 따라 의약적으로 허용되는 염으로 할 수 있다. 그러한 염으로는, 예를 들어 염산염, 요오드화 수소산염 등의 할로젠 화수소산염 ; 질산염, 과염소산염, 황산염, 인산염 등의 무기산염 ; 메탄술폰산염, 트리플루오로메탄술폰산염, 에탄술폰산염 등의 저급 알칸술폰산염 ; 벤젠술폰산염, p-톨루엔술폰산염 등의 아릴술폰산염 ; 포름산, 아세트산, 말산, 푸마르산염, 숙신산염, 시트르산염, 타르타르산염, 옥살산염, 말레산염 등의 유기산염 ; 및 오르니틴산염, 글루타민산염, 아스파르트산염 등의 아미노산염을 들 수 있다.
- [1055] 본 발명의 CDN 유도체 또는 항체 약물 콘주게이트는, 인산기 및/또는 티오 인산기를 그 구조에 포함하기 때문에, 일반적으로 염기 부가 염을 형성하는 것이 가능하다. 또, 그들의 제조 중간체가, 카르복시기 등의 산성기를 갖는 경우에도, 일반적으로 염기 부가 염을 형성하는 것이 가능하다. 의약적으로 허용되는 염으로는, 예를 들어, 나트륨염, 칼륨염, 리튬염 등의 알칼리 금속염 ; 칼슘염, 마그네슘염 등의 알칼리 토금속염 ; 암모늄염 등의 무기염 ; 디벤질아민염, 모르폴린염, 페닐글리신알킬에스테르염, 에틸렌디아민염, N-메틸글루카민염, 디에틸아민염, 트리에틸아민염, 시클로헥실아민염, 디시클로헥실아민염, N,N'-디벤질에틸렌디아민염, 디에탄올아민염, N-벤질-N-(2-페닐에톡시)아민염, 피페라진염, 테트라메틸암모늄염, 트리스(하이드록시메틸)아미노메탄염 등의 유기 아민염, 등을 들 수 있다.
- [1056] 본 발명의 CDN 유도체, 항체 약물 콘주게이트, 그들의 제조 중간체는, 공기중의 수분을 흡수하는 것 등에 의해 수화물로서 존재하는 경우도 있다. 본 발명의 용매화물로는, 의약적으로 허용할 수 있는 것이면 특별히 한정되지 않지만, 구체적으로는, 수화물, 에탄올화물, 2-프로판올화물 등이 바람직하다. 또, 본 발명의 CDN 유도체, 항체 약물 콘주게이트, 그들의 제조 중간체 중에 질소 원자가 존재하는 경우에는 N-옥사이드체로 되어 있어도 되고, 이들 용매화물 및 N-옥사이드체도 본 발명의 범위에 포함된다. 또, 본 발명의 CDN 유도체, 항체 약물 콘주게이트, 그들의 제조 중간체 중에 황 원자가 존재하는 경우에는 술폰시드체로 되어 있어도 되며, 이들 용매화물 및 술폰시드체도 본 발명의 범위에 포함된다.
- [1057] 또, 본 발명에는, 각종 방사성 또는 비방사성 동위체로 라벨된 화합물도 포함된다. 본 발명의 CDN 유도체, 항체 약물 콘주게이트, 그들의 제조 중간체를 구성하는 원자의 1 이상에, 원자 동위체의 비천연 비율도 함유할

수 있다. 원자 동위체로는, 예를 들어, 중수소 (2H), 트리튬 (3H), 요오드-125 (125I) 또는 탄소-14 (14C) 등을 들 수 있다. 또, 본 발명 화합물은, 예를 들어, 트리튬 (3H), 요오드-125 (125I) 또는 탄소-14 (14C)와 같은 방사성 동위체로 방사성 표지될 수 있다. 방사성 표지된 화합물은, 치료 또는 예방제, 연구 시약, 예를 들어, 어세이 시약, 및 진단제, 예를 들어, 인비보 화상 진단제로서 유용하다. 본 발명의 항체 약물 콘주게이트의 모든 동위체 변이종은, 방사성 유무를 묻지 않고, 본 발명의 범위에 포함된다.

[1058] <4. 의약>

[1059] 본 발명의 CDN 유도체 또는 항체 약물 콘주게이트는, 암세포에 대하여 항종양 면역 활성 또는 세포 상해 활성을 나타내기 때문에, 의약으로서, 특히 암에 대한 치료제 및/또는 예방제, 또는 항종양제로서 사용할 수 있다.

[1060] 본 발명의 CDN 유도체 또는 항체 약물 콘주게이트가 적용되는 암의 종류로는, 폐암 (비소세포 폐암, 소세포 폐암 등), 신장암, 요로 상피암, 대장암, 전립선암, 다형 신경교아종, 난소암 (표층 상피성 종양, 간질성 종양, 배세포 종양 등), 췌암, 유방암, 멜라노마, 간암, 방광암, 위암, 식도암, 자궁체암, 정소암 (세미노마, 비세미노마), 자궁경암, 태반 용모암, 다형 신경교아종, 뇌종양, 두정부암, 갑상선암, 중피종, 소화관 간질 종양 (Gastrointestinal Stromal Tumor, GIST), 담낭암, 담관암, 부신암, 유극세포암, 백혈병, 악성 림프종, 형질 세포종, 골수종, 육종 등을 들 수 있지만, 항체 약물 콘주게이트에 대해서는, 치료 대상이 되는 암세포에 있어서 항체 약물 콘주게이트 중의 항체를 인식할 수 있는 단백질을 발현하고 있는 암세포이면 이들에는 한정되지 않는다.

[1061] 본 발명의 CDN 유도체 또는 항체 약물 콘주게이트는, 포유 동물에 대하여 적합하게 투여할 수 있지만, 보다 바람직하게는 인간이다.

[1062] 본 발명의 CDN 유도체 또는 항체 약물 콘주게이트가 포함되는 의약 조성물에 있어서 사용되는 물질로는, 투여량이나 투여 농도에 있어서, 이 분야에 있어서 통상적으로 사용되는 제제 첨가물 그 외로부터 적절히 선택하여 적용할 수 있다.

[1063] 본 발명의 CDN 유도체 또는 항체 약물 콘주게이트는, 1 종 이상의 약학적으로 적합성의 성분을 포함하는 의약 조성물로서 투여될 수 있다. 예를 들어, 상기 의약 조성물은, 대표적으로는, 1 종 이상의 약학적 캐리어 (예를 들어, 멸균한 액체 (예를 들어, 물 및 기름 (식유, 동물, 식물, 또는 합성 기원의 기름 (예를 들어, 낙화생유, 대두유, 광유, 참기름 등))을 포함한다))를 포함한다. 물은, 상기 의약 조성물이 정맥내 투여되는 경우에, 보다 대표적인 캐리어이다. 식염수 용액, 그리고 텍스트로스 수용액 및 글리세롤 수용액도 또한, 액체 캐리어로서, 특히, 주사용 용액을 위해서 사용될 수 있다. 적절한 약학적 부형제는, 당해 분야에서 공지이다. 상기 조성물은 또한, 원한다면, 미량의 습윤제 혹은 유화제, 또는 pH 완충화제를 포함할 수 있다. 적절한 약학적 캐리어의 예는, E. W. Martin 에 의한 「Remington's Pharmaceutical Sciences」에 기재된다. 그 처방은, 투여의 양태에 대응한다.

[1064] 여러 가지 송달 시스템이 공지이며, 본 발명의 CDN 유도체 또는 항체 약물 콘주게이트를 투여하기 위해서 사용될 수 있다. 도입 방법으로는, 피내, 근육내, 복강내, 정맥내, 및 피하의 경로를 들 수 있지만, 이들에 한정되지 않는다. 투여는, 예를 들어, 주입 또는 볼러스 주사에 의한 것일 수 있다. 특정한 바람직한 실시형태에 있어서, 상기 CDN 유도체 또는 항체 약물 콘주게이트의 투여는, 주입에 의한 것이다. 비경구적 투여는, 바람직한 투여 경로이다.

[1065] 대표적 실시형태에 있어서, 상기 항체 약물 콘주게이트를 포함하는 의약 조성물은, 인간에 대한 정맥내 투여에 적합한 의약 조성물로서, 상습적 순서에 따라서 처방된다. 대표적으로는, 정맥내 투여를 위한 조성물은, 멸균 등장성의 수성 완충액 중의 용액이다. 필요한 경우, 상기 의약은 또한, 가용화제 및 주사 부위에서의 동통을 완화시키기 위한 국소 마취제 (예를 들어, 리그노카인)를 포함할 수 있다. 일반적으로, 상기 성분은, 예를 들어, 활성제의 양을 나타내는 앰플 또는 사체 등의 밀봉하여 시일된 용기 중의 건조 동결 건조 분말 또는 무수의 농축물로서, 별개로, 또는 단위 제형 중에서 함께 혼합하여, 중 어느 것으로 공급된다. 상기 의약 조성물이 주입에 의해 투여될 예정인 경우, 그것은, 예를 들어, 멸균의 제약 그레이트의 물 또는 식염수를 포함하는 주입 보틀로 투약될 수 있다. 상기 의약이 주사에 의해 투여되는 경우, 주사용 멸균수 또는 식염수의 앰플은, 예를 들어, 상기 성분이 투여 전에 혼합될 수 있도록, 제공될 수 있다. 상기 의약 조성물은, 용액으로서 제공되는 경우도 있다.

[1066] 본 발명의 의약 조성물에는 본원의 CDN 유도체 또는 항체 약물 콘주게이트만을 포함하는 의약 조성물이어도 되고, CDN 유도체 또는 항체 약물 콘주게이트 및 적어도 하나의 이것 이외의 암 치료제를 포함하는 의약 조성물이

어도 된다. 본 발명의 CDN 유도체 또는 항체 약물 콘주게이트는, 다른 암 치료제와 함께 투여할 수도 있으며, 이에 따라 항암 효과를 증강시킬 수 있다. 이와 같은 목적으로 사용되는 다른 항암제는, CDN 유도체 또는 항체 약물 콘주게이트와 동시에, 따로 따로, 혹은 연속해서 개체에 투여되어도 되고, 각각의 투여 간격을 바꾸어 투여해도 된다. 이와 같은 암 치료제로서, abraxane, carboplatin, cisplatin, gemcitabine, irinotecan (CPT-11), paclitaxel, pemetrexed, sorafenib, vinblastin 또는 국제 공개 제W02003/038043호 판플렛에 기재된 약제, 또한 LH-RH 아날로그 (류프로렐린, 고세렐린 등), 에스트라무스틴·포스페이트, 에스트로겐 길항약 (타목시펜, 라록시펜 등), 아로마타제 저해제 (아나스트로졸, 레트로졸, 엑세메스탄 등), 면역 체크포인트 저해약 (니보르맵, 이필리뮤맵 등) 등을 들 수 있지만, 항종양 활성을 갖는 약제이면 한정되지는 않는다.

[1067] 이와 같은 의약 조성물은, 선택된 조성과 필요한 순도를 갖는 제제로서, 동결 건조 제제 혹은 액상 제제로서 제제화하면 된다. 동결 건조 제제로서 제제화할 때, 이 분야에 있어서 사용되는 적당한 제제 첨가물이 포함되는 제제여도 된다. 또 액제에 있어서도 동일하게 하여, 이 분야에 있어서 사용되는 각종 제제 첨가물을 포함하는 액상 제제로서 제제화할 수 있다.

[1068] 의약 조성물의 조성 및 농도는 투여 방법에 따라라도 변화하지만, 본 발명의 의약 조성물에 포함되는 항체 약물 콘주게이트는, 항체 약물 콘주게이트의 항원에 대한 친화성, 즉, 항원에 대한 해리 정수 (定數) (K_d 값)의 점에 있어서, 친화성이 높을 (K_d 값이 낮을) 수록, 소량의 투여량이라도 약효를 발휘시킬 수 있다. 따라서, 항체 약물 콘주게이트의 투여량의 결정에 있어서는, 항체 약물 콘주게이트와 항원의 친화성의 상황에 기초하여 투여량을 설정할 수도 있다. 본 발명의 CDN 유도체 또는 항체 약물 콘주게이트를 인간에 대하여 투여할 때에는, 예를 들어, 약 0.001 ~ 100 mg/kg 을 1 회 혹은 1 ~ 180 일간에 1 회의 간격으로 복수 회 투여하면 된다.

[1069] 이하 본 발명을 실시예에서 설명하지만 본 발명은 이들에 한정되는 것은 아니다.

[1070] 실시예

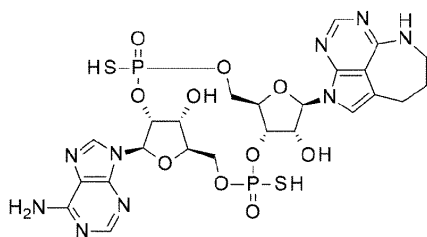
[1071] 이하의 실시예에 있어서, 실온은 15 °C 내지 35 °C 를 나타낸다. 탈수 아세토니트릴은, 칸토 화학에서 판매되고 있는 아세토니트릴 (탈수) -Super- 또는 와코 준야쿠 공업에서 판매되고 있는 아세토니트릴 (초탈수) 을 사용하였다. 피리딘은, 칸토 화학에서 판매되고 있는 피리딘 (탈수) -Super- 를 사용하였다. 실리카 겔 크로마토그래피는, Biotage SNAP Ultra (Biotage 제조), Chromatorex Q-Pack SI (후지 실리시아 제조) 또는 Purif-Pack-Ex SI (쇼코 사이언스 제조) 를 사용하여 실시하였다. DIOL 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피는, Chromatorex Q-pack DIOL (후지 실리시아 제조) 을 사용하여 실시하였다. C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피는, Biotage SNAP Ultra C18 (Biotage 제조) 을 사용하여 실시하였다. 아미노 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피는, Biotage SNAP Isoluate NH₂ (Biotage 제조) 를 사용하여 실시하였다. 분취 HPLC 는, SHIMADZU SPD-M10A HPLC 시스템 (시마즈 제작소) 등을 사용하여 실시하였다. 분취 칼럼은, Kinetex (5 μm, C18, 100 Å, 250 × 30.0 mm, Phenomenex 제조) 또는 Kinetex (5 μm, C18, 100 Å, 250 × 21.2 mm, Phenomenex 제조) 를 사용하였다.

[1072] 각종 스펙트럼 데이터의 측정에는 이하의 기기를 사용하였다. ¹H-NMR 스펙트럼은, JEOL ECS-400 (400 MHz), Varian 400-MR (400 MHz) 또는 Varian Unity Inova 500 (500 MHz) 을 사용하여 측정하였다. ³¹P-NMR 스펙트럼은, JEOL ECS-400 (160 MHz) 을 사용하여 측정하였다. 매스 스펙트럼은, Agilent 6130 Quadrupole LC/MS 시스템 (Agilent Technologies) 을 사용하여 측정하였다. LC/MS 의 측정은, 이하의 조건으로 실시한 [칼럼 : Develosil Combi-RP, 5 μm, 50 × 2.0 mm (노무라 화학 제조), 이동상 : 0.1 % 포름산아세토니트릴 용액/0.1 % 포름산 수용액, 0.1 % 포름산아세토니트릴 용액 : 2 % - 100 % (0 분 - 5 분 또는 0 분 -10 분)].

[1073] 실시예 1 : CDN1 의 합성

[1074] (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-아미노-9H-푸린-9-일)-15,16-디하이드록시-2,10-비스(술폰닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아졸렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

[1075] [화학식 108]



1

1a (디아스테레오머 1)

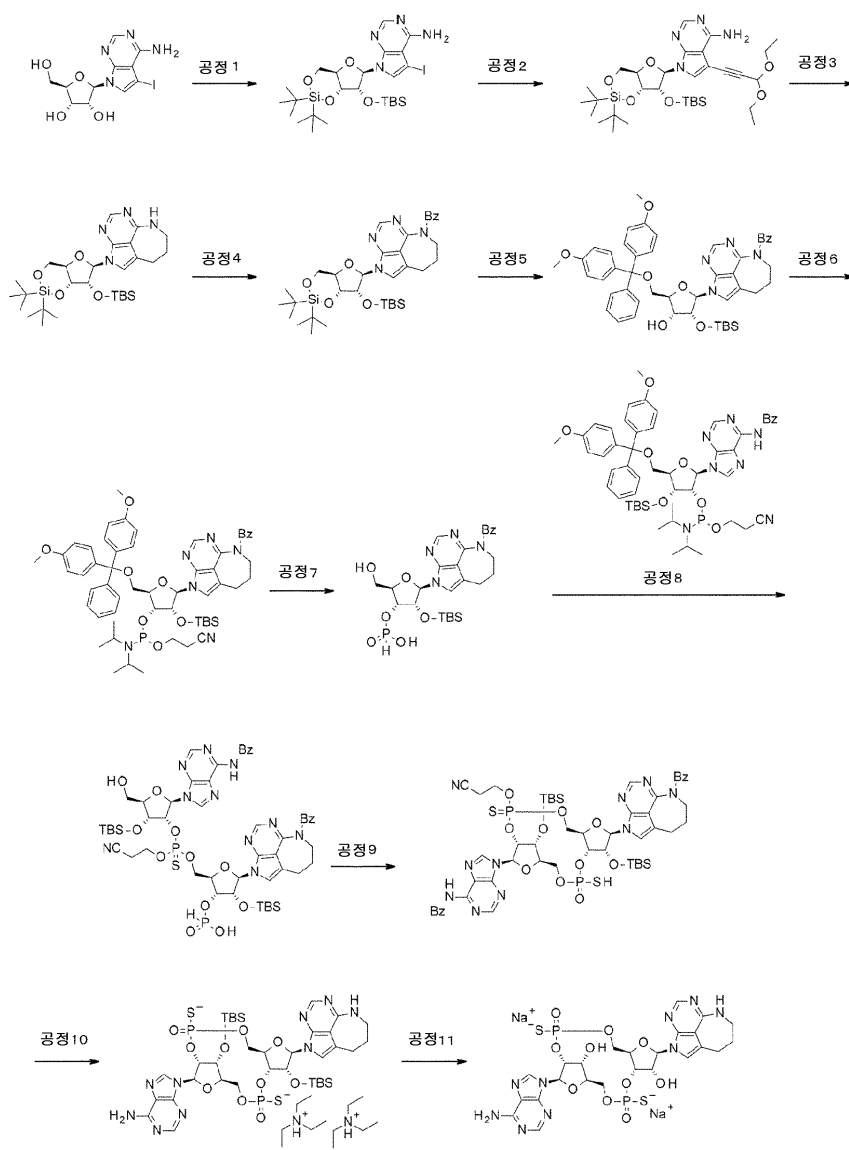
1b (디아스테레오머 2)

1c (디아스테레오머 3)

[1076]

[1077] [합성 스킴]

[1078] [화학식 109]



[1079]

[1080] (공정 1)

[1081] 7-{2-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3,5-O-(디-tert-부틸실릴리덴)-β-D-리보푸라노실}-5-요오드-7H-피콜로[2,3-d]피리미딘-4-아민

[1082] 이미 알려진 문헌 (Tetrahedron 2007, 63, 9850-9861) 의 5-요오드투베르시딘 (1.0 g) 의 N,N-디메틸포름아미드 (10 ml) 용액에, 0 °C 에서 디-tert-부틸실릴비스(트리플루오로메탄술포네이트) (1.24 ml) 를 천천히 적하한 후, 동 (同) 온도에서 30 분간 교반하였다. 이미다졸 (868 mg) 을 0 °C 에서 첨가한 후, 실온까지 승온하여 30 분간 교반하였다. 실온에서 tert-부틸디메틸클로로실란을 첨가하고, 동 온도에서 밤새 교반하였다. 반응액에 포화 탄산수소나트륨 수용액을 첨가하여 반응을 정지시킨 후, 아세트산에틸로 추출하였다. 유기층을 포화 식염수로 세정 후, 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (910 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 647 (M+H) ⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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, 4.8 Hz), 4.17 (1H, m), 4.00 (1H, t, J=9.7 Hz), 1.09 (9H, s), 1.04 (9H, s), 0.91 (9H, s), 0.13 (3H, s), 0.11 (3H, s).

[1083]

[1084] (공정 2)

[1085] 7-{2-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3,5-O-(디-tert-부틸실릴리덴)-β-D-리보퓨라노실}-5-(3,3-디에톡시프로파-1-인-1-일)-7H-피콜로[2,3-d]피리미딘-4-아민

[1086] 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (910 mg) 의 N,N-디메틸포름아미드 (3.0 ml) - 테트라하이드로퓨란 (9.0 ml) 혼합 용액에 프로파르길알데히드디메틸아세탈 (1.01 ml), 트리에틸아민 (0.392 ml), 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐(0) (163 mg), 및 요오드화구리(I) (53.6 mg) 을 차례로 첨가하고, 40 °C 에서 18 시간 교반하였다. 반응액에 포화 탄산수소나트륨 수용액과 아세트산에틸을 첨가하고, 아세트산에틸로 추출하였다. 유기층을 포화 식염수로 세정 후, 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (878 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 647 (M+H) ⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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, 4.9 Hz), 4.42 (1H, d, J=4.9 Hz), 4.25 (1H, dd, J=9.4, 4.6 Hz), 4.17 (1H, m), 4.00 (1H, t, J=9.7 Hz), 3.85-3.77 (2H, m), 3.66 (2H, m), 1.28 (6H, t, J=7.3 Hz), 1.08 (9H, s), 1.04 (9H, s), 0.91 (9H, s), 0.13 (3H, s), 0.11 (3H, s).

[1087]

[1088] (공정 3)

[1089] 2-{2-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3,5-O-(디-tert-부틸실릴리덴)-β-D-리보퓨라노실}-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌

[1090] 상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (878 mg) 의 에탄올 (8.8 ml) 용액에 10 % 팔라듐탄소 (M) wet (500 mg) 를 첨가하고, 수소 분위기하, 실온에서 9 시간 교반하였다. 촉매를 여과 제거한 후, 디클로로메탄으로 세정하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물의 아세트산 (8.8 ml) 용액에 10 % 팔라듐탄소 (M) wet (500 mg) 를

첨가하고, 수소 분위기하, 40 °C 에서 2 일간 교반하였다. 촉매를 여과 제거한 후, 디클로로메탄으로 세정하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸/0.1 % 트리에틸아민] 으로 정제하고, 표제 화합물 (603 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 561 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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, 4.8 Hz), 4.15 (1H, m), 3.99 (1H, t, J=9.7 Hz), 3.55 (2H, m), 2.89 (2H, t, J=5.4 Hz), 2.04 (2H, m), 1.09 (9H, s), 1.04 (9H, s), 0.90 (9H, s), 0.10 (3H, s), 0.10 (3H, s).

[1091]

(공정 4)

[1092]

6-벤조일-2-{2-0-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3,5-0-(디-tert-부틸실릴리덴)- β -D-리보푸라노실}-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌

[1093]

상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (2.17 g) 의 디클로로메탄 (21.7 ml) 용액에 실온에서, 피리딘 (1.56 ml), N,N-디메틸아미노피리딘 (94.5 mg), 및 염화벤조일 (0.898 ml) 을 차례로 첨가하고, 50 °C 에서 15 시간 교반하였다. 반응액에 포화 탄산수소나트륨 수용액을 첨가하여 반응을 정지시켰다. 디클로로메탄으로 추출 후, 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸/0.1 % 트리에틸아민] 으로 정제하고, 표제 화합물 (1.91 g) 을 얻었다.

[1094]

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=7.6 Hz), 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=10.0 Hz), 3.03 (2H, t, J=6.3 Hz), 2.29-2.17 (2H, m), 1.10 (9H, s), 1.05 (9H, s), 0.90 (9H, s), 0.10 (6H, s).

[1095]

(공정 5)

[1096]

6-벤조일-2-{5-0-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2-0-[tert-부틸(디메틸)실릴]- β -D-리보푸라노실}-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌

[1097]

상기 공정 4 에서 얻어진 화합물 (1.91 g) 의 디클로로메탄 (15 ml) 용액에, 0 °C 에서 조제한 불화수소-피리딘 (0.30 ml) 과 피리딘 (1.88 ml) 의 혼합액을 첨가하고, 0 °C 에서 2 시간 교반하였다. 반응액에 포화 탄산수소나트륨 수용액을 첨가하여 반응을 정지시켰다. 반응액을 디클로로메탄으로 추출한 후, 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 피리딘 (15 ml) 에 용해하고, 4,4'-디메톡시트리틸클로라이드 (1.17 g) 를 첨가하고, 0 °C 에서 12 시간 교반하였다. 메탄올을 첨가하고 30 분간 교반한 후, 포화 탄산수소나트륨 수용액을 첨가하여 반응을 정지시켰다. 반응액을 디클로로메탄으로 추출한 후, 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸/0.1 % 트리에틸아민] 으로 정제하고, 표제 화합물 (1.98 g) 을 얻었다.

[1098]

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=5.5 Hz), 4.75 (1H, t, J=5.2 Hz), 4.38-4.20 (4H, m), 3.80 (6H, s), 3.53 (1H, dd, J=10.7, 2.8 Hz), 3.40 (1H, dd, J=11.0, 3.1 Hz), 2.83 (1H, d, J=3.7 Hz), 2.78 (2H, t, J=6.4 Hz), 2.17 (2H, m), 0.81 (9H, s), -0.03 (3H, s), -0.21 (3H, s).

[1099]

[1100] (공정 6)

[1101] 6-벤조일-2-(5-0-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2-0-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3-0-((2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스파닐)- β -D-리보푸라노실]-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌

[1102] 상기 공정 5 에서 얻어진 화합물 (1.98 g) 의 디클로로메탄 (23.9 ml) 용액에 N,N-디이소프로필에틸아민 (1.02 ml) 과 2-시아노에틸N,N-디이소프로필클로로포스포로아미다이트 (1.07 ml) 를 첨가하고, 실온에서 15 시간 교반하였다. 반응액에 포화 탄산수소나트륨 수용액을 첨가하여 반응을 정지시켰다. 반응액을 디클로로메탄으로 추출 후, 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (2.06 g) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물 (디아스테레오머비 = 7 : 3) 로서 얻었다.

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=6.7 Hz), 6.31 (0.3H, d, J=6.1 Hz), 4.84 (0.7H, dd, J=7.0, 4.6 Hz), 4.78 (0.3H, t, J=5.8 Hz), 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, 3.3 Hz), 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=6.7 Hz), 2.23-2.11 (2H, m), 1.21-1.13 (7.8H, m), 1.04 (4.2H, d, J=6.7 Hz), 0.73 (2.7H, s), 0.72 (6.3H, s), -0.03 (0.9H, s), -0.06 (2.1H, s), -0.24 (3H, s).

[1103]

[1104] (공정 7)

[1105] 6-벤조일-2-{2-0-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3-0-[하이드록시(옥소)- λ^5 -포스파닐]- β -D-리보푸라노실]-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌

[1106] 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (1.37 g) 의 아세트니트릴 (6.67 ml) 용액에 물 (48 μ l) 과 트리플루오로아세

트산피리딘염 (335 mg) 을 첨가하고, 실온에서 15 분간 교반하였다. 반응액에 tert-부틸아민 (6.67 ml) 을 첨가하고, 실온에서 15 분간 교반하였다. 반응액을 감압 농축한 후, 잔류물을 아세토니트릴 (5 ml) 로 2 회 공비하였다. 잔류물의 디클로로메탄 (16.7 ml) 용액에 물 (0.240 ml) 을 첨가한 후, 디클로로아세트산 (0.953 ml) 의 디클로로메탄 (16.7 ml) 용액을 첨가하고, 실온에서 15 분간 교반하였다. 피리딘 (1.82 ml) 을 첨가하여 반응을 정지시킨 후, 반응액을 감압 농축하였다. 잔류물을 탈수 아세토니트릴 (10 ml) 로 3 회 공비하고, 마지막 1 회는 5 ml 정도의 아세토니트릴을 남겼다. 얻어진 표제 화합물의 아세토니트릴 용액을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.

[1107] (공정 8)

[1108] 시판 (ChemGenes) 되는 N-벤조일-5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-2'-O-[(2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스포닐]아데노신 (1.31 g) 을 탈수 아세토니트릴 (10 ml) 로 3 회 공비하고, 마지막 1 회는 5 ml 정도의 아세토니트릴을 남기고, 몰레큘러 시브스 3A, 1/16 (펠릿상의 것 5 립 (粒)) 을 첨가하였다. 상기 공정 7 에서 합성한 용액에, 상기 서술한 아세토니트릴 용액을 첨가하고, 질소 분위기하, 실온에서 20 분간 교반하였다. 반응액에 N,N-디메틸-N'-(3-술팜릴리덴-3H-1,2,4-디티아졸-5-일) 메탄이미드아미드 (300 mg) 를 첨가하고, 실온에서 30 분간 교반한 후, 반응액을 감압 농축하였다. 잔류물의 디클로로메탄 (19.0 ml) 용액에 물 (0.240 ml) 을 첨가한 후, 디클로로아세트산 (1.20 ml) 의 디클로로메탄 (19.0 ml) 용액을 첨가하고, 실온에서 15 분간 교반하였다. 반응액에 피리딘 (13.2 ml) 을 첨가하여 반응을 정지시킨 후, 감압 농축하였다. 얻어진 미정제 생성물을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.

[1109] (공정 9)

[1110] N-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[c,d]아줄렌-2-일)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-10-(2-시아노에톡시)-2-옥소-2-술팜닐-10-술팜닐리덴옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-9H-푸린-6-일}벤즈아미드

[1111] 상기 공정 8 에서 얻어진 미정제 생성물의 피리딘 (39.6 ml) 용액을 25 ml 정도까지 농축한 후, 2-클로로-5,5-디메틸-1,3,2λ⁵-디옥사포스포난-2-온 (908 mg) 을 첨가하고, 실온에서 30 분간 교반하였다. 반응액에 물 (0.84 ml) 과 3H-1,2-벤조디티올-3-온 (336 mg) 을 첨가하고, 실온에서 15 분간 교반하였다. 반응액을 탄산수소나트륨 (5.25 g) 의 수용액 (180 ml) 에 따르고, 실온에서 30 분간 교반한 후, 아세트산에틸로 추출하였다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조시킨 후, 건조제를 여과 제거하고 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸/메탄올] 로 정제하고, 표제 화합물 (507 mg) 을 얻은 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.

[1112] MS(ESI)m/z : 1219(M+H)⁺.

[1113] (공정 10)

[1114] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-아미노-9H-푸린-9-일)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[c,d]아줄렌-2-일) 옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[1115] 상기 공정 9 에서 얻어진 화합물 (507 mg) 의 메탄올 (5 ml) 용액에 28 % 암모니아수 (5 ml) 를 첨가하고, 실온에서 14 시간 교반하였다. 반응액을 농축 후, 잔류물을 C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴] 로 정제하고, 표제 화합물 (301 mg) 을 얻은 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.

[1116] MS(ESI)m/z : 958(M+H)⁺.

[1117] (공정 11)

[1118] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-아미노-9H-푸린-9-일)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[c,d]아줄렌-2-일) 옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵

⁵, 10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스포시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[1119] 상기 공정 10 에서 얻어진 화합물 (301 mg) 에 트리에틸아민3불화수소산염 (3.84 ml) 을 첨가하고, 45 °C 에서 3 시간 교반하였다. 실온하, 반응액에 빙랭한 1 M 탄산수소트리에틸암모늄 수용액 (20 ml) 과 트리에틸아민 (4 ml) 의 혼합액을 첨가하였다. 반응액을 감압 농축 후, C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴] 과 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴, 아세트오니트릴 : 0 % - 25 % (0 분 - 40 분)] 로 정제하고, 인 원자 상의 디아스테레오머를 분리하였다. 얻어진 화합물 (트리에틸아민염) 을 이하의 수법으로 나트륨염으로 변환하였다.

[1120] [나트륨염으로의 변환]

[1121] BT AG (등록상표) 50W-X2 Resin (biotechnology grade, 100-200 mesh, hydrogen form) (500 mg) 을 순수에 현탁하고, 빈 칼럼에 충전하였다. 과잉의 순수를 자연 유하시킨 후, 1 M 수산화나트륨 수용액 (5 ml) 과 순수 (10 ml) 를 차례로 자연 유하시켰다. 상기에서 얻어진 화합물을 순수 (5 ml) 에 용해하여 칼럼에 차지하였다. 자연 유하한 용액을 분취 후, 추가로 순수 (10 ml) 로 용출하였다. 목적물을 포함하는 획분을 아울러 동결 건조시켜, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (83.4 mg), 디아스테레오머 2 (44.8 mg), 및 디아스테레오머 3 (13.1 mg) 을 얻었다 (HPLC 의 유지 시간 : 디아스테레오머 1 > 2, 3).

[1122] 디아스테레오머 1

MS (ESI) m/z : 730 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.74 (1H, s), 8.17 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.10 (1H, s), 6.34 (1H, d, J=8.5 Hz), 6.30 (1H, d, J=4.8 Hz), 5.41-5.34 (1H, m), 5.19-5.13 (1H, m), 4.85 (1H, d, J=3.6 Hz), 4.79 (1H, t, J=4.5 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 57.9 (s), 54.5 (s).

[1123]

[1124] 디아스테레오머 2

MS (ESI) m/z : 730 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.82 (1H, s), 8.17 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.13 (1H, s), 6.35 (1H, d, J=2.4 Hz), 6.33 (1H, s), 5.50-5.43 (2H, m), 4.80 (1H, dd, J=6.7, 4.2 Hz), 4.52-4.28 (5H, m), 4.02 (1H, d, J=12.1 Hz), 3.93-3.86 (1H, m), 3.54-3.47 (2H, m), 2.95-2.88 (2H, m), 2.05-1.97 (2H, m).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 63.0 (s), 60.2 (s).

[1125]

[1126] 디아스테레오머 3

MS (ESI) m/z : 730 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 9.16 (1H, s), 8.17 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.12 (1H, s), 6.35 (1H, d, J=8.5 Hz), 6.29 (1H, d, J=6.7 Hz), 5.63-5.56 (1H, m), 5.54-5.46 (1H, m), 4.79 (1H, dd, J=6.7, 4.8 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 62.8 (s), 58.7 (s).

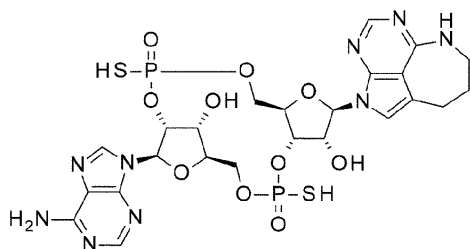
[1127]

[1128] 실시예 2 : CDN2 의 합성

[1129] (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-아미노-9H-푸린-9-일)-15,16-디하이드록시-2,10-비스(술폰닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ ⁵,10 λ ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라테신-2,10-디온

[1130] (실시예 1 에 기재한 화합물 1 의 디아스테레오머 4)

[1131] [화학식 110]

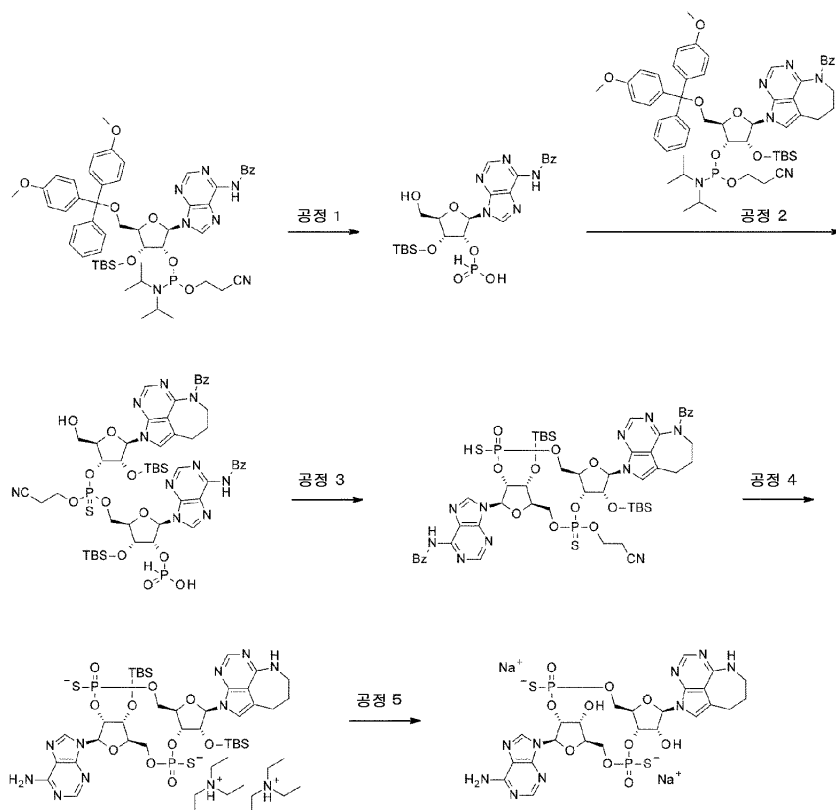


2
2a (1 의 디아스테레오머 4)

[1132]

[1133] [합성 스킴]

[1134] [화학식 111]



[1135]

[1136] (공정 1)

[1137] N-벤조일-3'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-2'-O-[하이드록시(옥소)-λ⁵-포스파닐]아데노신

[1138] 시판 (ChemGenes) 되는 N-벤조일-5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-2'-O-[(2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스파닐]아데노신 (962 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 7 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물의 아세트니트릴 용액을 얻었다. 이 아세트니트릴 용액을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.

[1139] (공정 2)

[1140] 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물과 실시예 1 공정 6 에서 얻어진 화합물 (1.00 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 8 과 동일한 수법으로 반응을 실시하였다. 얻어진 미정제 생성물을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.

[1141] (공정 3)

[1142] N-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[c,d]아줄렌-2-일)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-2-(2-시아노에톡시)-10-옥소-10-술파닐-2-술파닐리덴옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-9H-푸린-6-일}벤즈아미드

[1143] 상기 공정 2 에서 얻어진 미정제 생성물을 사용하여, 실시예 1 공정 9 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (367 mg) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.

[1144] MS(ESI)m/z : 1219(M+H)⁺.

[1145] (공정 4)

[1146] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-아미노-9H-푸린-9-일)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[c,d]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라

데신-2,10-비스(티올레이트)

- [1147] 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (367 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 10 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (115 mg : 불순물 함유) 과 디아스테레오머 4 (101 mg : 불순물 함유) 를 얻었다.
- [1148] 디아스테레오머 1 (저극성)
- [1149] MS(ESI)m/z : 958(M+H)⁺.
- [1150] 디아스테레오머 4 (고극성)
- [1151] MS(ESI)m/z : 958(M+H)⁺.
- [1152] (공정 5)
- [1153] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-아미노-9H-푸린-9-일)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [1154] (화합물 1 의 디아스테레오머 4)
- [1155] 상기 공정 4 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 4) (101 mg : 불순물 함유) 를 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제를 실시하고, 표제 화합물을 트리에틸아민 염으로서 얻었다.
- [1156] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴], 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴, 아세트오니트릴 : 5 % - 25 % (0 분 - 40 분)], 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/메탄올, 메탄올 : 5 % - 100 % (0 분 - 40 분)].
- [1157] 얻어진 트리에틸아민염을 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (28.5 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 730 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 9.11 (1H, s), 8.19 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.08 (1H, s), 6.35 (1H, d, J=8.5 Hz), 6.27 (1H, d, J=4.8 Hz), 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, 2.3 Hz), 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).

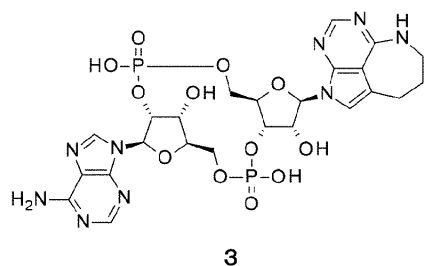
³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 58.1 (s), 54.1 (s).

[1158]

[1159] 실시예 3 : CDN3 의 합성

[1160] (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-아미노-9H-푸린-9-일)-2,10,15,16-테트라하이드록시-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

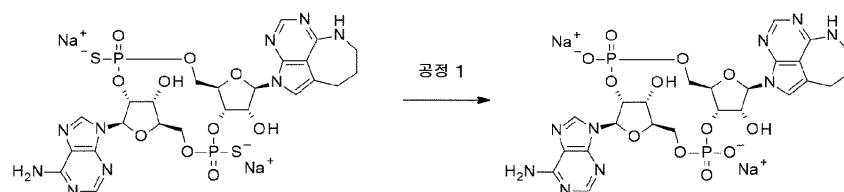
[1161] [화학식 112]



[1162]

[1163] [합성 스킴]

[1164] [화학식 113]



[1165]

[1166] (공정 1)

[1167] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-아미노-9H-푸린-9-일)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(올레이트)

[1168] 실시예 1 공정 11 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (30.0 mg) 의 아세톤 (0.5 ml) - 물 (0.2 ml) 용액에 트리에틸아민 (0.27 ml) 과 요오드메탄 (60 μl) 을 첨가하여 1 일간 교반하였다. 반응액을 감압 농축 후, 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 0 % - 20 % (0 분 - 40 분)] 로 정제하였다. 얻어진 화합물을 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (21.2 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 698 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) 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).

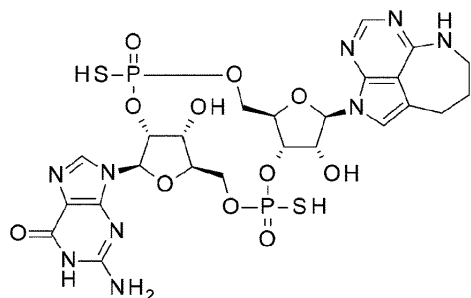
³¹P-NMR (CD₃OD) δ : -0.22 (s).

[1169]

[1170] 실시예 4 : CDN4 의 합성

[1171] (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(2-아미노-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일)-15,16-디하이드록시-2,10-비스(술팜닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

[1172] [화학식 114]



4

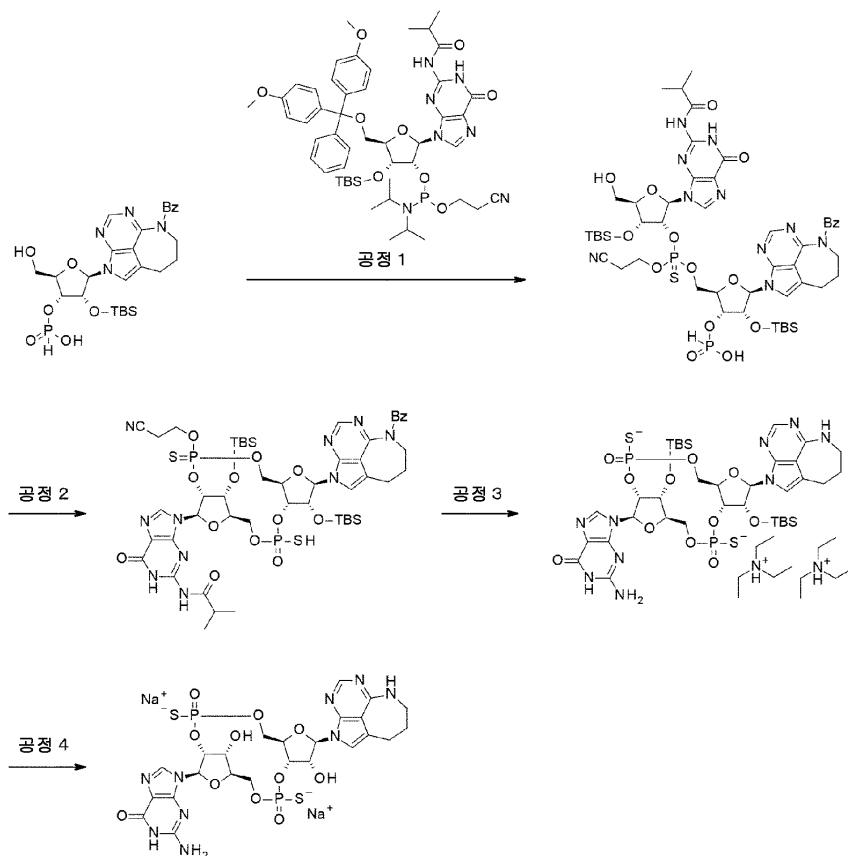
4a (디아스테레오머 1)

4b (디아스테레오머 2)

[1173]

[1174] [합성 스킴]

[1175] [화학식 115]



[1176]

[1177] (공정 1)

[1178] 실시예 1 공정 7 의 반응을 이하의 스케일로 실시하였다 (원료 : 1.01 g). 얻어진 화합물의 아세토니트릴 용액과 시판 (Wuhu Nuowei Chemistry) 되는 5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-2'-O-[(2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스포닐]-N-(2-메틸프로파노일)구아노신 (954 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 8 과 동일한 수법으로 반응을 실시하였다. 얻어진 미정제 생성물을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.

[1179] (공정 2)

[1180] N-{9-[(5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-14-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[c,d]아줄렌-2-일)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-10-(2-시아노에톡시)-2-옥소-2-술파닐-10-술파닐리

텐옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5,8-메타노-2 λ^5 , 10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-6-옥소-6,9-디하이드로-1H-푸린-2-일}-2-메틸프로판아미드

[1181] 상기 공정 1 에서 얻어진 미정제 생성물을 사용하여, 실시예 1 공정 9 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (357 mg) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.

[1182] MS(ESI) m/z : 1201(M+H)⁺.

[1183] (공정 3)

[1184] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-7-(2-아미노-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5,8-메타노-2 λ^5 , 10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[1185] 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (357 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 10 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (241 mg) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.

[1186] MS(ESI) m/z : 974(M+H)⁺.

[1187] (공정 4)

[1188] 디나트륨 (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-7-(2-아미노-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5,8-메타노-2 λ^5 , 10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[1189] 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (241 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 인 원자 상의 디아스테레오머를 분리하고, 표제 화합물의 2 종류의 디아스테레오머를 각각 트리에틸아민염으로서 얻었다.

[1190] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴] 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 5 % - 20 % (0 분 - 40 분)].

[1191] 얻어진 트리에틸아민염을 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (56.7 mg) 과 디아스테레오머 2 (25.9 mg) 를 얻었다 (HPLC 의 유지 시간 : 디아스테레오머 1 > 2).

[1192] 디아스테레오머 1 (저극성)

MS (ESI) m/z : 746 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.03 (1H, s), 8.00 (1H, s), 7.11 (1H, s), 6.27 (1H, d, J=3.0 Hz), 5.99 (1H, d, J=8.5 Hz), 5.67-5.61 (1H, m), 5.27-5.21 (1H, m), 4.85 (1H, d, J=3.6 Hz), 4.73 (1H, dd, J=3.9, 2.0 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 57.6 (s), 53.5 (s).

[1193]

[1194] 디아스테레오머 2 (고극성)

MS (ESI) m/z : 746 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.20 (1H, s), 8.01 (1H, s), 7.19 (1H, s), 6.32 (1H, d, J=6.0 Hz), 6.05 (1H, d, J=8.5 Hz), 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).

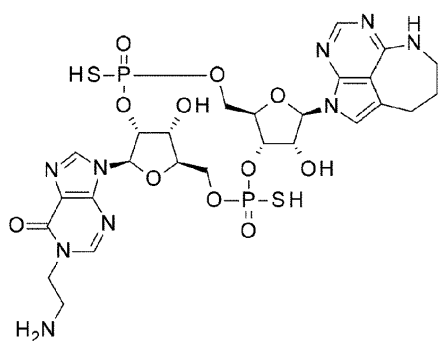
³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 61.7 (s), 59.5 (s).

[1195]

[1196] 실시예 5 : CDN5 의 합성

[1197] (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[1-(2-아미노에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-15,16-디하이드록시-2,10-비스(술폰닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

[1198] [화학식 116]



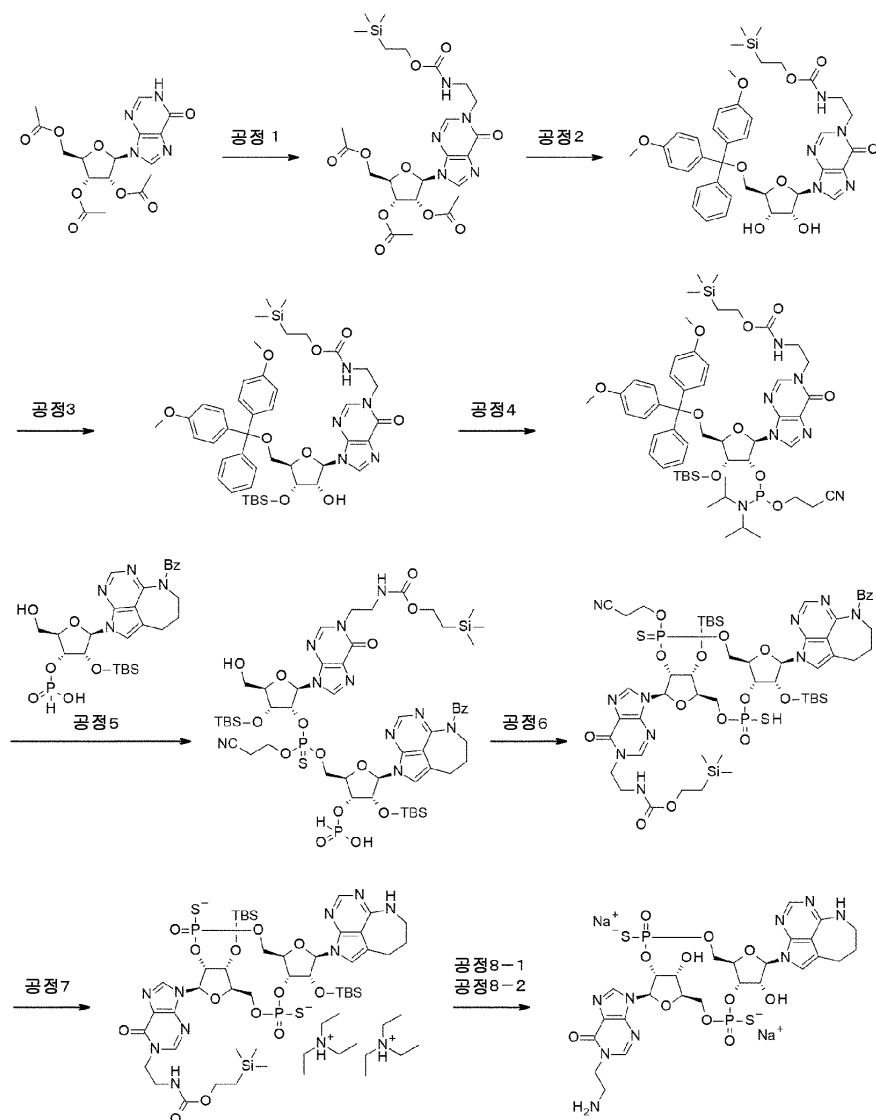
5

5a (디아스테레오머 1)
5b (디아스테레오머 2)

[1199]

[1200] [합성 스킴]

[1201] [화학식 117]



[1202]

[1203] (공정 1)

[1204] 2',3',5'-트리-O-아세틸-1-[2-({[2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐}아미노)에틸]이노신

[1205] 2',3',5'-트리-O-아세틸이노신 (5.00 g) 의 테트라하이드로푸란 (90 ml) 현탁액에, 2-(트리메틸실릴)에틸(2-하이드록시에틸)카르바메이트 (3.12 g) 와 트리페닐포스핀 (3.99 g) 을 첨가한 후, 디프로판-2-일 (E)-디아젠-1,2-디카르복실레이트 (3.05 ml) 의 테트라하이드로푸란 (10 ml) 용액을 첨가하고, 실온에서 15 시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축 후, 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸/메탄올] 로 정제하고, 표제 화합물 (3.01 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 582 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 7.96 (1H, s), 7.93 (1H, s), 6.10 (1H, d, J=4.8 Hz), 5.86 (1H, t, J=5.4 Hz), 5.58 (1H, t, J=5.1 Hz), 4.96 (1H, t, J=7.3 Hz), 4.47-4.40 (2H, m), 4.36 (1H, dd, J=13.0, 5.1 Hz), 4.24 (2H, t, J=5.4 Hz), 4.15 (2H, t, J=8.8 Hz), 3.55 (2H, q, J=6.0 Hz), 2.15 (3H, s), 2.13 (3H, s), 2.10 (3H, s), 0.97 (2H, t, J=8.8 Hz), 0.03 (9H, s).

[1206]

[1207] (공정 2)

[1208] 5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-1-[2-([2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐)아미노]에틸]이노신

[1209] 상기 공정 1에서 얻어진 화합물 (3.01 g)의 테트라하이드로푸란 (15 ml) - 메탄올 (15 ml) 용액에 탄산칼륨 (100 mg)을 첨가하고, 실온에서 2시간 교반하였다. 반응액에 아세트산 (83 μ l)을 첨가하고, 감압 농축하고, 잔류물을 피리딘으로 공비하였다. 재차 피리딘 (30 ml)에 용해 후, 0 °C에서 4,4'-디메톡시트리틸클로라이드 (2.10 g)를 첨가하고, 30분간 교반한 후, 냉장고에서 밤새 보관하였다. 반응액에 메탄올 (1ml)을 첨가하고, 30분간 교반한 후, 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸/메탄올/0.1% 트리에틸아민]으로 정제하고, 표제 화합물 (3.61 g)을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 758 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 7.92 (1H, s), 7.76 (1H, s), 7.37 (2H, d, J=7.3 Hz), 7.29-7.14 (7H, m), 6.78 (4H, d, J=8.5 Hz), 5.94 (1H, d, J=5.4 Hz), 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).

[1210]

[1211] (관측 가능한 피크만 기재)

[1212] (공정 3)

[1213] 5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-1-[2-([2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐)아미노]에틸]이노신

[1214] 상기 공정 2에서 얻어진 화합물 (3.61 g)의 디클로로메탄 (18 ml) 용액에, 이미다졸 (811 mg)과 tert-부틸(클로로)디메틸실란 (861 mg)을 첨가하고, 실온에서 17시간 교반하였다. 반응액에 포화 탄산수소나트륨 수용액을 첨가하고, 디클로로메탄으로 추출하였다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조시킨 후, 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸/0.1% 트리에틸아민]으로 정제하고, 표제 화합물 (1.61 g)과 표제 화합물의 위치 이성체인 5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-1-[2-([2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐)아미노]에틸]이노신 (1.31 g)을 각각 얻었다.

MS (ESI) m/z : 872 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 7.98 (1H, s), 7.85 (1H, s), 7.39 (2H, d, J=7.9 Hz), 7.32-7.15 (7H, m), 6.78 (4H, d, J=9.1 Hz), 5.93 (1H, d, J=4.8 Hz), 5.22-5.11 (1H, m), 4.60 (1H, q, J=5.6 Hz), 4.47 (1H, t, J=4.2 Hz), 4.28-4.08 (5H, m), 3.77 (6H, s), 3.59-3.49 (2H, m), 3.45 (1H, dd, J=10.3, 3.0 Hz), 3.26 (1H, dd, J=10.3, 3.9 Hz), 3.15-3.08 (1H, m), 0.95 (2H, t, J=8.5 Hz), 0.88 (9H, s), 0.07 (3H, s), 0.02 (9H, s), 0.00 (3H, s).

[1215]

[1216]

위치 이성체 (2'-O-TBS 체)

MS (ESI) m/z : 872 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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=5.8 Hz), 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=4.2 Hz), 0.99-0.91 (2H, m), 0.85 (9H, s), 0.03 (9H, s), 0.02 (3H, s), -0.12 (3H, s).

[1217]

[1218]

(공정 4)

[1219]

5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-2'-O-[(2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스파닐]-1-[2-([2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐)아미노]에틸]이노신

[1220]

상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (1.61 g) 의 디클로로메탄 (18.5 ml) 용액에, 4,5-디시아노이미다졸 (240 mg) 과 2-시아노에틸N,N',N'-테트라이소프로필포스포로디아미다이트 (0.703 ml) 를 첨가하고, 실온에서 15 시간 교반하였다. 반응액에 포화 탄산수소나트륨 수용액을 첨가하여 반응을 정지시켰다. 반응액을 디클로로메탄으로 추출 후, 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 DIOL 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (1.95 g) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물 (디아스테레오머비 = 61 : 39) 로서 얻었다.

MS (ESI) m/z : 1072 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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=7.3 Hz), 7.35-7.15 (7H, m), 6.85-6.77 (4H, m), 6.15 (0.61H, d, J=6.0 Hz), 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, 3.9 Hz), 3.28 (0.39H, dd, J=10.9, 4.2 Hz), 2.49 (0.78H, t, J=6.0 Hz), 2.29 (1.22H, t, J=5.7 Hz), 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).

[1221]

[1222] (공정 5)

[1223] 실시예 1 공정 7 과 동일한 반응을 이하의 스케일로 실시하였다 (원료 : 910 mg). 얻어진 화합물의 아세트 니트릴 용액과 상기 공정 4 에서 얻어진 화합물 (950 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 8 과 동일한 수법으로 반응을 실시하였다. 얻어진 미정제 생성물을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.

[1224] (공정 6)

[1225] 2-(트리메틸실릴)에틸 (2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-10-(2-시아노에톡시)-2-옥소-2-술폰닐-10-술폰닐리덴옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스포시클로테트라데신-7-일]-6-옥소-6,9-디하이드로-1H-푸린-1-일}에틸)카르바메이트

[1226] 상기 공정 5 에서 얻어진 미정제 생성물을 사용하여, 실시예 1 공정 9 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (602 mg) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.

[1227] MS(ESI) m/z : 1303(M+H)⁺.

[1228] (공정 7)

[1229] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-2,10-디옥소-7-{6-옥소-1-[2-({[2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐}아미노)에틸]-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스포시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[1230] 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (602 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 10 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (205 mg : 불순물 함유) 과 디아스테레오머 2 (244 mg : 불순물 함유) 를 얻었다.

- [1231] 디아스테레오머 1 (저극성)
- [1232] MS(ESI) m/z : 1146(M+H)⁺.
- [1233] 디아스테레오머 2 (고극성)
- [1234] MS(ESI) m/z : 1146(M+H)⁺.
- [1235] (공정 8-1)
- [1236] 디나트륨 (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aS, 16R)-7-[1-(2-아미노에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [1237] (디아스테레오머 1)
- [1238] 상기 공정 7 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (145 mg : 불순물 함유) 에 트리에틸아민3불화수소산염 (1.31 ml) 을 첨가하고, 45 °C 에서 3 시간 교반하였다. 실온하, 반응액에 병행한 1 M 탄산수소트리에틸암모늄 용액 (10 ml) 과 트리에틸아민 (2 ml) 의 혼합 용액을 첨가하였다. 반응액을 감압 농축 후, C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴] 로 정제하였다. 얻어진 화합물의 테트라하이드로푸란 (4 ml) 용액에 불화테트라부틸암모늄의 테트라하이드로푸란 용액 (약 1 M, 2 ml) 을 첨가하고, 실온에서 39 시간 교반하였다. 반응액에, 10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액 (4 ml) 을 첨가하고, 감압 농축하였다. 잔류물을 C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 5 % - 50 % (0 분 - 40 분)] 로 정제하였다. 얻어진 화합물 (트리에틸아민염) 의 염 교환을 실시할 때에, 화합물을 용해하는 용매 및 용출액의 일부에 아세트니트릴-메탄올-순수 (1 : 1 : 1) 의 혼합액을 사용하는 것 이외에는, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (72.5 mg) 을 얻었다.
- MS (ESI) m/z : 774 (M+H)⁺.
- ¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.60 (1H, s), 8.15 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.11 (1H, s), 6.26 (1H, d, J=4.8 Hz), 6.24 (1H, t, J=5.1 Hz), 5.47 (1H, dt, J=8.2, 4.2 Hz), 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=4.8 Hz), 3.31-3.26 (2H, m), 2.90-2.74 (2H, m), 2.01-1.93 (2H, m).
- ³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 57.7 (s), 54.7 (s).
- [1239]
- [1240] (공정 8-2)
- [1241] 디나트륨 (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aS, 16R)-7-[1-(2-아미노에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [1242] (디아스테레오머 2)
- [1243] 상기 공정 7 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (133 mg : 불순물 함유) 을 사용하여 상기 공정 8-1 과 동일한 수법으로 반응 및 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (55.4 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 774 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.72 (1H, s), 8.25 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.11 (1H, s), 6.31 (1H, d, J=6.7 Hz), 6.28 (1H, d, J=8.5 Hz), 5.47-5.38 (2H, m), 4.77 (1H, dd, J=6.7, 4.2 Hz), 4.48 (1H, d, J=4.2 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 62.6 (s), 60.0 (s).

[1244]

[1245]

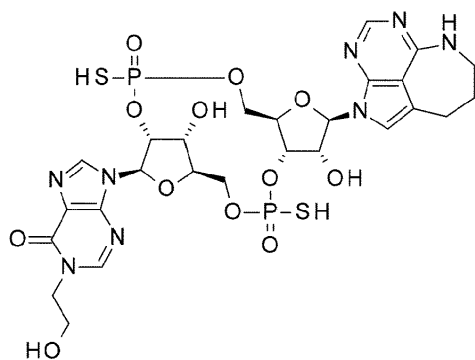
실시예 6 : CDN6 의 합성

[1246]

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-비스(술포닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스포시클로테트라데신-2,10-디온

[1247]

[화학식 118]



6

6a (디아스테레오머 1)

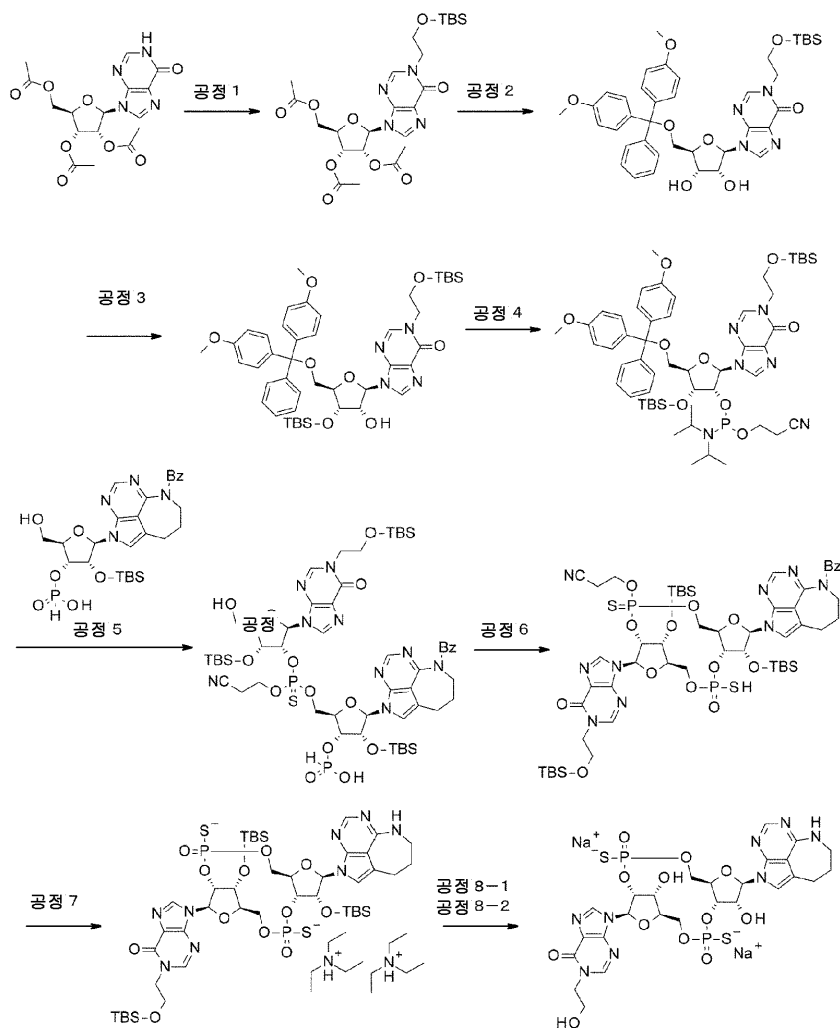
6b (디아스테레오머 2)

[1248]

[1249]

[합성 스킴]

[1250] [화학식 119]



[1251]

[1252] (공정 1)

[1253] 2',3',5'-트리-0-아세틸-1-(2-{{tert-부틸(디메틸)실릴}옥시}에틸)이노신

[1254] 시판 (Ark Pharm) 되는 2',3',5'-트리-0-아세틸이노신 (10.0 g) 의 테트라하이드로푸란 (100 ml) 현탁액에, 2-{{tert-부틸(디메틸)실릴}옥시}에탄-1-올 (5.37 g) 과 트리페닐포스핀 (7.69 g) 을 첨가한 후, 디프로판-2-일 (E)-디아젠-1,2-디카복실레이트 (6.10 ml) 를 첨가하고, 실온에서 6 시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축 후, 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸/디클로로메탄] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리페닐포스핀옥사이드와의 혼합물 (10.6 g) 로서 얻었다.

MS (ESI) m/z : 553 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 8.05 (1H, s), 7.92 (1H, s), 6.12 (1H, d, J=5.4 Hz), 5.86 (1H, t, J=5.4 Hz), 5.59 (1H, dd, J=5.4, 4.2 Hz), 4.47-4.41 (2H, m), 4.38-4.31 (1H, m), 4.22-4.17 (2H, m), 3.89 (2H, t, J=4.8 Hz), 2.15 (3H, s), 2.14 (3H, s), 2.08 (3H, s), 0.83 (9H, s), -0.06 (3H, s), -0.06 (3H, s).

[1255]

[1256] (공정 2)

[1257] 5'-0-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-1-(2-{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}에틸)이노신

[1258] 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (10.6 g) 을 사용하여, 실시예 5 공정 2 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물을 트리페닐포스핀옥사이드와의 혼합물 (7.21 g) 로서 얻었다.

MS (ESI) m/z : 729 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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=5.4 Hz), 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=4.5 Hz), 3.77 (6H, s), 3.42 (1H, dd, J=10.3, 3.6 Hz), 3.34 (1H, dd, J=10.3, 3.6 Hz), 3.10 (1H, brs), 0.83 (9H, s), -0.06 (3H, s), -0.07 (3H, s).

[1259]

[1260] (공정 3)

[1261] 5'-0-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-0-[tert-부틸(디메틸)실릴]-1-(2-{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}에틸)이노신

[1262] 상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (7.21 g) 을 사용하여, 실시예 5 공정 3 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (2.17 g) 과 표제 화합물의 위치 이성체인 5'-0-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2'-0-[tert-부틸(디메틸)실릴]-1-(2-{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}에틸)이노신 (2.55 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 843 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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=4.2 Hz), 4.56-4.50 (2H, m), 4.33-4.25 (1H, m), 4.19-4.02 (2H, m), 3.89 (2H, t, J=4.8 Hz), 3.78 (6H, s), 3.45 (1H, dd, J=10.9, 4.2 Hz), 3.27 (1H, dd, J=10.9, 4.2 Hz), 3.03 (1H, d, J=6.0 Hz), 0.88 (9H, s), 0.82 (9H, s), 0.07 (3H, s), -0.01 (3H, s), -0.07 (3H, s), -0.07 (3H, s).

[1263]

[1264] 위치 이성체 (2'-O-TBS 체)

MS (ESI) m/z : 843 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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=5.4 Hz), 4.83 (1H, t, J=5.1 Hz), 4.33-4.29 (1H, m), 4.27-4.24 (1H, m), 4.24-4.12 (2H, m), 3.90 (2H, t, J=4.5 Hz), 3.79 (3H, s), 3.78 (3H, s), 3.48 (1H, dd, J=10.3, 3.0 Hz), 3.40 (1H, dd, J=10.3, 3.0 Hz), 2.71 (1H, d, J=3.6 Hz), 0.86 (9H, s), 0.83 (9H, s), 0.01 (3H, s), -0.07 (3H, s), -0.07 (3H, s), -0.11 (3H, s).

[1265]

[1266] (공정 4)

[1267] 5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-1-(2-([tert-부틸(디메틸)실릴]옥시)에틸)-2'-O-((2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스파닐}이노신

[1268] 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (2.17 g) 을 사용하여, 실시예 5 공정 4 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (2.65 g) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.

MS (ESI) m/z : 1043 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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=4.2 Hz), 6.05 (0.47H, d, J=4.2 Hz), 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=6.0 Hz), 2.43 (1.06H, t, J=6.7 Hz), 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).

[1269]

[1270] (공정 5)

[1271] 실시예 1 공정 7 과 동일한 반응을 이하의 스케일로 실시하였다 (원료 : 935 mg). 얻어진 화합물의 아세트

니트릴 용액과 상기 공정 4 에서 얻어진 화합물 (950 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 8 과 동일한 수법으로 반응을 실시하였다. 얻어진 미정제 생성물을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.

- [1272] (공정 6)
- [1273] 3-((5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-14-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-7-[1-(2-{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2-옥소-2-술폰닐-10-술폰닐리텐옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-일}옥시)프로판니트릴
- [1274] 상기 공정 5 에서 얻어진 미정제 생성물을 사용하여, 실시예 1 공정 9 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (494 mg) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.
- [1275] MS(ESI)m/z : 1274(M+H)⁺.
- [1276] (공정 7)
- [1277] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-7-[1-(2-{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [1278] 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (494 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 10 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (88.5 mg : 불순물 함유) 과 디아스테레오머 2 (70.7 mg : 불순물 함유) 를 얻었다.
- [1279] 디아스테레오머 1 (저극성)
- [1280] MS(ESI)m/z : 1003(M-C₆H₁₅Si + 2H)⁺.
- [1281] 디아스테레오머 2 (고극성)
- [1282] MS(ESI)m/z : 1003(M-C₆H₁₅Si + 2H)⁺.
- [1283] (공정 8-1)
- [1284] 디나트륨 (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-15,16-디하이드록시-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [1285] (디아스테레오머 1)
- [1286] 상기 공정 7 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (88.5 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제를 실시하고, 표제 화합물을 트리에틸아민 염으로서 얻었다.
- [1287] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴] 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 5 % - 30 % (0 분 - 40 분)].
- [1288] 얻어진 트리에틸아민염을 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (25.7 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 775 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 57.8 (s), 54.4 (s).

[1289]

[1290] (공정 8-2)

[1291] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스포시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[1292] (디아스테레오머 2)

[1293] 상기 공정 7 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (70.7 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제를 실시하고, 표제 화합물을 트리에틸아민 염으로서 얻었다.

[1294] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴], 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 5 % - 25 % (0 분 - 40 분)], 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/메탄올, 메탄올 : 15 % - 70 % (0 분 - 40 분)].

[1295] 얻어진 트리에틸아민염을 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (17.8 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 775 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.72 (1H, s), 8.23 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.11 (1H, s), 6.30 (2H, dd, J=13.6, 7.6 Hz), 5.48-5.39 (2H, m), 4.78 (1H, dd, J=6.7, 4.2 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 62.9 (s), 60.0 (s).

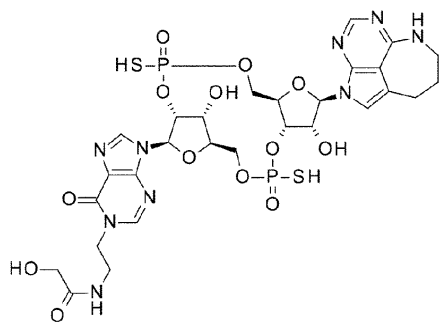
[1296]

[1297] 실시예 7 : CDN7 의 합성

[1298] N-(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-2,10-비스(술폰닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ

⁵, 10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-6-옥소-6,9-디하이드로-1H-푸린-1-일}에틸)-2-하이드록시아세트아미드

[1299] [화학식 120]

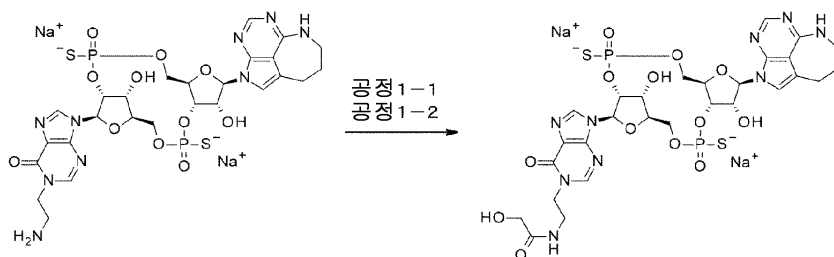


7
7a (디아스테레오머1)
7b (디아스테레오머2)

[1300]

[1301] [합성 스킴]

[1302] [화학식 121]



[1303]

[1304] (공정 1-1)

[1305] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-7-{1-[2-(2-하이드록시아세트아미드)에틸]-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일}-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[1306] (디아스테레오머 1)

[1307] 실시예 5 공정 8-1 에서 얻어진 화합물 (10.0 mg) 의 N,N-디메틸포름아미드 (0.5 ml) 용액에, 트리에틸아민 (8 μl) 과 1-[(하이드록시아세트)옥시]피롤리딘-2,5-디온 (5.3 mg) 을 첨가하고, 실온에서 2 시간 교반하였다. 반응액을 10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액으로 희석하고, C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 0 % - 30 % (0 분 - 40 분)] 로 정제하였다. 얻어진 화합물 (트리에틸아민염) 을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (10.5 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 832 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.57 (1H, s), 8.04 (1H, s), 8.03 (1H, s), 7.13 (1H, s), 6.26 (1H, d, J=4.2 Hz), 6.24-6.19 (1H, m), 5.57-5.49 (1H, m), 5.26-5.18 (1H, m), 4.80 (1H, d, J=3.6 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 57.6 (s), 54.3 (s).

[1308]

[1309]

(공정 1-2)

[1310]

디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-7-{1-[2-(2-하이드록시아세트아미드)에틸]-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일}-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[1311]

(디아스테레오머 2)

[1312]

실시예 5 공정 8-2 에서 얻어진 화합물 (30.0 mg) 을 사용하여, 상기 공정 1-1 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제를 실시하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.

[1313]

[정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴] 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 5 % - 30 % (0 분 - 40 분)].

[1314]

얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (23.6 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 832 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.69 (1H, s), 8.14 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.11 (1H, s), 6.31 (1H, d, J=6.7 Hz), 6.26 (1H, d, J=7.9 Hz), 5.49-5.40 (2H, m), 4.77 (1H, dd, J=6.7, 4.8 Hz), 4.48 (1H, d, J=4.2 Hz), 4.46-4.28 (4H, m), 4.22 (2H, t, J=5.4 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 62.7 (s), 59.9 (s).

[1315]

[1316]

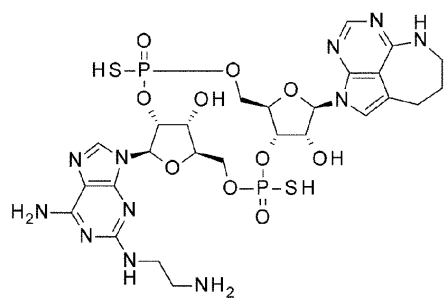
실시예 8 : CDN8 의 합성

[1317]

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{6-아미노-2-[(2-아미노에틸)아미노]-9H-푸린-9-일}-15,16-디하이드록시-2,10-비스(술팜닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-

2H, 10H, 12H-5,8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

[1318] [화학식 122]



8

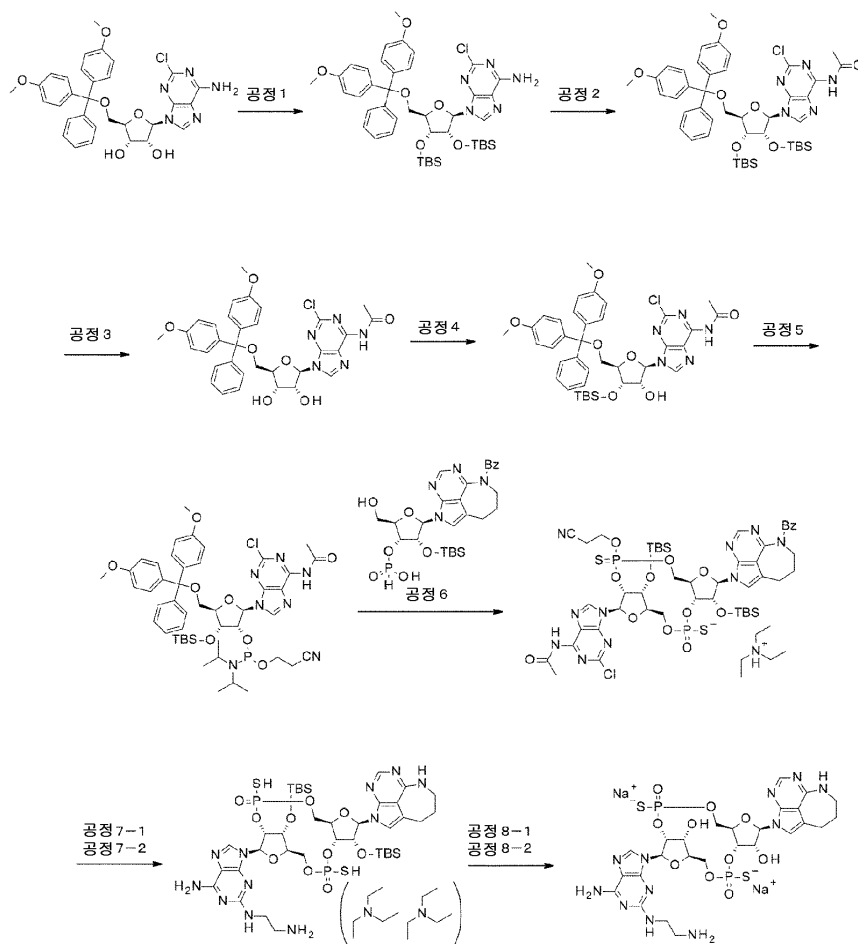
8a (디아스테레오머 1)

8b (디아스테레오머 2)

[1319]

[1320] [합성 스킴]

[1321] [화학식 123]



[1322]

[1323] (공정 1)

[1324] 5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2',3'-비스-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-2-클로로아데노신

[1325] 이미 알려진 문헌 (J. Med. Chem. 1989, 32, 1135-1140) 의 5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2-클로로아데노신 (29.1 g) 의 N,N-디메틸포르미아미드 (145 ml) 용액에, 이미다졸 (16.4 g) 과 tert-부틸디메틸클로로실란 (18.2 g) 을 첨가하고, 실온에서 18 시간 교반하였다. 반응액에 물을 첨가하여 반응을 정지시킨 후, 아세트산에틸로 추출하였다. 유기층을 포화 식염수로 세정 후, 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제

를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸/0.1 % 트리에틸아민] 으로 정제하고, 표제 화합물 (34.9 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 832 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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=4.8 Hz), 5.72 (2H, brs), 4.74 (1H, dd, J=4.5, 2.3 Hz), 4.25 (1H, dd, J=4.2, 2.3 Hz), 4.21 (1H, q, J=4.2 Hz), 3.78 (6H, s), 3.58 (1H, dd, J=10.9, 4.2 Hz), 3.33 (1H, dd, J=10.9, 4.2 Hz), 0.84 (9H, s), 0.82 (9H, s), 0.04 (3H, s), -0.01 (3H, s), -0.02 (3H, s), -0.17 (3H, s).

[1326]

[1327]

(공정 2)

[1328]

N-아세틸-5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2',3'-비스-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-2-클로로아데노신

[1329]

상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (34.9 g) 의 피리딘 (210 ml) 용액에, 무수 아세트산 (140 ml) 과 4-디메틸아미노피리딘 (515 mg) 을 첨가하고, 질소 분위기하, 실온에서 21 시간 교반하였다. 반응액을 디클로로메탄 (100 ml) 으로 희석한 후, 포화 탄산수소나트륨 수용액을 첨가하고, 디클로로메탄으로 추출하였다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조 후, 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물에 디클로로메탄 (210 ml) 과 모르폴린 (7.30 ml) 을 첨가하고, 실온에서 1 시간 교반하였다. 반응액에 포화 염화암모늄 수용액을 첨가하고, 디클로로메탄으로 추출하였다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조 후, 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸/0.1 % 트리에틸아민] 으로 정제하고, 표제 화합물 (45.4 g : 불순물 함유) 을 얻었다. 얻어진 화합물은 그 이상의 정제를 실시하지 않고 다음의 반응에 사용하였다.

¹H-NMR (CDCl₃) 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, 2.7 Hz), 5.96 (1H, d, J=4.8 Hz), 4.72-4.69 (1H, m), 4.23 (2H, brs), 3.79 (6H, s), 3.59 (1H, dd, J=10.9, 3.6 Hz), 3.35 (1H, dd, J=10.3, 3.6 Hz), 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).

[1330]

[1331]

(공정 3)

[1332]

N-아세틸-5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2-클로로아데노신

[1333]

상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (45.4 g : 불순물 함유) 의 테트라하이드로푸란 (200 ml) 용액에, 불화테트라부틸암모늄의 테트라하이드로푸란 용액 (약 1.0 M, 100 ml) 을 첨가하고, 질소 분위기하, 실온에서 3 시간 교반하였다. 반응액에 포화 염화암모늄 수용액을 첨가하고, 디클로로메탄으로 추출하였다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조 후, 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크

로마토그래피 [디클로로메탄/아세톤/0.1 % 트리에틸아민] 으로 정제하고, 표제 화합물 (23.0 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=5.4\text{ Hz}$), 4.86 (1H, t, $J=5.1\text{ Hz}$), 4.49 (1H, dd, $J=5.1, 2.7\text{ Hz}$), 4.39 (1H, q, $J=3.2\text{ Hz}$), 3.78 (3H, s), 3.77 (3H, s), 3.42 (1H, dd, $J=10.9, 3.6\text{ Hz}$), 3.35 (1H, dd, $J=10.6, 3.3\text{ Hz}$), 2.66 (3H, s).

[1334]

[1335] (공정 4)

[1336] N-아세틸-5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-2-클로로아데노신

[1337] 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (23.0 g) 의 N,N-디메틸포름아미드 (178 ml) 용액에, 이미다졸 (5.94 g) 과 tert-부틸디메틸클로로실란 (6.44 g) 을 첨가하고, 질소 분위기하, 실온에서 18 시간 교반하였다. 반응액에 포화 탄산수소나트륨 수용액을 첨가하고, 디클로로메탄으로 추출하였다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조 후, 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸/0.1 % 트리에틸아민] 으로 정제하고, 표제 화합물 (9.01 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=4.2\text{ Hz}$), 4.71–4.66 (2H, m), 4.17–4.14 (1H, m), 3.78 (6H, s), 3.49 (1H, dd, $J=10.6, 3.3\text{ Hz}$), 3.29 (1H, dd, $J=10.9, 4.2\text{ Hz}$), 3.02 (1H, d, $J=5.4\text{ Hz}$), 2.67 (3H, s), 0.89 (9H, s), 0.11 (3H, s), 0.02 (3H, s).

[1338]

[1339] (공정 5)

[1340] N-아세틸-5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-2-클로로-2'-O-((2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스포닐)아데노신

[1341] 상기 공정 4 에서 얻어진 화합물 (9.01 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 6 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (10.6 g) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물 (디아스테레오머비 = 65 : 35) 로서 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 8.40 (1H, brs), 8.31 (0.35H, s), 8.25 (0.65H, s), 7.38 (2H, d, $J=7.3\text{ Hz}$), 7.29–7.19 (7H, m), 6.80 (4H, dd, $J=9.1, 2.4\text{ Hz}$), 6.27 (0.35H, d, $J=3.0\text{ Hz}$), 6.13 (0.65H, d, $J=3.6\text{ Hz}$), 4.88–4.83 (0.65H, m), 4.69–4.65 (0.35H, m), 4.56 (1H, t, $J=4.8\text{ Hz}$), 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, $J=6.3\text{ Hz}$), 2.52 (0.7H, t, $J=6.3\text{ Hz}$), 1.16 (2.1H, d, $J=7.3\text{ Hz}$), 1.14 (3.9H, d, $J=6.0\text{ Hz}$), 1.12 (3.9H, d, $J=6.0\text{ Hz}$), 1.02 (2.1H, d, $J=6.7\text{ Hz}$), 0.83 (5.9H, s), 0.82 (3.1H, s), 0.10 (1.9H, s), 0.07 (1.1H, s), 0.01H (3H, s).

[1342]

[1343] (공정 6)

[1344] N,N-디에틸에탄아미늄 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-아세트아미드 2-클로로-9H-푸린-9-일)-14-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-10-(2-시아노에톡시)-2-옥소-10-솔파닐리덴옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2-티올레이트

[1345] 실시예 1 공정 7 과 동일한 반응을 이하의 스케일로 실시하였다 (원료 : 2.06 g). 얻어진 화합물의 아세트 니트릴 용액과 상기 공정 5 에서 얻어진 화합물 (1.98 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 8 및 실시예 1 공정 9 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (180 mg) 과 디아스테레오머 2 (167 mg : 불순물 함유) 를 얻었다.

[1346] 디아스테레오머 1 (저극성)

MS (ESI) m/z : 1191 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) 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=8.5 Hz), 6.35 (1H, d, J=3.0 Hz), 5.67-5.60 (1H, m), 5.09-5.04 (1H, m), 4.72 (1H, d, J=3.6 Hz), 4.50-4.29 (8H, m), 4.07 (1H, dd, J=12.4, 4.5 Hz), 3.91-3.83 (1H, m), 3.54-3.45 (1H, m), 3.17 (6H, q, J=7.3 Hz), 3.08 (2H, t, J=6.0 Hz), 2.45-2.42 (2H, m), 2.42 (3H, s), 2.28-2.23 (2H, m), 1.29 (9H, t, J=7.3 Hz), 1.01 (9H, s), 0.90 (9H, s), 0.29 (3H, s), 0.28 (3H, s), 0.25 (3H, s), 0.10 (3H, s).

[1347]

[1348] 디아스테레오머 2 (고극성)

[1349] MS(ESI) m/z : 1191(M+H)⁺.

[1350] (공정 7-1)

[1351] (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{6-아미노-2-[(2-아미노에틸)아미노]-9H-푸린-9-일}-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-2,10-비스(술팜닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

[1352] 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (49.6 mg) 의 메탄올 (1.28 mL) 용액에, 에틸렌디아민 (256 μ l) 을 첨가하고, 60 °C 에서 2 시간 교반한 후, 마이크로 웨이브 반응 장치를 사용하여 120 °C 에서 2 시간 반응시켰다. 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴, 아세트오니트릴 : 40 % - 70 % (0 분 - 30 분)] 로 정제하고, 표제 화합물을 (37.2 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 1016 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.27 (1H, s), 7.99 (1H, s), 7.16 (1H, s), 6.25 (1H, d, J=4.2 Hz), 6.09 (1H, d, J=8.5 Hz), 5.41-5.35 (1H, m), 5.12-5.08 (1H, m), 4.86-4.80 (2H, m), 4.69 (1H, t, J=4.5 Hz), 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).

[1353]

[1354] (공정 7-2)

[1355] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{6-아미노-2-[(2-아미노에틸)아미노]-9H-푸린-9-일}-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[1356] 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (50.0 mg : 불순물 함유) 의 메탄올 (1.29 ml) 용액에, 에틸렌디아민 (25.8 μl) 을 첨가하고, 60 °C 에서 2 시간 교반한 후, 마이크로 웨이브 반응 장치를 사용하여 120 °C 에서 2 시간 반응시켰다. 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 30 % - 50 % (0 분 - 30 분)] 로 정제하고, 표제 화합물을 (23.7 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 1016 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.16 (1H, s), 8.00 (1H, s), 7.08 (1H, s), 6.33 (1H, d, J=7.3 Hz), 6.13 (1H, d, J=8.5 Hz), 5.51-5.48 (1H, m), 5.30 (1H, t, J=4.8 Hz), 5.13-5.06 (1H, m), 4.95 (1H, d, J=4.2 Hz), 4.66-4.55 (2H, m), 4.24 (1H, s), 4.08 (1H, dd, J=12.4, 4.5 Hz), 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=5.4 Hz), 2.03-1.96 (2H, m), 1.25 (18H, t, J=7.3 Hz), 0.99 (9H, s), 0.74 (9H, s), 0.27 (6H, s), 0.18 (3H, s), -0.08 (3H, s).

[1357]

[1358] (공정 8-1)

[1359] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{6-아미노-2-[(2-아미노에틸)아미노]-9H-푸린-9-일}-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[1360] (디아스테레오머 1)

[1361] 상기 공정 7-1 에서 얻어진 화합물 (37.2 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 2 % - 20 % (0 분 - 30 분)] 로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.

[1362] 얻어진 트리에틸아민염을 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (16.5 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 788 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.21 (1H, brs), 8.01 (1H, s), 7.07 (1H, s), 6.27 (1H, d, J=3.6 Hz), 6.10 (1H, d, J=8.5 Hz), 5.51-5.41 (1H, m), 5.16-5.11 (1H, m), 4.83 (1H, d, J=3.6 Hz), 4.73 (1H, t, J=4.2 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 57.9 (s), 54.2 (s).

[1363]

[1364] (공정 8-2)

[1365] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{6-아미노-2-[(2-아미노에틸)아미노]-9H-푸린-9-일}-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[1366] (디아스테레오머 2)

[1367] 상기 공정 7-2 에서 얻어진 화합물 (23.7 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴, 아세트오니트릴 : 2 % - 20 % (0 분 - 30 분)] 로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.

[1368] 얻어진 트리에틸아민염을 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (14.9 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 788 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.27 (1H, brs), 8.02 (1H, s), 7.15 (1H, s), 6.31 (1H, d, J=6.0 Hz), 6.12 (1H, d, J=8.5 Hz), 5.45-5.33 (2H, m), 4.75 (1H, dd, J=5.7, 4.5 Hz), 4.50 (1H, d, J=4.2 Hz), 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).

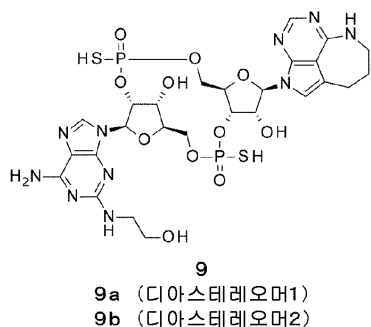
³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 62.2 (s), 59.8 (s).

[1369]

[1370] 실시예 9 : CDN9 의 합성

[1371] (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{6-아미노-2-[(2-하이드록시에틸)아미노]-9H-푸린-9-일}-15,16-디하이드록시-2,10-비스(술폰닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

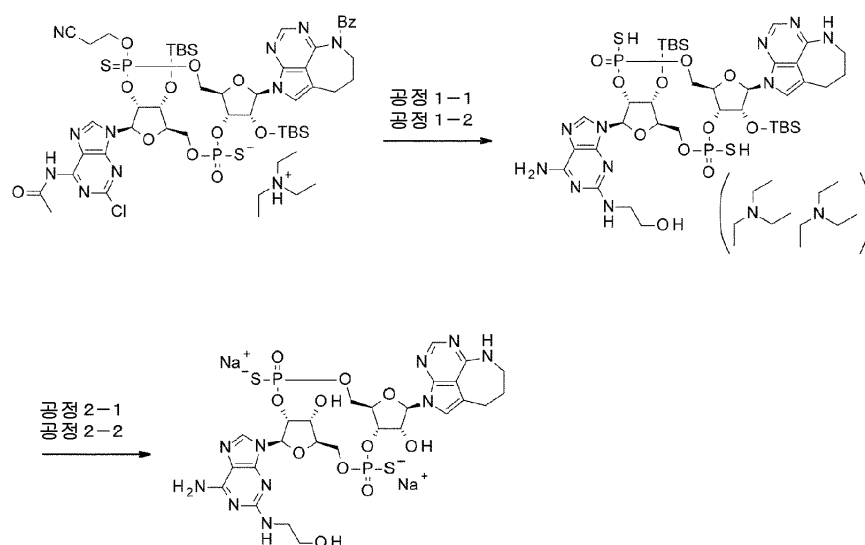
[1372] [화학식 124]



[1373]

[1374] [합성 스킴]

[1375] [화학식 125]



[1376]

[1377] (공정 1-1)

[1378] (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-7-{6-아미노-2-[(2-하이드록시에틸)아미노]-9H-푸린-9-일}-15, 16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-2, 10-비스(술폰닐)-14-(6, 7, 8, 9-테트라하이드로-2H-2, 3, 5, 6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5, 8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3, 2-1][1, 3, 6, 9, 11, 2, 10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2, 10-디온

[1379] 실시예 8 공정 6 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (50.1 mg) 의 메탄올 (1.29 ml) 용액에, 2-아미노에탄올 (258 μl) 을 첨가하고, 60 °C 에서 2 시간 교반한 후, 마이크로 웨이브 반응 장치를 사용하여 120 °C 에서 2 시간 반응시켰다. 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 용액/아세트오니트릴, 아세트오니트릴 : 20 % - 60 % (0 분 - 30 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (39.4 mg) 을 에탄올아민 유래의 화합물을 포함하는 혼합물로써 얻었다.

MS (ESI) m/z : 1017 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.32 (1H, s), 8.01 (1H, s), 7.16 (1H, s), 6.28 (1H, d, J=5.4 Hz), 6.13 (1H, d, J=9.1 Hz), 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=5.4 Hz), 3.51-3.42 (4H, m), 2.86 (2H, t, J=5.4 Hz), 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).

[1380]

[1381]

(공정 1-2)

[1382]

비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{6-아미노-2-[(2-하이드록시에틸)아미노]-9H-푸린-9-일}-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[1383]

실시에 8 공정 6 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (49.3 mg : 불순물 함유) 의 메탄올 (1.27 ml) 용액에, 2-아미노에탄올 (254 μl) 을 첨가하고, 60 °C 에서 2 시간 교반한 후, 마이크로 웨이브 반응 장치를 사용하여 120 °C 에서 3 시간 반응시켰다. 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 20 % - 60 % (0 분 - 30 분)] 로 정제하고, 표제 화합물을 (26.1 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 1017 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.25 (1H, s), 8.01 (1H, s), 7.10 (1H, s), 6.36 (1H, d, J=7.3 Hz), 6.17 (1H, d, J=7.9 Hz), 5.59-5.53 (1H, m), 5.41 (1H, t, J=4.5 Hz), 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, 4.8 Hz), 3.91-3.86 (1H, m), 3.75-3.69 (2H, m), 3.52-3.43 (4H, m), 3.14 (12H, q, J=7.3 Hz), 2.93-2.91 (2H, m), 2.04-1.99 (2H, m), 1.28 (18H, t, J=7.6 Hz), 0.99 (9H, s), 0.75 (9H, s), 0.27 (6H, s), 0.21 (3H, s), -0.05 (3H, s).

[1384]

[1385]

(공정 2-1)

[1386]

디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{6-아미노-2-[(2-하이드록시에틸)아미노]-9H-푸린-9-일}-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드

로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[1387] (디아스테레오머 1)

[1388] 상기 공정 1-1 에서 얻어진 혼합물 (39.4 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제를 실시하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.

[1389] [정제 조건] 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 2 % - 20 % (0 분 - 30 분)].

[1390] 얻어진 트리에틸아민염을 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (16.8 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 789 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.25 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.10 (1H, s), 6.30 (1H, d, J=3.6 Hz), 6.15 (1H, d, J=8.5 Hz), 5.49-5.42 (1H, m), 5.21-5.16 (1H, m), 4.87-4.85 (1H, m), 4.77 (1H, t, J=4.2 Hz), 4.50-4.35 (3H, m), 4.31 (1H, s), 4.12-4.10 (2H, m), 3.64 (2H, t, J=5.4 Hz), 3.51-3.38 (4H, m), 2.85-2.70 (2H, m), 2.02-1.94 (2H, m).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 57.8 (s), 53.9 (s).

[1391]

[1392] (공정 2-2)

[1393] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{6-아미노-2-[(2-하이드록시에틸)아미노]-9H-푸린-9-일}-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[1394] (디아스테레오머 2)

[1395] 상기 공정 1-2 에서 얻어진 화합물 (26.1 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제를 실시하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.

[1396] [정제 조건] 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 2 % - 20 % (0 분 - 30 분)].

[1397] 얻어진 트리에틸아민염을 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (18.6 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 789 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.35 (1H, s), 8.03 (1H, s), 7.17 (1H, s), 6.33 (1H, d, J=6.0 Hz), 6.16 (1H, d, J=8.5 Hz), 5.49–5.41 (2H, m), 4.80 (1H, t, J=5.4 Hz), 4.51–4.26 (5H, m), 4.07 (1H, d, J=12.7 Hz), 3.94–3.89 (1H, m), 3.67 (2H, s, J=5.7 Hz), 3.53–3.39 (4H, m), 2.89 (2H, t, J=5.4 Hz), 2.03–1.99 (2H, m).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 62.8 (s), 60.3 (s).

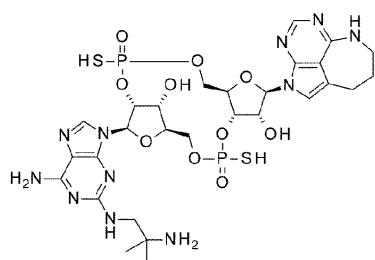
[1398]

[1399] 실시예 10 : CDN10 의 합성

[1400] (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{6-아미노-2-[(2-아미노-2-메틸프로필)아미노]-9H-푸린-9-일}-15,16-디하이드록시-2,10-비스(술포닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

[1401]

[화학식 126]



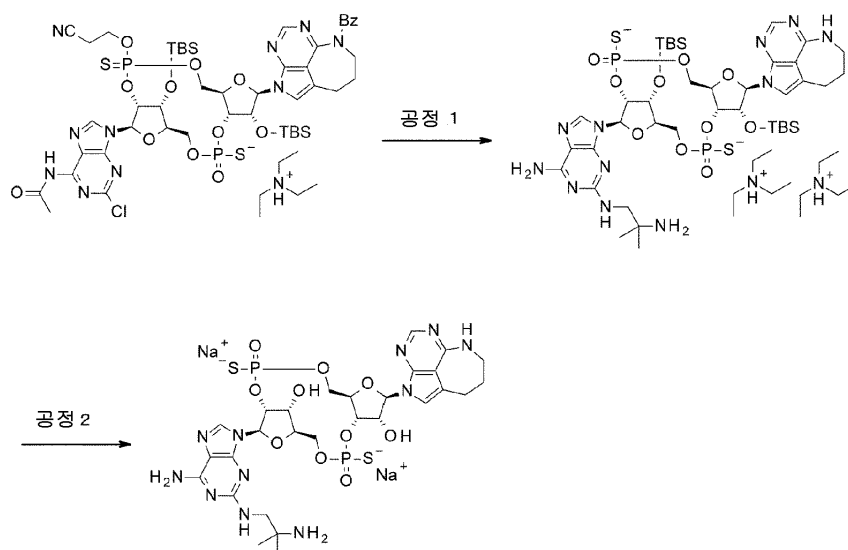
10
10a (디아스테레오머 1)

[1402]

[1403] [합성 스킴]

[1404]

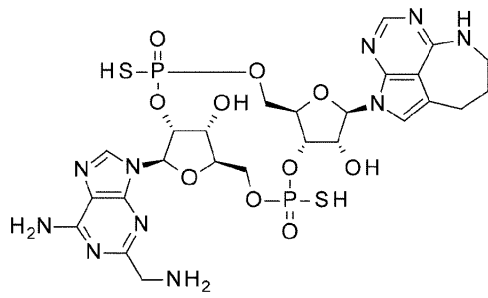
[화학식 127]



[1405]

- [1406] (공정 1)
- [1407] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{6-아미노-2-[(2-아미노-2-메틸프로필)아미노]-9H-푸린-9-일}-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [1408] 실시예 8 공정 6 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (41.0 mg) 의 메탄올 (1.10 ml) 용액에, 1,2-디아미노-2-메틸프로판 (210 μl) 을 첨가하고, 60 °C 에서 2 시간 교반한 후, 마이크로 웨이브 반응 장치를 사용하여 120 °C 에서 6 시간 반응시켰다. 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 20 % - 60 % (0 분 - 30 분)] 로 간이 정제하고, 표제 화합물을 (16.3 mg : 불순물 함유) 을 얻었다. 얻어진 화합물은 그 이상의 정제를 실시하지 않고 다음의 반응에 사용하였다.
- [1409] MS(ESI)m/z : 1044(M+H)⁺.
- [1410] (공정 2)
- [1411] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{6-아미노-2-[(2-아미노-2-메틸프로필)아미노]-9H-푸린-9-일}-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [1412] 상기 공정 1에서 얻어진 화합물 (16.3 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제를 실시하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.
- [1413] [정제 조건] 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 5 % - 25 % (0 분 - 30 분)].
- [1414] 얻어진 트리에틸아민염을 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (6.4 mg) 을 얻었다.
- MS (ESI) m/z : 816 (M+H)⁺.
- ¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.28 (1H, brs), 8.01 (1H, s), 7.05 (1H, s), 6.27 (1H, d, J=4.2 Hz), 6.15 (1H, d, J=7.9 Hz), 5.41-5.27 (1H, m), 5.13-5.08 (1H, m), 4.84 (1H, d, J=3.6 Hz), 4.73 (1H, t, J=4.5 Hz), 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, 3.3 Hz), 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).
- ³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 57.9 (s), 54.5 (s).
- [1415]
- [1416] 실시예 11 : CDN11 의 합성
- [1417] (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-[6-아미노-2-(아미노메틸)-9H-푸린-9-일]-15,16-디하이드록시-2,10-비스(술팜닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

[1418] [화학식 128]



11

11a (디아스테레오머 1)

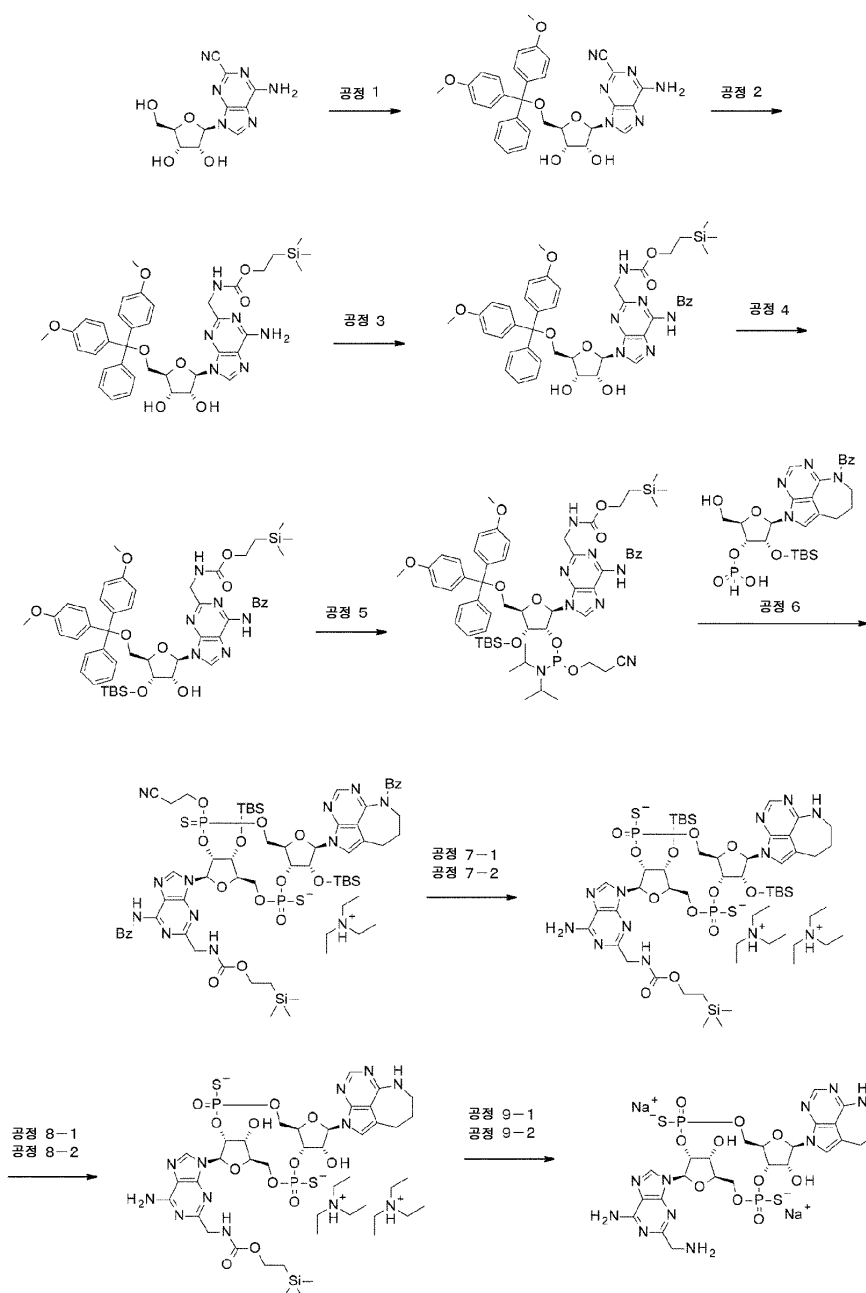
11b (디아스테레오머 2)

[1419]

[1420] [합성 스킴]

[1421]

[화학식 129]



[1422]

(공정 1)

[1423]

5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2-시아노아데노신

[1424]

이미 알려진 문헌 (J. Am. Chem. Soc. 1989, 111, 8502-8504) 의 2-시아노아데노신 (440 mg) 의 피리딘 (8.00 ml) 용액에 4,4'-디메톡시트리틸클로라이드 (642 mg) 를 첨가하고, 질소 분위기하, 실온에서 4 시간 교반하였다. 반응액에 메탄올 (10 ml) 을 첨가하여 반응을 정지시킨 후, 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸/메탄올/0.1 % 트리에틸아민] 으로 정제하고, 표제 화합물 (528 mg) 을 얻었다.

[1425]

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

[1426]

[1427]

(공정 2)

[1428]

5'-0-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2-[(2-(트리메틸실릴)에톡시)카르보닐]아미노)메틸]아데노신

[1429]

상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (14.3 g) 의 테트라하이드로푸란 (500 ml) 용액에 수소화리튬알루미늄의 테트라하이드로푸란 용액 (약 2.5 M, 29.0 ml) 을 첨가하고, 질소 분위기하, 40 °C 에서 2 시간 교반하였다. 반응액을 병행하여 포화 탄산수소나트륨 수용액 (450 ml) 을 첨가하고 10 분간 교반한 후, 1-[(2-(트리메틸실릴)에톡시)카르보닐]옥시)피롤리딘-2,5-디온 (25.0 g) 을 첨가하고, 실온에서 18 시간 반응시켰다. 포화 로셀염 수용액을 첨가하고, 2.5 시간 교반한 후, 디클로로메탄/메탄올의 혼합액으로 추출하였다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조시킨 후, 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸/0.1 % 트리에틸아민] 으로 정제하고, 표제 화합물 (10.8 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=6.0\text{ Hz}$), 5.67 (2H, brs), 5.59 (1H, brs), 4.77–4.74 (1H, m), 4.46–4.37 (4H, m), 4.21 (2H, t, $J=8.5\text{ Hz}$), 3.76 (3H, s), 3.76 (3H, s), 3.42 (1H, dd, $J=10.6, 3.3\text{ Hz}$), 3.25 (1H, dd, $J=10.6, 3.3\text{ Hz}$), 3.16 (1H, brs), 1.03 (2H, t, $J=8.5\text{ Hz}$), 0.05 (9H, s).

[1430]

[1431]

(공정 3)

[1432]

N-벤조일-5'-0-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2-[(2-(트리메틸실릴)에톡시)카르보닐]아미노)메틸]아데노신

[1433]

상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (10.8 g) 의 피리딘 (70.0 ml) 용액에 클로로트리메틸실란 (15.0 ml) 을 첨가하고, 질소 분위기하, 실온에서 2 시간 교반하였다. 반응액에 염화벤조일 (8.44 ml) 을 첨가하고, 추가로 2 시간 교반하였다. 반응액을 0 °C 까지 냉각시키고, 물 (21.0 ml) 를 첨가하여 10 분간 교반한 후, 28 % 암모니아수 (31.4 ml) 를 첨가하여 동 온도에서 추가로 20 분간 교반하였다. 실온까지 승온하여 추가로 3 시간 교반한 후, 반응액을 감압 농축하였다. 잔류물을 아세트산에틸에 현탁시키고, 고체를 여과 제거하였다. 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸/메탄올/0.1 % 트리에틸아민] 으로 정제하고, 표제 화합물 (9.47 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 847 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 9.54 (1H, brs), 8.17 (2H, d, J=6.7 Hz), 7.91 (1H, brs), 7.66-7.52 (3H, m), 7.35-7.10 (9H, m), 6.75 (4H, d, J=8.5 Hz), 6.45 (1H, brs), 6.23 (1H, brs), 6.03 (1H, d, J=6.7 Hz), 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=8.8 Hz), 0.00 (9H, s).

[1434]

[1435]

(공정 4)

[1436]

N-벤조일-5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-2-[(2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐}아미노)메틸]아데노신

[1437]

상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (9.47 g) 을 사용하여, 실시예 8 공정 4 와 동일한 수법에 의해 표제 화합물 (3.13 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 961 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 8.87 (1H, brs), 8.24 (1H, brs), 8.02 (2H, d, J=7.3 Hz), 7.64-7.51 (3H, m), 7.40-7.18 (9H, m), 6.81-6.77 (4H, m), 6.08 (1H, d, J=4.8 Hz), 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, 3.0 Hz), 3.29 (1H, dd, J=10.9, 4.2 Hz), 3.21 (1H, d, J=6.0 Hz), 1.06-1.02 (2H, m), 0.89 (9H, s), 0.09 (3H, s), 0.05 (9H, s), 0.01 (3H, s).

[1438]

[1439]

(공정 5)

[1440]

N-벤조일-5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-2'-O-[(2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스포닐]-2-[(2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐}아미노)메틸]아데노신

[1441]

상기 공정 4 에서 얻어진 화합물 (1.49 g) 의 디클로로메탄 (15.5 ml) 용액에 N,N-디이소프로필에틸아민 (1.58 ml) 과 2-시아노에틸N,N-디이소프로필클로로포스포로아미다이트 (1.04 ml) 를 첨가하고, 질소 분위기하, 실온에서 2 시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축하고, 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸/0.1 % 트리에틸아민] 및 C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [아세토니트릴 : 100 %] 로 정제하고, 표제 화합물 (1.39 g) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물 (디아스테레오머비 = 6 : 4) 로서 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 8.84 (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, $J=4.2\text{ Hz}$), 6.25 (0.6H, d, $J=4.2\text{ Hz}$), 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, $J=6.3\text{ Hz}$), 2.38 (0.8H, t, $J=6.3\text{ Hz}$), 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).

[1442]

[1443] (공정 6)

[1444]

N,N-디에틸에탄아미늄 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{6-벤즈아미드-2-[(2-(트리메틸실릴)에톡시)카르보닐]아미노}메틸]-9H-푸린-9-일}-14-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-10-(2-시아노에톡시)-2-옥소-10-솔파닐리덴옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-2-티올레이트

[1445]

실시에 1 공정 7 과 동일한 반응을 이하의 스케일로 실시하였다 (원료 : 1.94 g). 얻어진 화합물의 아세트 니트릴 용액과 상기 공정 5 에서 얻어진 화합물 (2.19 g) 을 사용하여, 실시에 1 공정 8 및 실시에 1 공정 9 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (138 mg) 과 디아스테레오머 2 (82.8 mg) 를 얻었다.

[1446] 디아스테레오머 1 (저극성)

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ : 9.08 (1H, s), 8.11 (2H, d, $J=7.3\text{ Hz}$), 7.98 (1H, s), 7.67 (1H, t, $J=7.6\text{ Hz}$), 7.57 (2H, t, $J=7.9\text{ Hz}$), 7.37 (2H, d, $J=7.9\text{ Hz}$), 7.28–7.22 (4H, m), 6.54 (1H, d, $J=8.5\text{ Hz}$), 6.36 (1H, d, $J=1.8\text{ Hz}$), 5.66–5.59 (1H, m), 5.07–5.02 (1H, m), 4.85–4.83 (1H, m), 4.72 (1H, d, $J=3.6\text{ Hz}$), 4.58–4.08 (12H, m), 3.88–3.78 (1H, m), 3.49–3.38 (1H, m), 3.21 (6H, q, $J=7.3\text{ Hz}$), 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, $J=7.6\text{ Hz}$), 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).

[1447]

[1448] 디아스테레오머 2 (고극성)

MS (ESI) m/z : 1392 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=8.5\text{ Hz}$), 6.22 (1H, d, $J=5.4\text{ Hz}$), 5.36–5.30 (1H, m), 3.20 (6H, q, $J=7.3\text{ Hz}$), 3.04–3.00 (2H, m), 2.85–2.75 (2H, m), 2.23–2.13 (2H, m), 1.30 (9H, t, $J=7.3\text{ Hz}$), 1.03 (9H, s), 0.79 (9H, s), 0.05 (9H, s).

[1449]

[1450] (관측 가능한 피크만 기재)

[1451] (공정 7-1)

[1452] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{6-아미노-2-[(2-(트리메틸실릴)에톡시)카르보닐]아미노}메틸]-9H-푸린-9-일}-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 , 10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스포시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[1453] 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (42.3 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 10 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (25.9 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 1131 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.72 (1H, s), 8.00 (1H, s), 7.26 (1H, s), 6.35 (1H, d, J=9.1 Hz), 6.26 (1H, d, J=4.8 Hz), 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=11.2 Hz), 4.36-4.28 (3H, m), 4.20-4.15 (3H, m), 4.09-3.99 (2H, m), 3.51 (2H, d, J=6.7 Hz), 3.13 (12H, q, J=7.3 Hz), 2.85 (2H, brs), 2.01-1.97 (2H, m), 1.25 (18H, t, J=7.3 Hz), 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).

[1454]

[1455] (공정 7-2)

[1456] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{6-아미노-2-[(2-(트리메틸실릴)에톡시)카르보닐]아미노)메틸]-9H-푸린-9-일}-15,16-비스[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 , 10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스포시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[1457] 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (82.8 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 10 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (45.2 mg) 을 얻었다.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.61 (1H, s), 8.01 (1H, s), 7.08 (1H, s), 6.34 (2H, t, J=7.9 Hz), 5.49 (1H, dd, J=10.6, 4.5 Hz), 5.42 (1H, t, J=5.1 Hz), 5.24-5.17 (1H, m), 5.00-4.95 (2H, m), 4.69-4.57 (2H, m), 4.36 (2H, t, J=17.8 Hz), 4.22-4.15 (3H, m), 4.05 (1H, dd, J=12.4, 5.1 Hz), 3.90-3.85 (1H, m), 3.51 (2H, d, J=9.1 Hz), 3.17 (12H, q, J=7.3 Hz), 2.92 (2H, t, J=5.4 Hz), 2.04-1.99 (2H, m), 1.29 (18H, t, J=7.3 Hz), 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).

[1458]

[1459] (공정 8-1)

[1460] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{6-아미노-2-[(2-(트리메틸실릴)에톡시)카르보닐]아미노)메틸]-9H-푸린-9-일}-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-

2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

- [1461] 상기 공정 7-1 에서 얻어진 화합물 (25.9 mg) 에 트리에틸아민3불화수소산염 (700 μℓ) 을 첨가하고, 55 °C 에서 2 시간 교반하였다. 실온하, 반응액에 빙랭한 1 M 탄산트리에틸암모늄 수용액 (3.5 ml) 과 트리에틸아민 (1.10 ml) 의 혼합액을 첨가하고, 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 10 % - 40 % (0 분 - 30 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (19.1 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 903 (M+H) ⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.71 (1H, s), 8.03 (1H, s), 7.10 (1H, s), 6.37 (1H, d, J=7.9 Hz), 6.28 (1H, d, J=4.2 Hz), 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=7.3 Hz), 2.85 (2H, t, J=5.4 Hz), 2.02-1.97 (2H, m), 1.23 (18H, t, J=7.3 Hz), 1.04 (2H, t, J=8.2 Hz), 0.07 (9H, s).

[1462]

[1463] (공정 8-2)

- [1464] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{6-아미노-2-[(2-(트리메틸실릴)에톡시)카르보닐]아미노}메틸]-9H-푸린-9-일]-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

- [1465] 상기 공정 7-2 에서 얻어진 화합물 (45.2 mg) 을 사용하여, 상기 공정 8-1 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (37.1 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 903 (M+H) ⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.75 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.13 (1H, s), 6.36 (1H, d, J=9.1 Hz), 6.33 (1H, d, J=6.7 Hz), 5.51-5.42 (2H, m), 4.81 (1H, dd, J=6.7, 4.8 Hz), 4.51-4.28 (7H, m), 4.18 (2H, dt, J=8.3, 2.6 Hz), 4.02 (1H, d, J=12.7 Hz), 3.92-3.87 (1H, m), 3.51-3.47 (2H, m), 3.13 (12H, q, J=7.3 Hz), 2.93-2.90 (2H, m), 2.04-1.98 (2H, m), 1.27 (18H, t, J=7.3 Hz), 1.06-0.99 (2H, m), 0.06 (9H, s).

[1466]

[1467] (공정 9-1)

- [1468] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[6-아미노-2-(아미노메틸)-9H-푸린-9-일]-15,16-디하이드록시-

2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[1469] (디아스테레오머 1)

[1470] 상기 공정 8-1 에서 얻어진 화합물 (19.1 mg) 의 테트라하이드로푸란 (576 μℓ) 용액에, 불화테트라부틸암모늄의 테트라하이드로푸란 용액 (약 1 M, 288 μℓ) 을 첨가하고, 질소 분위기하, 실온에서 밤새 교반한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제를 실시하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.

[1471] [정제 조건] 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 0 % - 30 % (0 분 - 40 분)] 및 Sep-Pak (등록상표) C18 [물/아세토니트릴].

[1472] 얻어진 트리에틸아민염을 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (8.4 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 759 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.48 (1H, s), 8.03 (1H, s), 7.04 (1H, s), 6.27 (1H, d, J=3.6 Hz), 6.24 (1H, d, J=8.5 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 57.6, 55.5.

[1473]

[1474] (공정 9-2)

[1475] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[6-아미노-2-(아미노메틸)-9H-푸린-9-일]-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[1476] (디아스테레오머 2)

[1477] 상기 공정 8-2 에서 얻어진 화합물 (37.1 mg) 을 사용하여, 상기 공정 9-1 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (12.8 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 759 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.61 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.13 (1H, s), 6.31 (1H, d, J=6.0 Hz), 6.28 (1H, d, J=8.5 Hz), 5.61-5.55 (1H, m), 5.38-5.35 (1H, m), 4.80 (1H, t, J=5.1 Hz), 4.54 (1H, d, J=4.2 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 62.2 (s), 60.0 (s).

[1478]

[1479]

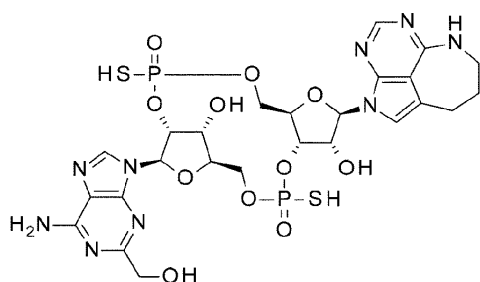
실시예 12 : CDN12 의 합성

[1480]

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[6-아미노-2-(하이드록시메틸)-9H-푸린-9-일]-15,16-디하이드록시-2,10-비스(술폰닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

[1481]

[화합식 130]



12

12a (디아스테레오머 1)

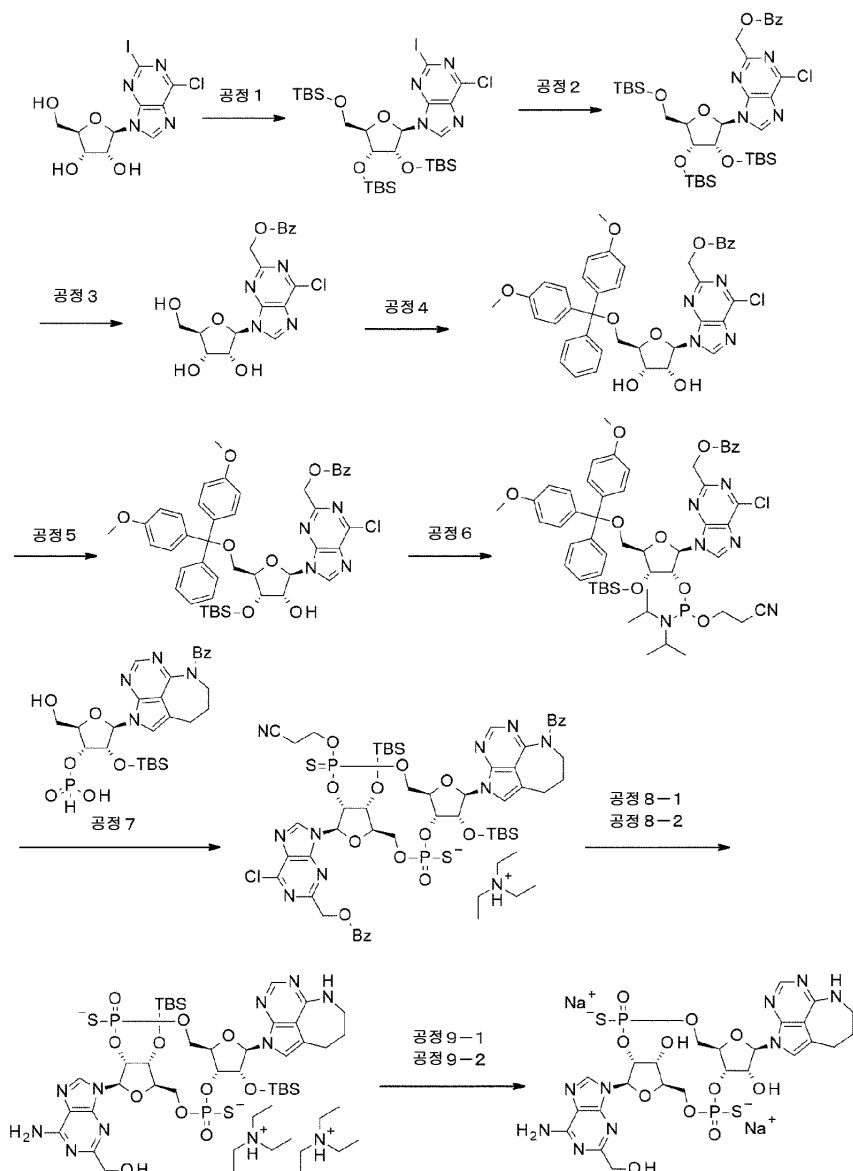
12b (디아스테레오머 2)

[1482]

[1483]

[합성 스킴]

[1484] [화학식 131]



[1485]

[1486] (공정 1)

[1487] 6-클로로-2-요오드-9-{2,3,5-트리스-0-[tert-부틸(디메틸)실릴]-β-D-리보푸라노실}-9H-푸린

[1488] 시판 (Amadis Chemical) 되는 6-클로로-2-요오드-9-β-D-리보푸라노실-9H-푸린 (9.65 g) 의 에틸렌글리콜디메틸에테르 (120 ml) 용액에, 0 ℃ 에서 N,N-디이소프로필에틸아민 (40.7 ml) 과 tert-부틸디메틸실릴트리플루오로메탄술포네이트 (26.9 ml) 를 첨가하고, 질소 분위기하, 실온까지 승온하여 19 시간 교반하였다. 반응액을 0 ℃ 까지 냉각시키고, 반응액에 포화 탄산수소나트륨 수용액을 첨가하여 반응을 정지시킨 후, 디클로로메탄으로 추출하였다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조 후, 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (13.7 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 8.48 (1H, s), 6.02 (1H, d, $J=4.2\text{ Hz}$), 4.54 (1H, t, $J=4.5\text{ Hz}$), 4.29 (1H, t, $J=4.5\text{ Hz}$), 4.18-4.15 (1H, m), 4.04 (1H, dd, $J=11.5, 4.2\text{ Hz}$), 3.80 (1H, dd, $J=11.5, 2.4\text{ Hz}$), 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).

[1489]

[1490] (공정 2)

[1491] 2-[(벤조일옥시)메틸]-6-클로로-9-{2,3,5-트리스-0-[tert-부틸(디메틸)실릴]- β -D-리보푸라노실}-9H-푸린

[1492] 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (13.7 g) 의 테트라하이드로푸란 (121 ml) 용액에, 질소 분위기하에서 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐(0) (2.10 g) 과 하기의 수법으로 조제한 벤질옥시메틸요오드화아연 (약 0.9 M, 30.2 ml) 을 첨가하고, 실온에서 20 시간 교반하였다. 반응액에 포화 염화암모늄 수용액을 첨가하여 반응을 정지시킨 후, 디클로로메탄으로 추출하였다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조 후, 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (7.29 g) 을 얻었다.

[1493] [벤질옥시메틸요오드화아연의 조제]

[1494] 질소 분위기하, 아연 분말 (5.99 g) 의 테트라하이드로푸란 (17.1 ml) 현탁액을 초음파 처리한 후, 요오드메틸벤조에이트 (12.0 g) 의 테트라하이드로푸란 (21.3 ml) 용액을 10 ~ 15 $^{\circ}\text{C}$ 에서 첨가하고, 동 온도에서 1.5 시간 교반하고, 벤질옥시메틸요오드화아연의 테트라하이드로푸란 용액 (약 0.9 M, 38.4 ml) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 763 (M+H) $^{+}$.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 8.58 (1H, s), 8.13 (1H, d, $J=8.5, 1.2\text{ Hz}$), 7.60-7.56 (1H, m), 7.47-7.43 (2H, m), 6.09 (1H, d, $J=4.8\text{ Hz}$), 5.60 (1H, d, $J=13.9\text{ Hz}$), 5.56 (1H, d, $J=13.9\text{ Hz}$), 4.48 (1H, t, $J=4.5\text{ Hz}$), 4.27 (1H, t, $J=4.2\text{ Hz}$), 4.15-4.11 (1H, m), 4.03 (1H, dd, $J=11.5, 3.0\text{ Hz}$), 3.80 (1H, dd, $J=11.5, 2.4\text{ Hz}$), 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).

[1495]

[1496] (공정 3)

[1497] 2-[(벤조일옥시)메틸]-6-클로로-9- β -D-리보푸라노실-9H-푸린

[1498] 상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (7.29 g) 의 테트라하이드로푸란 (47.7 ml) 용액에, 질소 분위기, 0 $^{\circ}\text{C}$ 에서 불화테트라부틸암모늄의 테트라하이드로푸란 용액 (약 1 M, 38 ml) 을 첨가하고, 동 온도에서 2.5 시간 교반하였다. 반응액에 포화 염화암모늄 수용액을 첨가하여 반응을 정지시킨 후, 디클로로메탄으로 추출하였다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조 후, 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을

실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (3.69 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 8.23 (1H, s), 8.15 (2H, d, $J=8.5$, 1.2 Hz), 7.63–7.59 (1H, m), 7.48 (2H, t, $J=7.9$ Hz), 5.89 (1H, d, $J=6.0$ Hz), 5.61 (1H, d, $J=13.9$ Hz), 5.56 (1H, d, $J=14.5$ Hz), 4.90 (1H, q, $J=5.6$ Hz), 4.46–4.43 (1H, m), 4.28 (1H, q, $J=2.2$ Hz), 4.02 (1H, dd, $J=10.0$, 2.7 Hz), 3.84–3.79 (1H, m), 3.71–3.65 (1H, m), 3.56–3.53 (1H, m), 2.70 (1H, d, $J=2.4$ Hz).

[1499]

[1500] (공정 4)

[1501] 2-[(벤조일옥시)메틸]-9-{5-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]- β -D-리보푸라노실}-6-클로로-9H-푸린

[1502] 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (2.36 g) 의 피리딘 (56 ml) 용액에, 4,4'-디메톡시트리틸클로라이드 (2.30 g) 를 첨가하고, 질소 분위기하, 실온에서 17 시간 교반하였다. 반응액에 에탄올 (20 ml) 을 첨가하여, 추가로 10 분간 정도 교반한 후, 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (1.41 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 745 ($M+Na$)⁺.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=7.9$ Hz), 5.94 (1H, d, $J=5.4$ Hz), 5.64 (1H, d, $J=15.1$ Hz), 5.59 (1H, d, $J=14.5$ Hz), 4.83–4.77 (2H, m), 4.37–4.33 (2H, m), 3.77 (6H, s), 3.35 (1H, dd, $J=10.6$, 3.3 Hz), 3.28 (1H, dd, $J=10.9$, 3.6 Hz), 2.64 (1H, s).

[1503]

[1504] (공정 5)

[1505] 2-[(벤조일옥시)메틸]-9-{5-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]- β -D-리보푸라노실}-6-클로로-9H-푸린

[1506] 상기 공정 4 에서 얻어진 화합물 (2.61 g) 의 에틸렌글리콜디메틸에테르 (72.0 ml) 용액에, N,N-디이소프로필에틸아민 (1.89 ml) 과 tert-부틸디메틸실릴트리플루오로메탄술포네이트 (1.24 ml) 를 첨가하고, 질소 분위기하, 실온에서 1.5 시간 교반하였다. 반응액에 포화 탄산수소나트륨 수용액을 첨가하여 반응을 정지시킨 후, 디클로로메탄으로 추출하였다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조 후, 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸/0.1 % 트리에틸아민] 으로 정제하고, 표제 화합물 (1.10 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=4.8$ Hz), 5.50 (2H, s), 4.69 (1H, q, $J=5.6$ Hz), 4.39 (1H, dd, $J=5.1, 3.9$ Hz), 4.16 (1H, q, $J=3.8$ Hz), 3.77 (6H, s), 3.45 (1H, dd, $J=10.6, 3.3$ Hz), 3.31 (1H, dd, $J=10.9, 4.2$ Hz), 3.06 (1H, d, $J=6.7$ Hz), 0.86 (9H, s), 0.04 (3H, s), -0.02 (3H, s).

[1507]

[1508] (공정 6)

[1509] 2-[(벤조일옥시)메틸]-9-(5-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-2-O-((2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스포닐)- β -D-리보푸라노실]-6-클로로-9H-푸린

[1510] 상기 공정 5 에서 얻어진 화합물 (511 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 6 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (569 mg) 을 인 원자에 관한 디아스테레오머 혼합물 (디아스테레오머비 = 6 : 4) 로서 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 8.43 (0.6H, s), 8.39 (0.4H, s), 8.10 (2H, d, $J=7.9$ Hz), 7.58 (1H, t, $J=7.6$ Hz), 7.47–7.38 (4H, m), 7.31–7.18 (7H, m), 6.82–6.78 (4H, m), 6.25 (0.4H, d, $J=4.8$ Hz), 6.21 (0.6H, d, $J=4.8$ Hz), 5.49 (1H, d, $J=13.9$ Hz), 5.45 (1H, d, 13.9 Hz), 4.98–4.93 (0.6H, m), 4.83–4.78 (0.4H, m), 4.45 (0.6H, t, $J=4.2$ Hz), 4.36 (0.4H, t, $J=4.2$ Hz), 4.21–4.17 (1H, m), 3.78 (6H, s), 3.76–3.32 (6H, m), 2.46 (1.2H, t, $J=6.3$ Hz), 2.30 (0.8H, t, $J=6.3$ Hz), 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).

[1511]

[1512] (공정 7)

[1513] N,N-디에틸에탄아미늄 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{2-[(벤조일옥시)메틸]-6-클로로-9H-푸린-9-일}-14-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-10-(2-시아노에톡시)-2-옥소-10-숏파닐리덴옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스포시클로테트라데신-2-티올레이트

[1514] 실시예 1 공정 7 과 동일한 반응을 이하의 스케일로 실시하였다 (원료 : 2.72 g). 얻어진 화합물의 아세트 니트릴 용액과 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (3.03 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 8 및 실시예 1 공정 9 와

동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (351 mg) 과 디아스테레오머 2 (351 mg) 를 얻었다.

[1515] 디아스테레오머 1 (저극성)

MS (ESI) m/z : 1268 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 9.30 (1H, s), 8.14 (2H, d, J=7.3 Hz), 7.99 (1H, s), 7.64 (1H, t, J=7.3 Hz), 7.52 (2H, t, J=7.9 Hz), 7.40-7.36 (2H, m), 7.30-7.23 (4H, m), 6.43 (1H, d, J=8.5 Hz), 6.37 (1H, d, J=3.0 Hz), 5.62-5.56 (1H, m), 5.62 (2H, s), 5.06-5.01 (1H, m), 4.83 (1H, dd, J=4.5, 2.7 Hz), 4.69 (1H, d, J=4.2 Hz), 4.49-4.28 (7H, m), 4.08 (1H, dd, J=12.1, 4.8 Hz), 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=7.3 Hz), 0.91 (9H, s), 0.90 (9H, s), 0.29 (3H, s), 0.20 (3H, s), 0.16 (3H, s), 0.11 (3H, s).

[1516]

[1517] 디아스테레오머 2 (고극성)

MS (ESI) m/z : 1268 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.97 (1H, s), 8.14 (2H, d, J=8.5 Hz), 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=7.9 Hz), 6.21 (1H, d, J=5.4 Hz), 5.64 (1H, d, J=15.1 Hz), 5.57 (1H, d, J=15.1 Hz), 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=10.9 Hz), 4.33-4.06 (6H, m), 3.15 (6H, q, J=7.3 Hz), 3.08-2.96 (2H, m), 2.84-2.71 (2H, m), 2.25-2.19 (2H, m), 1.28 (9H, t, J=7.3 Hz), 0.91 (9H, s), 0.79 (9H, s), 0.19 (6H, s), 0.14 (3H, s) - 0.07 (3H, s).

[1518]

[1519] (공정 8-1)

[1520] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄)

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-[6-아미노-2-(하이드록시메틸)-9H-푸린-9-일]-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

- [1521] 상기 공정 7 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (37.3 mg) 의 메탄올 (0.500 ml) 용액에, 28 % 암모니아 수용액 (0.500 ml) 을 첨가하고, 실드 튜브 중 60 ℃ 에서 3 시간 교반하였다. 반응액을 그대로 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴, 아세트오니트릴 : 35 % - 55 % (0 분 - 30 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (22.0 mg : 불순물 함유) 을 얻었다.
- [1522] MS(ESI)m/z : 988(M+H)⁺.
- [1523] (공정 8-2)
- [1524] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄)
(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-[6-아미노-2-(하이드록시메틸)-9H-푸린-9-일]-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [1525] 상기 공정 7 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (37.7 mg) 의 테트라하이드로푸란 (0.500 ml) 용액에, 28 % 암모니아 수용액 (0.500 ml) 을 첨가하고, 실드 튜브 중 60 ℃ 에서 3 시간 교반하였다. 28 % 암모니아 수용액 (0.500 ml) 을 추가하고 3 시간 더 교반하였다. 28 % 암모니아 수용액 (0.500 ml) 을 추가하고 밤새 더 교반하였다. 반응액을 그대로 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴, 아세트오니트릴 : 20 % - 50 % (0 분 - 30 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (19.3 mg) 을 얻었다.
- MS (ESI) m/z : 988 (M+H)⁺.
- ¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.64 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.09 (1H, s), 6.35 (2H, d, J=7.9 Hz), 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, 4.8 Hz), 3.91-3.86 (1H, m), 3.53-3.48 (2H, m), 3.18 (1H, q, J=7.3 Hz), 2.92 (2H, t, J=5.4 Hz), 2.04-1.99 (2H, m), 1.29 (18H, t, J=7.3 Hz), 1.00 (9H, s), 0.74 (9H, s), 0.28 (6H, s), 0.21 (3H, s), -0.06 (3H, s).
- [1526]
- [1527] (공정 9-1)
- [1528] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[6-아미노-2-(하이드록시메틸)-9H-푸린-9-일]-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [1529] 상기 공정 8-1 에서 얻어진 화합물 (22.0 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제를 실시하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.
- [1530] [정제 조건] 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴, 아세트오니트릴 : 2 % - 30 % (0 분 - 30 분)].
- [1531] 얻어진 트리에틸아민염을 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (8.0 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 760 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.70 (1H, s), 8.03 (1H, s), 7.14 (1H, s), 6.39 (1H, d, J=8.5 Hz), 6.29 (1H, d, J=3.6 Hz), 5.40-5.35 (1H, m), 5.15 (1H, dt, J=9.1, 3.8 Hz), 4.84 (1H, d, J=3.6 Hz), 4.80 (1H, t, J=4.5 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 58.1 (s), 54.4 (s).

[1532]

[1533] (공정 9-2)

[1534] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[6-아미노-2-(하이드록시메틸)-9H-푸린-9-일]-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[1535] 상기 공정 8-2 에서 얻어진 화합물 (19.3 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제를 실시하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.

[1536] [정제 조건] 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 2 % - 30 % (0 분 - 30 분)].

[1537] 얻어진 트리에틸아민염을 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (6.5 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 760 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.76 (1H, s), 8.05 (1H, s), 7.18 (1H, s), 6.38 (1H, d, J=8.5 Hz), 6.33 (1H, d, J=6.7 Hz), 5.49-5.43 (2H, m), 4.81 (1H, dd, J=6.3, 4.5 Hz), 4.58 (2H, s), 4.51-4.29 (5H, m), 4.04 (1H, d, J=12.1 Hz), 3.93-3.88 (1H, m), 3.54-3.52 (2H, m), 2.92 (2H, t, J=5.4 Hz), 2.05-2.00 (2H, m).

.

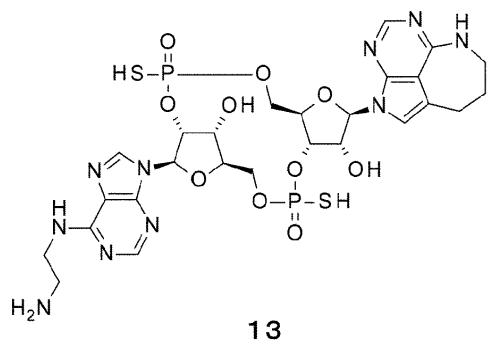
³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 63.0 (s), 60.3 (s).

[1538]

[1539] 실시예 13 : CDN13 의 합성

[1540] (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{6-[(2-아미노에틸)아미노]-9H-푸린-9-일}-15,16-디하이드록시-2,10-비스(술폰닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

[1541] [화학식 132]



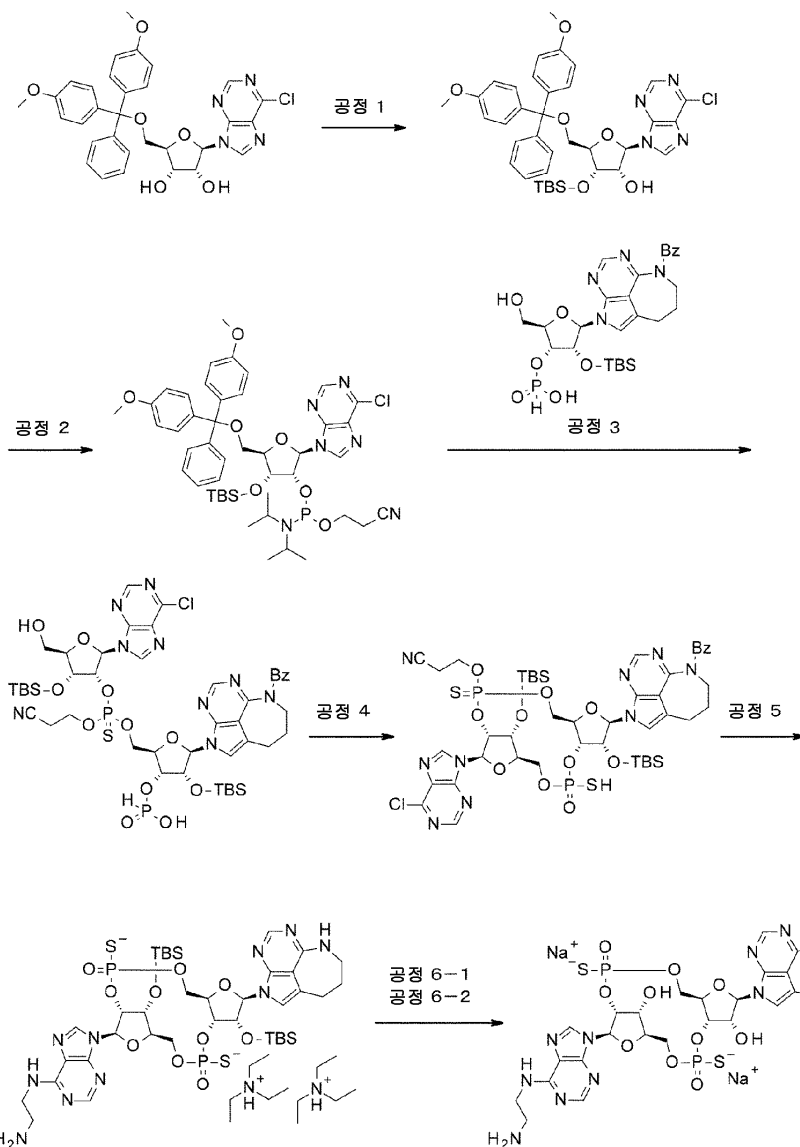
13a (디아스테레오머 1)

13b (디아스테레오머 2)

[1542]

[1543] [합성 스킴]

[1544] [화학식 133]



[1545]

[1546] (공정 1)

[1547] 9-{5-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-β-D-리보푸라노실]-6-클로로-9H-푸린

[1548] 이미 알려진 문헌 (J. Org. Chem. 2000, 65, 5104-5113) 의 9-{5-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-β-D-리보푸라노실}-6-클로로-9H-푸린 (15.3 g) 을 사용하여, 실시예 5 공정 3 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (8.44 g) 과 표제 화합물의 위치 이성체인 9-{5-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-β-D-리보푸라노실}-6-클로로-9H-푸린 (5.77 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 703 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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=4.9 Hz), 4.79-4.74 (1H, m), 4.59 (1H, dd, J=4.9, 3.9 Hz), 4.20 (1H, dd, J=3.9, 1.9 Hz), 3.79 (3H, s), 3.78 (3H, s), 3.52 (1H, dd, J=10.7, 3.4 Hz), 3.29 (1H, dd, J=10.7, 3.9 Hz), 3.08 (1H, d, J=6.8 Hz), 0.90 (9H, s), 0.10 (3H, s), 0.03 (3H, s).

[1549]

[1550] 위치 이성체 (2'-O-TBS 체)

MS (ESI) m/z : 703 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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=5.4 Hz), 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, 2.9 Hz), 3.42 (1H, dd, J=10.7, 3.9 Hz), 2.68 (1H, d, J=3.9 Hz), 0.84 (9H, s), 0.00 (3H, s), -0.16 (3H, s).

[1551]

[1552] (공정 2)

[1553] 9-(5-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-2-O-((2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스파닐)-β-D-리보푸라노실)-6-클로로-9H-푸린

[1554] 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (5.39 g) 을 사용하여, 실시예 5 공정 4 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (5.78 g) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물 (디아스테레오머비 = 1 : 1) 로서 얻었다.

MS (ESI) m/z : 903 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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=4.4 Hz), 6.21 (0.5H, d, J=4.9 Hz), 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, 3.9 Hz), 2.50 (1H, t, J=6.3 Hz), 2.37 (1H, t, J=6.6 Hz), 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).

[1555]

[1556] (공정 3)

[1557] 실시예 1 공정 7 과 동일한 반응을 이하의 스케일로 실시하였다 (원료 : 1.84 g). 얻어진 화합물의 아세트 니트릴 용액과 상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (1.62 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 8 과 동일한 수법으로 반응을 실시하였다. 얻어진 미정제 생성물을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.

[1558] (공정 4)

[1559] 3-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-7-(6-클로로-9H-푸린-9-일)-2-옥소-2-술폰닐-10-술폰닐리텐옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-10-일]옥시}프로판니트릴

[1560] 상기 공정 3 에서 얻어진 미정제 생성물을 사용하여, 실시예 1 공정 9 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (626 mg) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.

[1561] MS(ESI) m/z : 1134(M+H)⁺.

[1562] (공정 5)

[1563] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{6-[(2-아미노에틸)아미노]-9H-푸린-9-일}-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[1564] 상기 공정 4 에서 얻어진 화합물 (299 mg : 디아스테레오머 혼합물) 의 에탄올 (10 ml) 용액에 에틸렌디아민 (0.352 ml) 과 트리에틸아민 (0.735 ml) 을 첨가하고, 60 °C 에서 15 시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축 후, 잔류물을 C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴] 로 정제하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (122 mg : 불순물 함유) 과 디아스테레오머 2 (111 mg : 불순물 함유) 를 얻었다.

[1565] 디아스테레오머 1 (저극성)

- [1566] MS(ESI) m/z : 1001(M+H)⁺.
- [1567] 디아스테레오머 2 (고극성)
- [1568] MS(ESI) m/z : 1001(M+H)⁺.
- [1569] (공정 6-1)
- [1570] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{6-[(2-아미노에틸)아미노]-9H-푸린-9-일}-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [1571] (디아스테레오머 1)
- [1572] 상기 공정 5 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (122 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제를 실시하고, 표제 화합물을 트리에틸아민 염으로서 얻었다.
- [1573] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴] 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 5 % - 30 % (0 분 - 40 분)].
- [1574] 얻어진 트리에틸아민염을 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (29.6 mg) 을 얻었다.
- MS (ESI) m/z : 773 (M+H)⁺.
- ¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.77 (1H, s), 8.27 (1H, s), 8.03 (1H, s), 7.10 (1H, s), 6.35 (1H, d, J=8.5 Hz), 6.27 (1H, d, J=4.8 Hz), 5.41 (1H, ddd, J=7.9, 4.2, 2.1 Hz), 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=6.0 Hz), 2.89-2.81 (2H, m), 2.02-1.94 (2H, m).
- ³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 57.8 (s), 55.0 (s).
- [1575]
- [1576] (공정 6-2)
- [1577] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{6-[(2-아미노에틸)아미노]-9H-푸린-9-일}-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [1578] (디아스테레오머 2)
- [1579] 상기 공정 5 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (119 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제를 실시하고, 표제 화합물을 트리에틸아민 염으로서 얻었다.
- [1580] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴] 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 5 % - 25 % (0 분 - 40 분)].
- [1581] 얻어진 트리에틸아민염을 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실

시하고, 표제 화합물 (15.6 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 773 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.83 (1H, s), 8.27 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.10 (1H, s), 6.35 (1H, d, J=7.9 Hz), 6.32 (1H, d, J=6.7 Hz), 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=5.7 Hz), 2.94-2.88 (2H, m), 2.05-1.96 (2H, m).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 63.1 (s), 60.1 (s).

[1582]

[1583]

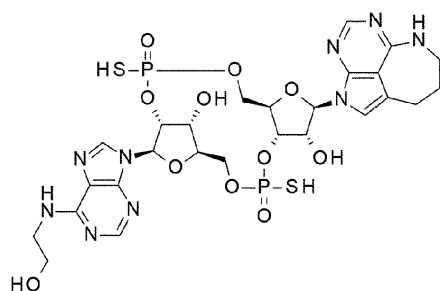
실시예 14 : CDN14 의 합성

[1584]

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-7-{6-[(2-하이드록시에틸)아미노]-9H-푸린-9-일}-2,10-비스(술폰일)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 , 10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

[1585]

[화학식 134]



14

14a (디아스테레오머 1)

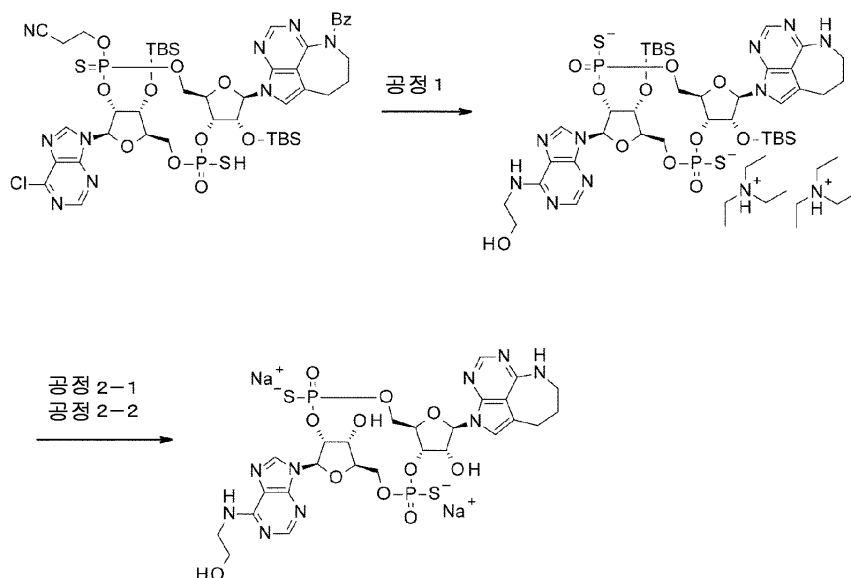
14b (디아스테레오머 2)

[1586]

[1587]

[합성 스킴]

[1588] [화학식 135]



[1589]

[1590] (공정 1)

[1591] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-7-{6-[(2-하이드록시에틸)아미노]-9H-푸린-9-일}-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[1592] 실시예 13 공정 4 에서 얻어진 화합물 (313 mg) 의 에탄올 (10 ml) 용액에, 2-아미노에탄올 (0.330 ml) 과 트리에틸아민 (0.769 ml) 을 첨가하고, 60 °C 에서 15 시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축 후, 잔류물을 C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴] 로 정제하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (111 mg : 불순물 함유) 과 디아스테레오머 2 (102 mg : 불순물 함유) 를 얻었다.

[1593] 디아스테레오머 1 (저극성)

[1594] MS(ESI)m/z : 1002(M+H)⁺.

[1595] 디아스테레오머 2 (고극성)

[1596] MS(ESI)m/z : 1002(M+H)⁺.

[1597] (공정 2-1)

[1598] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-디하이드록시-7-{6-[(2-하이드록시에틸)아미노]-9H-푸린-9-일}-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[1599] (디아스테레오머 1)

[1600] 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (111 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제를 실시하고, 표제 화합물을 트리에틸아민 염으로서 얻었다.

[1601] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴] 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴, 아세트오니트릴 : 5 % - 30 % (0 분 - 40 분)].

[1602] 얻어진 트리에틸아민염을 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (47.1 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 774 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.70 (1H, s), 8.22 (1H, s), 8.03 (1H, s), 7.10 (1H, s), 6.34 (1H, d, J=8.5 Hz), 6.29 (1H, d, J=4.8 Hz), 5.41-5.34 (1H, m), 5.19-5.13 (1H, m), 4.84 (1H, d, J=4.2 Hz), 4.79 (1H, dd, J=4.8, 2.4 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 57.9 (s), 54.4 (s).

[1603]

[1604]

(공정 2-2)

[1605]

디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-7-{6-[(2-하이드록시에틸)아미노]-9H-푸린-9-일}-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[1606]

(디아스테레오머 2)

[1607]

상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (102 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제를 실시하고, 표제 화합물을 트리에틸아민 염으로서 얻었다.

[1608]

[정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴] 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 5 % - 25 % (0 분 - 40 분)].

[1609]

얻어진 트리에틸아민염을 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (27.1 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 774 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.78 (1H, s), 8.22 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.12 (1H, s), 6.34 (1H, d, J=1.8 Hz), 6.32 (1H, s), 5.52-5.42 (2H, m), 4.80 (1H, dd, J=6.7, 4.8 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 63.0 (s), 60.2 (s).

[1610]

[1611]

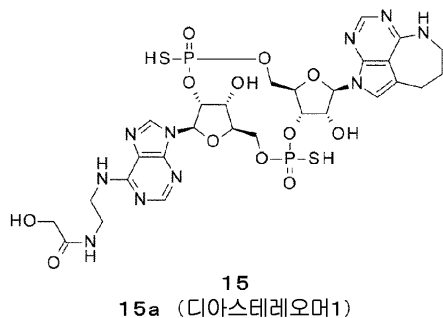
실시예 15 : CDN15 의 합성

[1612]

N-[2-({9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-2,10-비스(술폰닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5

⁵, 10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-9H-푸린-6-일}아미노)에틸]-2-하이드록시아세트아미드

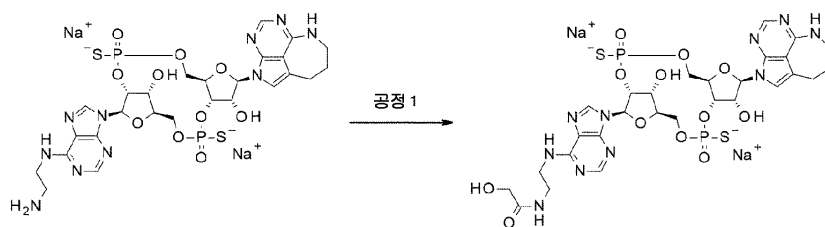
[1613] [화학식 136]



[1614]

[1615] [합성 스킴]

[1616] [화학식 137]



[1617]

[1618] (공정 1)

[1619] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-7-(6-{[2-(2-하이드록시아세트아미드)에틸]아미노}-9H-푸린-9-일)-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[1620] 실시예 13 공정 6-2 에서 얻어진 화합물 (10.0 mg) 을 사용하여, 실시예 7 공정 1-1 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제를 실시하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.

[1621] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴], 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴, 아세트오니트릴 : 5 % - 35 % (0 분 - 40 분)].

[1622] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (6.6 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 831 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.78 (1H, s), 8.24 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.12 (1H, s), 6.33 (2H, d, J=6.7 Hz), 5.52-5.42 (2H, m), 4.80 (1H, dd, J=6.7, 4.2 Hz), 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).

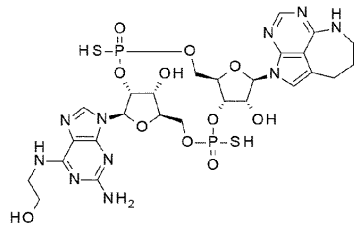
³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 63.1 (s), 60.4 (s).

[1623]

[1624] 실시예 16 : CDN16 의 합성

[1625] (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{2-아미노-6-[(2-하이드록시에틸)아미노]-9H-푸린-9-일}-15,16-디하이드록시-2,10-비스(술팜닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라테신-2,10-디온

[1626] [화학식 138]

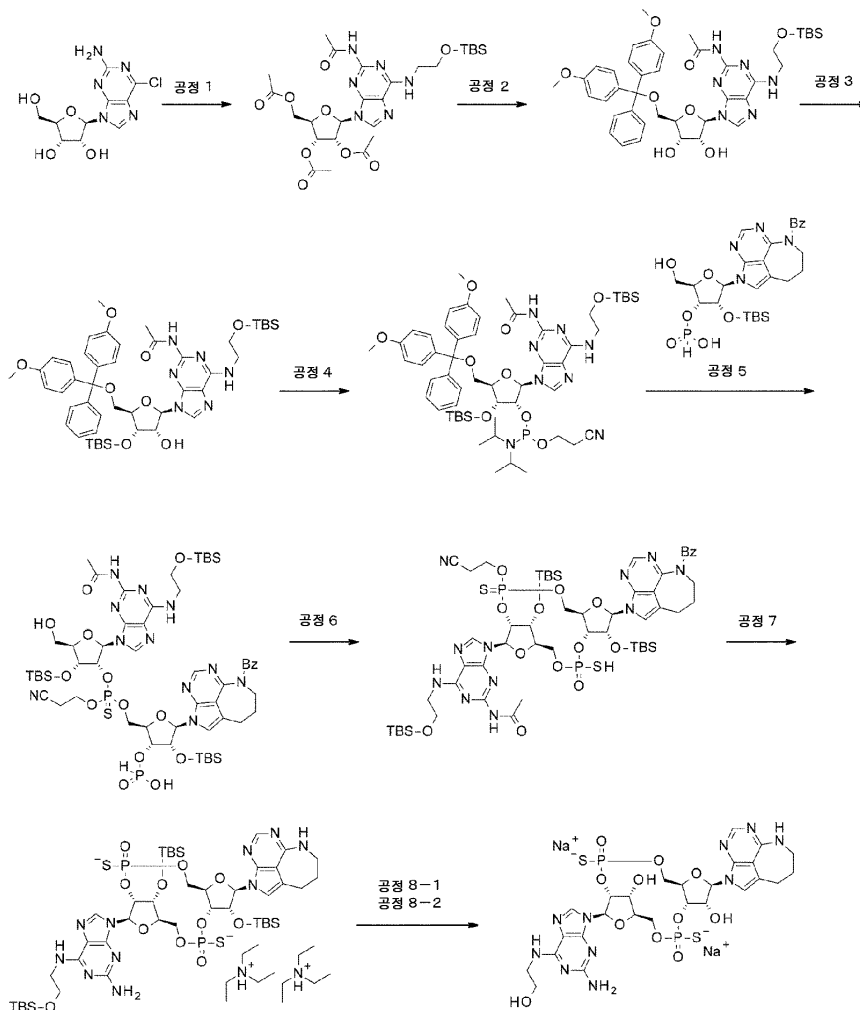


16
16a (디아스테레오머 1)
16b (디아스테레오머 2)

[1627]

[1628] [합성 스킴]

[1629] [화학식 139]



[1630]

[1631] (공정 1)

[1632] 2-아세트아미드-2',3',5'-트리-O-아세틸-N-(2-{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}에틸)아데노신

[1633] 시판 (도쿄 화성 공업) 되는 6-클로로-9-β-D-리보푸라노실-9H-푸린-2-아민 (5.00 g) 의 에탄올 (30 ml) 용액에

2-([tert-부틸(디메틸)실릴]옥시)에탄-1-아민 (3.49 g) 과 N,N-디이소프로필에틸아민 (4.33 ml) 을 첨가하고, 80 °C 에서 65 시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축 후, 잔류물에 피리딘 (15 ml) 과 무수 아세트산 (15 ml) 을 첨가하고, 70 °C 에서 4 시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축 후, 포화 탄산수소나트륨 수용액을 첨가하고, 아세트산에틸로 추출하였다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조 후, 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (8.91 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 609 (M+H) ⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 7.84 (1H, s), 7.77 (1H, s), 6.14 (1H, brs), 6.03 (1H, d, J=4.8 Hz), 5.92 (1H, t, J=5.1 Hz), 5.72 (1H, t, J=5.1 Hz), 4.50-4.40 (2H, m), 4.35 (1H, dd, J=11.8, 4.5 Hz), 3.83 (2H, t, J=5.1 Hz), 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).

[1634]

(공정 2)

[1635]

2-아세트아미드-5'-0-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-N-(2-([tert-부틸(디메틸)실릴]옥시)에틸)아데노신

[1636]

상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (4.00 g) 의 디클로로메탄 (40 ml) 용액에 나트륨메톡시드의 메탄올 용액 (1.0 M, 6.64 ml) 을 첨가하고, 0 °C 에서 1 시간 교반하였다. 반응액에 아세트산 (0.413 ml) 과 피리딘 (0.5 ml) 을 첨가하여 반응을 정지시킨 후, 반응액을 감압 농축하였다. 잔류물에 피리딘을 첨가한 후, 감압하에서 일부 농축하고, 피리딘 (약 20 ml) 용액을 조제하였다. 이 용액에 0 °C 에서 4,4'-디메톡시트리틸클로라이드 (4.68 g) 를 첨가하고, 동 온도에서 30 분간 교반한 후, 4 °C 에서 밤새 보존하였다. 반응액에 메탄올 (2 ml) 을 첨가하고, 30 분간 교반한 후, 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸/메탄올/0.1 % 트리에틸아민] 으로 정제하고, 표제 화합물 (4.41 g) 을 얻었다.

[1637]

MS (ESI) m/z : 785 (M+H) ⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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=6.7 Hz), 4.91-4.85 (1H, m), 4.46 (1H, t, J=3.0 Hz), 4.32 (1H, d, J=5.4 Hz), 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, 2.7 Hz), 2.24 (3H, s), 0.90 (9H, s), 0.07 (3H, s), 0.07 (3H, s).

[1638]

(관측 가능한 피크만 기재)

[1639]

(공정 3)

[1640]

2-아세트아미드-5'-0-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-0-[tert-부틸(디메틸)실릴]-N-(2-([tert-부틸(디메틸)실릴]옥시)에틸)아데노신

[1641]

[1642] 상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (4.41 g) 을 사용하여, 실시예 5 공정 3 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (1.75 g) 및 표제 화합물의 위치 이성체인 2-아세트아미드-5'-0-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2'-0-[tert-부틸(디메틸)실릴]-N-(2-([tert-부틸(디메틸)실릴]옥시)에틸)아데노신 (1.31 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 899 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 7.89 (1H, s), 7.69 (1H, br s), 7.39-7.34 (2H, m), 7.29-7.18 (7H, m), 6.80-6.75 (4H, m), 6.11 (1H, br s), 5.89 (1H, d, J=5.4 Hz), 4.65 (1H, dd, J=5.4, 2.7 Hz), 4.43 (1H, dd, J=5.1, 3.3 Hz), 4.19-4.15 (1H, m), 3.83 (2H, dd, J=5.4, 2.7 Hz), 3.77 (6H, s), 3.74-3.63 (2H, m), 3.40 (1H, dd, J=10.9, 3.6 Hz), 3.22 (1H, dd, J=10.9, 3.9 Hz), 2.43 (3H, s), 0.90 (9H, s), 0.88 (9H, s), 0.10 (3H, s), 0.06 (6H, s), 0.03 (3H, s).

[1643]

[1644] (관측 가능한 피크만을 기재)

[1645] 위치 이성체 (2'-O-TBS 체)

MS (ESI) m/z : 899 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 7.84 (1H, s), 7.52 (1H, br s), 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, br s), 5.89 (1H, d, J=6.0 Hz), 4.96-4.89 (1H, m), 4.32-4.27 (1H, m), 4.24 (1H, dd, J=3.2, 1.6 Hz), 3.84 (2H, dd, J=5.4, 2.7 Hz), 3.78 (6H, s), 3.75-3.65 (2H, m), 3.48 (1H, dd, J=10.6, 2.7 Hz), 3.35 (1H, dd, J=10.6, 3.6 Hz), 2.72 (1H, d, J=3.0 Hz), 2.37 (3H, s), 0.91 (9H, s), 0.84 (9H, s), 0.07 (6H, s), -0.01 (3H, s), -0.17 (3H, s).

[1646]

[1647] (공정 4)

[1648] 2-아세트아미드-5'-0-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-0-[tert-부틸(디메틸)실릴]-N-(2-([tert-부틸(디메틸)실릴]옥시)에틸)-2'-0-((2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스파닐)아데노신

[1649] 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (1.75 g) 을 사용하여, 실시예 5 공정 4 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (2.08 g) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물 (디아스테레오머비 = 6 : 4) 로서 얻었다.

MS (ESI) m/z : 1099 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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=5.4 Hz), 6.09 (1H, brs), 6.06 (0.4H, d, J=4.8 Hz), 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=6.7 Hz), 0.90 (9H, s), 0.85 (9H, s), 0.76 (1.8H, d, J=6.7 Hz), 0.10 (1.8H, s), 0.07 (1.2H, s), 0.06 (6H, s), 0.00 (3H, s).

[1650]

[1651] (공정 5)

[1652] 실시예 1 공정 7 과 동일한 반응을 이하의 스케일로 실시하였다 (원료 : 981 mg). 얻어진 화합물의 아세트 니트릴 용액과 상기 공정 4 에서 얻어진 화합물 (1.05 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 8 과 동일한 수법으로 반응을 실시하였다. 얻어진 미정제 생성물을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.

[1653] (공정 6)

[1654] N-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-10-(2-시아노에톡시)-2-옥소-2-술폰닐-10-술폰닐리덴옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-6-[(2-{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}에틸)아미노]-9H-푸린-2-일}아세트아미드

[1655] 상기 공정 5 에서 얻어진 미정제 생성물을 사용하여, 실시예 1 공정 9 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (413 mg) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.

[1656] MS(ESI) m/z : 1330(M+H)⁺.

[1657] (공정 7)

[1658] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{2-아미노-6-[(2-{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}에틸)아미노]-9H-푸린-9-일)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[1659] 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (413 mg) 의 메탄올 (5 ml) 과 28 % 암모니아수 (5 ml) 에 용해시키고, 실온에서 63 시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축 후, 잔류물을 C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴] 로 간이 정제하고, 저극성의 디아스테레오머 1 과 고극성의 디아스테레오머 2 를 분리하였다. 각각의 디아스테레오머를 재차 메탄올 (5 ml) 과 28 % 암모니아수 (5 ml) 에 용해시키고, 100 °C 에서 2 일간 교반하였다. 반응액을 감압 농축 후, 잔류물을 C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴] 로 정제하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (70.4 mg : 불순물 함유) 과 디아스테레오머 2 (65.1 mg : 불순물 함유) 를 얻었다.

- [1660] 디아스테레오머 1 (저극성)
- [1661] MS(ESI) m/z : 1131(M+H)⁺.
- [1662] 디아스테레오머 2 (고극성)
- [1663] MS(ESI) m/z : 1131(M+H)⁺.
- [1664] (공정 8-1)
- [1665] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{2-아미노-6-[(2-하이드록시에틸)아미노]-9H-푸린-9-일}-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [1666] (디아스테레오머 1)
- [1667] 상기 공정 7 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (70.4 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제를 실시하고, 표제 화합물을 트리에틸아민 염으로서 얻었다.
- [1668] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴] 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 5 % - 30 % (0 분 - 40 분)].
- [1669] 얻어진 트리에틸아민염을 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (20.8 mg) 을 얻었다.
- MS (ESI) m/z : 789 (M+H)⁺.
- ¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.24 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.09 (1H, s), 6.29 (1H, d, J=4.2 Hz), 6.12 (1H, d, J=8.5 Hz), 5.46-5.39 (1H, m), 5.22-5.15 (1H, m), 4.84 (1H, d, J=3.6 Hz), 4.80 (1H, t, J=4.5 Hz), 4.50-4.32 (3H, m), 4.32-4.28 (1H, m), 4.12-3.98 (2H, m), 3.74 (2H, t, J=5.4 Hz), 3.68-3.60 (2H, m), 3.48 (2H, t, J=5.4 Hz), 2.87-2.70 (2H, m), 2.01-1.93 (2H, m).
- ³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 57.8 (s), 54.1 (s).
- [1670]
- [1671] (공정 8-2)
- [1672] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{2-아미노-6-[(2-하이드록시에틸)아미노]-9H-푸린-9-일}-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [1673] (디아스테레오머 2)
- [1674] 상기 공정 7 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (65.1 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제를 실시하고, 표제 화합물을 트리에틸아민 염으로서 얻었다.
- [1675] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴], 분취

HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 5 % - 30 % (0 분 - 40 분)], 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/메탄올, 메탄올 : 0 % - 60 % (0 분 - 40 분)].

[1676] 얻어진 트리에틸아민염을 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (7.9 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 789 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.39 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.13 (1H, s), 6.33 (1H, d, J=6.7 Hz), 6.13 (1H, d, J=8.5 Hz), 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=5.7 Hz), 3.69-3.62 (2H, m), 3.53-3.47 (2H, m), 2.91 (2H, t, J=5.7 Hz), 2.05-1.97 (2H, m).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 62.9 (s), 60.3 (s).

[1677]

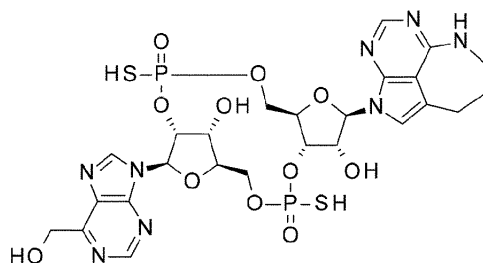
[1678] 실시예 17 : CDN17 의 합성

[1679]

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-7-[6-(하이드록시메틸)-9H-푸린-9-일]-2,10-비스(술포닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

[1680]

[화학식 140]



17

17a (디아스테레오머 1)

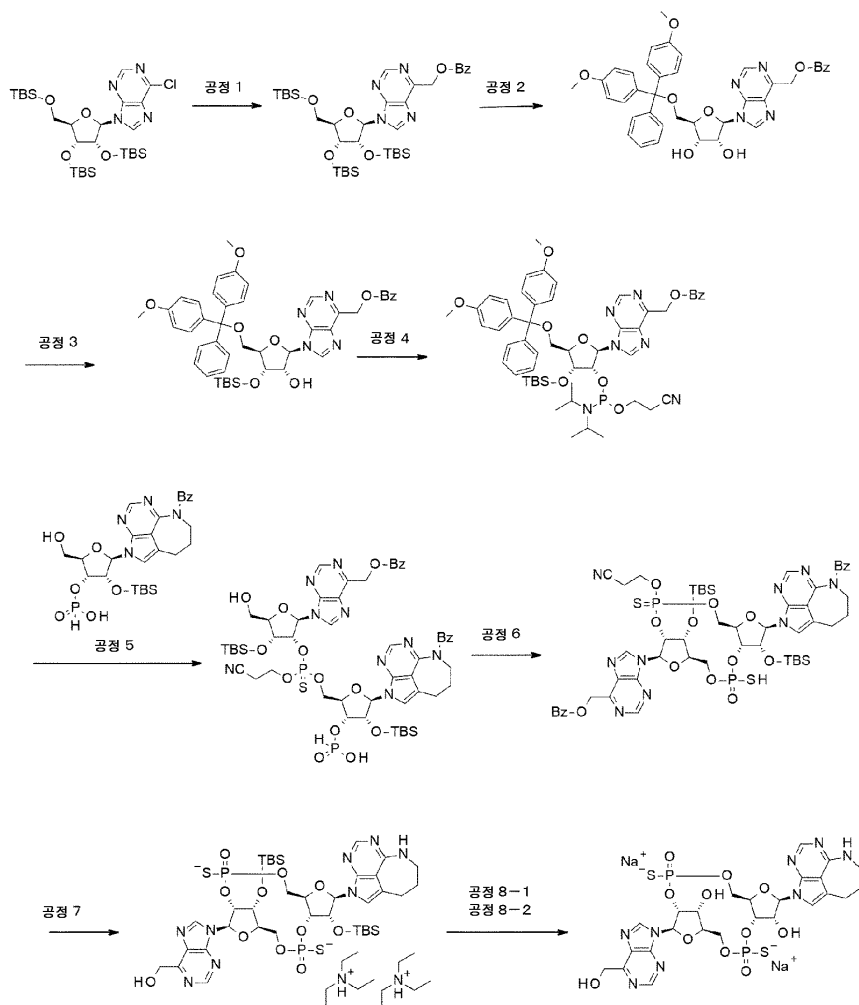
17b (디아스테레오머 2)

[1681]

[1682]

[합성 스킴]

[1683] [화학식 141]



[1684]

[1685] (공정 1)

[1686] 6-[(벤조일옥시)메틸]-9-{2,3,5-트리스-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-β-D-리보푸라노실}-9H-푸린

[1687] 이미 알려진 문헌 (J. Org. Chem. 1997, 62, 6833-6841) 의 6-클로로-9-{2,3,5-트리스-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-β-D-리보푸라노실}-9H-푸린 (10.7 g) 을 사용하여, 실시예 12 공정 2 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (10.4 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 729 (M+H) ⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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=4.2 Hz), 5.88 (2H, s), 4.63 (1H, dd, J=4.5, 2.1 Hz), 4.34 (1H, dd, J=4.2, 2.1 Hz), 4.17-4.14 (1H, m), 4.04 (1H, dd, J=11.5, 3.6 Hz), 3.80 (1H, dd, J=11.5, 2.4 Hz), 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).

[1688]

[1689] (공정 2)

[1690] 6-[(벤조일옥시)메틸]-9-{5-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-β-D-리보푸라노실}-9H-푸린

[1691] 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (10.3 g) 의 테트라하이드로푸란 (50 ml) 용액에, 불화테트라부틸암모늄의 테트라하이드로푸란 용액 (약 1 M, 49.4 ml) 을 첨가하고, 0 °C 에서 4 시간 교반하였다. 반응액에 아세트산 (2.83 ml) 을 첨가한 후, 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [디클로로메탄/메탄올] 로 조 (粗) 정제하였다. 미정제 생성물의 피리딘 (50 ml) 용액에, 4,4'-디메톡시트리틸클로라이드 (10.1 g) 를 0 °C 에서 첨가하고, 4 °C 에서 밤새 교반하였다. 반응액에 메탄올 (2 ml) 을 첨가하고, 1 시간 교반하였다. 반응액에 포화 탄산수소나트륨 수용액을 첨가하고, 디클로로메탄으로 추출하였다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조 후, 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸/0.1 % 트리에틸아민] 으로 정제하고, 표제 화합물 (4.62 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 689 (M+H) ⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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=6.0 Hz), 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, 3.3 Hz), 3.30 (1H, dd, J=10.6, 3.3 Hz), 3.09 (1H, brs).

[1692]

[1693] (공정 3)

[1694] 6-[(벤조일옥시)메틸]-9-{5-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-β-D-리보푸라노실}-9H-푸린

[1695] 상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (4.53 g) 을 사용하여, 실시예 5 공정 3 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (2.09 g) 및 표제 화합물의 위치 이성체인 6-[(벤조일옥시)메틸]-9-{5-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-β-D-리보푸라노실}-9H-푸린 (1.81 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 803 (M+H) ⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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=4.8 Hz), 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, 3.6 Hz), 3.26 (1H, dd, J=10.9, 3.6 Hz), 3.12 (1H, d, J=6.7 Hz), 0.89 (9H, s), 0.09 (3H, s), 0.02 (3H, s).

[1696]

[1697] 위치 이성체 (2'-O-TBS 체)

MS (ESI) m/z : 803 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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=5.4 Hz), 5.88 (2H, s), 4.99 (1H, dd, J=5.1, 2.6 Hz), 4.40-4.34 (1H, m), 4.28 (1H, dd, J=3.6, 2.0 Hz), 3.77 (6H, s), 3.53 (1H, dd, J=10.9, 3.0 Hz), 3.40 (1H, dd, J=10.9, 3.9 Hz), 2.68 (1H, d, J=4.8 Hz), 0.84 (9H, s), 0.00 (3H, s), -0.14 (3H, s).

[1698]

[1699] (공정 4)

[1700] 6-[(벤조일옥시)메틸]-9-(5-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-2-O-((2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스파닐)- β -D-리보푸라노실]-9H-푸린

[1701] 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (2.04 g) 을 사용하여, 실시예 5 공정 4 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (2.37 g) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물 (디아스테레오머비 = 56 : 44) 로서 얻었다.

MS (ESI) m/z : 1003 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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=4.8 Hz), 6.21 (0.56H, d, J=4.8 Hz), 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=6.3 Hz), 2.34 (0.88H, t, J=6.3 Hz), 1.14-1.05 (9H, m), 0.90 (3H, d, J=6.7 Hz), 0.85 (5.04H, s), 0.85 (3.96H, s), 0.11 (1.68H, s), 0.08 (1.32H, s), 0.01 (3H, s).

[1702]

[1703] (공정 5)

[1704] 실시예 1 공정 7 과 동일한 반응을 이하의 스케일로 실시하였다 (원료 : 783 mg).

얻어진 화합물의 아세트

니트릴 용액과 상기 공정 4 에서 얻어진 화합물 (765 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 8 과 동일한 수법으로 반응을 실시하였다. 얻어진 미정제 생성물을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.

- [1705] (공정 6)
- [1706] {9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-10-(2-시아노에톡시)-2-옥소-2-술폰닐-10-술폰닐리덴 옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-9H-푸린-6-일}메틸 벤조에이트
- [1707] 상기 공정 5 에서 얻어진 미정제 생성물을 사용하여, 실시예 1 공정 9 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (345 mg) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.
- [1708] MS(ESI)_{m/z} : 1234(M+H)⁺.
- [1709] (공정 7)
- [1710] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-7-[6-(하이드록시메틸)-9H-푸린-9-일]-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [1711] 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (345 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 10 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (101 mg : 불순물 함유) 과 디아스테레오머 2 (89.9 mg : 불순물 함유) 를 얻었다.
- [1712] 디아스테레오머 1 (저극성)
- [1713] MS(ESI)_{m/z} : 973(M+H)⁺.
- [1714] 디아스테레오머 2 (고극성)
- [1715] MS(ESI)_{m/z} : 973(M+H)⁺.
- [1716] (공정 8-1)
- [1717] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-디하이드록시-7-[6-(하이드록시메틸)-9H-푸린-9-일]-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [1718] (디아스테레오머 1)
- [1719] 상기 공정 7 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (101 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제를 실시하고, 표제 화합물을 트리에틸아민 염으로서 얻었다.
- [1720] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴], 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 5 % - 30 % (0 분 - 40 분)].
- [1721] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (59.2 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 745 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 9.07 (1H, s), 8.88 (1H, s), 8.03 (1H, s), 7.10 (1H, s), 6.48 (1H, d, J=8.5 Hz), 6.29 (1H, d, J=4.8 Hz), 5.46 (1H, dt, J=7.9, 4.2 Hz), 5.21-5.15 (1H, m), 5.10 (2H, s), 4.84-4.80 (1H, m), 4.79 (1H, t, J=4.5 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 57.9 (s), 54.8 (s).

[1722]

[1723]

(공정 8-2)

[1724]

디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-7-[6-(하이드록시메틸)-9H-푸린-9-일]-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[1725]

(디아스테레오머 2)

[1726]

상기 공정 7 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (88.5 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제를 실시하고, 표제 화합물을 트리에틸아민 염으로서 얻었다.

[1727]

[정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴], 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 5 % - 30 % (0 분 - 40 분)], 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/메탄올, 메탄올 : 10 % - 70 % (0 분 - 40 분)].

[1728]

얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (27.7 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 745 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 9.16 (1H, s), 8.87 (1H, s), 8.03 (1H, s), 7.11 (1H, s), 6.51 (1H, d, J=8.5 Hz), 6.33 (1H, d, J=6.7 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 63.1 (s), 60.1 (s).

[1729]

[1730]

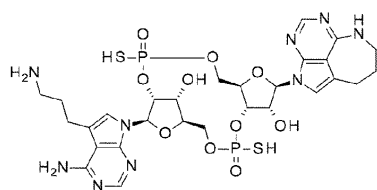
실시예 18 : CDN18 의 합성

[1731]

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[4-아미노-5-(3-아미노프로필)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-7-일]-15,16-

디하이드록시-2,10-비스(술폰닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

[1732] [화학식 142]



18

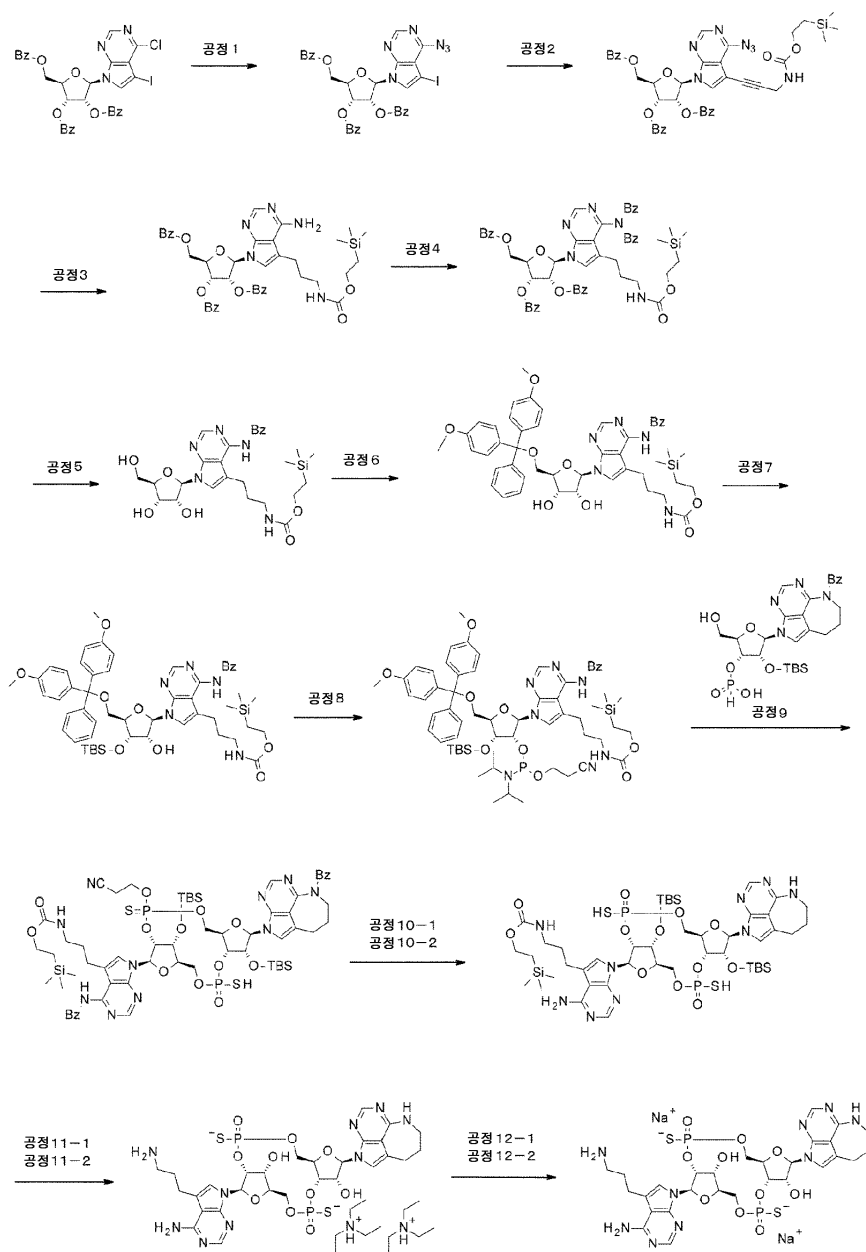
18a (디아스테레오머 1)

18b (디아스테레오머 2)

[1733]

[1734] [합성 스킴]

[1735] [화학식 143]



[1736]

[1737] (공정 1)

[1738] 4-아지드-5-요오드-7-(2,3,5-트리-O-벤조일-β-D-리보푸라노실)-7H-피콜로[2,3-d]피리미딘

[1739] 이미 알려진 문헌 (Synth. Commun. 2012, 42, 358-374) 의 4-클로로-5-요오드-7-(2,3,5-트리-O-벤조일-β-D-리보푸라노실)-7H-피콜로[2,3-d]피리미딘 (17.96 g) 의 N,N-디메틸포름아미드 (90 ml) 용액에, 아지화 테트라부틸암모늄 (10.1 g) 을 첨가하고, 80 °C 에서 30 분간 교반하였다. 반응액을 실온으로 되돌리고, 반응액에 포화 탄산수소나트륨 수용액과 아세트산에틸을 첨가하고, 아세트산에틸로 추출하였다. 유기층을 포화 식염수로 세정 후, 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (17.66 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=5.1\text{ Hz}$), 6.20 (1H, t, $J=5.5\text{ Hz}$), 6.11 (1H, t, $J=5.3\text{ Hz}$), 4.96 (1H, dd, $J=12.2, 3.2\text{ Hz}$), 4.88-4.84 (1H, m), 4.70 (1H, dd, $J=12.2, 3.2\text{ Hz}$).

[1740]

[1741] (공정 2)

[1742] 4-아지드-7-(2,3,5-트리-O-벤조일-β-D-리보푸라노실)-5-[3-({2-(트리메틸실릴)에톡시}카르보닐)아미노]프로파-1-인-1-일]-7H-피콜로[2,3-d]피리미딘

[1743] 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (9.64 g) 의 N,N-디메틸포름아미드 (30 ml) - 테트라하이드로푸란 (100 ml) 혼합 용액에, 2-(트리메틸실릴)에틸프로파-2-인-1-일카르바메이트 (6.58 g), 트리에틸아민 (4.57 ml), 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐(0) (763 mg), 및 요오드화구리(I) (251 mg) 을 차례로 첨가하고, 실온에서 밤새 교반하였다. 반응액에 물을 첨가하고, 아세트산에틸로 추출하였다. 유기층을 포화 식염수로 세정 후, 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (7.20 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=5.1\text{ Hz}$), 6.22 (1H, t, $J=5.5\text{ Hz}$), 6.10 (1H, t, $J=5.3\text{ Hz}$), 5.07 (1H, brs), 4.95 (1H, dd, $J=12.3, 2.9\text{ Hz}$), 4.88-4.84 (1H, m), 4.70 (1H, dd, $J=12.3, 3.7\text{ Hz}$), 4.29 (2H, d, $J=5.5\text{ Hz}$), 4.21 (2H, t, $J=8.6\text{ Hz}$), 1.02 (2H, t, $J=8.6\text{ Hz}$), 0.05 (9H, s).

[1744]

[1745] (공정 3)

[1746] 7-(2,3,5-트리-O-벤조일-β-D-리보푸라노실)-5-[3-({2-(트리메틸실릴)에톡시}카르보닐)아미노]프로필]-7H-피콜로[2,3-d]피리미딘-4-아민

[1747] 상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (7.20 g) 의 메탄올 (70 ml) - 테트라하이드로푸란 (70 ml) 혼합 용액에 20 % 수산화팔라듐탄소 (2g) 를 첨가하고, 수소 분위기하, 실온에서 2 시간 교반하였다. 촉매를 여과 제거한 후,

여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (5.45 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=6.3\text{ Hz}$), 6.17 (1H, t, $J=5.9\text{ Hz}$), 6.11 (1H, dd, $J=5.9, 3.9\text{ Hz}$), 5.23 (2H, s), 4.90 (1H, dd, $J=12.2, 3.4\text{ Hz}$), 4.77–4.70 (2H, m), 4.63 (1H, dd, $J=12.2, 3.4\text{ Hz}$), 4.15 (2H, t, $J=8.6\text{ Hz}$), 3.20–3.10 (2H, m), 2.62 (2H, t, $J=7.6\text{ Hz}$), 1.72–1.62 (2H, m), 1.01–0.94 (2H, m), 0.04 (9H, s).

[1748]

[1749] (공정 4)

[1750] N,N-디벤조일-7-(2,3,5-트리-O-벤조일- β -D-리보퓨라노실)-5-[3-({[2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐}아미노)프로필]-7H-피콜로[2,3-d]피리미딘-4-아민

[1751] 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (5.45 g) 의 디클로로메탄 (60 ml) 용액에, 0 °C 에서 피리딘 (1.69 ml) 과 염화벤조일 (2.01 ml) 을 차례로 첨가하고, 0 °C 에서 5 분간 교반 후, 추가로 트리에틸아민 (2.91 ml) 을 첨가하고, 실온에서 2 시간 교반하였다. 반응액에 포화 탄산수소나트륨 수용액과 디클로로메탄을 첨가하고, 디클로로메탄으로 추출하였다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조 후, 건조제를 여과 제거하고 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 추가로 아세트산에틸과 헥산으로 분말화하였다. 얻어진 고체를 여과 채취하고, 표제 화합물 (6.16 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=5.9\text{ Hz}$), 6.17 (1H, t, $J=6.1\text{ Hz}$), 6.13 (1H, dd, $J=5.9, 3.5\text{ Hz}$), 4.94 (1H, dd, $J=12.2, 3.2\text{ Hz}$), 4.79–4.75 (1H, m), 4.65 (1H, dd, $J=12.2, 3.2\text{ Hz}$), 4.41 (1H, brs), 4.08 (2H, t, $J=8.6\text{ Hz}$), 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).

[1752]

[1753] (공정 5)

[1754] N-벤조일-7- β -D-리보퓨라노실-5-[3-({[2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐}아미노)프로필]-7H-피콜로[2,3-d]피리미딘-4-아민

[1755] 상기 공정 4 에서 얻어진 화합물 (6.16 g) 의 테트라하이드로푸란 (250 ml) 용액에, 0 °C 에서 나트륨메톡시드의 메탄올 용액 (1.0 M, 12.0 ml) 을 적하하고, 실온에서 1 시간 교반하였다. 0 °C 에서 반응액에 아세트산

(1.07 ml) 을 첨가한 후, 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [아세트산에틸/메탄올] 로 정제하고, 추가로 아세트산에틸과 헥산으로 분말화하였다. 얻어진 고체를 여과 채취하고, 표제 화합물 (3.35 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ : 8.62 (1H, s), 8.04 (2H, d, $J=7.0\text{ Hz}$), 7.69–7.62 (1H, m), 7.60–7.54 (3H, m), 6.26 (1H, d, $J=6.3\text{ Hz}$), 4.59 (1H, t, $J=5.7\text{ Hz}$), 4.31 (1H, dd, $J=5.1, 3.5\text{ Hz}$), 4.12–4.01 (3H, m), 3.86 (1H, dd, $J=12.3, 2.9\text{ Hz}$), 3.76 (1H, dd, $J=12.1, 3.5\text{ Hz}$), 3.01 (2H, t, $J=6.7\text{ Hz}$), 2.76 (2H, t, $J=7.4\text{ Hz}$), 1.86–1.76 (2H, m), 0.93 (2H, t, $J=8.2\text{ Hz}$), 0.03 (9H, s).

[1756]

[1757] (공정 6)

[1758] N-벤조일-7-{5-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]- β -D-리보푸라노실}-5-[3-([2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐)아미노]프로필}-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-아민

[1759] 상기 공정 5 에서 얻어진 화합물 (3.35 g) 을 피리딘으로 공비하고, 잔류물의 무수 피리딘 (50 ml) 용액에, 0 °C 에서 4,4'-디메톡시트리틸클로라이드 (2.38 g) 를 첨가하고, 실온에서 밤새 교반하였다. 반응액에 에탄올 (5 ml) 을 첨가하여 반응을 정지시킨 후, 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고 표제 화합물 (4.34 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=5.9\text{ Hz}$), 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, $J=10.6, 3.1\text{ Hz}$), 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).

[1760]

[1761] (공정 7)

[1762] N-벤조일-7-{5-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]- β -D-리보푸라노실}-5-[3-([2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐)아미노]프로필}-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-아민 (3'-O-TBS 체)

[1763] 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (4.34 g) 을 사용하여, 실시예 8 공정 4 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (1.51 g) 과, 표제 화합물의 위치 이성체인, N-벤조일-7-{5-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]- β -D-리보푸라노실}-5-[3-([2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐)아미노]프로필}-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-아민 (2'-O-TBS 체) (2.01 g) 을 각각 얻었다.

[1764] (3'-OTBS 체) (고극성)

$^1\text{H-NMR}$ (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).

[1765]

[1766] (2'-OTBS 체) (저극성)

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=5.1\text{ Hz}$), 5.01 (1H, brs), 4.78 (1H, t, $J=5.7\text{ Hz}$), 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).

[1767]

[1768] (공정 8)

[1769] N-벤조일-7-(5-0-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3-0-[tert-부틸(디메틸)실릴]-2-0-((2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스파닐)- β -D-리보푸라노실)-5-[3-({[2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐}아미노)프로필]-7H-피콜로[2,3-d]피리미딘-4-아민

[1770] 상기 공정 7 에서 얻어진 화합물 (3'-OTBS 체) (1.51 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 6 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 인 원자 상의 디아스테레오머인 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (0.77 g) 과 디아스테레오머 2 (0.48 g) 를 각각 얻었다.

[1771] 디아스테레오머 1 (저극성)

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=5.1\text{ Hz}$), 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, $J=6.7\text{ Hz}$), 0.92 (6H, d, $J=6.7\text{ Hz}$), 0.87 (9H, s), 0.81–0.71 (2H, m), 0.12 (3H, s), 0.03 (3H, s), –0.01 (9H, s).

[1772]

[1773] 디아스테레오머 2 (고극성)

$^1\text{H-NMR}$ (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).

[1774]

[1775] (공정 9)

[1776] 2-(트리메틸실릴)에틸 (3-{4-벤즈아미드-7-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2일)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-10-(2-시아노에톡시)-2-옥소-2-술폰닐-10-술폰닐리덴옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스포시클로테트라데신-7-일]-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-5-일}프로필)카르바메이트

[1777]

실시에 1 공정 7 과 동일한 반응을 이하의 스케일로 실시하였다 (원료 : 1.08 g). 얻어진 화합물의 아세트니트릴 용액과 상기 공정 8 에서 얻어진 화합물 (1.25 g : 디아스테레오머 혼합물) 을 사용하여, 실시에 1 공정 8 및 실시에 1 공정 9 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다. 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 10 % - 50 % (0 분 - 35 분)] 로 인 원자 상의 디아스테레오머를 분리하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (0.19 g) 과 디아스테레오머 2 (0.043 g) 를 얻었다.

[1778]

디아스테레오머 1 (저극성)

- [1779] MS(ESI) m/z : 1419(M+H)⁺.
- [1780] 디아스테레오머 2 (고극성)
- [1781] MS(ESI) m/z : 1419(M+H)⁺.
- [1782] (공정 10-1)
- [1783] 2-(트리메틸실릴)에틸
(3-{4-아미노-7-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-2,10-디옥소-2,10-비스(술폰닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-5-일}프로필)카르바메이트
- [1784] 상기 공정 9 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (0.19 g) 을 사용하여, 실시예 12 공정 8-1 과 동일한 수
법으로 반응을 실시하였다. 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴
: 40 % - 70 % (0 분 - 35 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (58 mg) 을 얻었다.
- [1785] MS(ESI) m/z : 1158(M+H)⁺.
- [1786] (공정 10-2)
- [1787] 2-(트리메틸실릴)에틸
(3-{4-아미노-7-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-2,10-디옥소-2,10-비스(술폰닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-5-일}프로필)카르바메이트
- [1788] 상기 공정 9 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (43 mg) 을 사용하여, 실시예 12 공정 8-1 과 동일한 수
법으로 반응을 실시하였다. 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 :
30 % - 60 % (0 분 - 35 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (15 mg) 을 얻었다.
- [1789] MS(ESI) m/z : 1158(M+H)⁺.
- [1790] (공정 11-1)
- [1791] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[4-아미노-5-(3-아미노프로필)-7H-피롤로
[2,3-d]피리미딘-7-일]-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자
벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사
디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [1792] 상기 공정 10-1 에서 얻어진 화합물 (58 mg) 의 테트라하이드로푸란 (1ml) 용액에, 불화테트라부틸암모늄의 테
트라하이드로푸란 용액 (약 1 M, 5 ml) 을 첨가하고, 실온에서 밤새 교반하였다. 반응이 완결되어 있지 않
기 때문에, 추가로 40 ℃ 에서 3 시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축 후, 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리
에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 10 % - 40 % (0 분 - 35 분)] 로 정제하였다. 또한
Sep-Pak (등록상표) C18 [0.1 % 트리에틸아민 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 0 % - 30 %] 로 정제하
고, 표제 화합물 (25 mg) 을 얻었다.
- [1793] MS(ESI) m/z : 786(M+H)⁺.
- [1794] (공정 11-2)
- [1795] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[4-아미노-5-(3-아미노프로필)-7H-피롤로
[2,3-d]피리미딘-7-일]-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자
벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사
디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

- [1796] 상기 공정 10-2 에서 얻어진 화합물 (15 mg) 을 사용하여, 상기 공정 11-1 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (7.2 mg) 을 얻었다.
- [1797] MS(ESI) m/z : 786(M+H)⁺.
- [1798] (공정 12-1)
- [1799] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[4-아미노-5-(3-아미노프로필)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-7-일]-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [1800] (디아스테레오머 1)
- [1801] 상기 공정 11-1 에서 얻어진 화합물 (25 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (17 mg) 을 얻었다.
- MS (ESI) m/z : 786 (M+H)⁺.
- ¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.028 (1H, s), 8.025 (1H, s), 7.71 (1H, s), 7.09 (1H, s), 6.51 (1H, d, J=8.2 Hz), 6.26 (1H, d, J=5.1 Hz), 5.38-5.29 (1H, m), 5.17-5.10 (1H, m), 4.85-4.80 (1H, m), 4.75 (1H, d, J=3.9 Hz), 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).
- ³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 56.65 (s), 55.31 (s).
- [1802]
- [1803] (공정 12-2)
- [1804] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[4-아미노-5-(3-아미노프로필)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-7-일]-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [1805] (디아스테레오머 2)
- [1806] 상기 공정 11-2 에서 얻어진 화합물 (7.2 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (6.0 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 786 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.02 (1H, s), 8.01 (1H, s), 7.75 (1H, s), 7.07 (1H, s), 6.52 (1H, d, J=8.6 Hz), 6.29 (1H, d, J=7.4 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 63.08 (s), 58.68 (s).

[1807]

[1808]

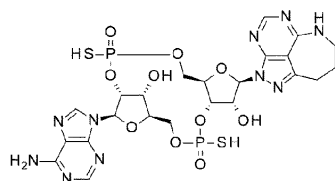
실시예 19 : CDN19 의 합성

[1809]

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-아미노-9H-푸린-9-일)-15,16-디하이드록시-2,10-비스(술팜닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-1,2,3,5,6-펜타아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

[1810]

[화학식 144]



19

19a (디아스테레오머 1)

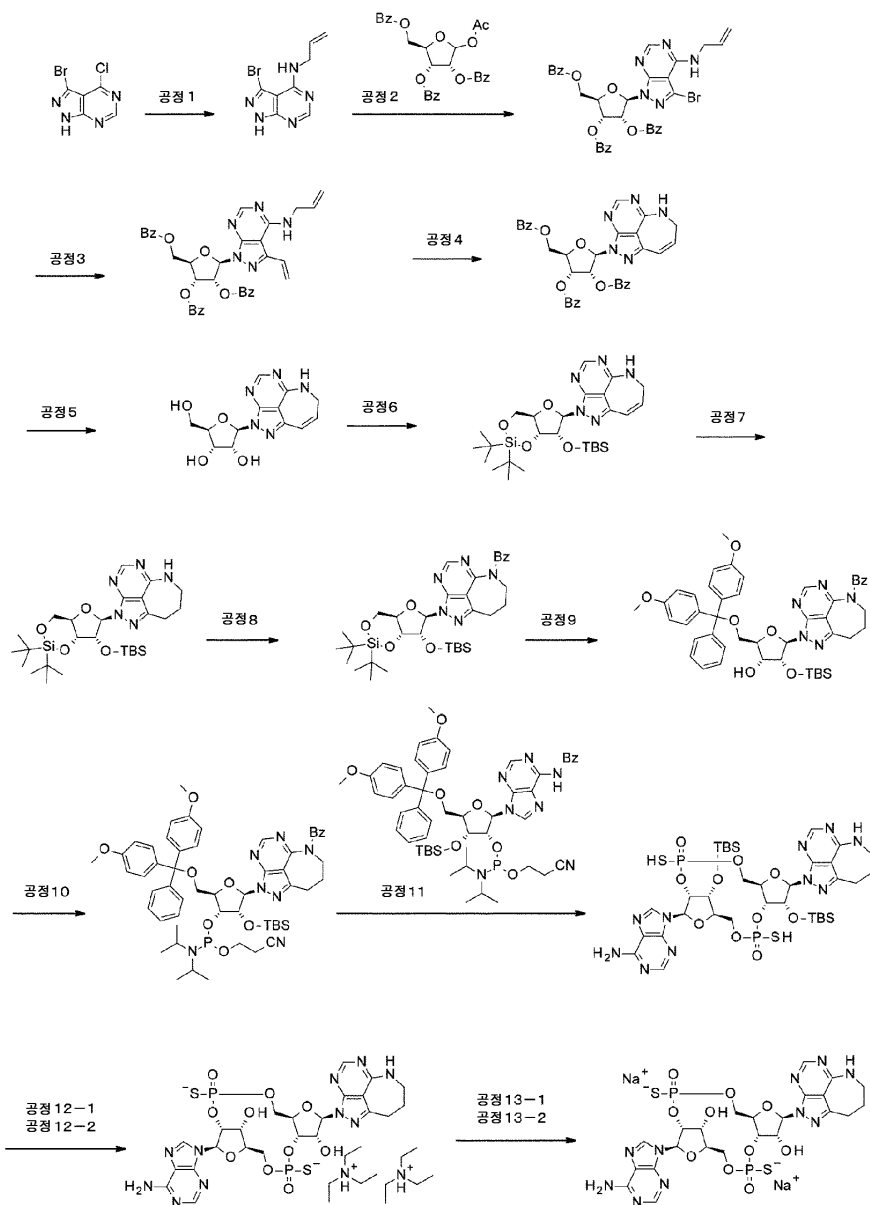
19b (디아스테레오머 2)

[1811]

[1812]

[합성 스킴]

[1813] [화학식 145]



[1814]

[1815] (공정 1)

[1816] 3-브로모-N-(프로파-2-엔-1-일)-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-4-아민

[1817]

시판 (Bepfarm) 되는 3-브로모-4-클로로-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘 (8.50 g) 을 디옥산 (140 ml) 에 현탁시키고, 실온에서 N,N,-디이소프로필에틸아민 (12.5 ml) 과 알릴아민 (11 ml) 을 첨가하고, 동 온도에서 70 시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축하고, 잔류물을 디클로로메탄과 아세트산에틸로 슬러리상으로 한 후, 고체를 여과 채취하였다 (고체 1). 여과액을 감압 농축 후, 동일한 조작을 2 회 반복해서 각각 고체 2 와 고체 3 을 얻었다. 마지막 여과액을 실리카 겔 칼럼 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하여 고체 4 를 얻었다. 또한, 고체 1 을 실리카 겔 칼럼 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하여 고체 5 를 얻었다. 고체 4 와 고체 5 를 아울러, 표제 화합물 (4.48 g) 을 얻었다. 고체 2 와 고체 3 을 아울러, 불순물을 포함하는 표제 화합물 (3.78 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 254 (M+H)⁺.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 13.82 (1H, s), 8.26 (1H, s), 7.23 (1H, t, J=5.9 Hz), 5.96 (1H, m), 5.18 (1H, dd, J=17.1, 1.5 Hz), 5.10 (1H, dd, J=10.3, 1.5 Hz), 4.19 (2H, m).

[1818]

[1819] (공정 2)

[1820] 3-브로모-N-(프로파-2-엔-1-일)-1-(2,3,5-트리-O-벤조일-β-D-리보퓨라노실)-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-4-아민

[1821] 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (1.00 g) 과 시판 (Ark Pharm) 되는 1-O-아세틸-2,3,5-트리-O-벤조일-β-D-리보퓨라노스 (2.58 g) 를 니트로메탄 (50 ml) 에 현탁시킨 후, 가열하여 용해시켰다. 가열 환류하에서 3불화붕소디에틸에테르 착물 (0.63 ml) 을 첨가하고, 동 온도에서 1 시간 교반하였다. 1-O-아세틸-2,3,5-트리-O-벤조일-β-D-리보퓨라노스 (0.40 g) 와 3불화붕소디에틸에테르 착물 (0.10 ml) 을 추가하여, 3 시간 더 교반하였다. 반응액을 감압 농축 후, 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (1.80 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 698 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 8.40 (1H, s), 8.13 (2H, m), 7.96 (4H, m), 7.59-7.32 (9H, m), 6.79 (1H, d, J=3.4 Hz), 6.39 (1H, dd, J=5.1, 3.7 Hz), 6.25 (1H, t, J=5.6 Hz), 6.17 (1H, t, J=5.6 Hz), 6.00 (1H, m), 5.31 (1H, dd, J=17.1, 1.0 Hz), 5.24 (1H, dd, J=10.5, 1.2 Hz), 4.81 (1H, m), 4.75 (1H, dd, J=12.0, 3.7 Hz), 4.63 (1H, dd, J=12.2, 4.4 Hz), 4.30 (2H, m).

[1822]

[1823] (공정 3)

[1824] 3-에테닐-N-(프로파-2-엔-1-일)-1-(2,3,5-트리-O-벤조일-β-D-리보퓨라노실)-1H-피라졸로[3,4-d]피리미딘-4-아민

[1825] 상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (11.65 g) 의 톨루엔 (120 ml) 에 용액을, 감압하에서 초음파 처리하여 탈기하였다. 질소 분위기하, 반응액에 트리부틸비닐주석 (12.8 ml) 과 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐(0) (2.73 g) 을 첨가하고, 2 시간 가열 환류하였다. 반응액을 감압 농축 후, 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [디클로로메탄/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (10.07 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 646 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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, 3.4 Hz), 6.32 (1H, t, J=5.9 Hz), 6.00 (1H, m), 5.94 (1H, dd, J=17.6, 1.0 Hz), 5.67 (1H, dd, J=11.2, 1.0 Hz), 5.56 (1H, t, J=5.6 Hz), 5.27 (1H, dd, J=17.1, 1.0 Hz), 5.22 (1H, dd, J=10.3, 1.0 Hz), 4.82 (1H, m), 4.77 (1H, dd, J=12.2, 3.9 Hz), 4.62 (1H, dd, J=11.7, 4.9 Hz), 4.29 (2H, m).

[1826]

[1827]

(공정 4)

[1828]

2-(2,3,5-트리-0-벤조일-β-D-리보푸라노실)-6,7-디하이드로-2H-1,2,3,5,6-펜타아자벤조[cd]아줄렌

[1829]

상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (9.0 g) 을 벤젠으로 2 회 공비하였다. 잔류물의 디클로로메탄 용액 (480 ml) 에 (+)-10-캄페솔폰산 (4.2 g) 과 벤질리덴[1,3-비스(2,4,6-트리메틸페닐)이미다졸리딘-2-일리덴]디클로라이드(트리스클로헥실-λ⁵-포스포닐)루테늄 (제 2 세대 Grubbs 촉매) (360 mg) 을 첨가하고, 3 시간 가열 환류하였다. 제 2 세대 Grubbs 촉매 (360 mg) 를 추가하고, 1 시간 더 가열 환류하였다. 반응액을 실온까지 냉각시키고, 포화 탄산수소나트륨 수용액과 포화 식염수로 차례로 세정 후, 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (6.39 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 618 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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=2.9 Hz), 6.76 (1H, d, J=10.7 Hz), 6.43 (1H, dd, J=5.1, 3.2 Hz), 6.33 (1H, t, J=5.9 Hz), 6.12 (1H, m), 5.61 (1H, brs), 4.83 (1H, m), 4.78 (1H, dd, J=12.2, 3.9 Hz), 4.63 (1H, dd, J=12.0, 4.6 Hz), 4.16 (2H, m).

[1830]

[1831]

(공정 5)

[1832]

2-β-D-리보푸라노실-6,7-디하이드로-2H-1,2,3,5,6-펜타아자벤조[cd]아줄렌

[1833]

상기 공정 4 에서 얻어진 화합물 (620 mg) 의 메탄올 (10 ml) - 테트라하이드로퓨란 (5.0 ml) 혼합 용액에, 실온에서 나트륨메톡시드의 메탄올 용액 (1.0 M, 0.10 ml) 을 첨가하고, 동 온도에서 18 시간 교반하였다. 반응액을 1 규정 염산으로 중화 후, 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [디클로로메탄/메탄올] 로 정제하고, 표제 화합물 (279 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 306 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.23 (1H, s), 6.79 (1H, m), 6.22-6.17 (2H, m), 4.74 (1H, t, J=5.1 Hz), 4.42 (1H, t, J=4.6 Hz), 4.14 (2H, dd, J=5.9, 1.5 Hz), 4.11 (1H, q, J=4.1 Hz), 3.81 (1H, dd, J=12.4, 3.2 Hz), 3.68 (1H, dd, J=12.4, 4.6 Hz).

[1834]

[1835] (공정 6)

[1836] 2-{2-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3,5-O-(디-tert-부틸실릴리덴)- β -D-리보푸라노실}-6,7-디하이드로-2H-1,2,3,5,6-펜타아자벤조[cd]아줄렌

[1837] 상기 공정 5 에서 얻어진 화합물 (2.81 g) 을 사용하여, 실시예 1 의 공정 1 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (4.72 g) 을 얻었다.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 8.38 (1H, s), 6.85 (1H, d t, J=11.0, 1.4 Hz), 6.28 (1H, s), 6.16-6.08 (1H, m), 5.78 (1H, br s), 4.71-4.63 (2H, m), 4.39 (1H, dd, J=9.0, 5.1 Hz), 4.22-4.10 (3H, m), 3.96 (1H, dd, J=10.6, 9.0 Hz), 1.11 (9H, s), 1.05 (9H, s), 0.90 (9H, s), 0.11 (3H, s), 0.09 (3H, s).

[1838]

[1839] (공정 7)

[1840] 2-{2-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3,5-O-(디-tert-부틸실릴리덴)- β -D-리보푸라노실}-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-1,2,3,5,6-펜타아자벤조[cd]아줄렌

[1841] 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (2.12 g) 의 테트라하이드로푸란 (20 ml) 용액에, 아세트산 (파스퇴르 피펫으로 3 방울), 10 % 팔라듐탄소 (AD) wet (0.82 g) 를 첨가하고, 수소 분위기하, 실온에서 3 시간 교반하였다. 촉매를 여과 제거한 후, 테트라하이드로푸란으로 세정하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (2.09 g) 을 얻었다.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 8.29 (1H, s), 6.33 (1H, br s), 6.27 (1H, s), 4.70 (1H, d, J=4.7 Hz), 4.62 (1H, dd, J=9.6, 4.9 Hz), 4.39 (1H, dd, J=9.0, 5.1 Hz), 4.21-4.08 (1H, m), 3.95 (1H, dd, J=10.4, 9.2 Hz), 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).

[1842]

[1843] (공정 8)

[1844] 6-벤조일-2-{2-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3,5-O-(디-tert-부틸실릴리덴)- β -D-리보푸라노실}-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-1,2,3,5,6-펜타아자벤조[cd]아줄렌

[1845] 상기 공정 7 에서 얻어진 화합물 (2.09 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 4 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (2.23 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=4.7\text{ Hz}$), 4.66 (1H, dd, $J=9.4, 4.7\text{ Hz}$), 4.49 (1H, dd, $J=14.7, 8.0\text{ Hz}$), 4.40 (1H, dd, $J=9.0, 5.1\text{ Hz}$), 4.24–4.09 (2H, m), 3.96 (1H, dd, $J=10.6, 9.0\text{ Hz}$), 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).

[1846]

[1847] (공정 9)

[1848] 6-벤조일-2-{5-0-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2-0-[tert-부틸(디메틸)실릴]- β -D-리보푸라노실]-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-1,2,3,5,6-펜타아자벤조[cd]아줄렌

[1849] 상기 공정 8 에서 얻어진 화합물 (2.23 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 5 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (2.69 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=5.5\text{ Hz}$), 5.32 (1H, t, $J=5.5\text{ Hz}$), 4.43 (1H, dd, $J=14.3, 8.0\text{ Hz}$), 4.34–4.29 (1H, m), 4.25–4.13 (2H, m), 3.78 (3H, s), 3.77 (3H, s), 3.46 (1H, dd, $J=10.4, 3.3\text{ Hz}$), 3.17–3.05 (3H, m), 2.79 (1H, d, $J=3.5\text{ Hz}$), 2.40–2.19 (2H, m), 0.82 (9H, s), 0.03 (3H, s), -0.13 (3H, s).

[1850]

[1851] (공정 10)

[1852] 6-벤조일-2-(5-0-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2-0-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3-0-((2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스파닐)- β -D-리보푸라노실)-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-1,2,3,5,6-펜타아자벤조[cd]아줄렌

[1853] 상기 공정 9 에서 얻어진 화합물 (2.69 g) 을 사용하여, 실시예 5 의 공정 4 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (2.93 g) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물 (디아스테레오머비 = 6 : 4) 로서 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 8.22 (0.4 H, s), 8.21 (0.6 H, s), 7.56–7.50 (2 H, m), 7.44–7.37 (7 H, m), 7.28–7.18 (5 H, m), 6.81–6.73 (4 H, m), 6.44 (0.6 H, d, $J=6.3$ Hz), 6.40 (0.4 H, d, $J=6.3$ Hz), 5.34–5.28 (1 H, m), 4.47–4.35 (2.4 H, m), 4.32–4.26 (0.6 H, m), 4.25–4.16 (1 H, m), 4.03–3.84 (1 H, m), 3.80–3.73 (6 H, m), 3.69–3.44 (4 H, m), 3.18–3.00 (3 H, m), 2.73–2.59 (1 H, m), 2.40–2.19 (3 H, m), 1.22–1.14 (8.4 H, m), 1.01 (3.6 H, d, $J=6.7$ Hz), 0.76 (3.6 H, s), 0.74 (5.4 H, s), 0.02 (1.2 H, s), 0.01 (1.8 H, s), -0.12 (1.8 H, s), -0.15 (1.2 H, s).

[1854]

[1855] (공정 11)

[1856] (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-아미노-9H-푸린-9-일)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-2,10-비스(술폰)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-1,2,3,5,6-펜타아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

[1857] 상기 공정 10 에서 얻어진 화합물 (1.04 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 7 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 6-벤조일-2-{2-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3-O-(디하이드록시포스파닐)- β -D-리보퓨라노실}-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-1,2,3,5,6-펜타아자벤조[cd]아줄렌의 아세토니트릴 용액을 얻었다. 이 아세토니트릴 용액과 시판 (Cool Pharm) 되는 N-벤조일-5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-2'-O-[(2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스파닐]아데노신 (1.20 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 8, 실시예 1 공정 9, 실시예 1 공정 10 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다. 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 25 - 50 % (0 분 - 35 분)] 로 인 원자 상의 디아스테레오머를 분리하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (15 mg) 과 디아스테레오머 2 (55 mg) 를 얻었다 (HPLC 의 유지 시간 : 디아스테레오머 1 > 2).

[1858] 디아스테레오머 1 (저극성)

[1859] MS(ESI)m/z : 959(M+H) $^+$.

[1860] 디아스테레오머 2 (고극성)

[1861] MS(ESI)m/z : 959(M+H) $^+$.

[1862] (공정 12-1)

[1863] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-아미노-9H-푸린-9-일)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-1,2,3,5,6-펜타아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[1864] 상기 공정 11 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (20 mg) 에, 트리에틸아민3불화수소산염 (1ml) 을 첨가하고, 45 $^{\circ}\text{C}$ 에서 2 시간 교반하였다. 반응액을 병행한 1 M 탄산수소트리에틸암모늄 수용액 (3 ml) 과 트리에틸아민 (1ml) 의 혼합 용액에 첨가하여 반응을 정지시켰다. Sep-Pak (등록상표) C18 [0.1 % 트리에틸아민수/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 0 % - 17 %] 로 정제하고, 표제 화합물 (15 mg) 을 얻었다.

- [1865] MS(ESI) m/z : 731(M+H)⁺.
- [1866] (공정 12-2)
- [1867] 비스(N,N-디에틸에탄아민) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-아미노-9H-푸린-9-일)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-1,2,3,5,6-펜타아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [1868] 상기 공정 11 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (43 mg) 을 사용하여, 상기 공정 12-1 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (34 mg) 을 얻었다.
- [1869] MS(ESI) m/z : 731(M+H)⁺.
- [1870] (공정 13-1)
- [1871] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-아미노-9H-푸린-9-일)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-1,2,3,5,6-펜타아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [1872] (디아스테레오머 1)
- [1873] 상기 공정 12-1 에서 얻어진 화합물 (15 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 혼합물 (12 mg) 을 얻었다.
- MS (ESI) m/z : 731 (M+H)⁺.
- ¹H-NMR (CD₃OD) 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, 5.3 Hz), 5.40-5.33 (1H, m), 5.06 (1H, dd, J=4.5, 2.9 Hz), 4.94 (1H, d, J=3.5 Hz), 4.67-4.30 (4H, m), 4.03 (1H, ddd, J=12.5, 6.1, 2.2 Hz), 3.93 (1H, dt, J=18.1, 6.1 Hz), 3.58 (2H, d, J=7.4 Hz), 3.02 (2H, t, J=5.9 Hz), 2.18-2.04 (2H, m).
- ³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 56.5 (s), 54.2 (s).
- [1874]
- [1875] (공정 13-2)
- [1876] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-아미노-9H-푸린-9-일)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-1,2,3,5,6-펜타아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [1877] (디아스테레오머 2)
- [1878] 상기 공정 12-2 에서 얻어진 화합물 (34 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 혼합물 (28 mg : 디아스테레오머비 = 4 : 1) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 731 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) 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, 4.3 Hz), 5.10 (0.2H, t, J=4.5 Hz), 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=5.7 Hz), 2.98 (0.4H, t, J=5.9 Hz), 2.17-2.04 (2H, m).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 63.5 (s), 63.4 (s), 60.0 (s), 59.9 (s).

[1879]

[1880]

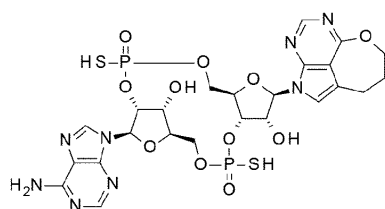
실시예 20 : CDN20 의 합성

[1881]

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-아미노-9H-푸린-9-일)-14-(8,9-디하이드로-6-옥사-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌-2(7H)-일)-15,16-디하이드록시-2,10-비스(술폰닐)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

[1882]

[화학식 146]



20

20a (디아스테레오머 1)

20b (디아스테레오머 2)

[1883]

[1884]

[합성 스킴]

교반하였다. 빙랭하, 반응액에 포화 염화암모늄 수용액을 첨가하여 반응을 정지시켰다. 반응액을 아세트산에틸로 추출 후, 유기층을 물, 포화 식염수로 세정하고, 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (3.38 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=13.7\text{ Hz}$), 5.62 (1H, d, $J=13.7\text{ Hz}$), 4.50–4.43 (2H, m), 4.27 (1H, dd, $J=9.2, 4.9\text{ Hz}$), 4.21–4.12 (1H, m), 4.01 (1H, dd, $J=10.4, 9.2\text{ Hz}$), 1.09 (9H, s), 1.04 (9H, s), 0.91 (9H, s), 0.12 (3H, s), 0.11 (3H, s).

[1894]

(공정 3)

[1895]

4-(벤질옥시)-7-{2-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3,5-O-(디-tert-부틸실릴리덴)- β -D-리보푸라노실}-5-(3-하이드록시프로판-1-인-1-일)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘

[1896]

상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (3.38 g) 과 2-프로판-1-올 (1.35 ml) 을 사용하고, 반응 온도를 실온으로 하여, 실시예 1 공정 2 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (2.22 g) 을 얻었다.

[1897]

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=12.7\text{ Hz}$), 5.57 (1H, d, $J=12.7\text{ Hz}$), 4.51–4.41 (4H, m), 4.27 (1H, dd, $J=9.5, 5.0\text{ Hz}$), 4.19 (1H, dt, $J=9.9, 5.0\text{ Hz}$), 4.01 (1H, dd, $J=9.9, 9.5\text{ Hz}$), 1.52 (1H, t, $J=6.3\text{ Hz}$), 1.08 (9H, s), 1.04 (9H, s), 0.91 (9H, s), 0.13 (3H, s), 0.11 (3H, s).

[1898]

(공정 4)

[1899]

7-{2-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3,5-O-(디-tert-부틸실릴리덴)- β -D-리보푸라노실}-5-(3-하이드록시프로필)-3,7-디하이드로-4H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-온

[1900]

상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (3.38 g) 을 사용하여, 반응 용매를 메탄올 (20 ml) - 테트라하이드로푸란 (20 ml) 의 혼합액으로 하고, 실시예 19 공정 7 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (0.92 g) 을 얻었다.

[1901]

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 11.36 (1H, brs), 7.86 (1H, s), 6.69 (1H, s), 6.10 (1H, s), 4.48 (1H, dd, $J=9.2, 4.9\text{ Hz}$), 4.37 (1H, d, $J=5.1\text{ Hz}$), 4.23 (1H, dd, $J=9.3, 4.8\text{ Hz}$), 4.16 (1H, dt, $J=9.8, 4.8\text{ Hz}$), 4.02 (1H, dd, $J=9.8, 9.3\text{ Hz}$), 3.84 (1H, t, $J=6.3\text{ Hz}$), 3.58 (2H, dd, $J=11.9, 6.1\text{ Hz}$), 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).

[1902]

[1903] (공정 5)

[1904] 2-{2-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3,5-O-(디-tert-부틸실릴리덴)- β -D-리보푸라노실}-2,7,8,9-테트라하이드로-6-옥사-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌

[1905] 상기 공정 4 에서 얻어진 화합물 (0.92 g) 의 테트라하이드로푸란 (32 ml) 용액에, 빙랭하에서 트리페닐포스핀 (0.62 g) 과 아조디카르복실산디이소프로필 (0.47 ml) 을 첨가하고, 실온까지 승온하여 1 시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축 후, 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (0.77 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=9.5, 5.0\text{ Hz}$), 4.17 (1H, dt, $J=10.0, 5.0\text{ Hz}$), 4.00 (1H, dd, $J=10.0, 9.5\text{ Hz}$), 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).

[1906]

[1907] (공정 6)

[1908] 2-{5-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]- β -D-리보푸라노실}-2,7,8,9-테트라하이드로-6-옥사-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌

[1909] 상기 공정 5 에서 얻어진 화합물 (0.95 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 5 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (1.13 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=5.4\text{ Hz}$), 4.71 (1H, t, $J=5.4\text{ Hz}$), 4.55–4.48 (2H, m), 4.35 (1H, dd, $J=8.2, 4.3\text{ Hz}$), 4.22 (1H, q, $J=3.0\text{ Hz}$), 3.79 (3H, s), 3.79 (3H, s), 3.53 (1H, dd, $J=10.6, 3.1\text{ Hz}$), 3.37 (1H, dd, $J=10.6, 3.1\text{ Hz}$), 2.80 (1H, d, $J=4.3\text{ Hz}$), 2.71 (2H, t, $J=5.5\text{ Hz}$), 2.23–2.15 (2H, m), 0.83 (9H, s), -0.04 (3H, s), -0.16 (3H, s).

[1910]

[1911] (공정 7)

[1912] 2-(5-0-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2-0-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3-0-((2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스포닐)- β -D-리보퓨라노실)-2,7,8,9-테트라하이드로-6-옥사-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌

[1913] 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (1.13 g) 을 사용하여, 정제에 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산 에틸/0.1 % 트리에틸아민] 을 사용한 것 이외는, 실시예 5 공정 4 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (1.00 g) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물 (디아스테레오머비 = 6 : 4) 로서 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=6.7\text{ Hz}$), 6.30 (0.4H, d, $J=5.9\text{ Hz}$), 4.82 (0.6H, dd, $J=6.7, 4.7\text{ Hz}$), 4.76 (0.4H, dd, $J=5.9, 4.7\text{ Hz}$), 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, $J=6.5\text{ Hz}$), 2.23–2.14 (2H, m), 1.20–1.15 (8.4H, m), 1.03 (3.6H, d, $J=7.0\text{ Hz}$), 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).

[1914]

[1915] (공정 8)

[1916] N-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-10-(2-시아노에톡시)-14-(8,9-디하이드로-6-옥사-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌-2(7H)-일)-2-옥소-2-술폰닐-10-술폰닐리텐옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스포시클로테트라데신-7-일]-9H-푸린-6-일}벤즈아미드

[1917] 상기 공정 7 에서 얻어진 화합물 (1.00 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 7 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고,

2-{2-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3-O-(디하이드록시포스포닐)-β-D-리보퓨라노실}-2,7,8,9-테트라하이드로-6-옥사-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌의 아세토니트릴 용액을 얻었다. 이 아세토니트릴 용액과 시판 (Cool Pharm) 되는 N-벤조일-5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-2'-O-((2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스포닐}아데노신 (1.28 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 8, 실시예 1 공정 9 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 을 포함하는 혼합물과 디아스테레오머 2 를 포함하는 혼합물을 각각 얻었다.

- [1918] 디아스테레오머 1 (저극성)
- [1919] MS(ESI) m/z : 1116(M+H)⁺.
- [1920] 디아스테레오머 2 (고극성)
- [1921] MS(ESI) m/z : 1116(M+H)⁺.
- [1922] (공정 9-1)
- [1923] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-아미노-9H-푸린-9-일)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-14-(8,9-디하이드로-6-옥사-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌-2(7H)-일)-2,10-디옥소옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [1924] 상기 공정 8 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1 을 포함하는 혼합물) 을 전량 사용하여, 실시예 1 공정 10 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제를 실시하고, 표제 화합물 (73 mg) 을 트리에틸아민염으로서 얻었다.
- [1925] [정제 조건] HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 30 % - 60 % (0 분 - 35 분)].
- [1926] MS(ESI) m/z : 959(M+H)⁺.
- [1927] (공정 9-2)
- [1928] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-아미노-9H-푸린-9-일)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-14-(8,9-디하이드로-6-옥사-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌-2(7H)-일)-2,10-디옥소옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [1929] 상기 공정 8 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2 를 포함하는 혼합물) 을 전량 사용하여, 실시예 1 공정 10 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제를 실시하고, 표제 화합물 (58 mg) 을 트리에틸아민염으로서 얻었다.
- [1930] [정제 조건] HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 25 % - 50 % (0 분 - 35 분)].
- [1931] MS(ESI) m/z : 959(M+H)⁺.
- [1932] (공정 10-1)
- [1933] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-아미노-9H-푸린-9-일)-14-(8,9-디하이드로-6-옥사-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌-2(7H)-일)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [1934] (디아스테레오머 1)
- [1935] 상기 공정 9-1 에서 얻어진 화합물 (68 mg) 을 사용하여, 실시예 19 공정 12-1 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (42 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 731 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.73 (1H, s), 8.31 (1H, s), 8.17 (1H, s), 7.36 (1H, s), 6.38 (1H, d, J=4.7 Hz), 6.34 (1H, d, J=8.2 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 58.2 (s), 54.4 (s).

[1936]

[1937]

(공정 10-2)

[1938]

디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-아미노-9H-푸린-9-일)-14-(8,9-디하이드로-6-옥사-2,3,5-트리아자벤조[cd]아졸렌-2(7H)-일)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[1939]

(디아스테레오머 2)

[1940]

상기 공정 9-2 에서 얻어진 화합물 (58 mg) 을 사용하여, 실시예 19 공정 12-1 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (35 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 731 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.81 (1H, s), 8.31 (1H, s), 8.17 (1H, s), 7.38 (1H, s), 6.41 (1H, d, J=6.7 Hz), 6.34 (1H, d, J=8.6 Hz), 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=5.5 Hz), 2.28-2.19 (2H, m).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 63.1 (s), 60.5 (s).

[1941]

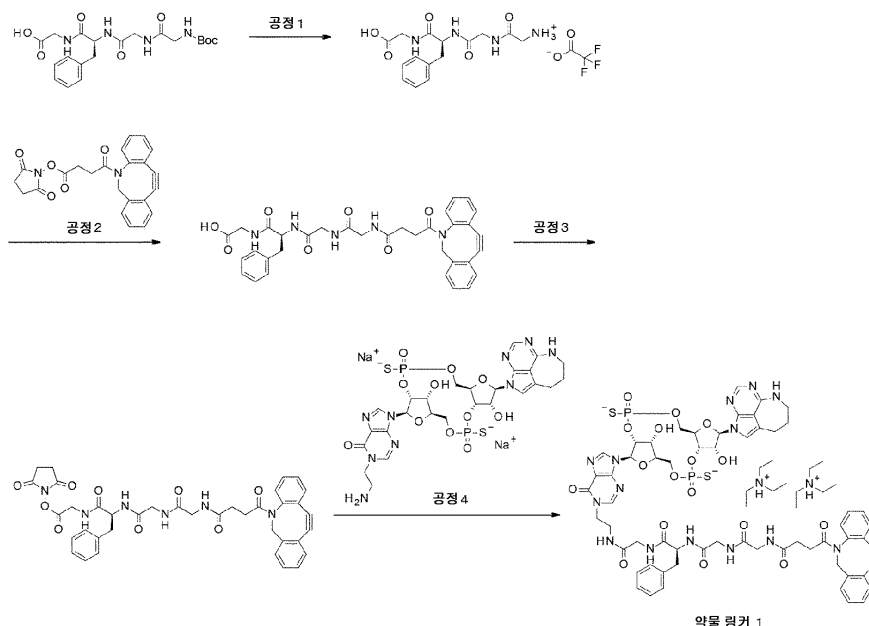
[1942]

실시예 21 : 약물 링커 1 의 합성

[1943]

[합성 스킴]

[1944] [화학식 148]



[1945]

[1946] (공정 1)

[1947] N-(아자니우밀아세틸)글리실-L-페닐알라닐글리신트리플루오로아세테이트

[1948] 시판 (BACHEM) 되는 N-(tert-부톡시카르보닐)글리실글리실-L-페닐알라닐글리신 (3.00 g) 의 디클로로메탄 (30 ml) 용액에 실온에서 트리플루오로아세트산 (15 ml) 을 첨가하고, 동 온도에서 3 시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축 후, 톨루엔에 현탁시켜 재차 감압 농축하였다. 이 농축 조작을 추가로 2 회 반복하였다. 잔류물을 디에틸에테르 (100 ml) 로 슬러리상으로 한 후, 여과 채취하고, 표제 화합물 (3.27 g) 의 미정제체를 얻었다.

MS (ESI) m/z : 337 (M+H)⁺.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 12.60 (1H, brs), 8.48 (1H, t, J=5.6 Hz), 8.44 (1H, t, J=5.9 Hz), 8.31 (1H, d, J=8.8 Hz), 7.97 (3H, brs), 7.28-7.16 (5H, m), 4.58 (1H, m), 3.87 (1H, dd, J=16.8, 5.6 Hz), 3.78 (2H, d, J=5.9 Hz), 3.67 (1H, dd, J=17.1, 5.4 Hz), 3.56 (2H, brd, J=4.4 Hz), 3.05 (1H, dd, J=13.7, 3.9 Hz), 2.74 (1H, dd, J=13.7, 10.3 Hz).

[1949]

[1950] (공정 2)

[1951] N-[4-(11,12-디데히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-페닐알라닐글리신

[1952] 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (2.09 g) 의 N,N-디메틸포름아미드 (46.4 ml) 용액에 트리에틸아민 (0.804 ml) 과 1-{[4-(11,12-디데히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]옥시}피롤리딘-2,5-디온 (1.87 g) 을 첨가하고, 실온에서 21 시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축하고, 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [디클로로메탄/메탄올] 로 정제하였다. 얻어진 화합물의 디클로로메탄 용액에 디에틸에테르를 첨가하여 슬러리상으로 한 후, 여과 채취하고, 표제 화합물 (2.10 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 624 (M+H)⁺.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 8.20-7.91 (4H, m), 7.68-7.13 (13H, m), 4.98 (1H, dd, J=13.9, 3.2 Hz), 4.51-4.46 (1H, m), 3.73-3.47 (7H, m), 3.00 (1H, dd, J=13.9, 4.1 Hz), 2.73 (1H, t, J=11.7 Hz), 2.67-2.57 (1H, m), 2.29-2.22 (1H, m), 2.06-2.01 (1H, m), 1.80-1.73 (1H, m).

[1953]

[1954] (관측 가능한 피크만 기재)

[1955] (공정 3)

[1956] 2,5-디옥소피롤리딘-1-일N-[4-(11,12-디테히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-페닐알라닐글리시네이트

[1957] 상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (2.10 g) 의 N,N-디메틸포름아미드 (33.7 ml) 용액에 N-하이드록시숙신이미드 (426 mg) 와 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)-카르보디이미드염산염 (710 mg) 을 첨가하고, 질소 분위기하, 실온에서 16 시간 교반하였다. 반응액을 디클로로메탄으로 희석 후, 빙수로 3 회 세정하고, 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 유상 (油狀) 의 잔류물에 아세트산에틸을 첨가하여 고체를 석출시켰다. 용매를 감압하에서 증류 제거, 얻어진 고체에 디에틸에테르를 첨가하여 슬러리상으로 한 후, 여과 채취하고, 표제 화합물 (2.18 g) 을 얻었다.

¹H-NMR (DMSO-d₆) 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, 3.0 Hz), 4.55-4.49 (1H, m), 4.27 (2H, t, J=6.0 Hz), 3.77-3.68 (1H, m), 3.64-3.50 (4H, m), 3.02 (1H, dd, J=13.9, 4.2 Hz), 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).

[1958]

[1959] (공정 4)

[1960] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) N-[4-(11,12-디테히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-페닐알라닐-N-(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-2,10-디술폰아이드-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-6-옥소-6,9-디하이드로-1H-푸린-1-일}에틸)글리신아미드

[1961] (약물 링커 1)

[1962] 실시예 5 공정 8-2 에서 얻어진 화합물 (10.0 mg) 의 N,N-디메틸포름아미드 (1ml) 용액에 트리에틸아민 (8 μl) 과 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (17.6 mg) 을 첨가하고, 실온에서 2 시간 교반하였다. 반응액에, 벤질아민 (3 μl) 을 첨가하고, 실온에서 1 시간 교반하였다. 반응액에 10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액과 메탄올을 첨가하고, C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴] 과 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 5 % - 50 % (0 분 - 40

분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (10.9 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 1379 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.72 (1H, d, J=10.0 Hz),
8.15 (1H, d, J=10.0 Hz), 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=6.7 Hz), 6.25 (1H, d, J=8.5 Hz), 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=7.3 Hz), 3.16-2.73 (5H, m), 2.40-2.23 (2H, m), 2.06-1.94 (4H, m), 1.29 (18H, t, J=7.3 Hz).

[1963]

[1964]

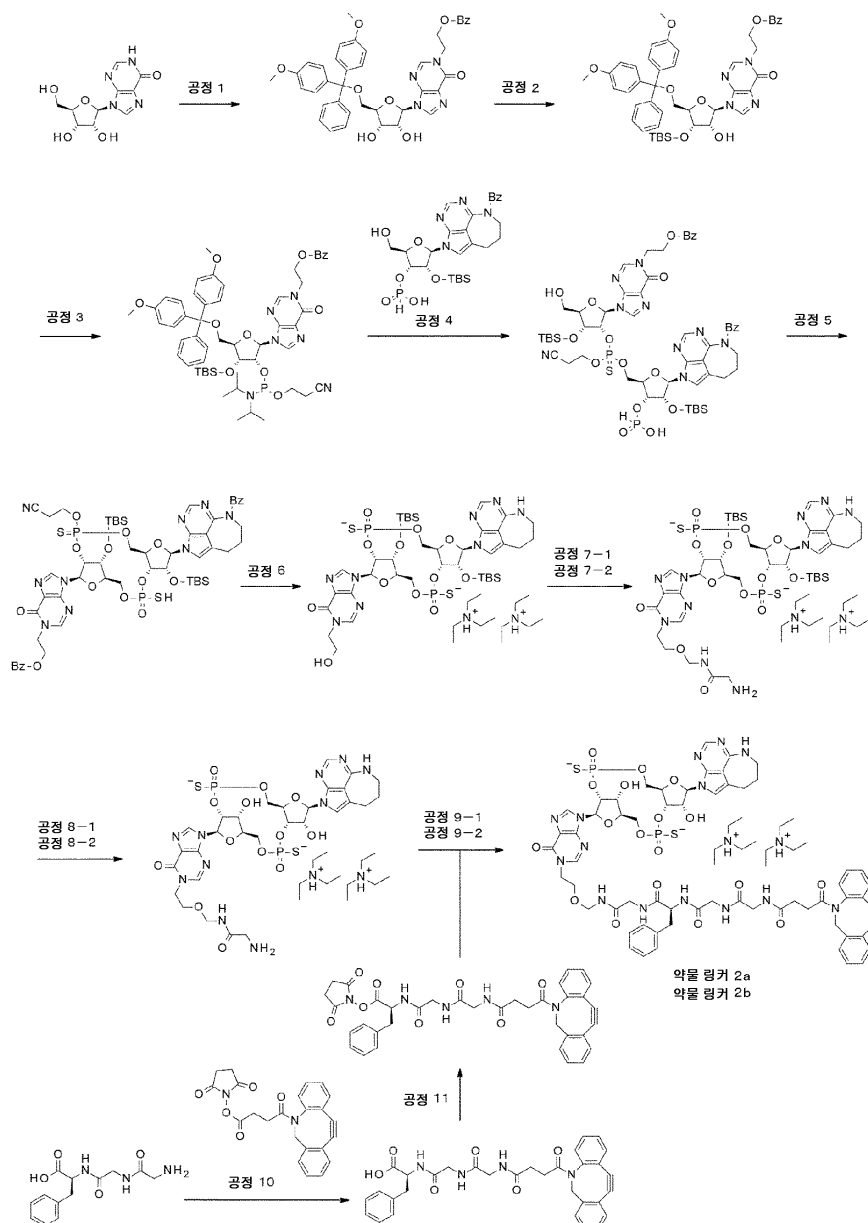
실시예 22 : 약물 링커 2 의 합성

[1965]

[합성 스킴]

[1966]

[화학식 149]



[1967]

[1968]

(공정 1)

[1969]

1-[2-(벤조일옥시)에틸]-5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]이노신

[1970]

이노신 (10.0 g) 의 피리딘 (50 ml) 과 N,N-디메틸아세트아미드 (50 ml) 용액에, 4,4'-디메톡시트리틸클로라이드 (15.2 g) 를 0 °C 에서 첨가한 후, 4 °C 에서 64 시간 교반하였다. 반응액에 메탄올 (2 ml) 을 첨가하고, 10 분 교반 후에 50 ml 정도까지 농축하였다. 잔류물에 2-브로모에틸벤조에이트 (7.02 ml) 와 2,3,4,6,7,8,9,10-옥타하이드로피리미드[1,2-a]아제핀 (13.9 ml) 을 첨가하고, 실온에서 1 일 교반하였다. 반응액에, 포화 탄산수소나트륨 수용액과 물을 첨가하고, 아세트산에틸로 추출하였다. 유기층을 포화 식염수로 세정 후, 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸/메탄올/0.1 % 트리에틸아민] 으로 정제하고, 표제 화합물 (15.2 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 719 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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=5.4 Hz), 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, 3.9 Hz), 3.34 (1H, dd, J=10.6, 3.6 Hz).

[1971]

[1972] (공정 2)

[1973] 1-[2-(벤조일옥시)에틸]-5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]이노신

[1974] 상기 공정 1에서 얻어진 화합물 (3.01 g)을 사용하여, 실시예 5 공정 3과 동일한 수법으로 합성을 실시하고, 표제 화합물 (1.20 g)과 표제 화합물의 위치 이성체인 1-[2-(벤조일옥시)에틸]-5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]이노신 (1.22 g)을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 833 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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=4.8 Hz), 4.69-4.63 (2H, m), 4.59-4.35 (4H, m), 4.16 (1H, dd, J=3.8, 1.9 Hz), 3.77 (6H, d, J=1.8 Hz), 3.47 (1H, dd, J=10.9, 3.0 Hz), 3.27 (1H, dd, J=10.9, 4.2 Hz), 3.00 (1H, d, J=6.7 Hz), 0.87 (9H, s), 0.06 (3H, s), -0.01 (3H, s).

[1975]

[1976] (2'-O-TBS 체)

MS (ESI) m/z : 833 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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=6.0 Hz), 4.84 (1H, t, J=5.4 Hz), 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, 3.0 Hz), 3.38 (1H, dd, J=10.9, 3.6 Hz), 2.71 (1H, d, J=3.0 Hz), 0.80 (9H, s), -0.03 (3H, s), -0.19 (3H, s).

[1977]

[1978] (공정 3)

[1979] 1-[2-(벤조일옥시)에틸]-5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-2'-O-[(2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스파닐}이노신

[1980] 상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (1.20 g) 을 사용하여, 실시예 5 공정 4 와 동일한 수법으로 합성을 실시하고, 표제 화합물 (1.41 g) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물 (디아스테레오머비 = 0.55 : 0.45) 로서 얻었다.

MS (ESI) m/z : 1033 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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=5.4 Hz), 6.08 (0.45H, d, J=6.0 Hz), 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=6.7 Hz), 2.32 (1H, t, J=6.3 Hz), 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).

[1981]

[1982] (공정 4)

[1983] 실시예 1 공정 7 과 동일한 반응을 이하의 스케일로 실시하였다 (원료 : 1.40 g). 얻어진 화합물의 아세트 니트릴 용액과 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (1.41 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 8 과 동일한 수법으로 반응을 실시하였다. 얻어진 미정제 생성물을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.

[1984] (공정 5)

- [1985] 2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-10-(2-시아노에톡시)-2-옥소-2-술폰닐-10-술폰닐리덴옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-6-옥소-6,9-디하이드로-1H-푸린-1-일}에틸 벤조에이트
- [1986] 상기 공정 4 에서 얻어진 미정제 생성물을 사용하여, 실시예 1 공정 9 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (778 mg) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.
- [1987] MS(ESI)m/z : 1264(M+H)⁺.
- [1988] (공정 6)
- [1989] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [1990] 상기 공정 5 에서 얻어진 화합물 (778 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 10 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (255 mg) 과 디아스테레오머 2 (불순물 함유) 를 얻었다. 디아스테레오머 2 를 분취 HPLC [물/0.2 % 트리에틸아민 함유 아세트니트릴, 0.2 % 트리에틸아민 함유 아세트니트릴 : 5 % - 50 % (0 분 - 40 분)] 로 재차 정제하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 2 (94.6 mg) 를 얻었다.
- [1991] 디아스테레오머 1 (저극성)
- MS (ESI) m/z : 1003 (M+H)⁺.
- ¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.66 (1H, s), 8.21 (1H, s), 8.04 (1H, s), 7.33 (1H, s), 6.27 (1H, d, J=5.1 Hz), 6.25 (1H, d, J=3.6 Hz), 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=7.3 Hz), 2.98-2.75 (2H, m), 2.05-1.88 (2H, m), 1.28 (18H, t, J=7.3 Hz), 0.98 (9H, s), 0.85 (9H, s), 0.31 (3H, s), 0.27 (3H, s), 0.25 (3H, s), 0.09 (3H, s).
- [1992]

[1993] 디아스테레오머 2 (고극성)

MS (ESI) m/z : 1003 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.50 (1H, s), 8.22 (1H, s), 8.07 (1H, s), 7.20 (1H, s), 6.33 (1H, d, J=7.3 Hz), 6.26 (1H, d, J=9.1 Hz), 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=7.3 Hz), 2.96-2.89 (2H, m), 2.07-1.98 (2H, m), 1.30 (18H, t, J=7.3 Hz), 0.99 (9H, s), 0.74 (9H, s), 0.27 (3H, s), 0.27 (3H, s), 0.20 (3H, s), -0.05 (3H, s).

[1994]

[1995] (공정 7-1)

[1996] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-7-(1-{2-[(글리실아미노)메톡시]에틸}-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일)-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-yl)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[1997] (디아스테레오머 1)

[1998] 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (30 mg) 의 테트라하이드로푸란 (0.5 ml) 용액에 [(N-{[(9H-플루오렌-9-일)메톡시]카르보닐}글리실)아미노]메틸 아세테이트 (91.7 mg) 와 p-톨루엔술폰산 1수화물 (11.8 mg) 을 첨가하고, 실온에서 6 시간 교반하였다. 반응액에 N,N-디메틸포름아미드 (0.5 ml) 와 1,8-디아자비시클로[5.4.0]-7-운데센 (56 μ l) 을 첨가하고, 실온에서 3 시간 교반하였다. 반응액에 10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액을 첨가하고, C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴] 로 정제하고, 불순물로서 원료를 포함하는 표제 화합물 (25.6 mg) 을 얻었다.

[1999] MS(ESI) m/z : 1089(M+H)⁺.

[2000] (공정 7-2)

[2001] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-7-(1-{2-[(글리실아미노)메톡시]에틸}-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일)-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[2002] (디아스테레오머 2)

[2003] 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (84.6 mg) 을 사용하여, 상기 공정 7-1 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 불순물로서 원료를 포함하는 표제 화합물 (70.9 mg) 을 얻었다.

[2004] MS(ESI) m/z : 1089(M+H)⁺.

[2005] (공정 8-1)

[2006] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(1-{2-[(글리실아미노)메톡시]에틸}-6-옥소-

1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트) 디아스테레오머 1

[2007] 상기 공정 7-1 에서 얻어진 화합물 (25.6 mg) 에 트리에틸아민3불화수소산염 (2 ml) 을 첨가하고, 45 ℃ 에서 3 시간 교반하였다. 실온하, 반응액에 빙랭한 1 M 탄산수소트리에틸암모늄 용액 (10 ml) 과 트리에틸아민 (2 ml) 의 혼합액을 첨가하였다. 반응액을 감압 농축 후, C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 (10 mM 아세트산 트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴) 로 정제하고, 표제 화합물 (16.6 mg : 공정 7-1 의 원료 유래의 불순물을 포함한다) 을 얻었다.

[2008] MS(ESI)m/z : 861(M+H)⁺.

[2009] (공정 8-2)

[2010] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(1-{2-[(글리실아미노)메톡시]에틸}-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[2011] (디아스테레오머 2)

[2012] 상기 공정 7-2 에서 얻어진 화합물 (70.9 mg) 을 사용하여, 상기 공정 8-1 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (51.7 mg : 공정 7-2 의 원료 유래의 불순물을 포함한다) 을 얻었다.

[2013] MS(ESI)m/z : 861(M+H)⁺.

[2014] (공정 9-1)

[2015] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) N-[4-(11,12-디테히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-페닐알라닌-N-[(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-2,10-디숄파이드-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-6-옥소-6,9-디하이드로-1H-푸린-1-일}에톡시)메틸]글리신아미드

[2016] (약물 링커 2a : 디아스테레오머 1)

[2017] 상기 공정 8-1 에서 얻어진 화합물 (16.6 mg) 의 N,N-디메틸포름아미드 (0.5 ml) 용액에 트리에틸아민 (6 μl) 과 후술하는 공정 11 에서 얻어진 화합물 (15.5 mg) 을 첨가하고, 실온에서 3 시간 교반하였다. 반응액에 벤질아민 (3 μl) 을 첨가하고, 실온에서 1 시간 교반하였다. 10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액과 메탄올을 첨가하고, C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴] 과 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 10 % - 45 % (0 분 - 30 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (5.1 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 1409 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) 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=7.3 Hz), 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=7.3 Hz).

[2018]

[2019] (관측 가능한 피크만 기재)

[2020] (공정 9-2)

[2021] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) N-[4-(11,12-디테히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-페닐알라닌-N-[(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-2,10-디술폰아이드-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-yl)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-6-옥소-6,9-디하이드로-1H-푸린-1-일}에톡시)메틸]글리신아미드

[2022] (약물 링커 2b : 디아스테레오머 2)

[2023] 상기 공정 8-2 에서 얻어진 화합물 (51.7 mg) 을 사용하여, 상기 공정 9-1 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제를 실시하고, 표제 화합물 (33.7 mg) 을 얻었다.

[2024] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴], 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 10 % - 50 % (0 분 - 30 분)].

MS (ESI) m/z : 1409 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.73 (1H, d, J=6.7 Hz), 8.19 (1H, d, J=3.0 Hz), 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=13.6 Hz), 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=7.3 Hz), 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=7.3 Hz).

[2025]

[2026] (공정 10)

[2027] N-[4-(11,12-디테히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-페닐알라닌

[2028] 시판 (BACHEM) 되는 (2S)-2-[[2-[(2-아미노아세틸)아미노]아세틸]아미노]-3-페닐프로판산 (2.86 g) 의 N,N-디메틸포름아미드 (51.2 ml) 용액에 트리에틸아민 (2.56 ml) 과 시판 (Click Chemistry Tools) 되는 1-[[4-(11,12-디테히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]옥시]피롤리딘-2,5-디온 (3.69 g) 을 첨가하고, 실온에서 24 시간 교반하였다. 반응액에 시트르산 1수화물 (24.0 g) 의 물 (500 ml) 용액을 첨가하고, 아세트산에틸로 추출하였다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조 후, 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 아세트산에틸/아세트니트릴 혼합 용액에 용해시킨 후, 디이소프로필에테르로 석출시켜 여과 채취하고, 표제 화합물 (4.30 g) 을 얻었다.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 12.8 (1H, br s), 8.15–7.95 (3H, m), 7.68–7.17 (13H, m), 5.01 (1H, d, J=14.2 Hz), 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, 9.3 Hz), 2.68–2.59 (1H, m), 2.32–2.25 (1H, m), 2.09–2.03 (1H, m), 1.82–1.76 (1H, m).

[2029]

[2030] (공정 11)

[2031] 2,5-디옥소피롤리딘-1-일 N-[4-(11,12-디테히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-페닐알라니네이트

[2032] 상기 공정 10 에서 얻어진 화합물 (2.10 g) 의 N,N-디메틸포름아미드 (75.9 ml) 용액에 N-하이드록시숙신이미드 (961 mg) 와 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카르보다이미드염산염 (1.60 g) 을 첨가하고, 질소 분위기하, 실온에서 21 시간 교반하였다. 반응액을 디클로로메탄으로 회석하고, 빙수로 3 회 세정한 후, 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물에 톨루엔을 첨가하고, 재차 감압 농축하였다. 잔류물을 아세트니트릴에 용해하고, C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [아세트니트릴 : 100 %] 로 정제하였다. 목적물을 포함하는 프랙션을 감압 농축 후, 잔류물에 디이소프로필에테르를

첨가하여 슬러리상으로 하였다. 얻어진 고체를 여과 채취하고, 표제 화합물 (2.59 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) 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).

[2033]

[2034]

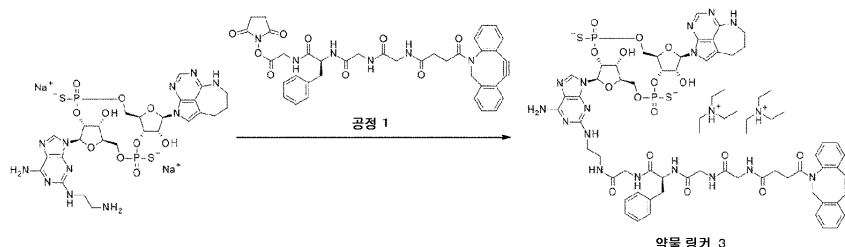
실시예 23 : 약물 링커 3 의 합성

[2035]

[합성 스킴]

[2036]

[화학식 150]



[2037]

[2038]

(공정 1)

[2039]

비스(N,N -디에틸에탄아미늄) N -[4-(11,12-디데히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-페닐알라닌- N -[2-(6-아미노-9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-2,10-디설파이드-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일)-9H-푸린-2-일}아미노)에틸]글리신아미드

[2040]

(약물 링커 3)

[2041]

실시예 8 공정 8-2 에서 얻어진 화합물 (4.8 mg) 의 N,N -디메틸포름아미드 (0.29 mL) 용액에, 트리에틸아민 (1.9 μL) 과 실시예 21 공정 3 에서 얻어진 화합물 (5.2 mg) 을 첨가하고, 질소 분위기하, 실온에서 1.5 시간 교반하였다. 벤질아민 (3.2 μL) 을 첨가하여 반응을 정지시킨 후, 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 20 % - 40 % (0 분 - 30 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (8.0 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 1393 (M+H)⁺.

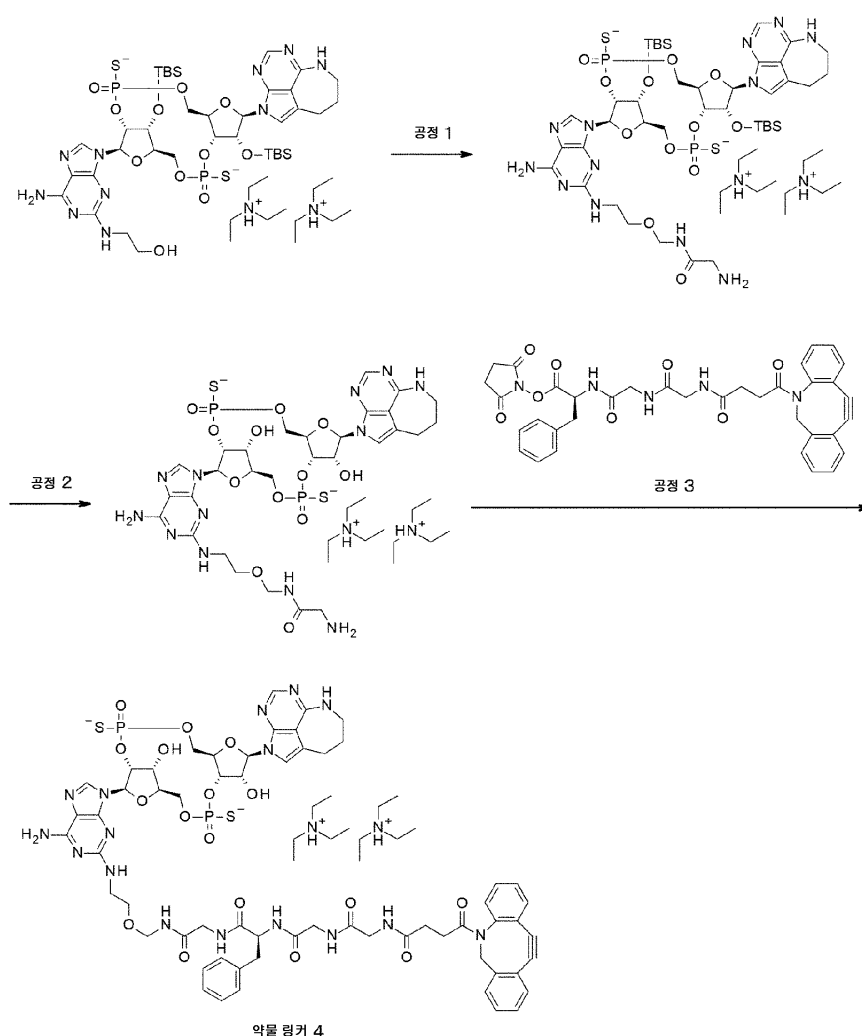
¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.35 (1H, brs), 8.02 (1H, s), 7.61–7.15 (14H, m), 6.33 (1H, dd, J=6.0, 3.0 Hz), 6.15–6.09 (1H, m), 5.49–5.37 (2H, m), 5.05 (1H, dd, J=13.9, 12.1 Hz), 4.85–4.79 (1H, m), 4.53–4.21 (6H, m), 4.06–3.61 (8H, m), 3.51–3.13 (6H, m), 3.16 (12H, q, J=7.3 Hz), 3.06–2.65 (7H, m), 2.35–1.94 (4H, m), 1.28 (18H, t, J=7.6 Hz).

[2042]

[2043] 실시예 24 : 약물 링커 4 의 합성

[2044] [합성 스킴]

[2045] [화학식 151]



[2046]

[2047] (공정 1)

[2048] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-[6-아미노-2-({2-[(글리실아미노)메톡시]에

틸}아미노)-9H-푸린-9-일]-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-yl)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[2049] 실시예 9 공정 1-2 에서 얻어진 화합물 (17.6 mg) 을 사용하여, 실시예 22 공정 7-1 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (8.3 mg) 을 얻었다.

[2050] MS(ESI)m/z : 1103(M+H) + .

[2051] (공정 2)

[2052] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[6-아미노-2-({2-[(글리실아미노)메톡시]에틸}아미노)-9H-푸린-9-일]-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[2053] 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (10.7 mg) 을 사용하여, 실시예 22 공정 8-1 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (7.6 mg) 을 얻었다.

[2054] MS(ESI)m/z : 875(M+H)⁺ .

[2055] (공정 3)

[2056] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) N-[4-(11,12-디테히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-페닐알라닌-N-{[2-({6-아미노-9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-2,10-디술폰-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-9H-푸린-2-일}아미노)에톡시]메틸}글리신아미드

[2057] (약물 링커 4)

[2058] 상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (7.6 mg) 을 사용하여, 실시예 22 공정 9-1 과 동일한 수법으로 반응을 실시하였다. 이하의 [정제 조건] 으로 정제를 실시하고, 표제 화합물 (7.6 mg) 을 트리에틸아민염으로서 얻었다.

[2059] [정제 조건] 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 20 % - 40 % (0 분 - 30 분)].

MS (ESI) m/z : 1423 (M+H) +.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.37 (1H, brs), 8.01 (1H, d, J=2.4 Hz), 7.63-7.11 (14H, m), 6.33 (1H, d, J=6.7 Hz), 6.17 (1H, d, J=7.3 Hz), 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=7.3 Hz), 2.45-1.96 (4H, m), 1.29 (18H, t, J=7.3 Hz) .

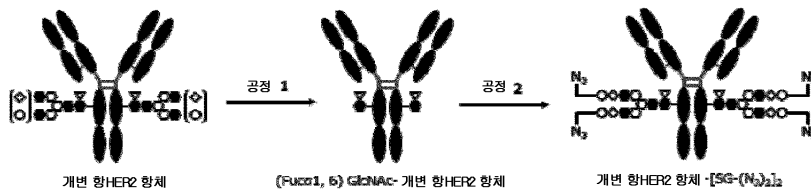
[2060]

[2061] 실시예 25 : 당사슬 리모델링 항체 1 의 합성

[2062] 개변 항HER2 항체 - [SG-(N₃)₂]₂ 의 합성

[2063] [합성 스킴]

[2064] [화학식 152]



[2065]

[2066] (공정 1)

[2067] (Fuc α 1,6)GlcNAc - 개변 항HER2 항체의 조제

[2068] 참고예 1 에 따라서 조제한 개변 항HER2 항체의 인산 완충 생리 식염수 용액 (20 ml, 12.6 mg/ml, pH 6.0) 에, 야생형 EndoS 의 인산 완충 생리 식염수 용액 (0.147 ml, 7.70 mg/ml, pH 6.0) 을 첨가하고, 37 °C 에서 2 시간 15 분간 흔들었다. 반응의 진행 정도를 Experion 전기 영동 스테이션 (BIO-RAD 제조) 으로 확인하였다.

반응 종료 후, 이하의 방법에 따라서, 어피니티 크로마토그래피에 의한 정제와 하이드록시아파타이트 칼럼 크로마토그래피에 의한 정제를 실시하였다.

[2069] (1) 어피니티 크로마토그래피에 의한 정제

[2070] 정제 장치 : AKTA avant 25 (GE 헬스 케어 제조)

[2071] 칼럼 : HiTrap rProtein A FF (5 ml) (GE 헬스 케어 제조)

[2072] 유속 : 5 ml/분 (차지 시에는 1.25 ml/분)

[2073] 상기에서 얻은 반응액을 2 회로 나누어 정제하였다. 칼럼으로의 결합 시에는, 반응액을 칼럼에 첨가하고, 결합 버퍼 [20 mM 인산 완충액 (pH 6.0)] 을 1.25 ml/분으로 2 CV 흘리고, 추가로 5 ml/분으로 5 CV 흘렸다.

중간 세정 시에는, 세정 용액 [20 mM 인산 완충액 (pH 7.0), 0.5 M 염화나트륨 용액] 을 15 CV 흘렸다. 용출 시에는, 용출 버퍼 (ImmunoPure IgG Elution buffer, PIERCE 제조) 를 6 CV 흘렸다. 용출액을 1 M 트리스 완충액 (pH 9.0) 으로 즉시 중화하였다. 목적물을 포함하는 프랙션을 공통 조작 C 에 기재된 방법에 따라서, 5 mM 인산 완충액, 50 mM 2-모르폴리노에탄술폰산 (MES) 용액 (pH 6.8) 으로 인산 완충액 교환을 실시하였다. 얻어진 완충 용액의 항체 농도를 공통 조작 B 에 기재된 방법에 따라서 측정하고, 조정제된 표제 항체 용액 (26.57 mg/ml, 9.0 ml) 을 얻었다.

[2074] (2) 하이드록시아파타이트 크로마토그래피에 의한 정제

[2075] 정제 장치 : AKTA avant 25 (GE 헬스 케어 제조)

[2076] 칼럼 : Bio-Scale Mini CHT Type I 카트리지 (5 ml) (BIO-RAD 제조)

[2077] 유속 : 5 ml/분 (차지 시에는 1.25 ml/분)

[2078] 상기 (1) 에서 얻어진 용액을 칼럼에 첨가하고, A 액 [5 mM 인산 완충액, 50 mM MES 용액 (pH 6.8)] 을 1.25 ml/분으로 2 CV 흘리고, 추가로 5 ml/분으로 3 CV 흘렸다. 그 후, A 액과 B 액 [5 mM 인산 완충액, 50 mM MES 용액 (pH 6.8), 2 M 염화나트륨 용액] 을 사용하여, 용출하였다. 용출 조건은, A 액 : B 액 = 100 : 0 ~ 0 : 100 (5 CV) 이다. 또한 세정 용액 [500 mM 인산 완충액 (pH 6.5)] 을 5 CV 흘렸다. 목적물을 포함하는 프랙션을 공통 조작 C 에 기재된 방법에 따라서, 20 mM 인산 완충액 (pH 6.0) 으로 인산 완충액 교환을 실시하였다. 얻어진 완충 용액의 항체 농도를 공통 조작 B 에 기재된 방법에 따라서 측정하고, 표제 항체 용액 (17.29 mg/ml, 약 13 ml) 을 얻었다.

[2079] (공정 2)

[2080] 개변 항HER2 항체 - [SG-(N₃)₂]₂ 의 조제

[2081] 상기 공정 1 에서 얻어진 항체의 20 mM 인산 완충 용액 (17.29 mg/ml, 13 ml, pH 6.0) 에 [N₃-PEG(3)]₂-SG(10)Ox (W02018/003983 의 화합물 1-10) (52 mg) 의 20 mM 인산 완충 용액 (pH 6.0) (3.0 ml + 씻어내기 1.0 ml) 및 EndoS (D233Q/Q303L) 의 인산 완충 생리 식염수 용액 (0.698 ml, 5.8 mg/ml, pH 6.0) 을 첨가하고, 30 °C 에서 4 시간 흔들었다. 반응액을 -80 °C 에서 15 시간 보존한 후, 30 °C 에서 해동하고, [N₃-

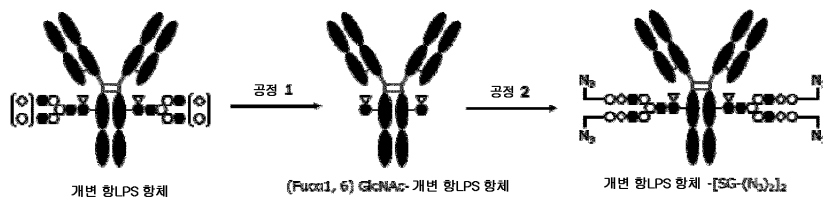
PEG(3)]₂-SG(10)Ox (7.4 mg) 및 EndoS (D233Q/Q303L) 의 인산 완충 생리 식염수 용액 (0.155 ml, 5.8 mg/ml, pH 6.0) 을 추가하여 30 °C 에서 2 시간 흔들었다. 반응의 진행 정도를 Experion 전기 영동 스테이션 (BIO-RAD 제조) 으로 확인하였다. 반응 종료 후, 상기 공정 1 과 동일하게 어피니티 크로마토그래피에 의한 정제와 하이드록시아파타이트 크로마토그래피에 의한 정제를 실시하였다. 목적물을 포함하는 프랙션 (합계 7 개) 을 전의 4 개와 후의 3 개로 나누고, 각각을 공통 조작 C 에 기재된 방법에 따라서, 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 로의 완충액 교환을 실시하였다. 얻어진 완충 용액의 항체 농도를 공통 조작 B 에 기재된 방법에 따라서 측정하고, 표제 항체 용액 (전의 4 개 : 14.99 mg/ml, 10 ml) 과 표제 항체 용액 (후의 3 개 : 10.97 mg/ml, 6.2 ml) 을 각각 얻었다.

[2082] 실시예 26 : 당사슬 리모델링 항체 2 의 합성

[2083] 개변 항LPS 항체 - [SG-(N₃)₂]₂ 의 조제

[2084] [합성 스킴]

[2085] [화학식 153]



[2086]

[2087] (공정 1)

[2088] (Fuc α 1,6)GlcNAc - 개변 항LPS 항체의 조제

[2089] 참고예 2 에 따라서 조제한 개변 항LPS 항체의 인산 완충 생리 식염수 용액 (8.5 ml, 10.96 mg/ml, pH 6.0) 을 사용하여, 실시예 25 공정 1 과 동일한 조작을 실시하고, 표제 항체의 20 mM 인산 완충 용액 (11.70 mg/ml, 7.5 ml, pH 6.0) 을 얻었다.

[2090] (공정 2)

[2091] 개변 항LPS 항체 - [SG-(N₃)₂]₂ 의 조제

[2092] 상기 공정 1 에서 얻어진 항체의 20 mM 인산 완충 용액 (11.70 mg/ml, 7.5 ml, pH 6.0) 과 [N₃-PEG(3)]₂-SG(10)Ox (20.3 mg) 를 사용하여, 실시예 25 공정 2 와 동일한 조작을 실시하고, 표제 항체의 인산 완충 생리 식염수 용액 (10.55 mg/ml, 7.5 ml, pH 6.0) 을 얻었다.

[2093] 실시예 27 : 항체 약물 콘쥬게이트 1 의 합성 (항HER2 항체 - CDN 콘쥬게이트 1 의 합성)

[2094] 당사슬 리모델링 항체 1 의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (10.97 mg/ml, 0.500 ml) 을 프로필렌글리콜 (0.250 ml) 로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 3 의 디메틸술폭시드 용액 (10 mM, 0.0907 ml, 항체 1 분자에 대하여 24 당량) 과 프로필렌글리콜 (0.159 ml) 의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈윈 주식회사) 를 사용하여 실온에서 2 일간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D 에 기재된 방법에 따라서 정제하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘쥬게이트의 ABS (10 mM Acetate Buffer, 5 % Sorbitol, pH 5.5) 용액 (3.5 ml) 을 얻었다.

[2095] 공통 조작 E 및 G 에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.

[2096] 항체 농도 : 0.97 mg/ml

[2097] 항체 수량 (收量) : 3.41 mg (62 %)

[2098] 약물 평균 결합수 : 3.6

[2099] 실시예 28 : 항체 약물 콘쥬게이트 2 의 합성 (항HER2 항체 - CDN 콘쥬게이트 2 의 합성)

[2100] 당사슬 리모델링 항체 1 의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (10.97 mg/ml, 0.500 ml) 을 프로필렌글리콜 (0.250 ml) 로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 4 의 디메틸술폭시드 용액 (10 mM, 0.0907 ml, 항체 1 분

자에 대하여 24 당량) 과 프로필렌글리콜 (0.159 ml) 의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈원 주식회사) 를 사용하여 실온에서 2 일간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D 에 기재된 방법에 따라서 정제하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘쥬게이트의 ABS 용액 (3.5 ml) 을 얻었다.

[2101] 공통 조작 E 및 G 에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.

[2102] 항체 농도 : 1.08 mg/ml

[2103] 항체 수량 : 3.78 mg (69 %)

[2104] 약물 평균 결합수 : 3.2

[2105] 실시예 29 : 항체 약물 콘쥬게이트 3 의 합성 (항HER2 항체 - CDN 콘쥬게이트 3 의 합성)

[2106] 당사슬 리모델링 항체 1 의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (10.97 mg/ml, 0.500 ml) 을 프로필렌글리콜 (0.250 ml) 로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 2a 의 디메틸술폭시드 용액 (10 mM, 0.0907 ml, 항체 1 분자에 대하여 24 당량) 과 프로필렌글리콜 (0.159 ml) 의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈원 주식회사) 를 사용하여 실온에서 47 시간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D 에 기재된 방법에 따라서 정제하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘쥬게이트의 ABS 용액 (3.5 ml) 을 얻었다.

[2107] 공통 조작 E 및 G 에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.

[2108] 항체 농도 : 0.91 mg/ml

[2109] 항체 수량 : 3.17 mg (58 %)

[2110] 약물 평균 결합수 : 3.6

[2111] 실시예 30 : 항체 약물 콘쥬게이트 4 의 합성 (항LPS 항체 - CDN 콘쥬게이트 1 의 합성)

[2112] 당사슬 리모델링 항체 2 의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (10.55 mg/ml, 1.00 ml) 을 프로필렌글리콜 (0.500 ml) 로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 3 의 디메틸술폭시드 용액 (10 mM, 0.174 ml, 항체 1 분자에 대하여 24 당량) 과 프로필렌글리콜 (0.326 ml) 의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈원 주식회사) 를 사용하여 실온에서 2 일간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D 에 기재된 방법에 따라서 정제하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘쥬게이트의 ABS 용액 (6.5 ml) 을 얻었다.

[2113] 공통 조작 E 및 G 에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.

[2114] 항체 농도 : 1.11 mg/ml

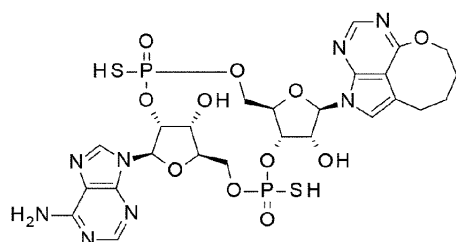
[2115] 항체 수량 : 7.23 mg (69 %)

[2116] 약물 평균 결합수 : 3.9

[2117] 실시예 31 : CDN21 의 합성

[2118] (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aS, 16R)-7-(6-아미노-9H-푸린-9-일)-15, 16-디하이드록시-2, 10-비스(술포닐)-14-(7, 8, 9, 10-테트라하이드로-2H-6-옥사-2, 3, 5-트리아자시클로옥타[1, 2, 3-cd]인덴-2-일)옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5, 8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3, 2-1][1, 3, 6, 9, 11, 2, 10]펜타옥사디포스포시클로테트라데신-2, 10-디온

[2119] [화학식 154]



21

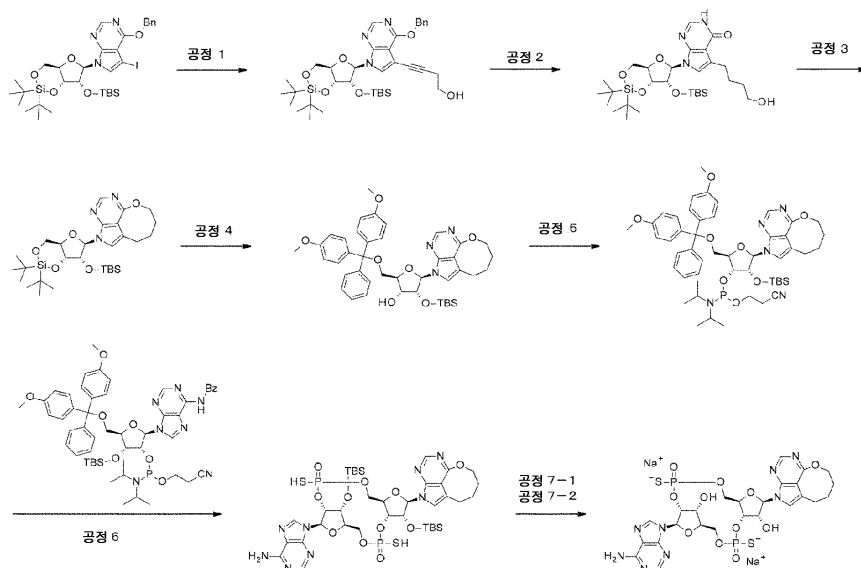
21a (디아스테레오머 1)

21b (디아스테레오머 2)

[2120]

[2121] [합성 스킴]

[2122] [화학식 155]



[2123]

[2124] (공정 1)

[2125] 4-(벤질옥시)-7-{2-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3,5-O-(디-tert-부틸실릴리덴)-β-D-리보퓨라노실}-5-(4-하이드록시부타-1-인-1-일)-7H-피콜로[2,3-d]피리미딘

[2126] 실시예 20 공정 2 에서 얻어진 화합물 (3.37 g) 과 3-부틴-1-올 (1.72 ml) 을 사용하여, 반응 온도를 실온으로 하여, 실시예 1 공정 2 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (2.74 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=14.9, 12.5$ Hz), 4.47 (1H, dd, $J=9.2, 4.9$ Hz), 4.42 (1H, d, $J=4.7$ Hz), 4.26 (1H, dd, $J=9.4, 4.7$ Hz), 4.17 (1H, td, $J=9.9, 4.8$ Hz), 4.01 (1H, t, $J=9.6$ Hz), 3.71–3.64 (2H, m), 2.65 (2H, t, $J=6.1$ Hz), 1.87 (1H, t, $J=6.5$ Hz), 1.08 (9H, s), 1.04 (9H, s), 0.91 (9H, s), 0.11 (3H, s), 0.10 (3H, s).

[2127]

[2128] (공정 2)

[2129] 7-{2-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3,5-O-(디-tert-부틸실릴리덴)-β-D-리보퓨라노실}-5-(4-하이드록시부틸)-3,7-디하이드로-4H-피콜로[2,3-d]피리미딘-4-온

[2130] 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (2.74 g) 을 사용하여, 반응 용매를 메탄올 (30 ml) - 테트라하이드로푸란 (30 ml) 혼합 용매로 하고, 실시예 19 공정 7 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (2.21 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 11.55 (1H, brs), 7.90 (1H, s), 6.63 (1H, s), 6.09 (1H, s), 4.47 (1H, dd, $J=9.0, 5.1\text{ Hz}$), 4.38 (1H, d, $J=4.7\text{ Hz}$), 4.24 (1H, dd, $J=9.4, 4.7\text{ Hz}$), 4.19-4.11 (1H, m), 4.01 (1H, t, $J=9.8\text{ Hz}$), 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).

[2131]

[2132] (공정 3)

[2133] 2-{2-0-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3,5-0-(디-tert-부틸실릴리덴)- β -D-리보퓨라노실}-7,8,9,10-테트라하이드로-2H-6-옥사-2,3,5-트리아자시클로옥타[1,2,3-cd]인텐

[2134] 상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (1.89 g) 을 사용하여, 실시예 20 공정 5 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (1.40 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=9.6, 4.9\text{ Hz}$), 4.17 (1H, td, $J=10.0, 5.1\text{ Hz}$), 4.00 (1H, dd, $J=10.4, 9.2\text{ Hz}$), 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).

[2135]

[2136] (공정 4)

[2137] 2-{5-0-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2-0-[tert-부틸(디메틸)실릴]- β -D-리보퓨라노실}-7,8,9,10-테트라하이드로-2H-6-옥사-2,3,5-트리아자시클로옥타[1,2,3-cd]인텐

[2138] 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (1.61 g) 을 사용하여, 실시예 1 의 공정 5 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (1.95 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=5.5\text{ Hz}$), 4.70 (1H, t, $J=5.3\text{ Hz}$), 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, $J=10.6, 2.3\text{ Hz}$), 3.37 (1H, dd, $J=10.6, 3.1\text{ Hz}$), 2.81 (1H, d, $J=3.9\text{ Hz}$), 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).

[2139]

- [2140] (공정 5)
- [2141] 2-(5-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3-O-[(2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스파닐]-β-D-리보푸라노실)-7,8,9,10-테트라하이드로-2H-6-옥사-2,3,5-트리아자시클로옥타[1,2,3-cd]인텐
- [2142] 상기 공정 4 에서 얻어진 화합물 (1.95 g) 을 사용하여, 실시예 5 공정 4 와 동일하게 조작하고, 표제 화합물 (2.20 g) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물 (디아스테레오머비 = 6 : 4) 로서 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=6.7\text{ Hz}$), 6.32 (0.4H, d, $J=6.3\text{ Hz}$), 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, $J=6.7\text{ Hz}$), 2.01-1.90 (2H, m), 1.87-1.74 (2H, m), 1.23-1.12 (8.4H, m), 1.03 (3.6H, d, $J=6.7\text{ Hz}$), 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).

- [2143]
- [2144] (공정 6)
- [2145] (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-아미노-9H-푸린-9-일)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-2,10-비스(술폰닐)-14-(7,8,9,10-테트라하이드로-2H-6-옥사-2,3,5-트리아자시클로옥타[1,2,3-cd]인텐-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온
- [2146] 상기 공정 5 에서 얻어진 화합물 (1.18 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 7 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 2-{2-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3-O-[하이드록시(옥소)-λ⁵-포스파닐]-β-D-리보푸라노실}-7,8,9,10-테트라하이드로-2H-6-옥사-2,3,5-트리아자시클로옥타[1,2,3-cd]인텐의 아세토니트릴 용액을 얻었다. 이 아세토니트릴 용액과 시판 (Cool Pharm) 되는 N-벤조일-5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-2'-O-[(2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스파닐}아데노신 (1.49 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 8, 공정 9, 및 공정 10 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다. 이 혼합물을 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 25 % - 60 % (0 분 - 35 분)] 로 정제하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (50 mg) 과 디아스테레오머 2 (34 mg) 를 얻었다.
- [2147] 디아스테레오머 1 (저극성)
- [2148] $\text{MS(ESI)}_{\text{m/z}}$: 973($\text{M}+\text{H}$)⁺.
- [2149] 디아스테레오머 2 (고극성)

- [2150] MS(ESI)m/z : 973(M+H)⁺.
- [2151] (공정 7-1)
- [2152] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-아미노-9H-푸린-9-일)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(7,8,9,10-테트라하이드로-2H-6-옥사-2,3,5-트리아자시클로옥타[1,2,3-cd]인덴-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스포시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [2153] (디아스테레오머 1)
- [2154] 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (50 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, Sep-Pak (등록상표) C18 [0.1 % 트리에틸아민 수용액/아세트니트릴 = 5 : 1] 로 정제하고, 표제 화합물의 트리에틸아민염을 얻었다.
- [2155] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (33 mg) 을 얻었다.
- MS (ESI) m/z : 745 (M+H)⁺.
- ¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.73 (1H, s), 8.30 (1H, s), 8.17 (1H, s), 7.40 (1H, s), 6.39 (1H, d, J=4.3 Hz), 6.34 (1H, d, J=8.6 Hz), 5.40-5.36 (1H, m), 5.22-5.17 (1H, m), 4.87-4.84 (1H, m), 4.80 (1H, t, J=4.5 Hz), 4.64-4.31 (6H, m), 4.11-4.03 (2H, m), 2.82 (1H, dd, J=16.4, 8.6 Hz), 2.68 (1H, dd, J=16.2, 8.8 Hz), 2.06-1.71 (4H, m).
- ³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 58.1 (s), 54.2 (s).
- [2156]
- [2157] (공정 7-2)
- [2158] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-아미노-9H-푸린-9-일)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(7,8,9,10-테트라하이드로-2H-6-옥사-2,3,5-트리아자시클로옥타[1,2,3-cd]인덴-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스포시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [2159] (디아스테레오머 2)
- [2160] 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (34 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, Sep-Pak (등록상표) C18 [0.1 % 트리에틸아민 수용액/아세트니트릴 = 5 : 1] 로 정제하고, 표제 화합물의 트리에틸아민염을 얻었다.
- [2161] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (21 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 745 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.81 (1H, s), 8.30 (1H, s), 8.17 (1H, s), 7.40 (1H, s), 6.43 (1H, d, J=6.7 Hz), 6.34 (1H, d, J=8.6 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 63.1 (s), 60.5 (s).

[2162]

[2163]

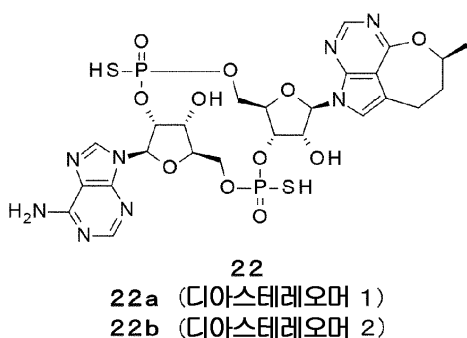
실시예 32 : CDN22 의 합성

[2164]

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-아미노-9H-푸린-9-일)-15,16-디하이드록시-14-[(7S)-7-메틸-8,9-디하이드로-6-옥사-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌-2(7H)-일]-2,10-비스(술포닐)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

[2165]

[화학식 156]



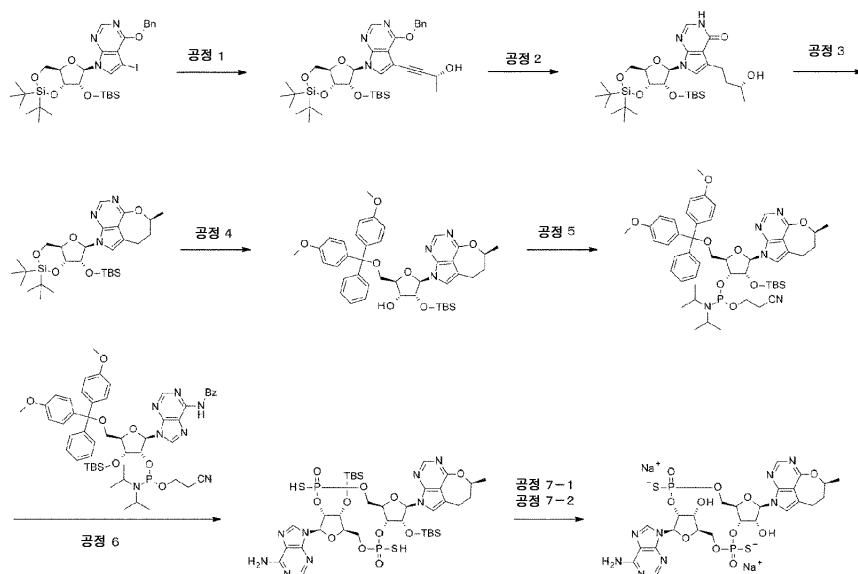
[2166]

[2167]

[합성 스킴]

[2168]

[화학식 157]



[2169]

[2170]

(공정 1)

- [2171] 4-(벤질옥시)-7-{2-0-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3,5-0-(디-tert-부틸실릴리덴)-β-D-리보푸라노실}-5-[(3R)-3-하이드록시부타-1-인-1-일]-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘
- [2172] 실시예 20 공정 2 에서 얻어진 화합물 (2.54 g) 과 (R)-(+)-3-부틴-2-올 (1.36 ml) 을 사용하여, 반응 온도를 실온으로 하고, 실시예 1 공정 2 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (1.85 g) 을 얻었다.
- $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 8.46 (1H, s), 7.57 (2H, d, $J=7.0\text{ Hz}$), 7.44-7.32 (3H, m), 7.20 (1H, s), 6.16 (1H, s), 5.58 (1H, d, $J=12.9\text{ Hz}$), 5.55 (1H, d, $J=13.7\text{ Hz}$), 4.71-4.63 (1H, m), 4.48 (1H, dd, $J=9.2, 4.9\text{ Hz}$), 4.42 (1H, d, $J=4.7\text{ Hz}$), 4.26 (1H, dd, $J=9.4, 4.7\text{ Hz}$), 4.23-4.14 (1H, m), 4.01 (1H, t, $J=9.6\text{ Hz}$), 1.70 (1H, d, $J=5.5\text{ Hz}$), 1.42 (3H, d, $J=6.7\text{ Hz}$), 1.09 (9H, s), 1.04 (9H, s), 0.91 (9H, s), 0.12 (3H, s), 0.11 (3H, s).
- [2173]
- [2174] (공정 2)
- [2175] 7-{2-0-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3,5-0-(디-tert-부틸실릴리덴)-β-D-리보푸라노실}-5-[(3R)-3-하이드록시부틸]-3,7-디하이드로-4H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-온
- [2176] 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (1.85 g) 을 사용하여, 반응 용매를 메탄올 (15 ml) - 테트라하이드로푸란 (15 ml) 혼합 용매로 하고, 실시예 19 공정 7 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (1.34 g) 을 얻었다.
- $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 11.81 (1H, s), 7.89 (1H, s), 6.68 (1H, s), 6.12 (1H, s), 4.49 (1H, dd, $J=9.2, 4.5\text{ Hz}$), 4.34 (1H, d, $J=4.3\text{ Hz}$), 4.27-4.14 (3H, m), 4.03 (1H, t, $J=9.6\text{ Hz}$), 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, $J=6.3\text{ Hz}$), 1.09 (9H, s), 1.04 (9H, s), 0.90 (9H, s), 0.10 (6H, s).
- [2177]
- [2178] (공정 3)
- [2179] (7S)-2-{2-0-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3,5-0-(디-tert-부틸실릴리덴)-β-D-리보푸라노실}-7-메틸-2,7,8,9-테트라하이드로-6-옥사-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌
- [2180] 상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (1.34 g) 을 사용하여, 실시예 20 공정 5 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (0.70 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=9.6, 5.0\text{ Hz}$), 4.17 (1H, td, $J=10.0, 5.0\text{ Hz}$), 4.00 (1H, dd, $J=10.4, 9.2\text{ Hz}$), 3.06–2.97 (1H, m), 2.89–2.79 (1H, m), 2.23–2.08 (2H, m), 1.60 (3H, d, $J=6.3\text{ Hz}$), 1.10 (9H, s), 1.05 (9H, s), 0.91 (9H, s), 0.12 (3H, s), 0.11 (3H, s).

[2181]

[2182] (공정 4)

[2183] (7S)-2-{5-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]- β -D-리보푸라노실]-7-메틸-2,7,8,9-테트라하이드로-6-옥사-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌

[2184] 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (0.70 g) 을 사용하여, 실시예 1 의 공정 5 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (0.82 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=5.5\text{ Hz}$), 4.72 (1H, t, $J=5.3\text{ Hz}$), 4.57–4.47 (1H, m), 4.36 (1H, dd, $J=9.0, 3.9\text{ Hz}$), 4.22 (1H, q, $J=3.1\text{ Hz}$), 3.79 (3H, s), 3.79 (3H, s), 3.52 (1H, dd, $J=10.6, 2.7\text{ Hz}$), 3.37 (1H, dd, $J=10.6, 3.1\text{ Hz}$), 2.81 (1H, d, $J=3.9\text{ Hz}$), 2.78–2.58 (2H, m), 2.16–2.07 (2H, m), 1.59 (3H, d, $J=6.7\text{ Hz}$), 0.83 (9H, s), -0.03 (3H, s), -0.15 (3H, s).

[2185]

[2186] (공정 5)

[2187] (7S)-2-(5-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3-O-((2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스파닐)- β -D-리보푸라노실]-7-메틸-2,7,8,9-테트라하이드로-6-옥사-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌

[2188] 상기 공정 4 에서 얻어진 화합물 (0.82 g) 을 사용하여, 실시예 5 의 공정 4 와 동일하게 조작하고, 표제 화합물 (0.85 g) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물 (디아스테레오머비 = 6 : 4) 로서 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=6.7\text{ Hz}$), 6.30 (0.4H, d, $J=5.9\text{ Hz}$), 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, $J=6.7\text{ Hz}$), 2.17–2.07 (2H, m), 1.58–1.55 (3H, m), 1.22–1.13 (8.4H, m), 1.03 (3.6H, d, $J=6.7\text{ Hz}$), 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).

[2189]

[2190] (공정 6)

[2191] (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-아미노-9H-푸린-9-일)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-14-[(7S)-7-메틸-8,9-디하이드로-6-옥사-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌-2(7H)-일]-2,10-비스(술폰닐)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

[2192] 상기 공정 5 에서 얻어진 화합물 (0.85 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 7 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, (7S)-2-{2-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3-O-[하이드록시(옥소)- λ^5 -포스포닐]- β -D-리보퓨라노실]-7-메틸-2,7,8,9-테트라하이드로-6-옥사-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌의 아세토니트릴 용액을 얻었다. 이 아세토니트릴 용액과 시판 (Cool Pharm) 되는 N-벤조일-5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-2'-O-[(2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스포닐}아데노신 (1.12 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 8, 공정 9, 및 공정 10 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다. 이 혼합물을 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 25 % - 60 % (0 분 - 35 분)] 로 정제하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (95 mg) 과 디아스테레오머 2 (44 mg) 를 얻었다 (HPLC 의 유지 시간 : 디아스테레오머 1 > 2).

[2193] 디아스테레오머 1 (저극성)

[2194] $\text{MS(ESI)}m/z$: 973($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

[2195] 디아스테레오머 2 (고극성)

[2196] $\text{MS(ESI)}m/z$: 973($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

[2197] (공정 7-1)

[2198] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-아미노-9H-푸린-9-일)-15,16-디하이드록시-14-[(7S)-7-메틸-8,9-디하이드로-6-옥사-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌-2(7H)-일]-2,10-디옥소옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[2199] (디아스테레오머 1)

[2200] 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (95 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, Sep-Pak (등록상표) C18 [0.1 % 트리에틸아민 수용액/아세토니트릴 = 5 : 1] 로 정제하

고, 표제 화합물의 트리에틸아민염을 얻었다.

[2201] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (57 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 745 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.72 (1H, s), 8.30 (1H, s), 8.17 (1H, s), 7.35 (1H, s), 6.37 (1H, d, J=4.3 Hz), 6.34 (1H, d, J=8.2 Hz), 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=6.3 Hz).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 58.1 (s), 54.3 (s).

[2202]

[2203] (공정 7-2)

[2204] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-아미노-9H-푸린-9-일)-15,16-디하이드록시-14-[(7S)-7-메틸-8,9-디하이드로-6-옥사-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌-2(7H)-일]-2,10-디옥소옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[2205] (디아스테레오머 2)

[2206] 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (44 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, Sep-Pak (등록상표) C18 [0.1 % 트리에틸아민 수용액/아세트니트릴 = 5 : 1] 로 정제하고, 표제 화합물의 트리에틸아민염을 얻었다.

[2207] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (30 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 745 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.81 (1H, s), 8.30 (1H, s), 8.17 (1H, s), 7.36 (1H, s), 6.41 (1H, d, J=6.7 Hz), 6.34 (1H, d, J=8.6 Hz), 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=6.3 Hz).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 63.7 (s), 61.2 (s).

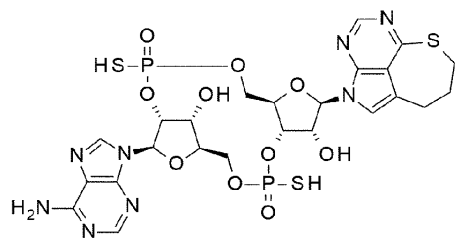
[2208]

[2209] 실시예 33 : CDN23 의 합성

[2210] (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-아미노-9H-푸린-9-일)-14-(8,9-디하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조

[cd]아줄렌-2(7H)-일)-15,16-디하이드록시-2,10-비스(술폰닐)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

[2211] [화학식 158]



23

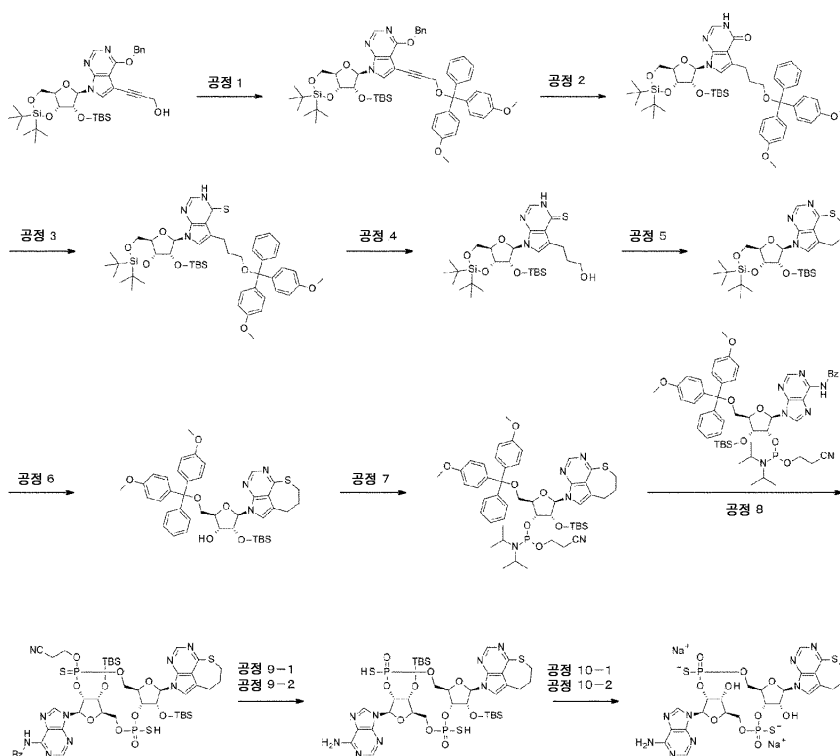
23a (디아스테레오머 1)

23b (디아스테레오머 2)

[2212]

[2213] [합성 스킴]

[2214] [화학식 159]



[2215]

[2216] (공정1)

[2217] 4-(벤질옥시)-5-{3-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메톡시]프로파-1-인-1-일}-7-{2-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3,5-O-(디-tert-부틸실릴리덴)-β-D-리보푸라노실}-7H-피콜로[2,3-d]피리미딘

[2218] 실시예 20 공정 3 에서 얻어진 화합물 (4.17 g) 을 사용하여, 반응 용매를 디클로로메탄 (40 ml) - 피리딘 (40 ml) 혼합 용매로 하고, 실시예 11 공정 1 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (5.70 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=13.7\text{ Hz}$), 5.58 (1H, d, $J=13.7\text{ Hz}$), 4.49 (1H, dd, $J=9.0, 5.0\text{ Hz}$), 4.44 (1H, d, $J=4.8\text{ Hz}$), 4.29 (1H, dd, $J=9.6, 5.0\text{ Hz}$), 4.23–4.15 (1H, m), 4.04 (1H, t, $J=9.8\text{ Hz}$), 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).

[2219]

[2220] (공정 2)

[2221] 5-{3-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메톡시]프로필}-7-{2-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3,5-O-(디-tert-부틸실릴리덴)- β -D-리보퓨라노실]-3,7-디하이드로-4H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-온

[2222] 상기 공정 1에서 얻어진 화합물 (5.70 g)의 메탄올 (100 mL) - 테트라하이드로푸란 (50 mL) 혼합 용액에, 포름산암모늄 (3.71 g)과 10 % 팔라듐탄소 (AD) wet (2g)를 첨가하고, 실온에서 3시간 교반하였다. 촉매를 여과 제거한 후, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸]로 정제하고, 표제 화합물 (4.56 g)을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=9.2, 4.9\text{ Hz}$), 4.35 (1H, d, $J=5.1\text{ Hz}$), 4.23 (1H, dd, $J=9.6, 4.9\text{ Hz}$), 4.16–4.10 (1H, m), 3.97 (1H, t, $J=9.8\text{ Hz}$), 3.78 (6H, s), 3.19–3.08 (2H, m), 2.90 (2H, t, $J=7.8\text{ Hz}$), 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).

[2223]

[2224] (공정 3)

[2225] 5-{3-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메톡시]프로필}-7-{2-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3,5-O-(디-tert-부틸실릴리덴)- β -D-리보퓨라노실]-3,7-디하이드로-4H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-티온

[2226] 상기 공정 2에서 얻어진 화합물 (1.01 g)의 디클로로메탄 (10 mL) 용액에, 피리딘 (0.461 mL)을 첨가하고, 빙랭하에서 트리플루오로메탄술폰산 무수물 (0.385 mL)을 적하하고 30분간 교반하였다. 동 온도에서 반응액에 1 황화수소나트륨 수화물 (2.54 g)의 N,N-디메틸포르미아미드 (25 mL) 현탁액을 첨가하고, 실온에서 2시간 교반하였다. 반응액에 포화 탄산수소나트륨 수용액과 아세트산에틸을 첨가하고, 셀라이트로 여과한 후, 아세트산에틸로 추출하였다. 유기층을 포화 식염수로 세정하고, 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸]로 정제하고, 표제 화합물 (0.51 g)을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=4.3\text{ Hz}$), 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).

[2227]

[2228]

(공정 4)

[2229]

7-{2-0-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3,5-0-(디-tert-부틸실릴리덴)- β -D-리보푸라노실]-5-(3-하이드록시프로필)-3,7-디하이드로-4H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-티온

[2230]

상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (2.79 g) 의 디클로로메탄 (80 ml) 용액에, 증류수 (4 ml) 를 첨가하고, 빙랭하에서 디클로로아세트산 (1.28 ml) 을 적하하고 30 분간 교반하였다. 동 온도에서 반응액에 피리딘 (2.50 ml) 을 첨가한 후, 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (0.96 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=6.1\text{ Hz}$), 3.27–3.09 (2H, m), 2.25–2.13 (1H, br m), 2.00–1.93 (2H, m), 1.08 (9H, s), 1.04 (9H, s), 0.90 (9H, s), 0.10 (6H, s).

[2231]

[2232]

(공정 5)

[2233]

2-{2-0-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3,5-0-(디-tert-부틸실릴리덴)- β -D-리보푸라노실]-2,7,8,9-테트라하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌

[2234]

상기 공정 4 에서 얻어진 화합물 (0.35 g) 을 사용하여, 실시예 20 공정 5 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (0.25 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=9.6, 4.9\text{ Hz}$), 4.17 (1H, td, $J=10.0, 5.0\text{ Hz}$), 4.00 (1H, dd, $J=10.4, 9.2\text{ Hz}$), 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).

[2235]

[2236]

(공정 6)

[2237] 2-{5-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-β-D-리보퓨라노실}-2,7,8,9-테트라하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌

[2238] 상기 공정 5 에서 얻어진 화합물 (0.41 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 5 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (0.46 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=5.1\text{ Hz}$), 4.70 (1H, t, $J=5.1\text{ Hz}$), 4.37 (1H, dd, $J=8.8, 4.1\text{ Hz}$), 4.23-4.19 (1H, m), 3.79 (3H, s), 3.79 (3H, s), 3.53 (1H, dd, $J=10.6, 2.7\text{ Hz}$), 3.38 (1H, dd, $J=10.6, 3.1\text{ Hz}$), 3.16-3.09 (2H, m), 2.78 (1H, d, $J=4.1\text{ Hz}$), 2.76-2.70 (2H, m), 2.30-2.22 (2H, m), 0.83 (9H, s), -0.03 (3H, s), -0.14 (3H, s).

[2239]

[2240] (공정 7)

[2241] 2-(5-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3-O-[(2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스포닐]-β-D-리보퓨라노실)-2,7,8,9-테트라하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌

[2242] 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (0.46 g) 을 사용하여, 실시예 5 공정 4 와 동일하게 조작하고, 표제 화합물 (0.48 g) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물 (디아스테레오머비 = 6 : 4) 로서 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=6.7\text{ Hz}$), 6.32 (0.4H, d, $J=5.5\text{ Hz}$), 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, $J=7.0\text{ Hz}$), 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).

[2243]

[2244] (공정 8)

[2245] N-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-10-(2-시아노에톡시)-14-(8,9-디하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌-2(7H)-일)-2-옥소-2-술폰닐-10-술폰닐리텐옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스포시클로테트라데신-7-일]-

9H-푸린-6-일}벤즈아미드

- [2246] 상기 공정 7 에서 얻어진 화합물 (0.48 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 7 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 2-{2-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3-O-[하이드록시(옥소)- λ^5 -포스파닐]- β -D-리보푸라노실]-2,7,8,9-테트라하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌의 아세토니트릴 용액을 얻었다. 이 아세토니트릴 용액과 시판 (Cool Pharm) 되는 N-벤조일-5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-2'-O-[(2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스파닐]아데노신 (0.61 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 8, 공정 9 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다. 이 혼합물을 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 40 % - 90 % (0 분 - 35 분)] 로 정제하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (40 mg) 과 디아스테레오머 2 (18 mg) 를 각각 얻었다.
- [2247] 디아스테레오머 1 (저극성)
- [2248] MS(ESI)m/z : 1132(M+H)⁺.
- [2249] 디아스테레오머 2 (고극성)
- [2250] MS(ESI)m/z : 1132(M+H)⁺.
- [2251] (공정 9-1)
- [2252] (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-7-(6-아미노-9H-푸린-9-일)-15, 16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-14-(8, 9-디하이드로-6-티아-2, 3, 5-트리아자벤조[cd]아줄렌-2(7H)-일)-2, 10-비스(술폰닐)옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5, 8-메타노-2 λ^5 , 10 λ^5 -푸로[3, 2-1][1, 3, 6, 9, 11, 2, 10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2, 10-디온
- [2253] 상기 공정 8 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (40 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 10 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 30 % - 60 % (0 분 - 35 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (35 mg) 을 얻었다.
- [2254] MS(ESI)m/z : 975(M+H)⁺.
- [2255] (공정 9-2)
- [2256] (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-7-(6-아미노-9H-푸린-9-일)-15, 16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-14-(8, 9-디하이드로-6-티아-2, 3, 5-트리아자벤조[cd]아줄렌-2(7H)-일)-2, 10-비스(술폰닐)옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5, 8-메타노-2 λ^5 , 10 λ^5 -푸로[3, 2-1][1, 3, 6, 9, 11, 2, 10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2, 10-디온
- [2257] 상기 공정 8 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (18 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 10 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 25 % - 50 % (0 분 - 35 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (15 mg) 을 얻었다.
- [2258] MS(ESI)m/z : 975(M+H)⁺.
- [2259] (공정 10-1)
- [2260] 디나트륨 (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-7-(6-아미노-9H-푸린-9-일)-14-(8, 9-디하이드로-6-티아-2, 3, 5-트리아자벤조[cd]아줄렌-2(7H)-일)-15, 16-디하이드록시-2, 10-디옥소옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5, 8-메타노-2 λ^5 , 10 λ^5 -푸로[3, 2-1][1, 3, 6, 9, 11, 2, 10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2, 10-비스(티올레이트)
- [2261] (디아스테레오머 1)
- [2262] 상기 공정 9-1 에서 얻어진 화합물 (35 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, Sep-Pak (등록상표) C18 [0.1 % 트리에틸아민 수용액/아세토니트릴 = 5 : 1] 로 정제하고, 표제 화합물의 트리에틸아민염을 얻었다.
- [2263] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (18 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 747 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.73 (1H, s), 8.41 (1H, s), 8.17 (1H, s), 7.48 (1H, s), 6.40 (1H, d, J=4.3 Hz), 6.34 (1H, d, J=8.6 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 58.1 (s), 54.2 (s).

[2264]

(공정 10-2)

[2265]

디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-아미노-9H-푸린-9-일)-14-(8,9-디하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌-2(7H)-일)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[2266]

(디아스테레오머 2)

[2267]

상기 공정 9-2 에서 얻어진 화합물 (15 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, Sep-Pak (등록상표) C18 [0.1 % 트리에틸아민 수용액/아세트니트릴 = 5 : 1] 로 정제하고, 표제 화합물의 트리에틸아민염을 얻었다.

[2268]

얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (8.1 mg) 을 얻었다.

[2269]

MS (ESI) m/z : 747 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.81 (1H, s), 8.41 (1H, s), 8.17 (1H, s), 7.49 (1H, s), 6.43 (1H, d, J=6.7 Hz), 6.34 (1H, d, J=8.2 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 63.0 (s), 60.5 (s).

[2270]

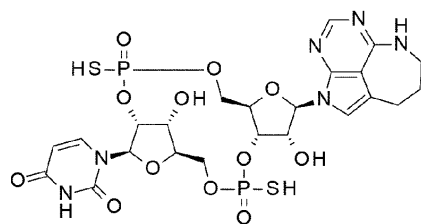
실시예 34 : CDN24 의 합성

[2271]

1-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-2,10-비스(술폰닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]피리미딘-2,4(1H,3H)-디온

[2272]

[2273] [화합식 160]



24

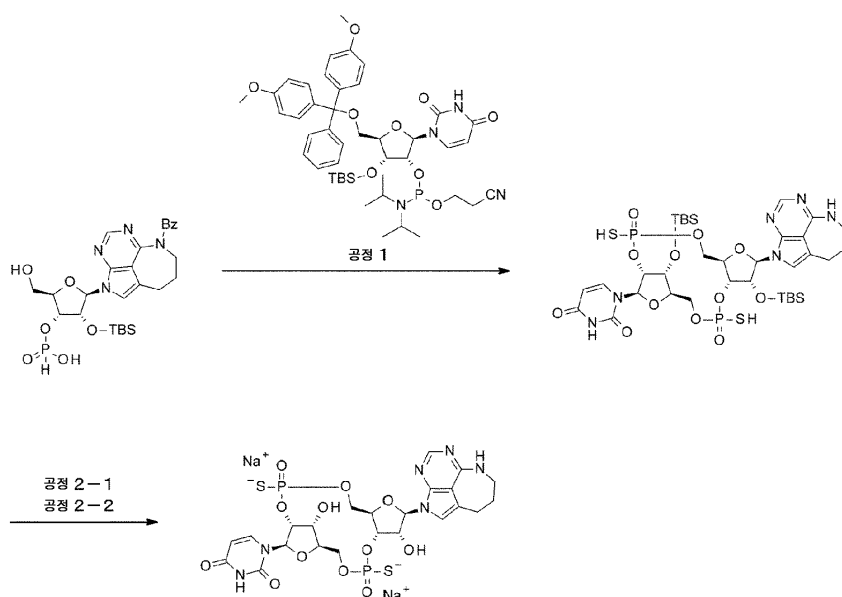
24a (디아스테레오머 1)

24b (디아스테레오머 2)

[2274]

[2275] [합성 스킴]

[2276] [화합식 161]



[2277]

[2278] (공정 1)

[2279] 1-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-2,10-디옥소-2,10-비스(술파닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라테신-7-일]피리미딘-2,4(1H,3H)-디온

[2280] 실시예 1 공정 7의 반응을 이하의 스케일로 실시하였다 (원료 : 1.01 g). 얻어진 화합물의 아세토니트릴 용액과 시판 (Angene) 되는 5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-2'-O-[(2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스파닐]우리딘 (1.03 g)을 사용하여, 실시예 1의 공정 8, 공정 9, 및 공정 10과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.

이 혼합물을 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 25 % - 60 % (0 분 - 35 분)]로 정제하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (50 mg)과 디아스테레오머 2 (23 mg)를 얻었다.

[2281] 디아스테레오머 1 (저극성)

[2282] MS(ESI)m/z : 935(M+H)⁺.

[2283] 디아스테레오머 2 (고극성)

- [2284] MS(ESI) m/z : 935(M+H)⁺.
- [2285] (공정 2-1)
- [2286] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(2,4-디옥소-3,4-디하이드로 피리미딘-1(2H)-일)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스포시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [2287] (디아스테레오머 1)
- [2288] 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (50 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, Sep-Pak (등록상표) C18 [0.1 % 트리에틸아민 수용액/아세트니트릴 = 5 : 1] 로 정제하고, 표제 화합물의 트리에틸아민염을 얻었다.
- [2289] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (30 mg) 을 얻었다.
- MS (ESI) m/z : 707 (M+H)⁺.
- ¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.09 (1H, d, J=8.2 Hz), 8.03 (1H, s), 7.16 (1H, s), 6.32 (1H, d, J=8.6 Hz), 6.28 (1H, d, J=4.3 Hz), 5.82 (1H, d, J=8.2 Hz), 5.08-5.01 (1H, m), 4.93-4.84 (1H, m), 4.73 (1H, t, J=4.5 Hz), 4.68 (1H, d, J=3.9 Hz), 4.48-4.38 (2H, m), 4.33-4.24 (1H, m), 4.23 (1H, d, J=2.3 Hz), 4.09-3.99 (2H, m), 3.56-3.46 (2H, m), 2.96-2.83 (2H, m), 2.07-1.95 (2H, m).
- ³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 58.3 (s), 54.6 (s).
- [2290]
- [2291] (공정 2-2)
- [2292] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(2,4-디옥소-3,4-디하이드로 피리미딘-1(2H)-일)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스포시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [2293] (디아스테레오머 2)
- [2294] 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (23 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, Sep-Pak (등록상표) C18 [0.1 % 트리에틸아민 수용액/아세트니트릴 = 5 : 1] 로 정제하고, 표제 화합물의 트리에틸아민염을 얻었다.
- [2295] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (11 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 707 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.08 (1H, d, J=7.8 Hz), 8.01 (1H, s), 7.16 (1H, s), 6.35 (1H, d, J=8.6 Hz), 6.31 (1H, d, J=6.7 Hz), 5.85 (1H, d, J=7.8 Hz), 5.38-5.33 (1H, m), 5.04-4.96 (1H, m), 4.75 (1H, dd, J=6.5, 4.5 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 63.2 (s), 60.2 (s).

[2296]

[2297]

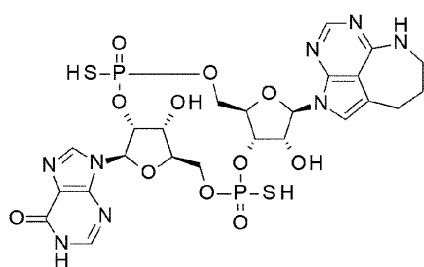
실시예 35 : CDN25 의 합성

[2298]

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-7-(6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일)-2,10-비스(술파닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

[2299]

[화학식 162]



25

25a (디아스테레오머 1)

25b (디아스테레오머 2)

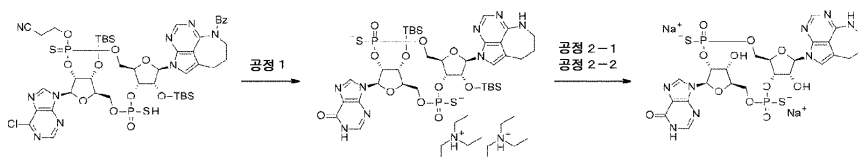
[2300]

[2301]

[합성 스킴]

[2302]

[화학식 163]



[2303]

[2304]

(공정 1)

[2305]

비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-비스{tert-부틸(디메틸)실릴}옥시}-2,10-디옥소-7-(6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[2306]

실시예 13 공정 4 에서 얻어진 화합물 (313 mg) 의 테트라하이드로푸란 (5.0 ml) 용액에, N-[(E)-(피리딘-2-일)메틸리덴]하이드록실아민 (337 mg) 과 N,N,N',N'-테트라메틸구아니딘 (0.346 ml) 을 첨가하고, 실온에서 1 일간 교반하였다. 반응액에 메탄올 (5.0 ml) 과 28 % 암모니아수 (5.0 ml) 를 첨가하고, 50 °C 에서 5 시

간 교반하였다. 반응액을 감압 농축 후, 잔류물을 C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리 에틸암모늄 수용액/아세토니트릴] 로 정제하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (106 mg : 불순물 함유) 과 디 아스테레오머 2 (105 mg : 불순물 함유) 를 얻었다.

[2307] 디아스테레오머 1 (저극성)

[2308] MS(ESI)m/z : 959(M+H)⁺.

[2309] 디아스테레오머 2 (고극성)

[2310] MS(ESI)m/z : 959(M+H)⁺.

[2311] (공정 2-1)

[2312] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-7-(6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸 린-9-일)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H- 5,8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[2313] (디아스테레오머 1)

[2314] 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (106 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로 서 얻었다.

[2315] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리 에틸암모늄 수용액/아세토니트릴] 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리 에틸암모늄 수용액/아세토니트릴 - 메탄올 용액 (1 : 1), 아세토니트릴 - 메탄올 용액 (1 : 1) : 7 % - 50 % (0 분 - 40 분)].

[2316] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (43.4 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 731 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.66 (1H, s), 8.02 (2H, s), 7.09 (1H, s), 6.30 (1H, d, J=6.8 Hz), 6.28 (1H, d, J=4.8 Hz), 5.45-5.38 (1H, m), 5.20-5.13 (1H, m), 4.82 (1H, d, J=4.2 Hz), 4.77 (1H, t, J=4.5 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 57.7 (s), 54.6 (s).

[2317]

[2318] (공정 2-2)

[2319] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-7-(6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸 린-9-일)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H- 5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[2320] (디아스테레오머 2)

[2321] 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (105 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로

서 얻었다.

[2322] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴] 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴 - 메탄올 용액 (1 : 1), 아세토니트릴 - 메탄올 용액 (1 : 1) : 7 % - 45 % (0 분 - 40 분)].

[2323] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (21.5 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 731 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.72 (1H, s), 8.03 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.11 (1H, s), 6.32 (1H, d, J=6.0 Hz), 6.30 (1H, d, J=8.0 Hz), 5.49-5.40 (2H, m), 4.77 (1H, dd, J=6.7, 4.2 Hz), 4.49 (1H, d, J=4.5 Hz), 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=5.4 Hz), 2.05-1.97 (2H, m).

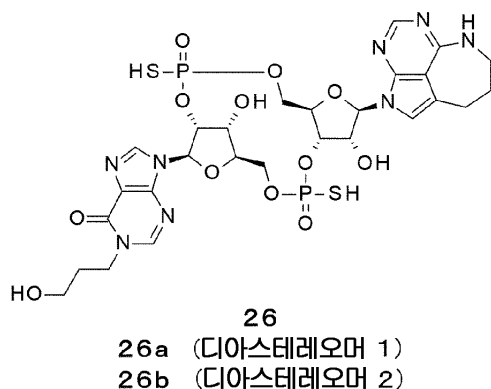
³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 62.9 (s), 60.0 (s).

[2324]

[2325] 실시예 36 : CDN26 의 합성

[2326] (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-7-[1-(3-하이드록시프로필)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-비스(술포닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

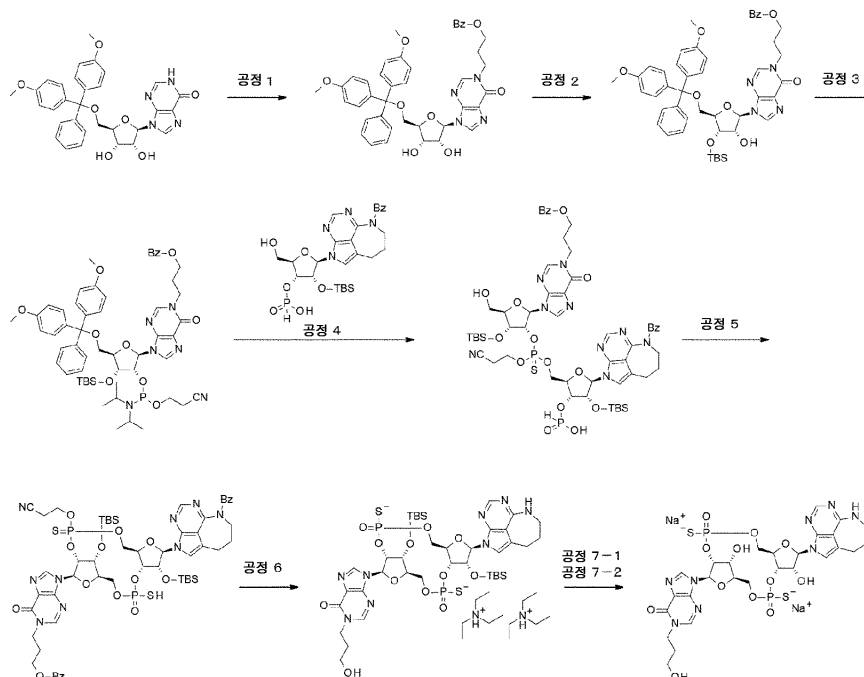
[2327] [화학식 164]



[2328]

[2329] [합성 스킴]

[2330] [화학식 165]



[2331]

[2332] (공정 1)

[2333] 1-[3-(벤조일옥시)프로필]-5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]이노신

[2334] 3-브로모프로판-1-올 (1.14 ml) 의 테트라하이드로푸란 (25 ml) 용액에, 트리에틸아민 (1.83 ml) 과 염화벤조일 (1.43 ml) 을 첨가하고, 실온에서 6 시간 교반하였다. 반응 용액을 여과하고, 테트라하이드로푸란으로 세정하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물의 탈수 N,N-디메틸아세트아미드 (25 ml) 용액에, 시판 (Aamdis Chemical) 되는 5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]이노신 (5.0 g) 과 1,8-디아자비시클로[5.4.0]-7-운데센 (2.75 ml) 을 첨가하고, 실온에서 3 일간 교반하였다. 반응액에, 물을 첨가하고, 아세트산에틸로 추출하였다. 유기층을 포화 식염수로 세정 후, 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸/메탄올] 로 정제하고, 표제 화합물 (4.41 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 733 (M+H) ⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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=6.0 Hz), 4.85 (1H, d, J=3.6 Hz), 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, 3.6 Hz), 3.33 (1H, dd, J=10.3, 3.6 Hz), 3.02 (1H, d, J=2.4 Hz), 2.32 (2H, dd, J=11.8, 5.7 Hz).

[2335]

[2336] (공정 2)

[2337] 1-[3-(벤조일옥시)프로필]-5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]이노신

[2338] 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (4.41 g) 을 사용하여, 실시예 5 공정 3 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (1.60 g) 과 표제 화합물의 위치 이성체인 1-[3-(벤조일옥시)프로필]-5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]이노신 (1.70 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 847 (M+H) ⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 8.01 (1H, d, J=1.2 Hz), 8.00 (1H, s), 7.99 (1H, d, J=1.2 Hz), 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=4.8 Hz), 4.58-4.52 (1H, m), 4.50-4.46 (1H, m), 4.39 (2H, t, J=6.0 Hz), 4.28-4.12 (3H, m), 3.78 (3H, s), 3.77 (3H, s), 3.46 (1H, dd, J=10.6, 3.9 Hz), 3.26 (1H, dd, J=10.6, 3.9 Hz), 2.99 (1H, d, J=6.7 Hz), 2.30 (2H, dd, J=13.3, 6.0 Hz), 0.88 (9H, s), 0.07 (3H, s), 0.00 (3H, s).

[2339]

[2340] 위치 이성체 (2'-O-TBS 체)

MS (ESI) m/z : 847 (M+H) ⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 8.01 (1H, d, J=1.8 Hz), 7.99 (1H, d, J=1.8 Hz), 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=5.4 Hz), 4.84 (1H, t, J=5.4 Hz), 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, 3.0 Hz), 3.37 (1H, dd, J=10.9, 3.0 Hz), 2.68 (1H, d, J=3.6 Hz), 2.34-2.26 (2H, m), 0.84 (9H, s), 0.01 (3H, s), -0.13 (3H, s).

[2341]

[2342] (공정 3)

[2343] 1-[3-(벤조일옥시)프로필]-5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-2'-O-((2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스파닐)이노신

[2344] 상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (1.60 g) 을 사용하여, 실시예 5 공정 4 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (1.91 g) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물 (디아스테레오머비 = 67 : 33) 로서 얻었다.

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=14.5 Hz), 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=5.1 Hz), 6.06 (0.33H, d, J=6.0 Hz), 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=6.6 Hz), 2.50 (0.66H, t, J=6.6 Hz), 2.38 (1.34H, t, J=6.6 Hz), 2.30 (0.66H, t, J=6.6 Hz), 1.30–1.24 (6H, m), 1.15–1.07 (4.02H, m), 0.95 (1.98H, d, J=6.6 Hz), 0.84 (9H, s), 0.09 (0.99H, s), 0.05 (2.01H, s), 0.00 (3H, s).

[2345]

[2346] (공정 4)

[2347] 실시예 1 공정 7 과 동일한 반응을 이하의 스케일로 실시하였다 (원료 : 981 mg). 얻어진 화합물의 아세트 니트릴 용액과 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (1.03 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 8 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 얻어진 미정제 생성물을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.

[2348] (공정 5)

[2349] 3-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[c,d]아줄렌-2-일)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-10-(2-시아노에톡시)-2-옥소-2-술폰닐-10-술폰닐리덴옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-6-옥소-6,9-디하이드로-1H-푸린-1-일}프로필 벤조에이트

[2350] 상기 공정 4 에서 얻어진 미정제 생성물을 사용하여, 실시예 1 공정 9 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (774 mg) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.

[2351] MS(ESI) m/z : 1278(M+H)⁺.

[2352] (공정 6)

[2353] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-7-[1-(3-하이드록시프로필)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[2354] 상기 공정 5 에서 얻어진 화합물 (774 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 10 과 동일한 수법을 이용하여 반응을 실시하고, C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [0.2 % 트리에틸아민 수용액/아세트니트릴] 로 정제하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (101 mg : 불순물 함유) 과 디아스테레오머 2 (90.8 mg : 불순물 함유) 를 얻었다.

[2355] 디아스테레오머 1 (저극성)

- [2356] MS(ESI) m/z : 1017(M+H)⁺.
- [2357] 디아스테레오머 2 (고극성)
- [2358] MS(ESI) m/z : 1017(M+H)⁺.
- [2359] (공정 7-1)
- [2360] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-7-[1-(3-하이드록시프로필)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [2361] (디아스테레오머 1)
- [2362] 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (101 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로 얻었다.
- [2363] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴].
- [2364] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (48.8 mg) 을 얻었다.
- MS (ESI) m/z : 789 (M+H)⁺.
- ¹H-NMR (CD₃OD) 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=4.8 Hz), 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=5.7 Hz), 3.49 (2H, t, J=4.8 Hz), 2.91-2.74 (2H, m), 2.02-1.92 (4H, m).
- ³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 57.6 (s), 54.6 (s).
- [2365]
- [2366] (공정 7-2)
- [2367] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-7-[1-(3-하이드록시프로필)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [2368] (디아스테레오머 2)
- [2369] 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (90.8 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로 얻었다.
- [2370] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴] 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 3 % - 20 % (0 분 - 40 분)].
- [2371] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을

실시하고, 표제 화합물 (22.3 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 789 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.71 (1H, s), 8.29 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.11 (1H, s), 6.32 (1H, d, J=6.7 Hz), 6.28 (1H, d, J=8.5 Hz), 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=6.0 Hz), 3.53-3.47 (2H, m), 2.93-2.87 (2H, m), 2.06-1.94 (4H, m).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 62.8 (s), 59.9 (s).

[2372]

[2373]

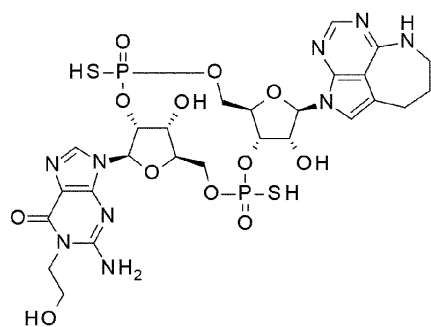
실시예 37 : CDN27 의 합성

[2374]

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[2-아미노-1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-15,16-디하이드록시-2,10-비스(술팜닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

[2375]

[화학식 166]



27

27a (디아스테레오머 1)

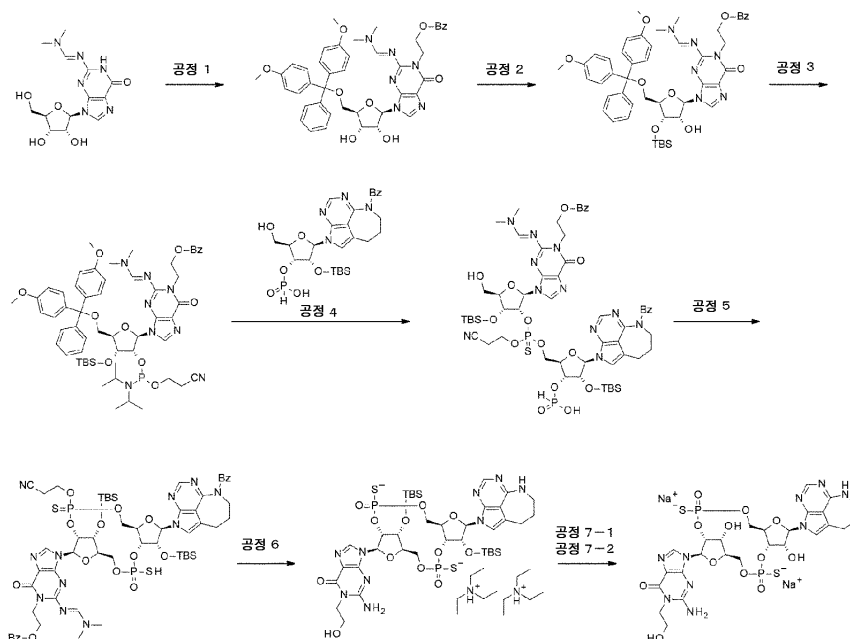
27b (디아스테레오머 2)

[2376]

[2377]

[합성 스킴]

[2378] [화학식 167]



[2379]

[2380] (공정 1)

[2381] 1-[2-(벤조일옥시)에틸]-5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-N-[(디메틸아미노)메틸리덴]구아노신

[2382] 이미 알려진 문헌 (Journal of Organic Chemistry, 1994, 59, 7243-7248) 의 N-[(디메틸아미노)메틸리덴]구아노신 (10.0 g) 의 N,N-디메틸아세트아미드 (50 ml) - 피리딘 (50 ml) 혼합 용액에 4,4'-디메톡시트리틸클로라이드 (10.5 g) 를 0 °C 에서 첨가하고, 4 °C 에서 16 시간 교반하였다. 반응액에 벤조산2-브로모에틸 (6.54 ml) 과 1,8-디아자비시클로[5.4.0]-7-운데센 (11.0 ml) 을 첨가하고, 실온에서 2 일간 교반하였다. 반응액에 포화 탄산수소나트륨 수용액과 물을 첨가하고, 아세트산에틸로 추출하였다. 유기층을 포화 식염수로 세정하고, 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸/메탄올] 로 정제하고, 표제 화합물을 트리페닐포스핀옥사이드와의 혼합물 (16.7 g) 로서 얻었다.

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=6.7 Hz), 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).

[2383]

[2384] (공정 2)

[2385] 1-[2-(벤조일옥시)에틸]-5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-N-[(디메틸아미노)메틸리덴]구아노신

노)메틸리덴]구아노신

[2386]

상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (15.7 g) 을 사용하여, 실시예 5 공정 3 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (4.82 g) 과 표제 화합물의 위치 이성체인 1-[2-(벤조일옥시)에틸]-5'-0-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2'-0-[tert-부틸(디메틸)실릴]-N-[(디메틸아미노)메틸리덴]구아노신 (6.01 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 903 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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=4.2 Hz), 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, 3.9 Hz), 3.25 (1H, dd, J=10.6, 3.9 Hz), 3.05 (1H, d, J=5.4 Hz), 2.91 (3H, s), 2.78 (3H, s), 0.86 (9H, s), 0.05 (3H, s), -0.04 (3H, s).

[2387]

[2388]

위치 이성체 (2'-O-TBS 체)

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=5.4 Hz), 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, 3.6 Hz), 3.37 (1H, dd, J=10.9, 3.6 Hz), 2.90 (3H, s), 2.76 (1H, d, J=2.5 Hz), 2.75 (3H, s), 0.84 (9H, s), 0.02 (3H, s), -0.15 (3H, s).

[2389]

[2390]

(공정 3)

[2391]

1-[2-(벤조일옥시)에틸]-5'-0-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-0-[tert-부틸(디메틸)실릴]-2'-0-[(2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스포닐]-N-[(디메틸아미노)메틸리덴]구아노신

[2392]

상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (4.81 g) 을 사용하여, 실시예 5 공정 4 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (5.41 g) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물 (디아스테레오머비 = 7 : 3) 로서 얻었다.

MS (ESI) m/z : 1103 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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).

[2393]

(공정 4)

[2394]

[2395]

실시예 1 공정 7 과 동일한 반응을 이하의 스케일로 실시하였다 (원료 : 1.68 g). 얻어진 화합물의 아세트 니트릴 용액과 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (1.81 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 8 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 얻어진 미정제 생성물을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.

[2396]

(공정 5)

[2397]

2-(9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-10-(2-시아노에톡시)-2-옥소-2-술폰닐-10-술폰닐리덴옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-2-[(E)-[(디메틸아미노)메틸리덴]아미노]-6-옥소-6,9-디하이드로-1H-푸린-1-일)에틸 벤조에이트

[2398]

상기 공정 4 에서 얻어진 미정제 생성물을 사용하여, 실시예 1 공정 9 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (1.15 g) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.

[2399]

MS(ESI) m/z : 1334(M+H)⁺.

[2400]

(공정 6)

[2401]

비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-[2-아미노-1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[2402]

상기 공정 5 에서 얻어진 화합물 (1.15 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 10 과 동일한 수법을 이용하여 반응을 실시하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (134 mg : 불순물 함유) 과 디아스테레오머 2 (127 mg : 불순물 함유) 를 얻었다.

- [2403] 디아스테레오머 1 (저극성)
- [2404] MS(ESI) m/z : 1018(M+H)⁺.
- [2405] 디아스테레오머 2 (고극성)
- [2406] MS(ESI) m/z : 1018(M+H)⁺.
- [2407] (공정 7-1)
- [2408] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[2-아미노-1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아졸렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [2409] (디아스테레오머 1)
- [2410] 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (134 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로 얻었다.
- [2411] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴] 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 5 % - 25 % (0 분 - 40 분)].
- [2412] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (36.0 mg) 을 얻었다.
- MS (ESI) m/z : 790 (M+H)⁺.
- ¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.01 (1H, s), 7.99 (1H, s), 7.17 (1H, s), 6.23 (1H, d, J=2.4 Hz), 5.96 (1H, d, J=8.5 Hz), 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).
- ³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 57.6 (s), 53.1 (s).
- [2413]
- [2414] (공정 7-2)
- [2415] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[2-아미노-1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아졸렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [2416] (디아스테레오머 2)
- [2417] 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (127 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로 얻었다.

[2418] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴] 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 3 % - 20 % (0 분 - 40 분)].

[2419] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (20.1 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 790 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.20 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.19 (1H, s), 6.31 (1H, d, J=6.0 Hz), 6.05 (1H, d, J=8.5 Hz), 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).

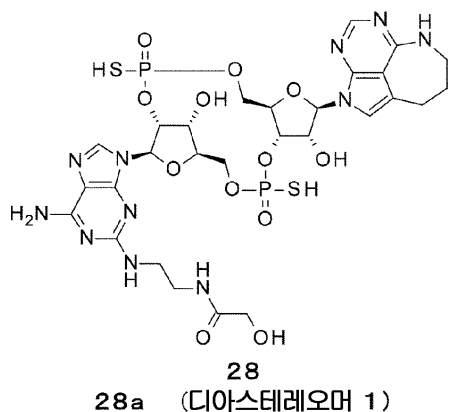
³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 61.6 (s), 59.6 (s).

[2420]

[2421] 실시예 38 : CDN28 의 합성

[2422] N-[2-(6-아미노-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-다하이드록시-2,10-디옥소-2,10-비스(술폰닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-9H-푸린-2-일}아미노)에틸]-2-하이드록시아세트아미드

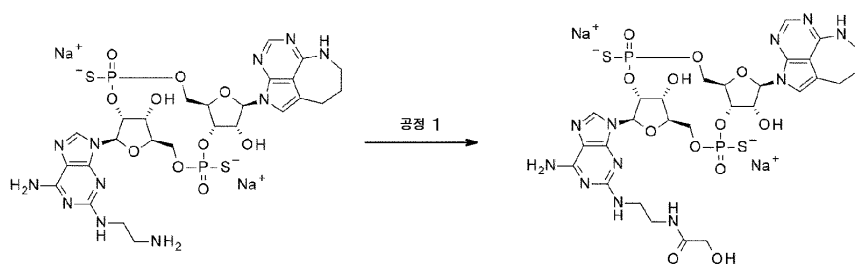
[2423] [화학식 168]



[2424]

[2425] [합성 스킴]

[2426] [화합식 169]



[2427]

[2428] (공정 1)

[2429] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-아미노-2-{[2-(2-하이드록시아세트아미드)에틸]아미노}-9H-푸린-9-일)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[c]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[2430] 실시예 8 공정 8-2 에서 얻어진 화합물 (6.6 mg) 을 사용하여, 실시예 7 공정 1-1 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.

[2431] [정제 조건] 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸아민 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 2 % - 30 % (0 분 - 30 분)].

[2432] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (2.9 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 846 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.33 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.16 (1H, s), 6.33 (1H, d, J=6.0 Hz), 6.18 (1H, d, J=8.5 Hz), 5.53-5.45 (2H, m), 4.79 (1H, t, J=5.1 Hz), 4.50-4.25 (5H, m), 4.10 (1H, d, J=11.5 Hz), 3.97 (2H, s), 3.94-3.89 (1H, m), 3.53-3.39 (6H, m), 2.88 (2H, t, J=5.7 Hz), 2.04-1.98 (2H, m).

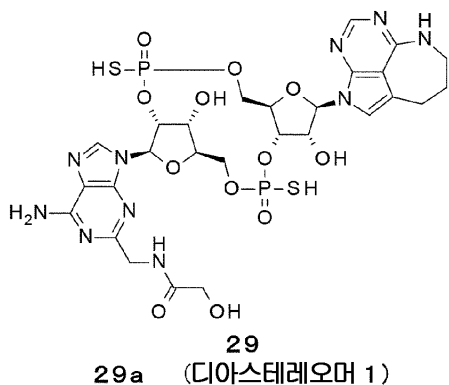
³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 62.6, 60.1.

[2433]

[2434] 실시예 39 : CDN29 의 합성

[2435] N-({6-아미노-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-2,10-비스(술팜닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[c]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-9H-푸린-2-일}메틸)-2-하이드록시아세트아미드

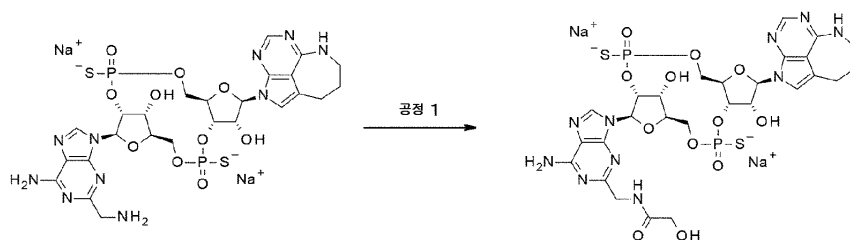
[2436] [화학식 170]



[2437]

[2438] [합성 스킴]

[2439] [화학식 171]



[2440]

[2441] (공정 1)

[2442] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{6-아미노-2-[(2-하이드록시아세트아미드)메틸]-9H-푸린-9-일}-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[2443] 실시예 11 공정 9-2 에서 얻어진 화합물 (4.6 mg) 을 사용하여, 실시예 7 공정 1-1 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 2 % - 30 % (0 분 - 30 분)] 로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.

[2444] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (4.0 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 817 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.75 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.12 (1H, s), 6.36 (1H, d, J=8.5 Hz), 6.33 (1H, d, J=6.7 Hz), 5.49-5.41 (2H, m), 4.80 (1H, dd, J=6.7, 4.8 Hz), 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).

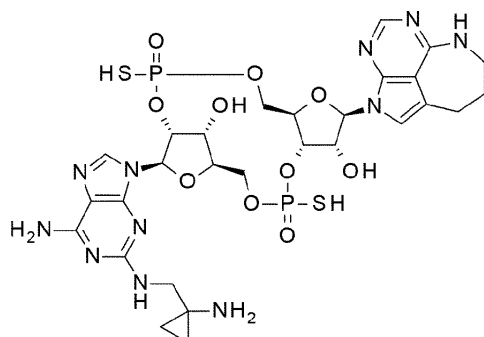
³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 63.2, 60.3.

[2445]

[2446] 실시예 40 : CDN30 의 합성

[2447] (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aS, 16R)-7-(6-아미노-2-[(1-아미노시클로프로필)메틸]아미노)-9H-푸린-9-일)-15, 16-디하이드록시-2, 10-비스(술팜닐)-14-(6, 7, 8, 9-테트라하이드로-2H-2, 3, 5, 6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5, 8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3, 2-1][1, 3, 6, 9, 11, 2, 10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2, 10-디온

[2448] [화합식 172]

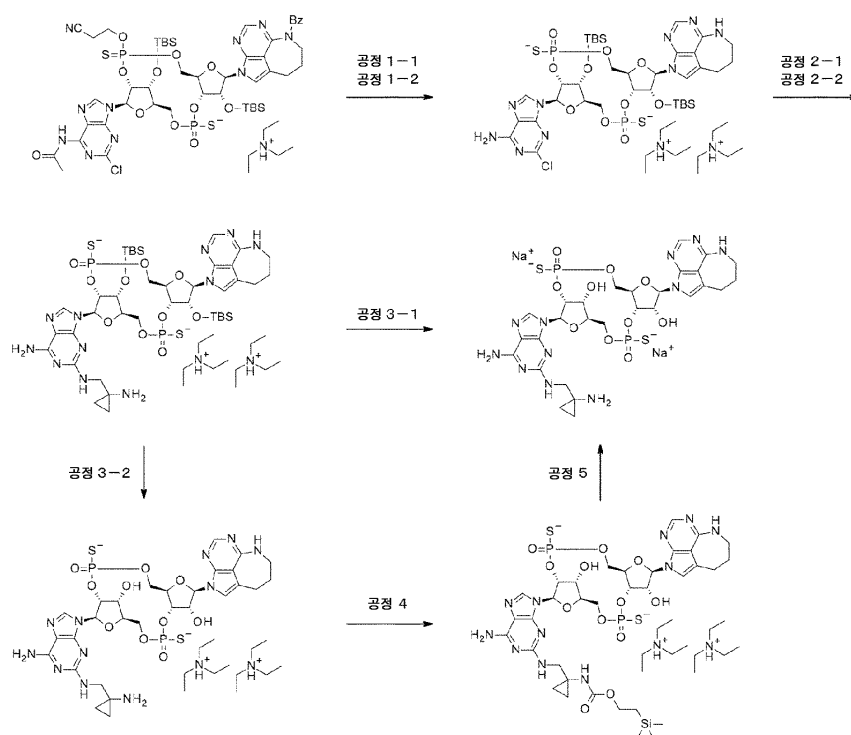


30
30a (디아스테레오머 1)
30b (디아스테레오머 2)

[2449]

[2450] [합성 스킴]

[2451] [화합식 173]



[2452]

[2453] (공정 1-1)

[2454] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-7-(6-아미노-2-클로로-9H-푸린-9-일)-15, 16-비스[{tert-부틸 (디메틸)실릴}옥시]-2, 10-디옥소-14-(6, 7, 8, 9-테트라하이드로-2H-2, 3, 5, 6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5, 8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3, 2-1][1, 3, 6, 9, 11, 2, 10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2, 10-비스(티올레이트)

[2455] 실시예 8 공정 6 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (590 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 10 과 동일한

수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (420 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 992 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.76 (1H, s), 7.97 (1H, s), 7.30 (1H, s), 6.23 (1H, d, J=4.8 Hz), 6.22 (1H, d, J=7.9 Hz), 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=7.3 Hz), 2.84-2.81 (2H, m), 2.02-1.92 (2H, m), 1.26 (18H, t, J=7.3 Hz), 1.00 (9H, s), 0.85 (9H, s), 0.33 (3H, s), 0.28 (3H, s), 0.27 (3H, s), 0.10 (3H, s).

[2456]

[2457]

(공정 1-2)

[2458]

비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-아미노-2-클로로-9H-푸린-9-일)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[2459]

실시에 8 공정 6 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (710 mg) 을 사용하여, 실시에 1 공정 10 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (452 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 992 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.55 (1H, s), 8.01 (1H, s), 7.07 (1H, s), 6.34 (1H, d, J=7.3 Hz), 6.20 (1H, d, J=8.5 Hz), 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, 7.3 Hz), 2.93-2.91 (2H, m), 2.03-1.99 (2H, m), 1.30 (18H, t, J=7.3 Hz), 1.00 (9H, s), 0.74 (9H, s), 0.27 (6H, s), 0.20 (3H, s), -0.28 (3H, s).

[2460]

[2461]

(공정 2-1)

[2462]

비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-아미노-2-[(1-아미노시클로프로필)메틸]아미노)-9H-푸린-9-일)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[2463]

1-(아미노메틸)시클로프로판-1-아민 · 2HCl (309 mg) 의 메탄올 (40 ml) 용액에, MP-Carbonate 레진 (5.45 g)

을 첨가하고, 실온에서 2 시간 교반하였다. 레진을 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물의 메탄올 (0.837 ml) 용액을, 상기 공정 1-1 에서 얻어진 화합물 (30.0 mg) 에 첨가하고, 마이크로 웨이브 반응 장치를 사용하여, 120 °C 에서 4 시간 반응시켰다. 반응액을 감압 농축 후, 잔류물을 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 30 % - 60 % (0 분 - 30 분)] 로 정제하고, 표제 화합물을 포함하는 혼합물을 얻었다. 얻어진 혼합물은 그대로 다음의 공정에 사용하였다.

- [2464] MS(ESI)m/z : 1042(M+H)⁺.
- [2465] (공정 2-2)
- [2466] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-7-(6-아미노-2-[(1-아미노시클로프로필)메틸]아미노)-9H-푸린-9-일)-15, 16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-2, 10-디옥소-14-(6, 7, 8, 9-테트라하이드로-2H-2, 3, 5, 6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5, 8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3, 2-1][1, 3, 6, 9, 11, 2, 10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2, 10-비스(티올레이트)
- [2467] 상기 공정 1-2 에서 얻어진 화합물 (58.6 mg) 을 사용하여, 상기 공정 2-1 과 동일한 수법에 의해 표제 화합물을 포함하는 혼합물을 얻었다. 얻어진 혼합물은 그대로 다음의 반응에 사용하였다.
- [2468] MS(ESI)m/z : 1042(M+H)⁺.
- [2469] (공정 3-1)
- [2470] 디나트륨 (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-7-(6-아미노-2-[(1-아미노시클로프로필)메틸]아미노)-9H-푸린-9-일)-15, 16-디하이드록시-2, 10-디옥소-14-(6, 7, 8, 9-테트라하이드로-2H-2, 3, 5, 6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5, 8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3, 2-1][1, 3, 6, 9, 11, 2, 10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2, 10-비스(티올레이트)
- [2471] (디아스테레오머 1)
- [2472] 상기 공정 2-1 에서 얻어진 혼합물을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 2 % - 20 % (0 분 - 30 분)] 로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.
- [2473] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (2.0 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 812 (M-2Na+1H)⁻.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.25 (1H, s), 8.01 (1H, s), 7.04 (1H, s), 6.28 (1H, d, J=4.2 Hz), 6.12 (1H, d, J=7.9 Hz), 5.43-5.35 (1H, m), 5.15-5.11 (1H, m), 4.75 (1H, t, J=4.2 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 57.7 (s), 54.3 (s).

- [2474]
- [2475] (공정 3-2)
- [2476] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-7-(6-아미노-2-[(1-아미노시클로프로필)메틸]아미노)-9H-푸린-9-일)-15, 16-디하이드록시-2, 10-디옥소-14-(6, 7, 8, 9-테트라하이드로-2H-2, 3, 5, 6-테트라아

자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[2477] 상기 공정 2-2 에서 얻어진 혼합물을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법에 의해 표제 화합물을 포함하는 혼합물을 얻었다. 얻어진 혼합물은 그대로 다음의 반응에 사용하였다.

[2478] (공정 4)

[2479] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[6-아미노-2-({[1-({[2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐}아미노)시클로프로필]메틸}아미노)-9H-푸린-9-일]-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[2480] 상기 공정 3-2 에서 얻어진 혼합물의 N,N-디메틸포름아미드 (1.0 ml) 용액에 트리에틸아민 (40.8 μ l) 과 2,5-디옥소피롤리딘-1-일(2-(트리메틸실릴)에틸)카보네이트 (39.5 mg) 를 첨가하고, 실온에서 1 시간 교반하였다. 반응액에 물을 첨가하여 퀀치 후, 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴, 아세트오니트릴 : 10 % - 50 % (0 분 - 30 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (11.0 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 958 (M+H) ⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.40 (1H, s), 8.03 (1H, s), 7.12 (1H, s), 6.32 (1H, d, J=6.7 Hz), 6.18 (1H, d, J=8.5 Hz), 5.53-5.49 (1H, m), 5.46-5.39 (1H, m), 4.83 (1H, dd, J=6.3, 4.5 Hz), 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=13.9 Hz), 3.52-3.49 (2H, m), 3.40 (1H, d, J=13.9 Hz), 3.04 (12H, q, 7.3 Hz), 2.93-2.90 (2H, m), 2.04-1.99 (2H, m), 1.23 (18H, t, J=7.3 Hz), 0.96-0.92 (2H, m), 0.84-0.80 (2H, m), 0.76-0.73 (2H, m), 0.02 (9H, s).

[2481]

[2482] (공정 5)

[2483] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-아미노-2-{{[1-아미노시클로프로필]메틸}아미노}-9H-푸린-9-일)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[2484] (디아스테레오머 2)

[2485] 상기 공정 4 에서 얻어진 화합물 (11.0 mg) 의 테트라하이드로푸란 (474 μ l) 용액에, 불화테트라부틸암모늄의 테트라하이드로푸란 용액 (약 1 M, 237 μ l) 을 첨가하고, 질소 분위기하, 40 °C 에서 3 시간 교반하였다. 반응액에 10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액을 첨가하여 퀀치 후, 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴, 아세트오니트릴 : 2 % - 30 % (0 분 - 30 분)] 및 Sep-Pak (등록상표) C18 [물/아세트오니트릴/0.1 % 트리에틸아민] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.

[2486] 얻어진 트리에틸아민염을 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (4.1 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 812 ($M-2Na+1H$)⁻.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.34 (1H, s), 8.01 (1H, s), 7.14 (1H, s), 6.32 (1H, d, $J=6.0$ Hz), 6.16 (1H, d, $J=8.5$ Hz), 5.43–5.37 (2H, m), 4.78 (1H, t, $J=5.4$ Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 62.3 (s), 60.0 (s).

[2487]

[2488]

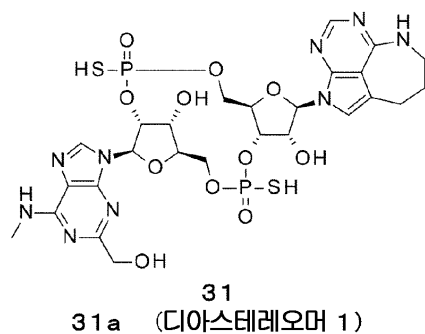
실시예 41 : CDN31 의 합성

[2489]

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-7-[2-(하이드록시메틸)-6-(메틸아미노)-9H-푸린-9-일]-2,10-비스(술포닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

[2490]

[화학식 174]



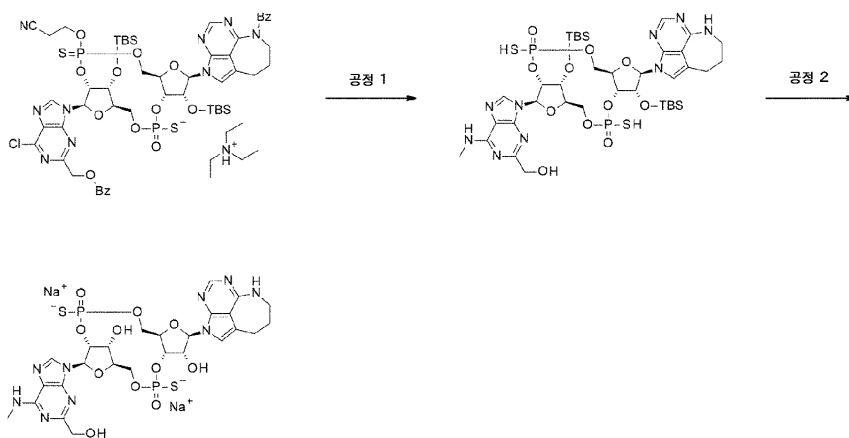
[2491]

[합성 스킴]

[2492]

[화학식 175]

[2493]



[2494]

(공정 1)

[2495]

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-7-[2-(하이드록시메틸)-6-(메틸아미노)-9H-푸린-9-일]-2,10-비스(술포닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-

[2496]

2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

[2497] 실시예 12 공정 7 에서 얻어진 디아스테레오머 2 (고극성) (56.5 mg) 의 메탄올 (1.00 ml) 용액에, 40 % 메틸아민 수용액 (1.00 ml) 을 첨가하고, 봉관 (封管) 중 60 °C 에서 3 시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축하여 표제 화합물을 포함하는 혼합물을 얻었다. 얻어진 혼합물을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.

[2498] MS(ESI)m/z : 1002(M+H)⁺.

[2499] (공정 2)

[2500] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-7-[2-(하이드록시메틸)-6-(메틸아미노)-9H-푸린-9-일]-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[2501] 상기 공정 1 에서 얻어진 혼합물을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 2 % - 20 % (0 분 - 30 분)] 로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.

[2502] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (16.0 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 774 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.70 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.13 (1H, s), 6.38 (1H, d, J=9.1 Hz), 6.33 (1H, d, J=7.3 Hz), 5.49-5.42 (2H, m), 4.80 (1H, dd, J=6.7, 4.2 Hz), 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=5.4 Hz), 2.04-1.99 (2H, m).

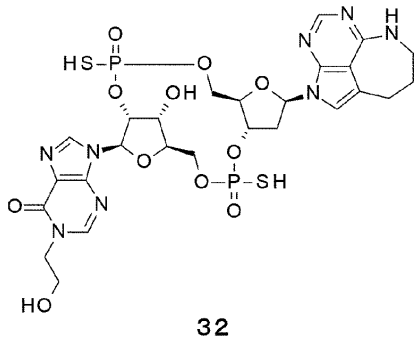
³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 63.1 (s), 60.3 (s).

[2503]

[2504] 실시예 42 : CDN32 의 합성

[2505] (5R,7R,8R,12aR,14R,15aS,16R)-16-하이드록시-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-비스(술팜닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

[2506] [화학식 176]

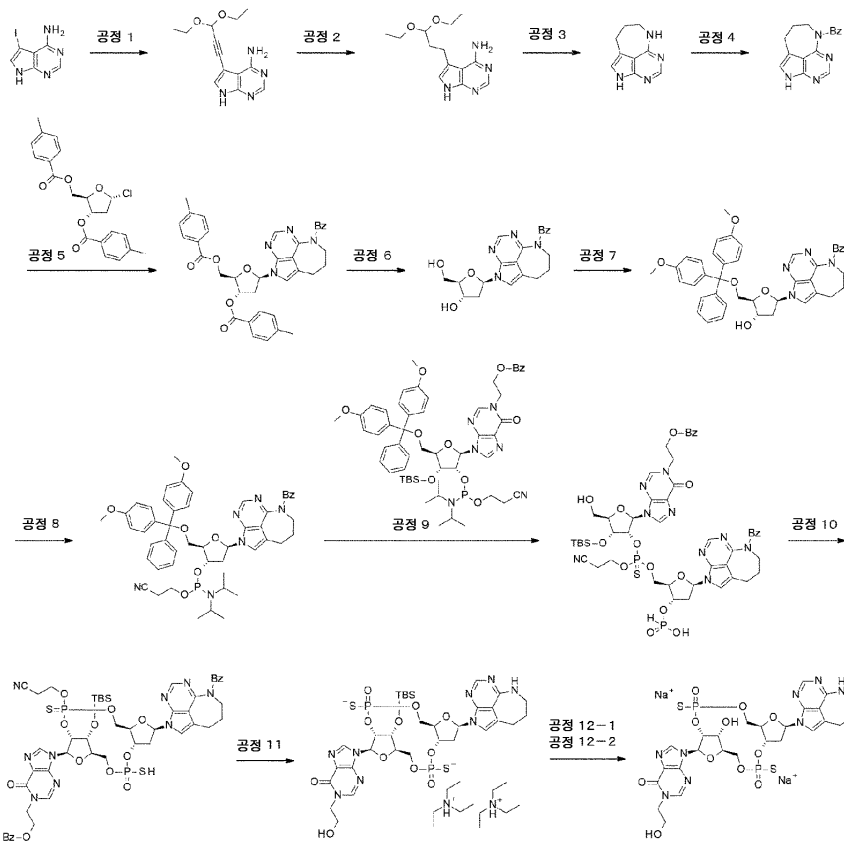


32a (디아스테레오머 1)
32b (디아스테레오머 2)

[2507]

[2508] [합성 스킴]

[2509] [화학식 177]



[2510]

[2511] (공정 1)

[2512] 5-(3,3-디에톡시프로파-1-인-1-일)-7H-피콜로[2,3-d]피리미딘-4-아민

[2513] 시판 (PharmaBlock) 되는 5-요오드-7H-피콜로[2,3-d]피리미딘-4-아민 (22 g) 의 N,N-디메틸포르미아미드 (70 ml) 용액에, 요오드화구리 (1.61 g), 비스(트리페닐포스핀)팔라듐디클로라이드 (5.94 g), 및 트리에틸아민 (35 ml) 을 첨가하였다. 프로파르길알데히드디에틸아세탈 (22 ml) 을 2 시간 걸쳐 첨가하고, 실온에서 밤새 교반하였다. 반응액에 클로로포름 (350 ml) 을 첨가하고, 물로 2 회 세정하였다. 유기층을 황산마그네슘으로 건조 후, 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물에 아세트산에틸 (350 ml) 을 첨가하고, 밤새 교반하였다. 석출한 고체를 여과 채취하고, 표제 화합물 (9.60 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 261 (M+H)⁺.

¹H-NMR (DMSO-d₆) 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 = 7.3 Hz).

[2514]

(공정 2)

[2515]

5-(3,3-디에톡시프로필)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-아민

[2516]

상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (17.9 g) 의 테트라하이드로푸란 (160 ml) - 에탄올 (80 ml) 혼합 용액에, 10 % 팔라듐탄소 (M) wet (25.0 g) 를 첨가하고, 수소 분위기하, 실온에서 밤새 교반하였다. 촉매를 셀라이트 로 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하고, 표제 화합물 (17.0 g) 의 미정제체를 얻었다.

[2517]

MS(ESI) m/z : 265(M+H)⁺.

[2518]

(공정 3)

[2519]

6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌

[2520]

상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (50.21 g) 을 90 % 아세트산 수용액 (344 ml) 에 용해하고, 50 °C 에서 밤새 교반하였다. 원료의 소실을 확인 후, 반응액에 팔라듐탄소 (M) wet (60 g) 를 첨가하고, 수소 분위기하, 40 °C 에서 밤새 교반하였다. 촉매를 셀라이트로 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물에 포화 탄산수소나트륨 수용액 (350 ml) 을 첨가하고, 클로로포름/메탄올 (9 : 1) 로 7 회 추출하였다. 유기층 을 감압 농축 후, 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [클로로포름/메탄올] 로 정제하고, 표제 화합물 (18.47 g) 을 얻었다.

[2521]

MS (ESI) m/z : 175 (M+H)⁺.

¹H-NMR (DMSO-d₆) 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 = 5.4 Hz), 1.88 (

2H, m).

[2522]

(공정 4)

[2523]

페닐(2,7,8,9-테트라하이드로-6H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-6-일)메탄논

[2524]

상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (8.47 g) 의 디클로로메탄 (120 ml) 현탁액에, 탈수 피리딘 (39.2 ml), N,N-디 메틸아미노피리딘 (2.38 g), 및 염화벤조일 (22.6 ml) 을 차례로 첨가하고, 실온에서 1 시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축 후, 잔류물에 클로로포름 (150 ml), 메탄올 (60 ml), 및 트리에틸아민 (50 ml) 을 첨가하고, 실온에서 3 시간 교반하였다. 반응액을 클로로포름과 물의 2 층에 따르고, 클로로포름으로 추출 하였다. 유기층을 25 w/v% 황산수소칼륨 수용액으로 2 회 세정하고, 무수 황산마그네슘으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물에 아세트산에틸 (50 ml) 과 헥산 (125 ml) 을 차례로 첨가하여 슬러리상으로 한 후, 1 시간 교반하였다. 석출한 고체를 여과 채취하고, 표제 화합물 (9.89 g) 을 얻었다.

[2525]

MS (ESI) m/z : 279 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 10.07 (1H, brs), 8.11 (1

H, s), 7.39-7.21 (5H, m), 7.12 (1H, s), 4.

32 (2H, m), 3.06 (2H, m), 2.26 (2H, m).

[2526]

- [2527] (공정 5)
- [2528] 6-벤조일-2-[2-데옥시-3,5-비스-0-(4-메틸벤조일)-β-D-에리트로-펜토피라노실]-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌
- [2529] 상기 공정 4 에서 얻어진 화합물 (7.10 g) 의 아세트니트릴 (80 ml) 현탁액에, 질소 분위기하, 분말상의 수산화 칼륨 (2.9 g) 과 트리스[2-(2-메톡시에톡시)에틸]아민 (0.41 ml) 을 첨가하고, 실온에서 15 분간 교반하였다. 병행하, 이미 알려진 문헌 (Synlett 2004 (2) : 335-337) 의 2-데옥시-3,5-비스-0-(4-메틸벤조일)-α-D-에리트로-펜토피라노실클로라이드 (10.12 g) 와 아세트니트릴 (60 ml) 을 첨가하고, 실온까지 승온하고, 밤새 교반하였다. 반응액에 포화 염화암모늄 수용액을 첨가하여 반응을 정지시켰다. 석출한 고체를 여과 채취한 후, 물로 세정하고, 표제 화합물 (9.70 g) 을 얻었다.
- MS (ESI) m/z : 631 (M+H) ⁺.
- ¹H-NMR (CDCl₃) 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, 5.4 Hz), 5.76 (1H, m), 4.77 (1H, dd, J=11.8, 3.9 Hz), 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, 8.5 Hz), 2.44 (6H, s), 2.19 (2H, m).
- [2530]
- [2531] (공정 6)
- [2532] 6-벤조일-2-(2-데옥시-β-D-에리트로-펜토피라노실)-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌
- [2533] 상기 공정 5 에서 얻어진 화합물 (8.69 g) 의 메탄올 (45 ml) - 테트라하이드로푸란 (135 ml) 혼합 용액에, -10 °C 에서 2 규정 수산화나트륨 수용액 (27.6 ml) 을 20 분간 걸쳐 적하하였다. 동 온도에서 2 시간 교반 후, 1 규정 염산 (58 ml) 을 첨가하여 반응을 정지시켰다. 반응액을 감압 농축 후, 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [클로로포름/메탄올] 로 정제하고, 표제 화합물 (4.09 g) 을 얻었다.
- MS (ESI) m/z : 395 (M+H) ⁺.
- ¹H-NMR (CDCl₃) δ : 8.04 (1H, s), 7.39-7.23 (5H, m), 7.05 (1H, s), 6.27 (1H, dd, J=9.7, 5.4 Hz), 6.00 (1H, d, J=10.9 Hz), 4.77 (1H, d, J=4.8 Hz), 4.41 (1H, dd, J=14.5, 7.9 Hz), 4.19 (1H, s), 4.15 (1H, dd, J=14.5, 7.9 Hz), 3.94 (1H, d, J=12.7 Hz), 3.74 (1H, m), 3.16-2.95 (3H, m), 2.30-2.14 (3H, m), 1.96 (1H, s).
- [2534]
- [2535] (공정 7)
- [2536] 6-벤조일-2-{5-0-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2-데옥시-β-D-에리트로-펜토피라노실}-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌
- [2537] 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (4.55 g) 을 사용하여, 실시예 11 공정 1 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (6.38 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 697 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 8.08 (1H, s), 7.43 (2H, d, J=7.9 Hz), 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, 3.9 Hz), 3.38 (1H, dd, J=10.3, 4.8 Hz), 2.85 (2H, t, J=6.3 Hz), 2.66 (1H, m), 2.47 (1H, ddd, J=4.1, 6.5, 13.9 Hz), 2.18 (2H, m).

[2538]

(관측 가능한 피크만 기재)

[2539]

(공정 8)

[2540]

6-벤조일-2-(5-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3-O-((2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스파닐)-2-데옥시- β -D-에리트로-펜토피라노실)-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌

[2541]

상기 공정 7 에서 얻어진 화합물 (6.37 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 6 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (6.05 g) 을 디아스테레오머 혼합물 (디아스테레오머비 = 1 : 1) 로서 얻었다.

[2542]

¹H-NMR (CDCl₃) 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, 3.8 Hz), 3.38-3.30 (1H, m), 2.81 (2H, t, J=6.3 Hz), 2.74-2.66 (1H, m), 2.63-2.49 (1H, m), 2.62 (1H, t, J=6.0 Hz), 2.45 (1H, t, J=6.3 Hz), 2.21-2.14 (2H, m), 1.20-1.17 (9H, m), 1.11 (3H, d, J=6.7 Hz).

[2543]

(공정 9)

[2544]

상기 공정 8 에서 얻어진 화합물 (868 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 7 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 6-벤조일-2-{2-데옥시-3-O-[하이드록시(옥소)- λ^5 -포스파닐]- β -D-에리트로-펜토피라노실}-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌의 아세토니트릴 용액을 얻었다. 이 아세토니트릴 용액과 실시예 22 공정 3 에서 얻어진 화합물 (1.00 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 8 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 얻어진 미정제 생성물을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.

[2545]

(공정 10)

[2546]

2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15aS,16R)-14-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)-16-{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-10-(2-시아노에톡시)-2-옥소-2-술폰닐-10-술폰닐리덴옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-6-옥소-6,9-디하이드로-1H-푸린-1-일}에틸 벤조에이트

[2547]

상기 공정 9 에서 얻어진 미정제 생성물을 사용하여, 실시예 1 공정 9 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표

[2548]

제 화합물 (702 mg) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.

- [2549] MS(ESI) m/z : 1134(M+H)⁺.
- [2550] (공정 11)
- [2551] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15aS,16R)-16-{{tert-부틸(디메틸)실릴}옥시}-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [2552] 상기 공정 10 에서 얻어진 화합물 (702 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 10 과 동일한 수법을 이용하여 반응을 실시하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (119 mg : 불순물 함유) 과 디아스테레오머 2 (113 mg : 불순물 함유) 를 얻었다.
- [2553] 디아스테레오머 1 (저극성)
- [2554] MS(ESI) m/z : 873(M+H)⁺.
- [2555] 디아스테레오머 2 (고극성)
- [2556] MS(ESI) m/z : 873(M+H)⁺.
- [2557] (공정 12-1)
- [2558] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15aS,16R)-16-하이드록시-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [2559] (디아스테레오머 1)
- [2560] 상기 공정 11 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (119 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.
- [2561] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴] 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴, 아세트오니트릴 : 5 % - 30 % (0 분 - 40 분)].
- [2562] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (51.8 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 759 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.69 (1H, s), 8.24 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.09 (1H, s), 6.68 (1H, t, J=7.0 Hz), 6.29 (1H, d, J=8.5 Hz), 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=4.8 Hz), 3.52-3.47 (2H, m), 2.91-2.69 (4H, m), 2.04-1.96 (2H, m).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 57.3 (s), 54.9 (s).

[2563]

[2564] (공정 12-2)

[2565] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15aS,16R)-16-하이드록시-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[2566] (디아스테레오머 2)

[2567] 상기 공정 11 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (113 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로 서 얻었다.

[2568] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴] 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 5 % - 25 % (0 분 - 40 분)].

[2569] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (65.4 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 759 (M+H) ⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.78 (1H, s), 8.24 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.08 (1H, s), 6.73 (1H, dd, J=9.1, 5.4 Hz), 6.29 (1H, d, J=8.5 Hz), 5.59-5.52 (1H, m), 5.45-5.37 (1H, m), 4.45 (1H, d, J=4.2 Hz), 4.40-4.16 (6H, m), 4.01 (1H, d, J=12.7 Hz), 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).

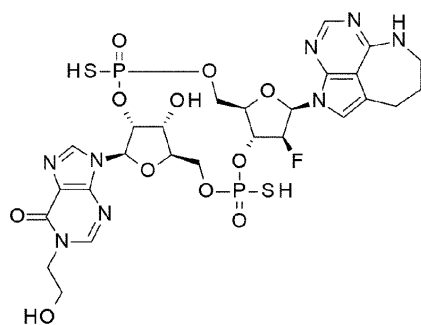
³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 63.1 (s), 57.3 (s).

[2570]

[2571] 실시예 43 : CDN33 의 합성

[2572] (5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16R)-15-플루오로-16-하이드록시-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-비스(술폰닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

[2573] [화학식 178]

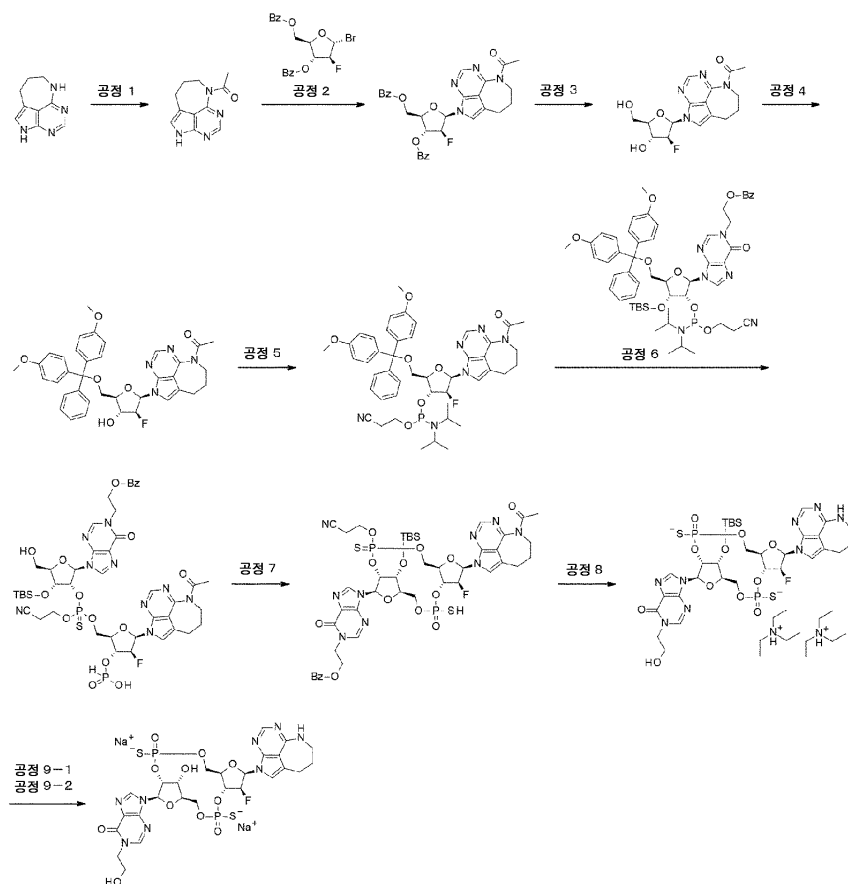


33
33a (디아스테레오머 1)
33b (디아스테레오머 2)

[2574]

[2575] [합성 스킴]

[2576] [화학식 179]



[2577]

[2578] (공정 1)

[2579] 1-(2,7,8,9-테트라하이드로-6H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-6-일)에탄-1-온

[2580] 실시예 42 공정 3 에서 얻어진 화합물 (6.88 g) 을 무수 아세트산 (48 ml) 에 용해하고, 90 °C 에서 교반하였다. 반응액을 감압 농축하고, 잔류물을 클로로포름 (100 ml) - 메탄올 (50 ml) - 트리에틸아민 (30 ml) 의 혼합액에 용해하였다. 실온에서 4 시간 교반 후, 반응액을 클로로포름과 물의 2 층에 따르고, 클로로포름으로 추출하였다. 유기층을 황산마그네슘으로 건조 후, 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물에 헥산/아세트산에틸 (1 : 2) 을 첨가하여 슬러리상으로 한 후, 고체를 여과 채취하고, 표제 화합물 (7.18 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 217 (M+H) ⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.47 (1H, s), 7.21 (1H, s), 4.11 (2H, d, J=8.5 Hz), 2.97 (2H, t, J=6.3 Hz), 2.46 (3H, s), 2.06 (2H, m).

[2581]

[2582] (공정 2)

[2583] 6-아세틸-2-(3,5-디-O-벤조일-2-데옥시-2-플루오로-β-D-아라비노푸라노실)-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌

[2584] 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (6.00 g) 과 시판 (CARBOSYNTH) 되는 [(2R,3R,4S,5R)-3-벤조일옥시-5-브로모-4-플루오로-테트라하이드로푸란-2-일]메틸벤조에이트 (14.1 g) 를 사용하여, 실시예 42 공정 5 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (11.45 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 559 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 8.58 (1H, s), 8.12 (4H, t, J=7.3 Hz), 7.69-7.44 (6H, m), 7.28 (1H, d, J=2.4 Hz), 6.92 (1H, dd, J=23.3, 2.7 Hz), 5.77 (1H, dd, J=17.5, 3.0 Hz), 5.34 (1H, dd, J=50.2, 3.0 Hz), 4.83 (2H, dd, J=11.8, 4.5 Hz), 4.76 (2H, dd, J=11.8, 5.1 Hz), 4.56 (1H, m), 4.14 (2H, m), 2.90 (2H, t, J=6.7 Hz), 2.07 (3H, s).

[2585]

[2586]

(공정 3)

[2587]

6-아세틸-2-(2-데옥시-2-플루오로- β -D-아라비노퓨라노실)-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌

[2588]

상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (8.70 g) 의 메탄올 (58 ml) - 테트라하이드로푸란 (117 ml) 혼합 용액에, -20 °C 에서 2 규정 수산화나트륨 수용액 (32 ml) 을 12 분간 걸쳐 적하하였다. 동 온도에서 3 시간 교반 후, 1 규정 염산 (66 ml) 을 첨가하여 반응을 정지시켰다. 반응액을 감압 농축 후, 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [클로로포름/메탄올] 로 정제하고, 표제 화합물 (3.27 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 351 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 8.54 (1H, s), 7.20 (1H, d, J=1.8 Hz), 6.68 (1H, dd, J=17.5, 4.2 Hz), 5.16 (1H, ddd, J=52.0, 2.4, 1.2 Hz), 4.75 (1H, ddd, J=19.2, 2.6, 1.3 Hz), 4.16 (1H, m), 4.08 (2H, m), 3.99 (1H, dd, J=12.1, 3.6 Hz), 3.92 (1H, dd, J=12.1, 4.2 Hz), 2.93 (2H, m), 2.52 (3H, s), 2.07 (2H, m).

[2589]

[2590]

(관측 가능한 피크만 기재)

[2591]

(공정 4)

[2592]

6-아세틸-2-{5-0-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2-데옥시-2-플루오로- β -D-아라비노퓨라노실}-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌

[2593]

상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (3.95 g) 을 사용하여, 실시예 11 공정 1 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (5.66 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 653 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 8.56 (1H, s), 7.50-7.20 (10H, m), 6.85-6.78 (5H, m), 5.07 (1H, dt, J=51.8, 3.2 Hz), 4.59 (1H, brd, J=18.1 Hz), 4.21-4.02 (3H, m), 3.80 (3H, s), 3.79 (3H, s), 3.50 (1H, dd, J=10.3, 5.4 Hz), 3.44 (1H, dd, J=10.0, 5.1 Hz), 2.88 (2H, m), 2.54 (3H, s), 2.42 (1H, brs), 2.07 (2H, m).

[2594]

[2595] (공정 5)

[2596] 6-아세틸-2-(5-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3-O-((2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스파닐)-2-데옥시-2-플루오로- β -D-아라비노퓨라노실)-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌

[2597] 상기 공정 4 에서 얻어진 화합물 (5.68 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 6 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (5.08 g) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물 (디아스테레오머비 = 1 : 1) 로서 얻었다.

MS (ESI) m/z : 853 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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), 3.69-3.55 (3H, m), 3.49-3.37 (2H, m), 2.95-2.80 (2H, m), 2.61 (1H, t, J=6.3 Hz), 2.54 (3H, s), 2.43 (1H, t, J=6.7 Hz), 2.11-2.03 (2H, m), 1.21-1.17 (9H, m), 1.11 (3H, d, J=7.3 Hz).

[2598]

[2599] (공정 6)

[2600] 상기 공정 5 에서 얻어진 화합물 (1.00 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 7 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 6-아세틸-2-{2-데옥시-2-플루오로-3-O-[하이드록시(옥소)- λ^5 -포스파닐]- β -D-아라비노퓨라노실}-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌의 아세토니트릴 용액을 얻었다. 이 아세토니트릴 용액과 실시예 22 공정 3 에서 얻어진 화합물 (1.21 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 8 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 얻어진 미정제 생성물을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.

[2601] (공정 7)

[2602] 2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(6-아세틸-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)-16-[[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시]-10-(2-시아노에톡시)-15-플루오로-2-옥소-2-술폰닐-10-술폰닐리덴옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-6-옥소-6,9-디하이드로-1H-푸린-1-일}에틸 벤조에이트

[2603] 상기 공정 6 에서 얻어진 미정제 생성물을 사용하여, 실시예 1 공정 9 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표

제 화합물 (757 mg) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.

- [2604] MS(ESI) m/z : 1090(M+H)⁺.
- [2605] (공정 8)
- [2606] 비스(N,N-디에틸에탄아민) (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15S, 15aR, 16R)-16-{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-15-플루오로-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [2607] 상기 공정 7 에서 얻어진 화합물 (757 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 10 과 동일한 수법을 이용하여 반응을 실시하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (113 mg : 불순물 함유) 과 디아스테레오머 2 (108 mg : 불순물 함유) 를 얻었다.
- [2608] 디아스테레오머 1 (저극성)
- [2609] MS(ESI) m/z : 891(M+H)⁺.
- [2610] 디아스테레오머 2 (고극성)
- [2611] MS(ESI) m/z : 891(M+H)⁺.
- [2612] (공정 9-1)
- [2613] 디나트륨 (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15S, 15aR, 16R)-15-플루오로-16-하이드록시-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [2614] (디아스테레오머 1)
- [2615] 상기 공정 8 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (113 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.
- [2616] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴] 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴, 아세트오니트릴 : 5 % - 30 % (0 분 - 30 분)].
- [2617] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (28.8 mg) 을 얻었다.
- MS (ESI) m/z : 777 (M+H)⁺.
- ¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.67 (1H, s), 8.24 (1H, s), 8.04 (1H, s), 7.05 (1H, s), 6.73 (1H, dd, J=23.9, 2.7 Hz), 6.28 (1H, d, J=8.5 Hz), 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=5.1 Hz), 3.50 (2H, t, J=5.1 Hz), 2.92-2.85 (2H, m), 2.06-1.97 (2H, m).
- [2618] ³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 57.8 (s), 54.7 (s).
- [2619] (공정 9-2)

[2620] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16R)-15-플루오로-16-하이드록시-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[2621] (디아스테레오머 2)

[2622] 상기 공정 8 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (108 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로 얻었다.

[2623] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴] 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 5 % - 20 % (0 분 - 30 분)].

[2624] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (3.2 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 777 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.76 (1H, s), 8.23 (1H, s), 8.04 (1H, s), 7.06 (1H, s), 6.73 (1H, dd, J=24.5, 2.1 Hz), 6.28 (1H, d, J=8.5 Hz), 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=5.6 Hz), 2.90 (2H, t, J=5.6 Hz), 2.08-1.96 (2H, m).

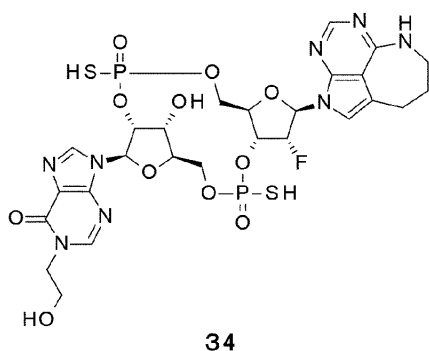
³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 63.0 (s), 57.8 (s).

[2625]

[2626] 실시예 44 : CDN34 의 합성

[2627] (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-플루오로-16-하이드록시-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-비스(술포닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

[2628] [화학식 180]

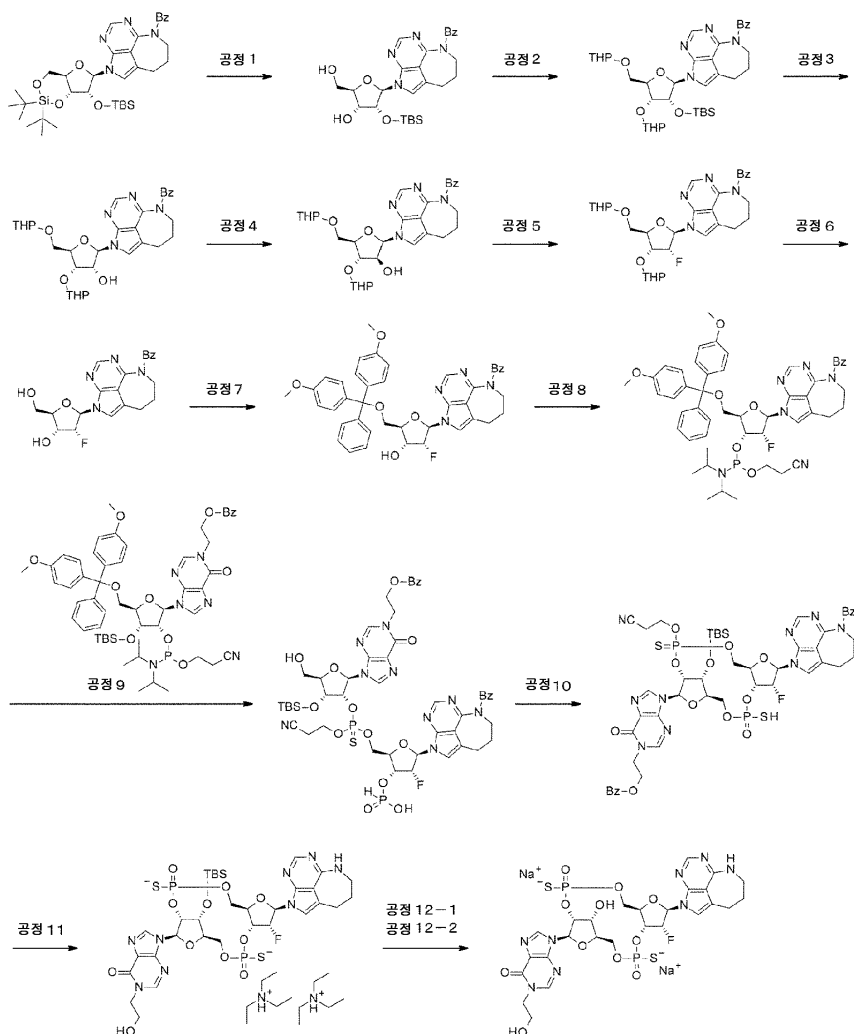


34
34a (디아스테레오머 1)
34b (디아스테레오머 2)

[2629]

[2630] [합성 스킴]

[2631] [화학식 181]



[2632]

[2633] (공정 1)

[2634] 6-벤조일-2-{2-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-β-D-리보푸라노실}-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌

[2635] 실시예 1 공정 4 에서 얻어진 화합물 (35.80 g) 의 디클로로메탄 (322 ml) - 피리딘 (35 ml) 혼합 용액에, 빙랭 하에서 불화수소-피리딘 (6.33 g) 의 디클로로메탄 (36 ml) 용액을 5 분간 걸쳐 첨가하고, 동 온도에서 3 시간 교반하였다. 반응액에 포화 탄산수소나트륨 수용액 (268 ml) 과 포화 식염수 (143 ml) 를 차례로 첨가하여 반응을 정지시키고, 아세트산에틸로 추출하였다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조 후, 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물에 헥산/아세트산에틸 (1 : 1) (108 ml) 을 첨가하여 슬러리를 상으로 한 후, 50 °C 에서 30 분간 교반하고, 헥산 (161 ml) 을 추가하여 2 시간 더 교반하였다. 석출한 고체를 여과 채취하고, 헥산/아세트산에틸 (4 : 1) (143 ml) 로 세정하고, 표제 화합물 (26.81 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 525 (M+H)⁺.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 7.98 (1H, s), 7.65 (1H, s), 7.39 (1H, m), 7.26-7.20 (4H, m), 6.19 (1H, d, J=6.5 Hz), 5.15 (1H, t, J=5.6 Hz), 5.00 (1H, d, J=4.8 Hz), 4.48 (1H, t, J=5.6 Hz), 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).

[2636]

[2637]

(공정 2)

[2638]

6-벤조일-2-{2-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3,5-비스-O-(옥산-2-일)- β -D-리보푸라노실]-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌

[2639]

상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (19.93 g) 과 3,4-디하이드로-2H-피란 (35 ml) 의 N,N-디메틸포르미아미드 (200 ml) 용액에, 빙랭하에서 p-톨루엔술폰산 1수화물 (7.25 g) 을 첨가하고, 실온에서 3 시간 교반하였다. 빙랭하에서 반응액에 포화 탄산수소나트륨 수용액을 첨가하여 반응을 정지시키고, 아세트산에틸로 추출하였다. 유기층을 물과 포화 식염수로 차례로 세정하고, 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (24.73 g) 을 얻었다.

¹H-NMR (CDCl₃) 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).

[2640]

[2641]

(공정 3)

[2642]

6-벤조일-2-[3,5-비스-O-(옥산-2-일)- β -D-리보푸라노실]-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌

[2643]

상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (24.73 g) 과 아세트산 (3.1 ml) 의 테트라하이드로푸란 (250 ml) 용액에, 빙랭하에서 불화테트라부틸암모늄의 테트라하이드로푸란 용액 (약 1 M, 55 ml) 을 첨가하고, 실온에서 밤새 교반하였다. 반응액을 감압 농축하고, 잔류물에 아세트산에틸을 첨가하고, 물과 포화 식염수로 차례로 세정하였다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조 후, 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (18.74 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 8.12–8.09 (1 H, m), 7.49–7.30 (4 H, m), 7.28–7.20 (2 H, m), 6.41–6.30 (1 H, m), 4.83–4.18 (7 H, m), 4.12–3.50 (7 H, m), 3.06–2.97 (2 H, m), 2.31–2.17 (2 H, m), 1.96–1.47 (12 H, m).

[2644]

(공정 4)

[2645]

6-벤조일-2-[3,5-비스-O-(옥산-2-일)- β -D-아라비노푸라노실]-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌

[2646]

[2647]

상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (18.74 g) 과 피리딘 (13.1 ml) 의 디클로로메탄 (300 ml) 용액에, 빙랭하에서 트리플루오로메탄술폰산 무수물 (11 ml) 을 적하하고 10 분간 교반하였다. 반응액에 포화 식염수를 첨가하여 반응을 정지시키고, 디클로로메탄으로 추출하고, 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 테트라하이드로푸란 (300 ml) 에 용해하고, 빙랭하에서 아질산테트라부틸암모늄 (28.34 g) 의 테트라하이드로푸란 (150 ml) 용액을 적하하고, 실온에서 밤새 교반하였다. 반응액을 감압 농축하고, 잔류물에 아세트산에틸을 첨가하고, 물과 포화 식염수로 차례로 세정하였다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조 후, 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (10.46 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 8.13–8.06 (1 H, m), 7.63–7.30 (4 H, m), 7.29–7.18 (2 H, m), 6.79–6.55 (1 H, m), 4.93–3.45 (14 H, m), 3.11–2.95 (2 H, m), 2.32–2.14 (2 H, m), 1.98–1.44 (12 H, m).

[2648]

(공정 5)

[2649]

6-벤조일-2-[2-데옥시-2-플루오로-3,5-비스-O-(옥산-2-일)- β -D-리보푸라노실]-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌

[2650]

[2651]

상기 공정 4 에서 얻어진 화합물 (10.46 g) 과 피리딘 (7.3 ml) 의 디클로로메탄 (200 ml) 용액에, 빙랭하에서 트리플루오로메탄술폰산 무수물 (6.1 ml) 을 적하하고 10 분간 교반하였다. 반응액에 포화 식염수를 첨가하여 반응을 정지시키고, 디클로로메탄으로 추출하고, 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 테트라하이드로푸란 (200 ml) 에 용해하고, 빙랭하에서 불화테트라부틸암모늄의 테트라하이드로푸란 용액 (약 1 M, 150 ml) 을 첨가하고, 동 온도에서 3 시간 교반하였다. 반응액에 포화 염화암모늄 수용액을 첨가하고, 아세트산에틸로 추출하였다. 유기층을 포화 식염수로 세정하고, 무수 황산나트륨으로 건조 후, 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (7.65 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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).

[2652]

[2653] (공정 6)

[2654] 6-벤조일-2-(2-데옥시-2-플루오로- β -D-리보푸라노실)-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌

[2655] 상기 공정 5 에서 얻어진 화합물 (7.65 g) 의 에탄올 (150 ml) 용액에, p-톨루엔술폰산피리디늄 (6.62 g) 을 첨가하고, 50 °C 에서 3 시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축하고, 잔류물에 아세트산에틸을 첨가하고, 포화 탄산수소나트륨 수용액과 포화 식염수로 차례로 세정하였다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조 후, 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (3.55 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, 4.7 Hz), 4.66 (1H, d, $J=3.9$ Hz), 4.42–4.31 (2H, m), 4.20 (1H, m), 3.93 (1H, dd, $J=12.9$, 1.6 Hz), 3.74 (1H, td, $J=12.3$, 1.6 Hz), 3.12–2.96 (2H, m), 2.51 (1H, s), 2.33–2.15 (2H, m).

[2656]

[2657] (공정 7)

[2658] 6-벤조일-2-{5-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2-데옥시-2-플루오로- β -D-리보푸라노실}-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌

[2659] 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (3.55 g) 을 사용하여, 실시예 11 공정 1 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (5.77 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=17.2$, 2.3 Hz), 5.40 (1H, ddd, $J=53.2$, 4.8, 2.3 Hz), 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, $J=11.0$, 2.7 Hz), 3.45 (1H, dd, $J=11.0$, 3.5 Hz), 2.79 (2H, t, $J=6.3$ Hz), 2.45 (1H, s), 2.24–2.11 (2H, m).

[2660]

- [2661] (공정 8)
- [2662] 6-벤조일-2-(5-0-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3-0-((2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스파닐)-2-데옥시-2-플루오로-β-D-리보퓨라노실)-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌
- [2663] 상기 공정 7 에서 얻어진 화합물 (5.77 g) 을 사용하여, 실시예 1 의 공정 6 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (5.95 g) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물 (디아스테레오머비 = 1 : 1) 로서 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=6.3, 1.6\text{ Hz}$), 2.40 (1H, td, $J=6.4, 2.1\text{ Hz}$), 2.21-2.12 (2H, m), 1.21-1.13 (9H, m), 1.03 (3H, d, $J=6.7\text{ Hz}$).

- [2664]
- [2665] (공정 9)
- [2666] 상기 공정 8 에서 얻어진 화합물 (1.02 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 7 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 6-벤조일-2-{2-데옥시-2-플루오로-3-0-[하이드록시(옥소)-λ⁵-포스파닐]-β-D-리보퓨라노실}-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌의 아세트니트릴 용액을 얻었다. 얻어진 아세트니트릴 용액과 실시예 22 공정 3 에서 얻어진 화합물 (1.15 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 8 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 얻어진 미정제 생성물을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.
- [2667] (공정 10)
- [2668] 2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)-16-{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-10-(2-시아노에톡시)-15-플루오로-2-옥소-2-술폰닐-10-술폰닐리덴옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-6-옥소-6,9-디하이드로-1H-푸린-1-일}에틸 벤조에이트
- [2669] 상기 공정 9 에서 얻어진 미정제 생성물을 사용하여, 실시예 1 공정 9 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (818 mg : 불순물 함유) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.

[2670] $\text{MS(ESI)}m/z$: 1152(M+H)⁺.

[2671] (공정 11)

[2672] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-16-{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-15-플루오로-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[2673] 상기 공정 10 에서 얻어진 화합물 (818 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 10 과 동일한 수법을 이용하여 반응을 실시하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (107 mg : 불순물 함유) 과 디아스테레오머 2 (101 mg : 불순물 함유) 를 얻었다.

[2674] 디아스테레오머 1 (저극성)

[2675] $\text{MS(ESI)}m/z$: 891(M+H)⁺.

- [2676] 디아스테레오머 2 (고극성)
- [2677] MS(ESI) m/z : 891(M+H)⁺.
- [2678] (공정 12-1)
- [2679] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-플루오로-16-하이드록시-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [2680] (디아스테레오머 1)
- [2681] 상기 공정 11 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (107 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로 서 얻었다.
- [2682] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴] 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 5 % - 30 % (0 분 - 30 분)].
- [2683] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (29.1 mg) 을 얻었다.
- MS (ESI) m/z : 777 (M+H)⁺.
- ¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.58 (1H, m), 8.11 (1H, m), 8.03 (1H, s), 7.11 (1H, s), 6.47 (1H, d, J=17.5 Hz), 6.26 (1H, d, J=8.5 Hz), 5.53-5.36 (2H, m), 5.29-5.17 (1H, m), 4.77 (1H, d, J=4.2 Hz), 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).
- ³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 57.5 (s), 53.0 (s).
- [2684]
- [2685] (공정 12-2)
- [2686] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-플루오로-16-하이드록시-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [2687] (디아스테레오머 2)
- [2688] 상기 공정 11 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (101 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로 서 얻었다.
- [2689] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴] 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 5 % - 20 % (0 분 - 30 분)].
- [2690] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을

실시하고, 표제 화합물 (11.2 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 777 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.61 (1H, m), 8.16 (1H, m), 8.02 (1H, m), 7.36 (1H, s), 6.49 (1H, dd, J=16.0, 2.1 Hz), 6.28 (1H, d, J=8.5 Hz), 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=5.1 Hz), 3.48 (2H, dd, J=6.7, 3.6 Hz), 2.90-2.72 (2H, m), 2.00-1.90 (2H, m).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 59.5 (s), 57.7 (s).

[2691]

[2692]

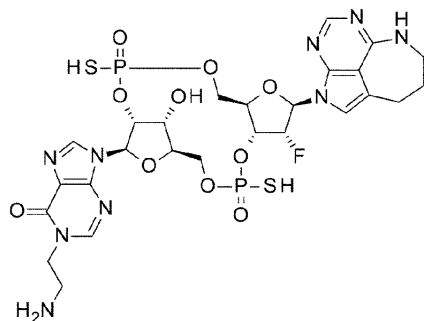
[2693]

실시예 45 : CDN35 의 합성

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-[1-(2-아미노에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-15-플루오로-16-하이드록시-2,10-비스(술폰닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

[2694]

[화학식 182]



35

35a (디아스테레오머 1)

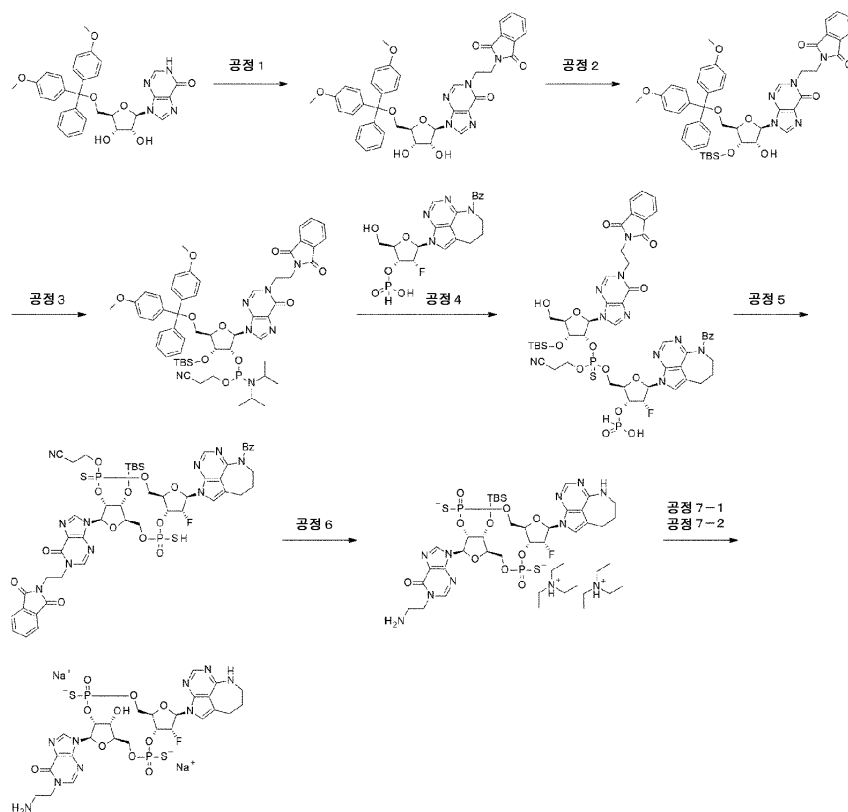
35b (디아스테레오머 2)

[2695]

[2696]

[합성 스킴]

[2697] [화학식 183]



[2698]

[2699] (공정 1)

[2700] 5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-1-[2-(1,3-디옥소-1,3-디하이드로-2H-이소인돌-2-일)에틸]이노신

[2701] 시판 (Aamdis Chemical) 되는 5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]이노신 (13.0 g) 의 N,N-디메틸아세트아미드 (60 ml) 현탁액에, N-(2-브로모에틸)프탈이미드 (7.02 g) 와 1,8-디아자비시클로[5.4.0]-7-운데센 (4.1 ml) 을 첨가하고, 실온에서 밤새 교반하였다. N-(2-브로모에틸)프탈이미드 (1.75 g) 와 1,8-디아자비시클로[5.4.0]-7-운데센 (1.1 ml) 을 추가하고, 1 일간 더 교반하였다. 반응액에 물을 첨가하여 반응을 정지시키고, 디클로로메탄으로 추출하였다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조 후, 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [아세트산에틸/메탄올] 로 정제하고, 표제 화합물 (12.4 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=5.1\text{ Hz}$), 5.68 (1H, d, $J=3.9\text{ Hz}$), 4.71 (1H, q, $J=4.8\text{ Hz}$), 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, $J=10.6, 3.9\text{ Hz}$), 3.32 (1H, dd, $J=11.0, 5.5\text{ Hz}$).

[2702]

[2703] (공정 2)

[2704] 5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-1-[2-(1,3-디옥소-1,3-디하이드로-2H-이

소인돌-2-일)에틸]이노신

[2705]

상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (12.4 g) 을 사용하여, 실시예 5 공정 3 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (4.18 g) 과 표제 화합물의 위치 이성체인 5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-1-[2-(1,3-디옥소-1,3-디하이드로-2H-이소인돌-2-일)에틸]이노신 (6.31 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=5.1\text{ Hz}$), 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, $J=10.6, 3.1\text{ Hz}$), 3.24 (1H, dd, $J=10.8, 4.1\text{ Hz}$), 2.98 (1H, d, $J=6.7\text{ Hz}$), 0.85 (9H, s), 0.04 (3H, s), -0.03 (3H, s).

[2706]

[2707]

위치 이성체 (2'-O-TBS 체)

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=7.8\text{ Hz}$), 5.91 (1H, d, $J=5.9\text{ Hz}$), 4.82 (1H, t, $J=5.5\text{ Hz}$), 4.43 (1H, m), 4.34–4.23 (3H, m), 4.18–4.08 (2H, m), 3.79 (6H, s), 3.46 (1H, dd, $J=10.6, 2.7\text{ Hz}$), 3.36 (1H, dd, $J=10.6, 3.5\text{ Hz}$), 2.70 (1H, d, $J=3.1\text{ Hz}$), 0.83 (9H, s), -0.04 (3H, s), -0.19 (3H, s).

[2708]

[2709]

(공정 3)

[2710]

5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-2'-O-((2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스파닐)-1-[2-(1,3-디옥소-1,3-디하이드로-2H-이소인돌-2-일)에틸]이노신

[2711]

상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (8.89 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 6 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (9.45 g) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물 (디아스테레오머비 = 1 : 1) 로서 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 8.01 (0.5 H, s), 8.00 (0.5 H, s), 7.82–7.77 (2 H, m), 7.74 (0.5 H, s), 7.72–7.67 (2.5 H, m), 7.42 (2 H, d, $J=7.8$ Hz), 7.33–7.18 (7 H, m), 6.81 (4 H, d, $J=8.6$ Hz), 6.10 (0.5 H, d, $J=5.5$ Hz), 6.04 (0.5 H, d, $J=5.1$ Hz), 4.75 (0.5 H, m), 4.60 (0.5 H, m), 4.49–4.41 (1 H, m), 4.38–4.23 (2 H, m), 4.22–4.05 (3 H, m), 3.79 (6 H, s), 3.78–3.65 (1 H, m), 3.62–3.39 (4 H, m), 3.33–3.23 (1 H, m), 2.49 (1 H, t, $J=6.3$ Hz), 2.34 (1 H, t, $J=6.7$ Hz), 1.12–1.08 (9 H, m), 0.91 (3 H, d, $J=7.0$ Hz), 0.82 (9 H, s), 0.06 (1.5 H, s), 0.03 (1.5 H, s), –0.03 (3 H, s).

[2712]

[2713] (공정 4)

[2714] 실시예 44 공정 8 에서 얻어진 화합물 (1.30 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 7 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 6-벤조일-2-{2-데옥시-2-플루오로-3-0-[하이드록시(옥소)- λ^5 -포스파닐]- β -D-리보퓨라노실}-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌의 아세트니트릴 용액을 얻었다. 얻어진 아세트니트릴 용액과 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (1.50 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 8 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 얻어진 미정제 생성물을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.

[2715] (공정 5)

[2716] 3-[[[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)-16-{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-7-{1-[2-(1,3-디옥소-1,3-디하이드로-2H-이소인돌-2-일)에틸]-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-15-플루오로-2-옥소-2-술파닐-10-술파닐리덴옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-10-일]옥시}프로판니트릴

[2717] 상기 공정 4 에서 얻어진 미정제 생성물을 사용하여, 실시예 1 공정 9 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (828 mg) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.

[2718] MS(ESI) m/z : 1177(M+H) $^+$.

[2719] (공정 6)

[2720] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-[1-(2-아미노에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-16-{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-15-플루오로-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[2721] 상기 공정 5 에서 얻어진 화합물 (828 mg) 의 에탄올 (5.0 ml) - 테트라하이드로푸란 (5.0 ml) 혼합 용액에, 하이드라진 1수화물 (0.342 ml) 을 첨가하고, 50 $^{\circ}\text{C}$ 에서 6 시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축 후, 잔류물을 C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴] 로 정제하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (90.9 mg : 불순물 함유) 과 디아스테레오머 2 (91.1 mg : 불순물 함유) 를 얻었다.

[2722] 디아스테레오머 1 (저극성)

- [2723] MS(ESI) m/z : 890(M+H)⁺.
- [2724] 디아스테레오머 2 (고극성)
- [2725] MS(ESI) m/z : 890(M+H)⁺.
- [2726] (공정 7-1)
- [2727] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-[1-(2-아미노에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-15-플루오로-16-하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [2728] (디아스테레오머 1)
- [2729] 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (90.9 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로 얻었다.
- [2730] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴] 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴 - 메탄올 용액 (1 : 1), 아세트니트릴 - 메탄올 용액 (1 : 1) : 10 % - 50 % (0 분 - 40 분)].
- [2731] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (20.2 mg) 을 얻었다.
- MS (ESI) m/z : 776 (M+H)⁺.
- ¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.54 (1H, s), 8.03 (1H, s), 7.99 (1H, s), 7.13 (1H, s), 6.44 (1H, d, J=18.1 Hz), 6.22 (1H, d, J=7.9 Hz), 5.56-5.38 (2H, m), 5.33-5.21 (1H, m), 4.72 (1H, d, J=4.2 Hz), 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).
- ³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 57.5 (s), 53.1 (s).
- [2732]
- [2733] (공정 7-2)
- [2734] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-[1-(2-아미노에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-15-플루오로-16-하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [2735] (디아스테레오머 2)
- [2736] 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (91.1 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로 얻었다.

[2737] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴] 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴 - 메탄올 용액 (1 : 1), 아세토니트릴 - 메탄올 용액 (1 : 1) : 10 % - 45 % (0 분 - 40 분)].

[2738] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (26.3 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 776 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.56 (1H, s), 8.08 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.37 (1H, s), 6.48 (1H, d, J=16.2 Hz), 6.23 (1H, d, J=7.9 Hz), 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).

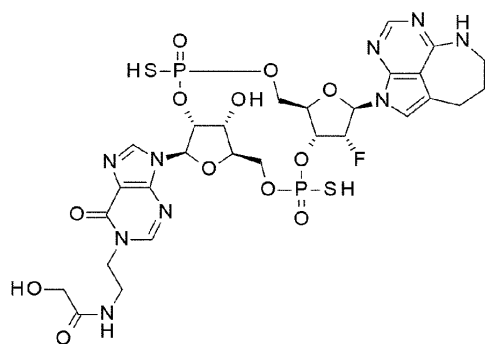
³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 59.0 (s), 57.6 (s).

[2739]

[2740] 실시예 46 : CDN36 의 합성

[2741] N-(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-플루오로-16-하이드록시-2,10-디옥소-2,10-비스(술포닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-6-옥소-6,9-디하이드로-1H-푸린-1-일}에틸)-2-하이드록시아세트아미드

[2742] [화합식 184]



36

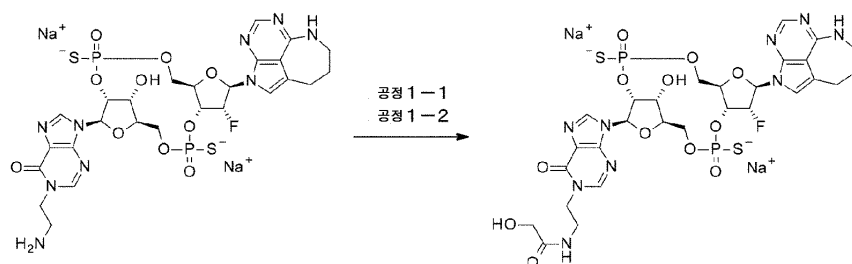
36a (디아스테레오머 1)

36b (디아스테레오머 2)

[2743]

[2744] [합성 스킴]

[2745] [화합식 185]



[2746]

- [2747] (공정 1-1)
- [2748] 디나트륨 (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,16R)-16-플루오로-15-하이드록시-7-{1-[2-(2-하이드록시아세트아미드)에틸]-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일}-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [2749] (디아스테레오머 1)
- [2750] 실시예 45 공정 7-1 에서 얻어진 화합물 (15.0 mg) 을 사용하여, 실시예 7 공정 1-1 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.
- [2751] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴] 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴 - 메탄올 용액 (1 : 1), 아세트니트릴 - 메탄올 용액 (1 : 1) : 10 % - 45 % (0 분 - 40 분)].
- [2752] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (10.3 mg) 을 얻었다.
- MS (ESI) m/z : 834 (M+H)⁺.
- ¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.46 (1H, brm), 8.04 (1H, s), 7.82 (1H, brm), 7.15 (1H, brm), 6.43 (1H, d, J=16.9 Hz), 6.17 (1H, dd, J=9.1, 4.5 Hz), 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).
- ³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 57.0 (s), 53.0 (s).
- [2753]
- [2754] (공정 1-2)
- [2755] 디나트륨 (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,16R)-16-플루오로-15-하이드록시-7-{1-[2-(2-하이드록시아세트아미드)에틸]-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일}-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [2756] (디아스테레오머 2)
- [2757] 실시예 45 공정 7-2 에서 얻어진 화합물 (15.0 mg) 을 사용하여, 실시예 7 공정 1-1 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.
- [2758] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴] 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴 - 메탄올 용액 (1 : 1), 아세트니트릴 - 메탄올 용액 (1 : 1) : 10 % - 45 % (0 분 - 40 분)].
- [2759] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (10.6 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 834 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.54 (1H, brs), 8.03 (1H, s), 7.97 (1H, brs), 7.35 (1H, brs), 6.48 (1H, d, J=15.7 Hz), 6.23 (1H, d, J=8.5 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 59.1 (s), 57.5 (s).

[2760]

[2761]

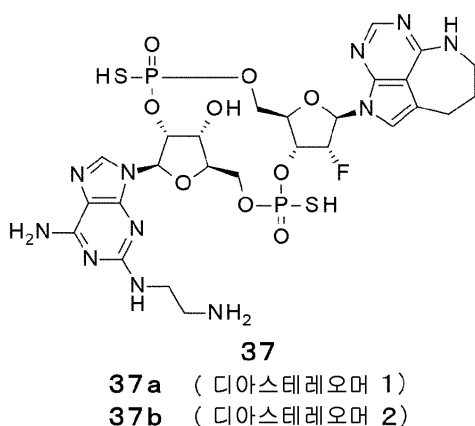
실시예 47 : CDN37 의 합성

[2762]

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{6-아미노-2-[(2-아미노에틸)아미노]-9H-푸린-9-일}-15-플루오로-16-하이드록시-2,10-비스(술폰닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아졸렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스포시클로테트라데신-2,10-디온

[2763]

[화학식 186]

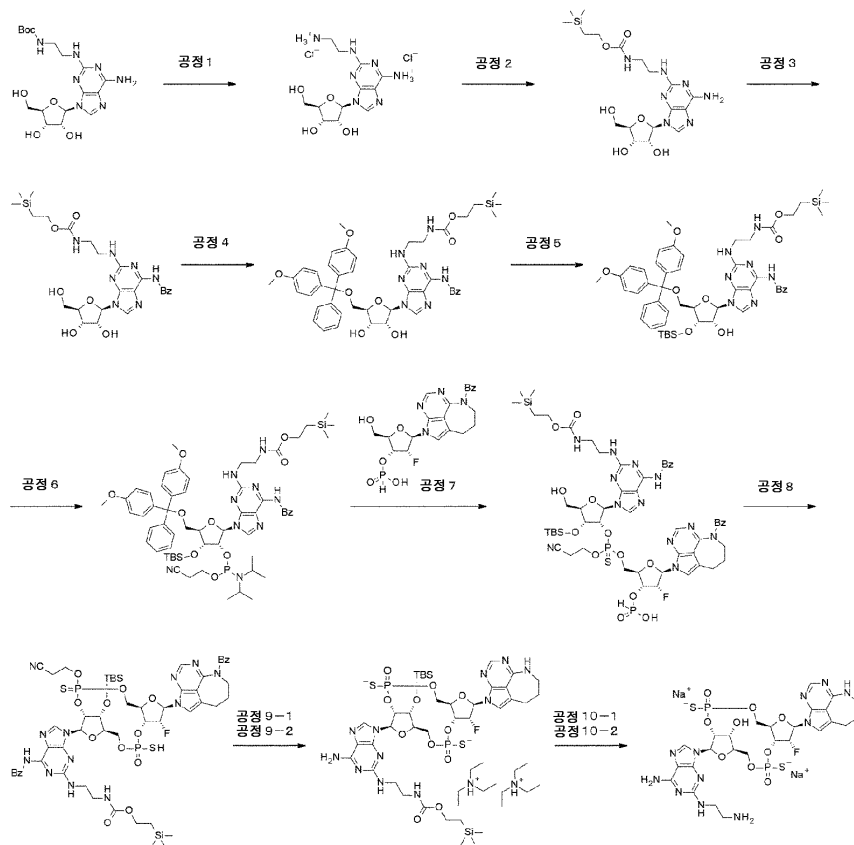


[2764]

[2765]

[합성 스킴]

[2766] [화학식 187]



[2767]

[2768] (공정 1)

[2769] 2-[(2-아자니우밀에틸)아미노]아데노신 디클로라이드

[2770] 이미 알려진 문헌 (W02012/159072) 의 2-({2-[(tert-부톡시카르보닐)아미노]에틸}아미노)아데노신 (28.7 g) 의 메탄올 (240 ml) 용액에, 염화수소의 디옥산 용액 (약 4 M, 240 ml) 을 첨가하고, 실온에서 밤새 교반하였다.

반응액을 50 ml 정도까지 감압 농축 후, 석출한 고체를 디에틸에테르로 현탁시켜 여과 채취하고, 표제 화합물 (28.8 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ : 8.32 (1H, s), 5.98 (1H, d, $J=6.0\text{ Hz}$), 4.51 (1H, t, $J=5.4\text{ Hz}$), 4.30 (1H, dd, $J=5.1, 3.3\text{ Hz}$), 4.14-4.11 (1H, m), 3.86-3.72 (4H, m), 3.23 (2H, t, $J=6.0\text{ Hz}$) .

[2771]

[2772] (공정 2)

[2773] 2-[[2-({2-(트리메틸실릴)에톡시}카르보닐)아미노]에틸]아미노]아데노신

[2774] 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (28.8 g) 의 테트라하이드로푸란 (330 ml) - 물 (70 ml) 혼합액에 트리에틸아민 (37 ml) 과 1-({2-(트리메틸실릴)에톡시}카르보닐)옥시)피롤리딘-2,5-디온 (18.4 g) 을 첨가하고, 실온에서 3 시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축하고, 톨루엔으로 공비하였다. 잔류물을 톨루엔에 현탁시키고, 고체를 여과 채취하였다. 얻어진 고체를 디클로로메탄과 메탄올에 용해시키고, 감압 농축하였다. 잔류물에 테트라하이드로푸란을 첨가하고, 석출한 고체를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 디클로로메탄과 메탄올에 용해시키고, 감압 농축하였다. 석출한 고체를 디클로로메탄에 현탁시켜 여과 채취하고, 표제 화합물 (22.5 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ : 7.92 (1H, s), 5.83 (1H, d, $J=6.0\text{ Hz}$), 4.77 (1H, t, $J=5.4\text{ Hz}$), 4.33 (1H, dd, $J=4.8, 3.0\text{ Hz}$), 4.14–4.10 (3H, m), 3.87 (1H, dd, $J=12.4, 2.7\text{ Hz}$), 3.73 (1H, dd, $J=12.1, 3.0\text{ Hz}$), 3.50–3.42 (2H, m), 3.32–3.29 (2H, m), 0.98–0.86 (2H, m), 0.03 (9H, s).

[2775]

(공정 3)

[2776]

N-벤조일-2-([2-([2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐)아미노]에틸)아미노}아데노신

[2777]

상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (24.7 g) 을 사용하여, 실시예 11 공정 3 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (22.1 g) 을 얻었다.

[2778]

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ : 8.19 (1H, s), 8.05 (2H, d, $J=7.9\text{ Hz}$), 7.63 (1H, t, $J=7.6\text{ Hz}$), 7.54 (2H, t, $J=7.6\text{ Hz}$), 5.95 (1H, d, $J=5.4\text{ Hz}$), 4.75 (1H, t, $J=5.4\text{ Hz}$), 4.36 (1H, t, $J=4.5\text{ Hz}$), 4.11–4.07 (3H, m), 3.86 (1H, dd, $J=12.4, 3.3\text{ Hz}$), 3.75 (1H, dd, $J=12.1, 3.6\text{ Hz}$), 3.59–3.47 (2H, m), 3.36–3.33 (2H, m), 0.92 (2H, t, $J=8.2\text{ Hz}$), 0.00 (9H, s).

[2779]

(공정 4)

[2780]

N-벤조일-5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2-([2-([2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐)아미노]에틸)아미노}아데노신

[2781]

상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (22.1 g) 을 사용하여, 실시예 11 공정 1 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (29.5 g) 을 얻었다.

[2782]

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) 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, $J=7.6\text{ Hz}$), 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, $J=4.8\text{ Hz}$), 5.53 (1H, d, $J=5.4\text{ Hz}$), 5.20 (1H, d, $J=5.4\text{ Hz}$), 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, $J=8.5\text{ Hz}$), 0.00 (9H, s).

[2783]

(공정 5)

[2784]

- [2785] N-벤조일-5'-0-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-0-[tert-부틸(디메틸)실릴]-2-{[2-({[2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐}아미노)에틸]아미노}아데노신
- [2786] 상기 공정 4 에서 얻어진 화합물 (29.5 g) 을 사용하여, 실시예 5 공정 3 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (6.85 g) 을 얻었다.
- $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$, 90°C) δ : 10.3 (1H, brs), 8.02 (1H, s), 7.99 (2H, d, $J=7.3\text{ Hz}$), 7.60 (1H, t, $J=7.3\text{ Hz}$), 7.51 (2H, t, $J=7.6\text{ Hz}$), 7.37 (2H, d, $J=7.3\text{ Hz}$), 7.28-7.20 (7H, m), 6.85-6.82 (4H, m), 6.69-6.53 (2H, m), 5.86 (1H, d, $J=5.4\text{ Hz}$), 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, $J=7.9\text{ Hz}$), 0.86 (9H, s), 0.09 (3H, s), 0.04 (3H, s), 0.01 (9H, s).
- [2787] .
- [2788] (공정 6)
- [2789] N-벤조일-5'-0-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-0-[tert-부틸(디메틸)실릴]-2'-0-{(2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스파닐}-2-{[2-({[2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐}아미노)에틸]아미노}아데노신
- [2790] 상기 공정 5 에서 얻어진 화합물 (6.22 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 6 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (6.18 g) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물 (디아스테레오머비 = 1 : 1) 로서 얻었다.
- $^1\text{H-NMR}$ (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, $J=7.0\text{ Hz}$), 7.51 (2H, t, $J=7.6\text{ Hz}$), 7.43 (2H, d, $J=7.3\text{ Hz}$), 7.33-7.20 (7H, m), 6.81 (4H, d, $J=8.5\text{ Hz}$), 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, s, $J=6.3\text{ Hz}$), 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).
- [2791] .
- [2792] (공정 7)
- [2793] 실시예 44 공정 8 에서 얻어진 화합물 (1.03 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 7 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 6-벤조일-2-{2-데옥시-2-플루오로-3-0-[하이드록시(옥소)- λ^5 -포스파닐]- β -D-리보퓨라노실}-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌의 아세트니트릴 용액을 얻었다. 얻어진 아세트니트릴 용액과 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (999 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 8 과 동일한 수법으로 반응을 실

시하고, 얻어진 미정제 생성물을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.

- [2794] (공정 8)
- [2795] 2-(트리메틸실릴)에틸 [2-(6-벤즈아미드-9-[(5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-14-(6-벤조일-6, 7, 8, 9-테트라하이드로-2H-2, 3, 5, 6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)-16-{{tert-부틸(디메틸)실릴}옥시}-10-(2-시아노에톡시)-15-플루오로-2-옥소-2-술폰-10-술폰리덴옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5, 8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3, 2-1][1, 3, 6, 9, 11, 2, 10]펜타옥사디포스포시클로테트라데신-7-일]-9H-푸린-2-일}아미노)에틸]카르바메이트
- [2796] 상기 공정 7 에서 얻어진 혼합물을 사용하여, 실시예 1 공정 9 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (370 mg : 불순물 함유) 과 디아스테레오머 2 (201 mg : 불순물 함유) 를 얻었다.
- [2797] 디아스테레오머 1 (저극성)
- [2798] MS(ESI)m/z : 1307(M-H)⁻.
- [2799] 디아스테레오머 2 (고극성)
- [2800] MS(ESI)m/z : 1307(M-H)⁻.
- [2801] (공정 9-1)
- [2802] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄)
(5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-7-(6-아미노-2-{{2-((2-(트리메틸실릴)에톡시)카르보닐)아미노)에틸}아미노}-9H-푸린-9-일)-16-{{tert-부틸(디메틸)실릴}옥시}-15-플루오로-2, 10-디옥소-14-(6, 7, 8, 9-테트라하이드로-2H-2, 3, 5, 6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5, 8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3, 2-1][1, 3, 6, 9, 11, 2, 10]펜타옥사디포스포시클로테트라데신-2, 10-비스(티올레이트)
- [2803] 상기 공정 8 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (370 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 10 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (134 mg : 불순물 함유) 을 얻었다.
- [2804] MS(ESI)m/z : 1048(M+H)⁺.
- [2805] (공정 9-2)
- [2806] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄)
(5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-7-(6-아미노-2-{{2-((2-(트리메틸실릴)에톡시)카르보닐)아미노)에틸}아미노}-9H-푸린-9-일)-16-{{tert-부틸(디메틸)실릴}옥시}-15-플루오로-2, 10-디옥소-14-(6, 7, 8, 9-테트라하이드로-2H-2, 3, 5, 6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5, 8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3, 2-1][1, 3, 6, 9, 11, 2, 10]펜타옥사디포스포시클로테트라데신-2, 10-비스(티올레이트)
- [2807] 상기 공정 8 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (201 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 10 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (49.1 mg : 불순물 함유) 을 얻었다.
- [2808] MS(ESI)m/z : 1048(M+H)⁺.
- [2809] (공정 10-1)
- [2810] 디나트륨 (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-7-(6-아미노-2-[(2-아미노에틸)아미노]-9H-푸린-9-일)-15-플루오로-16-하이드록시-2, 10-디옥소-14-(6, 7, 8, 9-테트라하이드로-2H-2, 3, 5, 6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5, 8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3, 2-1][1, 3, 6, 9, 11, 2, 10]펜타옥사디포스포시클로테트라데신-2, 10-비스(티올레이트)
- [2811] (디아스테레오머 1)
- [2812] 상기 공정 9-1 에서 얻어진 화합물 (134 mg) 을 사용하여 실시예 40 공정 5 와 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴] 로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.

[2813] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (22 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 790 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.04 (1H, brs), 8.01 (1H, s), 7.06 (1H, s), 6.43 (1H, d, J=16.9 Hz), 6.00 (1H, d, J=7.3 Hz), 5.78-5.55 (1H, m), 5.39 (1H, dd, J=51.7, 3.9 Hz), 5.31-5.18 (1H, m), 4.80 (1H, d, J=3.6 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 57.2 (s), 52.6 (s).

[2814]

[2815] (공정 10-2)

[2816] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{6-아미노-2-[(2-아미노에틸)아미노]-9H-푸린-9-일}-15-플루오로-16-하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[2817] (디아스테레오머 2)

[2818] 상기 공정 9-2 에서 얻어진 화합물 (49.1 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 40 공정 5 와 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴] 로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.

[2819] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (21 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 790 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.02 (1H, brs), 8.01 (1H, s), 7.40 (1H, s), 6.48 (1H, d, J=16.3 Hz), 6.01 (1H, d, J=7.9 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 57.8 (s).

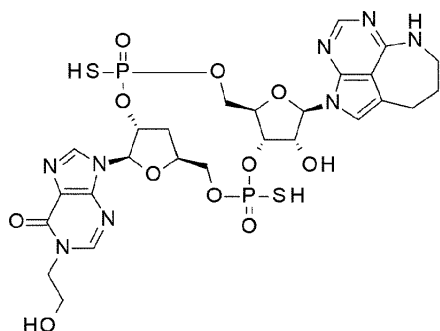
[2820]

[2821] 실시예 48 : CDN38 의 합성

[2822] (5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS)-15-하이드록시-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-비스(술폰닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-

2H, 10H, 12H-5,8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

[2823] [화학식 188]



38

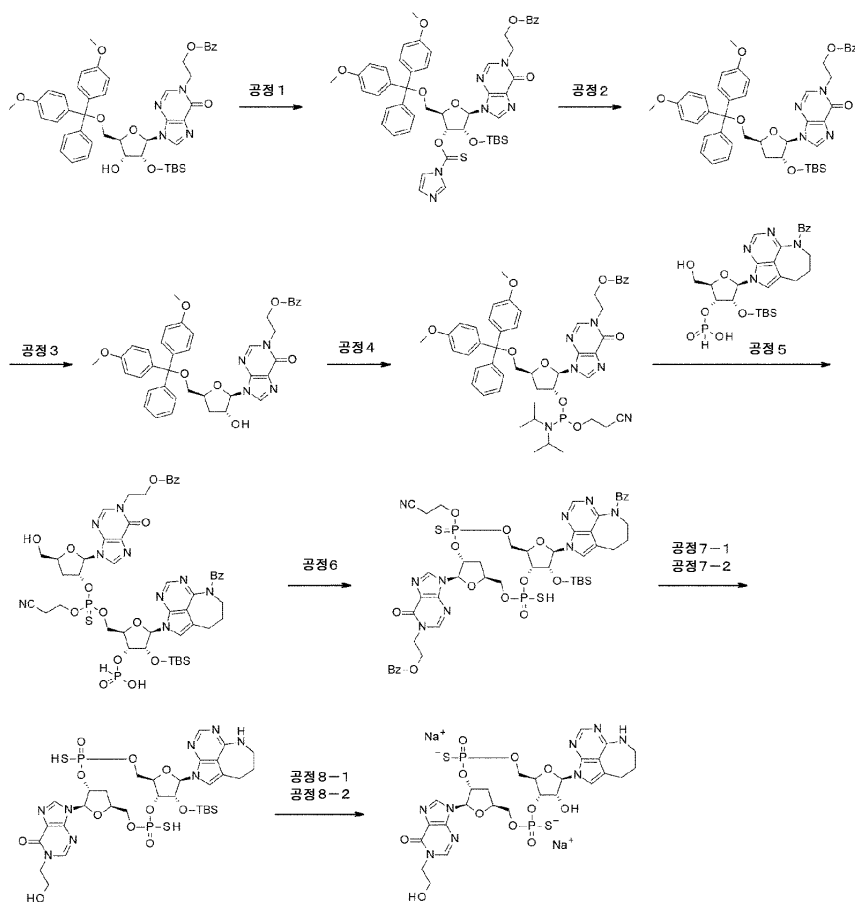
38a (디아스테레오머 1)

38b (디아스테레오머 2)

[2824]

[2825] [합성 스킴]

[2826] [화학식 189]



[2827]

[2828] (공정 1)

[2829] 1-[2-(벤조일옥시)에틸]-5'-0-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2'-0-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3'-0-(1H-이미다졸-1-카르보티오일)이노신

[2830] 실시예 22 공정 2 에서 얻어진 화합물 (2'-0-TBS 체) (1.45 g) 의 N,N-디메틸포름아미드 (8.7 ml) 용액에, 실온에서 N,N-디메틸-4-아미노피리딘 (213 mg) 과 디(1H-이미다졸-1-일)메탄티온 (1.55 g) 을 첨가하고, 20 시간 교반하였다. 반응액을 아세트산에틸로 희석하고, 포화 탄산수소나트륨 수용액과 포화 식염수로 차례로 세정

하였다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조 후, 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (1.58 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 943 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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, 3.0 Hz), 6.02 (1H, d, J=6.0 Hz), 5.20 (1H, dd, J=6.7, 5.4 Hz), 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).

[2831]

[2832]

(공정 2)

[2833]

1-[2-(벤조일옥시)에틸]-5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3'-데옥시이노신

[2834]

상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (1.69 g) 의 벤젠 (10 ml) 용액에, 실온에서 수소화트리부틸주석 (1.42 ml) 과 2,2'-아조비스(이소부티로니트릴) (29.4 mg) 을 첨가하고, 80 °C 에서 4 시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축하고, 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (1.12 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 817 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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=1.2 Hz), 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).

[2835]

[2836]

(공정 3)

[2837]

1-[2-(벤조일옥시)에틸]-5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-데옥시이노신

[2838]

상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (1.75 g) 의 테트라하이드로푸란 (11 ml) 용액에, 0 °C 에서 불화테트라부틸암모늄의 테트라하이드로푸란 용액 (약 1 M, 2.6 ml) 을 첨가하고, 실온에서 3 시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축하고, 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (1.29 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 703 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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=3.0 Hz), 4.76-4.63 (4H, m), 4.52-4.40 (2H, m), 3.78 (6H, s), 3.36 (1H, dd, J=10.3, 3.0 Hz), 3.29 (1H, dd, J=10.3, 4.8 Hz), 2.30-2.23 (1H, m), 2.18-2.12 (1H, m).

[2839]

[2840] (관측 가능한 피크만 기재)

[2841] (공정 4)

[2842] 1-[2-(벤조일옥시)에틸]-5'-0-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2'-0-[(2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스포닐]-3'-데옥시아노신

[2843] 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (1.28 g) 을 사용하여, 실시예 5 공정 4 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (1.47 g) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물 (디아스테레오머비 = 1 : 1) 로서 얻었다.

MS (ESI) m/z : 820 (M-C₆H₁₄N+OH+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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=8.5 Hz), 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=6.3 Hz), 2.52 (1H, t, J=6.3 Hz), 2.30-2.07 (2H, m), 1.18-1.07 (12H, m).

[2844]

[2845] (공정 5)

[2846] 실시예 1 공정 7 과 동일한 반응을 이하의 스케일로 실시하였다 (원료 : 836 mg). 얻어진 화합물의 아세트 니트릴 용액과 상기 공정 4 에서 얻어진 화합물 (735 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 8 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 얻어진 미정제 생성물을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.

[2847] (공정 6)

[2848] 2-{9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR)-14-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)-15-[[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시]-10-(2-시아노에톡시)-2-옥소-2-술폰닐-10-술폰닐리덴옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스포시클로테트라데신-7-일]-6-옥소-6,9-디하이드로-1H-푸린-1-일}에틸 벤조에이트

[2849] 상기 공정 5 에서 얻어진 미정제 생성물을 사용하여, 실시예 1 공정 9 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (67.6 mg) 과 디아스테레오머 2 (91.6 mg) 를 얻었다 (HPLC 의 유지 시간 : 디아스테레오머 1 > 2).

[2850] 디아스테레오머 1 (저극성)

[2851] MS(ESI) m/z : 1134(M+H)⁺.

- [2852] 디아스테레오머 2 (고극성)
- [2853] MS(ESI) m/z : 1134(M+H)⁺.
- [2854] (공정 7-1)
- [2855] (5S, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR)-15-([tert-부틸(디메틸)실릴]옥시)-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-비스(술폰닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온
- [2856] 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (67.6 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 10 과 동일한 수법을 이용하여 반응을 실시하고, 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 0 % - 50 % (0 분 - 30 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (34.9 mg) 을 얻었다.
- [2857] MS(ESI) m/z : 873(M+H)⁺.
- [2858] (공정 7-2)
- [2859] (5S, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR)-15-([tert-부틸(디메틸)실릴]옥시)-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-비스(술폰닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온
- [2860] 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (91.6 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 10 과 동일한 수법을 이용하여 반응을 실시하고, 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 0 % - 50 % (0 분 - 30 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (44.2 mg) 을 얻었다.
- [2861] MS(ESI) m/z : 873(M+H)⁺.
- [2862] (공정 8-1)
- [2863] 디나트륨 (5S, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aS)-15-하이드록시-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [2864] (디아스테레오머 1)
- [2865] 상기 공정 7-1 에서 얻어진 화합물 (34.9 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, Sep-Pak (등록상표) C18 [0.1 % 트리에틸아민 수용액/아세트니트릴] 로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.
- [2866] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (21.9 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 759 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.34 (1H, brs), 8.23 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.24 (1H, brs), 6.28 (1H, d, J=3.6 Hz), 6.15 (1H, d, J=3.0 Hz), 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=4.8 Hz), 3.51-3.49 (2H, m), 3.00-2.90 (3H, m), 2.57-2.51 (1H, m), 2.02-1.97 (2H, m).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 59.7 (s), 56.2 (s).

[2867]

(공정 8-2)

[2868]

디나트륨 (5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS)-15-하이드록시-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[2870]

(디아스테레오머 2)

[2871]

상기 공정 7-2 에서 얻어진 화합물 (44.2 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, Sep-Pak (등록상표) C18 [0.1 % 트리에틸아민 수용액/아세트니트릴] 로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.

[2872]

얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (26.5 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 759 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) 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=4.8 Hz), 6.15 (1H, d, J=4.2 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 60.3 (s), 59.1 (s).

[2873]

실시예 49 : CDN39 의 합성

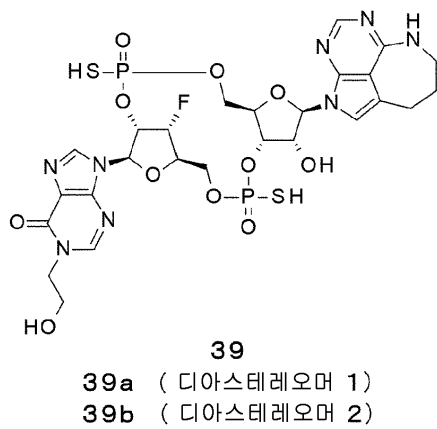
[2874]

(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,16R)-16-플루오로-15-하이드록시-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-비스(술폰닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-

[2875]

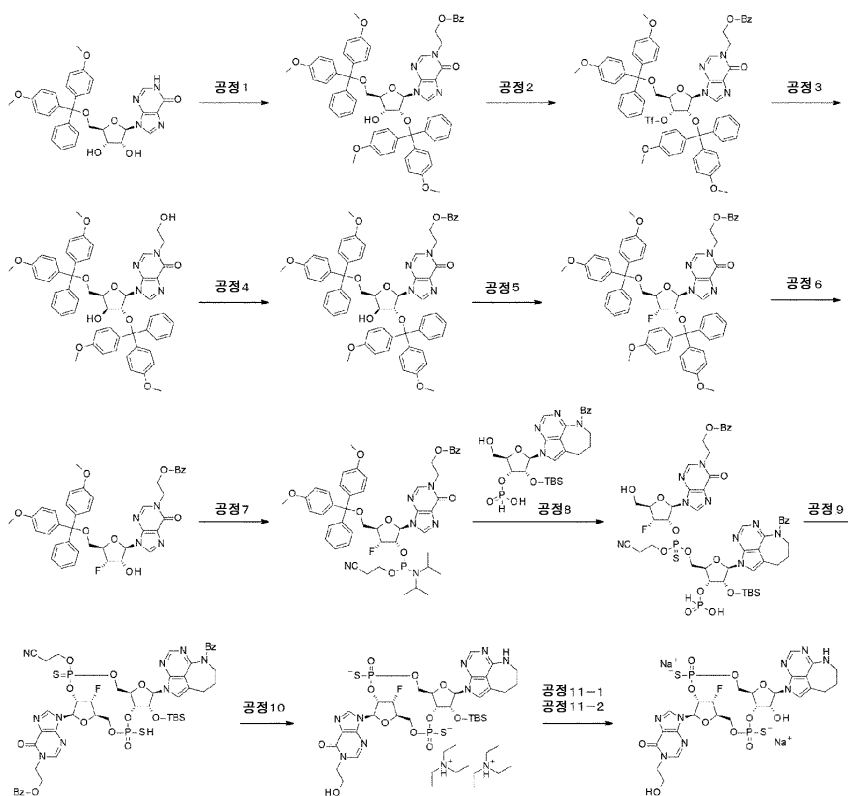
일) 옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5, 8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3, 2-1][1, 3, 6, 9, 11, 2, 10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2, 10-디온

[2876] [화학식 190]



[2877] [합성 스킴]

[2879] [화학식 191]



[2881] (공정 1)

1-[2-(벤조일옥시)에틸]-2'5'-비스-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]이노신

시판 (Amadis Chemical) 되는 5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]이노신 (20.0 g) 의 피리딘 (50 ml) - N,N-디메틸아세트아미드 (70.1 ml) 혼합 용액에, 4,4'-디메톡시트리틸클로라이드 (12.5 g), 2-브로모에틸벤조에이트 (6.60 ml), 및 1,8-디아자비시클로[5.4.0]-7-운데센 (13.1 ml) 을 첨가하고, 실온에서 20 시간 교반하였다. 반응액에 포화 탄산수소나트륨 수용액과 물을 첨가하여 반응을 정지시킨 후, 아세트산에틸로 추출하였다. 유기층을 포화 식염수로 세정하고, 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감

압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸/0.1 % 트리에틸아민] 으로 정제하고, 표제 화합물 (24.1 g : 불순물 함유) 을 얻었다.

[2884] MS(ESI) m/z : 1121(M+H)⁺.

[2885] (공정 2)

[2886] 1-[2-(벤조일옥시)에틸]-2'5'-비스-0-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-0-(트리플루오로메탄술포닐)이노신

[2887] 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (24.1 g) 의 디클로로메탄 (120 ml) 용액에, 피리딘 (19.0 ml) 을 첨가한 후, 0 ℃ 에서 트리플루오로메탄술포닉 산 무수물 (5.96 ml) 을 천천히 적하하고, 동 온도에서 1 시간 교반하였다. 반응액에 포화 탄산수소나트륨 수용액과 물을 첨가하여 반응을 정지 후, 디클로로메탄으로 추출하고, 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸/0.1 % 트리에틸아민] 으로 정제하고, 표제 화합물 (19.7 g : 불순물 함유) 을 얻었다.

[2888] MS(ESI) m/z : 1153(M+H)⁺.

[2889] (공정 3)

[2890] 9-{2,5-비스-0-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-β-D-자일로푸라노실}-1-(2-하이드록시에틸)-1,9-디하이드로-6H-푸린-6-온

[2891] 상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (19.7 g) 의 N,N-디메틸포름아미드 (85.4 ml) 용액에, 아세트산세슘 (8.20 g) 을 첨가하고, 실온에서 16 시간 교반하였다. 반응액에, 메탄올 (85.4 ml) 과 탄산칼륨 (4.72 g) 을 첨가하고, 실온에서 2 시간 교반하였다. 반응액에 물을 첨가하여 반응을 정지시킨 후, 아세트산에틸로 추출하였다. 유기층을 포화 식염수로 세정하고, 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸/메탄올/0.1 % 트리에틸아민] 으로 정제하고, 표제 화합물 (12.2 g : 불순물 함유) 을 얻었다.

[2892] MS(ESI) m/z : 917(M+H)⁺.

[2893] (공정 4)

[2894] 1-[2-(벤조일옥시)에틸]-9-{2,5-비스-0-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-β-D-자일로푸라노실}-1,9-디하이드로-6H-푸린-6-온

[2895] 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (12.2 g) 의 디클로로메탄 (48.8 ml) 용액에, 피리딘 (1.61 ml) 과 무수 벤조산 (3.16 g) 을 첨가하고, 실온에서 64 시간 교반하였다. 반응액에 포화 탄산수소나트륨 수용액과 물을 첨가하여 반응을 정지시킨 후, 아세트산에틸로 추출하였다. 유기층을 포화 식염수로 세정 후, 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸/메탄올/0.1 % 트리에틸아민] 으로 정제하고, 표제 화합물 (7.36 g : 불순물 함유) 을 얻었다.

[2896] MS(ESI) m/z : 1021(M+H)⁺.

[2897] (공정 5)

[2898] 1-[2-(벤조일옥시)에틸]-2'5'-비스-0-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-데옥시-3'-플루오로이노신

[2899] 상기 공정 4 에서 얻어진 화합물 (7.36 g) 의 디클로로메탄 (37.0 ml) 용액에, 2,6-루티딘 (3.34 ml) 을 첨가한 후, -78 ℃ 에서 3-불화N,N-디에틸아미노황 (1.42 g) 을 첨가하고, 질소 분위기하, 서서히 실온까지 승온한 후, 밤새 교반하였다. 반응액에 포화 탄산수소나트륨 수용액을 천천히 첨가하여 반응을 정지시킨 후, 물을 첨가하고, 아세트산에틸로 추출하였다. 유기층을 포화 식염수로 세정 후, 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸 0.1 % 트리에틸아민] 으로 정제하고, 표제 화합물 (6.89 g : 불순물 함유) 을 얻었다.

[2900] MS(ESI) m/z : 1023(M+H)⁺.

[2901] (공정 6)

[2902] 1-[2-(벤조일옥시)에틸]-5'-0-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-데옥시-3'-플루오로이노신

[2903] 상기 공정 5 에서 얻어진 화합물 (6.89 g) 의 디클로로메탄 (25.0 ml) 용액에, 물 (0.303 ml) 과 디클로로아세트산 (1.39 ml) 을 첨가하고, 실온에서 63 시간 교반하였다. 반응액에 피리딘 (2.0 ml) 을 첨가하고, 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸/메탄올] 및 DIOL 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 조정제하였다. 얻어진 화합물의 피리딘 (25.0 ml) 용액에, 0 °C 에서 4,4'-디메톡시트리틸클로라이드 (1.83 g) 를 첨가하고, 4 °C 에서 21 시간 교반하였다. 반응액에 메탄올 (1.0 ml) 을 첨가하고, 4 °C 에서 1 시간 교반한 후, 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸/메탄올/0.1 % 트리에틸아민] 으로 정제하고, 표제 화합물 (1.33 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 721 (M+H) ⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 7.99 (1H, s), 7.95 (1H, d, J=1.2 Hz), 7.93 (1H, s), 7.93 (1H, d, J=1.5 Hz), 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=7.3 Hz), 5.13 (1H, dd, J=54.7, 4.1 Hz), 5.05-4.92 (1H, m), 4.63 (2H, t, J=5.1 Hz), 4.56-4.25 (4H, m), 3.76 (3H, s), 3.76 (3H, s), 3.45 (1H, dd, J=10.9, 3.6 Hz), 3.34 (1H, dd, J=10.9, 3.6 Hz).

[2904]

[2905] (공정 7)

[2906] 1-[2-(벤조일옥시)에틸]-5'-0-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2'-0-((2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스파닐)-3'-데옥시-3'-플루오로이노신

[2907] 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (1.33 g) 을 사용하여, 실시예 5 공정 4 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (1.49 g) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물 (디아스테레오머비 = 1 : 1) 로서 얻었다.

MS (ESI) m/z : 921 (M+H) ⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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=7.3 Hz), 6.10 (0.5H, d, J=7.9 Hz), 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=6.3 Hz), 2.32 (1H, t, J=6.3 Hz), 1.12 (6H, d, J=6.3 Hz), 1.04 (3H, d, J=6.3 Hz), 0.76 (3H, d, J=6.3 Hz).

[2908]

- [2909] (공정 8)
- [2910] 실시예 1 공정 7 과 동일한 반응을 이하의 스케일로 실시하였다 (원료 : 948 mg). 얻어진 화합물의 아세트 니트릴 용액과 상기 공정 7 에서 얻어진 화합물 (850 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 8 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 얻어진 미정제 생성물을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.
- [2911] (공정 9)
- [2912] 2-{9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[c d]아줄렌-2-일)-15-{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-10-(2-시아노에톡시)-16-플루오로-2-옥소-2-술폰닐-10-술폰 니리텐옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로 테트라데신-7-일]-6-옥소-6,9-디하이드로-1H-푸린-1-일}에틸벤조에이트
- [2913] 상기 공정 8 에서 얻어진 미정제 생성물을 사용하여, 실시예 1 공정 9 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표 제 화합물 (709 mg) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.
- [2914] MS(ESI)m/z : 1152(M+H)⁺.
- [2915] (공정 10)
- [2916] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-16-플루오 로-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [2917] 상기 공정 9 에서 얻어진 화합물 (709 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 10 과 동일한 수법을 이용하여 반응을 실시하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (108 mg : 불순물 함유) 과 디아스테레오머 2 (102 mg : 불순물 함 유) 를 얻었다.
- [2918] 디아스테레오머 1 (저극성)
- [2919] MS(ESI)m/z : 891(M+H)⁺.
- [2920] 디아스테레오머 2 (고극성)
- [2921] MS(ESI)m/z : 891(M+H)⁺.
- [2922] (공정 11-1)
- [2923] 디나트륨 (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-16-플루오로-15-하이드록시-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6- 디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로 테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [2924] (디아스테레오머 1)
- [2925] 상기 공정 10 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (108 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로 서 얻었다.
- [2926] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴] 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 3 % - 30 % (0 분 - 40 분)].
- [2927] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (40.1 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 777 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 58.0 (s), 56.9 (s).

[2928]

[2929]

(공정 11-2)

[2930]

디나트륨 (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,16R)-16-플루오로-15-하이드록시-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[2931]

(디아스테레오머 2)

[2932]

상기 공정 10 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (102 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로 서 얻었다.

[2933]

[정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴] 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 3 % - 25 % (0 분 - 40 분)].

[2934]

얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (26.7 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 777 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.73 (1H, m), 8.25 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.10 (1H, brs), 6.33 (1H, d, J=6.7 Hz), 6.28 (1H, d, J=9.1 Hz), 5.65-5.50 (1H, m), 5.49-5.43 (1H, m), 5.31 (1H, dd, J=54.4, 3.6 Hz), 4.79 (1H, dd, J=6.3, 4.5 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 63.1 (s), 59.7 (s).

[2935]

[2936]

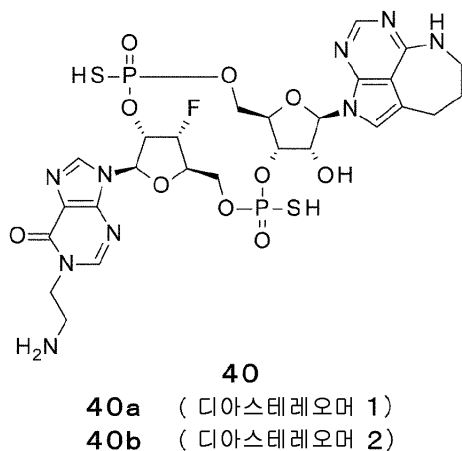
실시예 50 : CDN40 의 합성

[2937]

(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[1-(2-아미노에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-16-플루오로-15-하이드록시-2,10-비스(술폰닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥

타하이드로-2H, 10H, 12H-5,8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

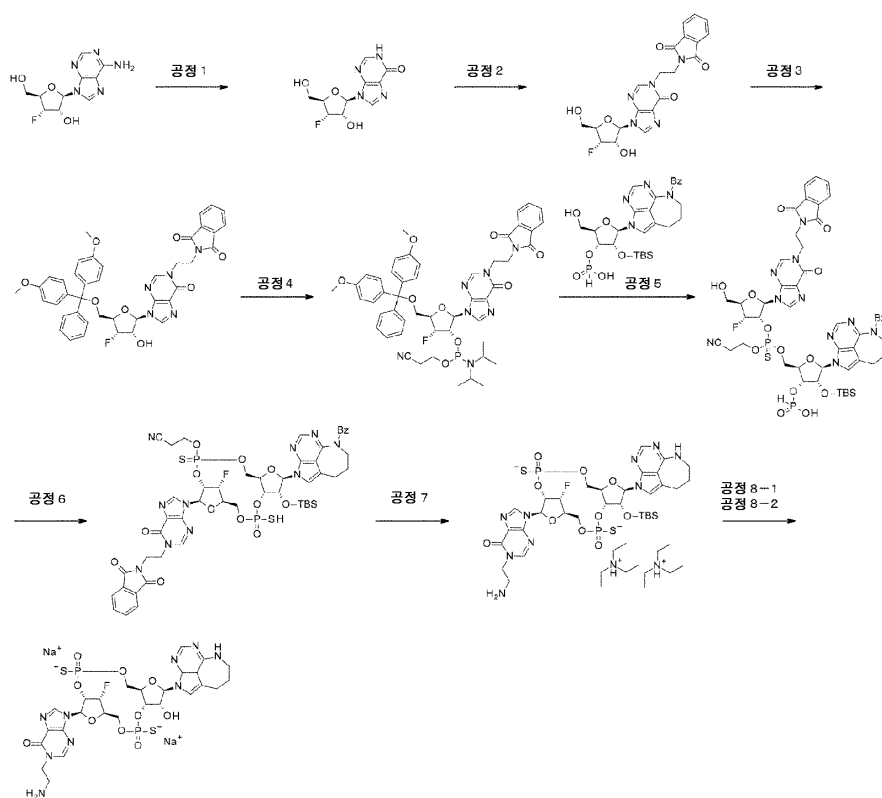
[2938] [화학식 192]



[2939]

[2940] [합성 스킴]

[2941] [화학식 193]



[2942]

[2943] (공정 1)

[2944] 3'-데옥시-3'-플루오로이노신

[2945] 시판 (Angene) 되는 3'-데옥시-3'-플루오로아데노신 (2.38 g) 의 아세트산 (120 ml) 용액에, 아질산나트륨 (6.10 g) 의 수용액 (48 ml) 을 조금씩 첨가하고, 실온에서 43 시간 교반하였다. 반응 용액을 감압 농축하고, 톨루엔으로 2 회 공비하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [디클로로메탄/메탄올] 로 정제하고, 표제 화합물 (3.76 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 271 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.30 (1H, s), 8.05 (1H, s), 6.03 (1H, d, J=7.8 Hz), 5.08 (1H, dd, J=5.4, 4.1 Hz), 4.89-4.85 (1H, m), 4.38 (1H, dt, J=26.8, 3.2 Hz), 3.82-3.73 (2H, m).

[2946]

(공정 2)

[2947]

3'-테옥시-1-[2-(1,3-디옥소-1,3-디하이드로-2H-이소인돌-2-일)에틸]-3'-플루오로이노신

[2948]

상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (3.76 g) 의 N,N-디메틸아세트아미드 (37.6 ml) 용액에, 2-(2-브로모에틸)-1H-이소인돌-1,3(2H)-디온 (6.60 ml) 과 1,8-디아자비시클로[5.4.0]-7-운데센 (3.12 ml) 을 첨가하고, 실온에서 3 일간 교반하였다. 반응액을 감압 농축하고, 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸/메탄올] 로 정제하고, 표제 화합물 (3.51 g : 불순물 함유) 을 얻었다.

[2949]

MS (ESI) m/z : 444 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 7.87 (1H, s), 7.84 (1H, s), 7.81 (2H, dd, J=5.4, 3.0 Hz), 7.73 (2H, dd, J=5.4, 3.0 Hz), 5.83 (1H, d, J=7.9 Hz), 5.28 (1H, dd, J=11.5, 2.4 Hz), 5.18 (1H, dd, J=55.0, 4.2 Hz), 5.01-4.87 (1H, m), 4.49 (1H, d, J=28.4 Hz), 4.43-4.28 (2H, m), 4.19-4.08 (2H, m), 3.95 (1H, d, J=8.2 Hz), 3.91-3.84 (1H, m), 3.76 (1H, d, J=13.3 Hz).

[2950]

(공정 3)

[2951]

5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-테옥시-1-[2-(1,3-디옥소-1,3-디하이드로-2H-이소인돌-2-일)에틸]-3'-플루오로이노신

[2952]

상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (3.51 g) 을 사용하여, 실시예 11 공정 1 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (4.05 g) 을 얻었다.

[2953]

MS (ESI) m/z : 746 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 7.95 (1H, s), 7.79 (2H, dd, J=5.4, 3.0 Hz), 7.73 (1H, s), 7.70 (2H, dd, J=5.4, 3.0 Hz), 7.34-7.29 (2H, m), 7.25-7.18 (7H, m), 6.81-6.76 (4H, m), 5.92 (1H, d, J=7.3 Hz), 5.12 (1H, dd, J=5.4, 4.2 Hz), 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=10.3 Hz), 3.43 (1H, dd, J=10.9, 3.6 Hz), 3.32 (1H, dd, J=10.9, 3.6 Hz).

[2954]

[2955]

(공정 4)

[2956]

5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2'-O-[(2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스파닐]-3'-데옥시-1-[2-(1,3-디옥소-1,3-디하이드로-2H-이소인돌-2-일)에틸]-3'-플루오로이노신

[2957]

상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (4.05 g) 을 사용하여, 실시예 5 공정 4 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (4.35 g) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물 (디아스테레오머비 = 1 : 1) 로서 얻었다.

MS (ESI) m/z : 946 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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=7.9 Hz), 6.05 (0.5H, d, J=7.9 Hz), 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=6.3 Hz), 2.41 (1H, t, J=6.3 Hz), 1.16 (3H, d, J=7.3 Hz), 1.14 (3H, d, J=7.3 Hz), 1.10 (3H, d, J=7.3 Hz), 0.83 (3H, d, J=7.3 Hz).

[2958]

[2959]

(공정 5)

[2960]

실시예 1 공정 7 과 동일한 반응을 이하의 스케일로 실시하였다 (원료 : 1.47 g). 얻어진 화합물의 아세트 니트릴 용액과 상기 공정 4 에서 얻어진 화합물 (1.35 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 8 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 얻어진 미정제 생성물을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.

[2961]

(공정 6)

[2962]

3-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)-15-{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-7-{1-[2-(1,3-디옥소-1,3-디하이드로-2H-이소인돌-2-일)에틸]

-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일}-16-플루오로-2-옥소-2-술파닐-10-술파닐리덴옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5,8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-10-일]옥시}프로판니트릴

[2963] 상기 공정 5 에서 얻어진 미정제 생성물을 사용하여, 실시예 1 공정 9 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (1.25 g) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.

[2964] MS(ESI)m/z : 1177(M+H)⁺.

[2965] (공정 7)

[2966] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R, 7R, 8S, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-7-[1-(2-아미노에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-15-{{tert-부틸(디메틸)실릴}옥시}-16-플루오로-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5,8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[2967] 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (1.25 g) 의 에탄올 (7.5 ml) - 테트라하이드로푸란 (7.5 ml) 혼합 용액에, 하이드라진 1수화물 (0.599 ml) 을 첨가하고, 50 °C 에서 6 시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축 후, 잔류물을 C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴] 로 정제하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (145 mg : 불순물 함유) 과 디아스테레오머 2 (198 mg : 불순물 함유) 를 얻었다 (HPLC 의 유지 시간 : 디아스테레오머 1 > 2).

[2968] 디아스테레오머 1 (저극성)

[2969] MS(ESI)m/z : 890(M+H)⁺.

[2970] 디아스테레오머 2 (고극성)

[2971] MS(ESI)m/z : 890(M+H)⁺.

[2972] (공정 8-1)

[2973] 디나트륨 (5R, 7R, 8S, 12aR, 14R, 15R, 15aS, 16R)-7-[1-(2-아미노에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-16-플루오로-15-하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5,8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[2974] (디아스테레오머 1)

[2975] 상기 공정 7 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (145 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.

[2976] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴] 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴 - 메탄올 용액 (1 : 1), 아세토니트릴 - 메탄올 용액 (1 : 1) : 5 % - 50 % (0 분 - 40 분)].

[2977] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (70.7 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 776 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.64 (1H, s), 8.23 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.07 (1H, s), 6.27 (1H, d, J=4.5 Hz), 6.25 (1H, d, J=6.7 Hz), 5.67-5.43 (2H, m), 5.23-5.16 (1H, m), 4.76 (1H, t, J=5.1 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 57.9 (s), 56.9 (s).

[2978]

[2979]

(공정 8-2)

[2980]

디나트륨 (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-[1-(2-아미노에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-16-플루오로-15-하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[2981]

(디아스테레오머 2)

[2982]

상기 공정 7 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (198 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.

[2983]

[정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴] 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴 - 메탄올 용액 (1 : 1), 아세토니트릴 - 메탄올 용액 (1 : 1) : 5 % - 50 % (0 분 - 40 분)].

[2984]

얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (69.7 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 776 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.73 (1H, s), 8.27 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.09 (1H, s), 6.31 (1H, d, J=6.7 Hz), 6.26 (1H, d, J=8.5 Hz), 5.62-5.47 (1H, m), 5.47-5.41 (1H, m), 5.30 (1H, dd, J=53.8, 3.6 Hz), 4.78 (1H, dd, J=6.7, 4.2 Hz), 4.58 (1H, d, J=26.0 Hz), 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=5.7 Hz), 2.05-1.96 (2H, m).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 62.8 (s), 59.4 (s).

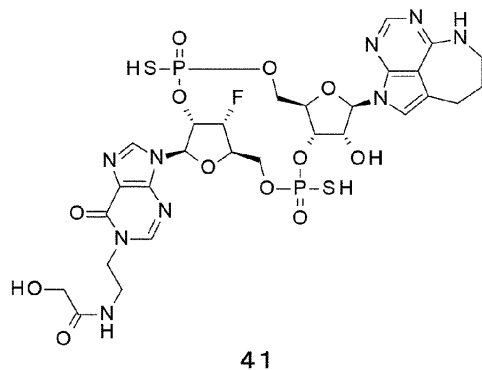
[2985]

[2986]

실시예 51 : CDN41 의 합성

[2987] N-(2-{9-[(5R, 7R, 8S, 12aR, 14R, 15R, 15aS, 16R)-16-플루오로-15-하이드록시-2, 10-디옥소-2, 10-비스(술폰닐)-14-(6, 7, 8, 9-테트라하이드로-2H-2, 3, 5, 6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5, 8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3, 2-1][1, 3, 6, 9, 11, 2, 10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-6-옥소-6, 9-디하이드로-1H-푸린-1-일}에틸)-2-하이드록시아세트아미드

[2988] [화합식 194]

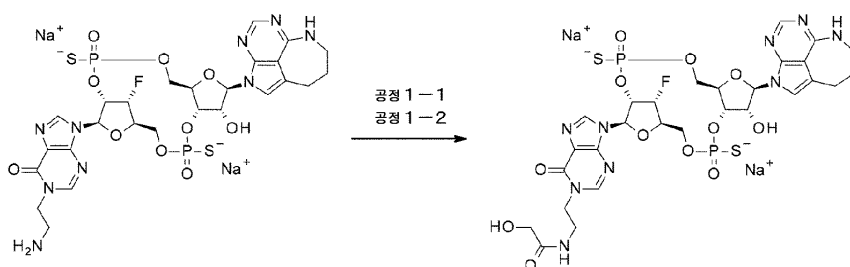


41
41a (디아스테레오머 1)
41b (디아스테레오머 2)

[2989]

[2990] [합성 스킴]

[2991] [화합식 195]



[2992]

[2993] (공정 1-1)

[2994] 디나트륨 (5R, 7R, 8S, 12aR, 14R, 15R, 15aS, 16R)-16-플루오로-15-하이드록시-7-{1-[2-(2-하이드록시아세트아미드)에틸]-6-옥소-1, 6-디하이드로-9H-푸린-9-일}-2, 10-디옥소-14-(6, 7, 8, 9-테트라하이드로-2H-2, 3, 5, 6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5, 8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3, 2-1][1, 3, 6, 9, 11, 2, 10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2, 10-비스(티올레이트)

[2995] (디아스테레오머 1)

[2996] 실시예 50 공정 8-1 에서 얻어진 화합물 (25.0 mg) 을 사용하여, 실시예 7 공정 1-1 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.

[2997] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴] 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 5 % - 30 % (0 분 - 40 분)].

[2998] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (18.6 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 834 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.60 (1H, m), 8.12 (1H, m), 8.02 (1H, s), 7.11 (1H, brs), 6.27 (1H, d, J=4.9 Hz), 6.23 (1H, d, J=9.1 Hz), 5.75-5.58 (1H, m), 5.54 (1H, dd, J=53.5, 3.0 Hz), 5.28-5.20 (1H, m), 4.75 (1H, t, J=5.2 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 57.9 (s), 56.7 (s).

[2999]

[3000]

(공정 1-2)

[3001]

디나트륨 (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,16R)-16-플루오로-15-하이드록시-7-{1-[2-(2-하이드록시아세트아미드)에틸]-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일}-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[3002]

(디아스테레오머 2)

[3003]

실시예 50 공정 8-2 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (15.0 mg) 을 사용하여, 실시예 7 공정 1-1 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.

[3004]

[정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴] 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 5 % - 30 % (0 분 - 40 분)].

[3005]

얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (7.4 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 834 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.69 (1H, m), 8.16 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.11 (1H, s), 6.32 (1H, d, J=6.7 Hz), 6.26 (1H, d, J=8.6 Hz), 5.67-5.51 (1H, m), 5.48-5.43 (1H, m), 5.29 (1H, dd, J=54.0, 3.7 Hz), 4.77 (1H, dd, J=6.4, 4.6 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 62.8 (s), 59.5 (s).

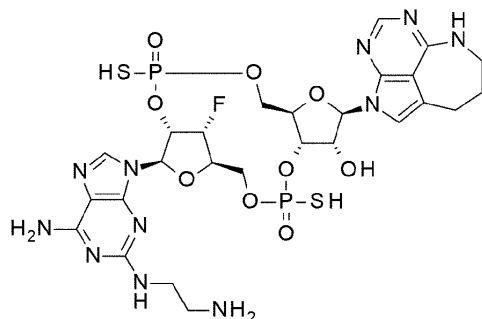
[3006]

[3007]

실시예 52 : CDN42 의 합성

[3008] (5R, 7R, 8S, 12aR, 14R, 15R, 15aS, 16R)-7-{6-아미노-2-[(2-아미노에틸)아미노]-9H-푸린-9-일}-16-플루오로-15-하이드록시-2, 10-비스(술폰닐)-14-(6, 7, 8, 9-테트라하이드로-2H-2, 3, 5, 6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5, 8-메타노-2 λ^5 , 10 λ^5 -푸로[3, 2-1][1, 3, 6, 9, 11, 2, 10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2, 10-디온

[3009] [화학식 196]



42

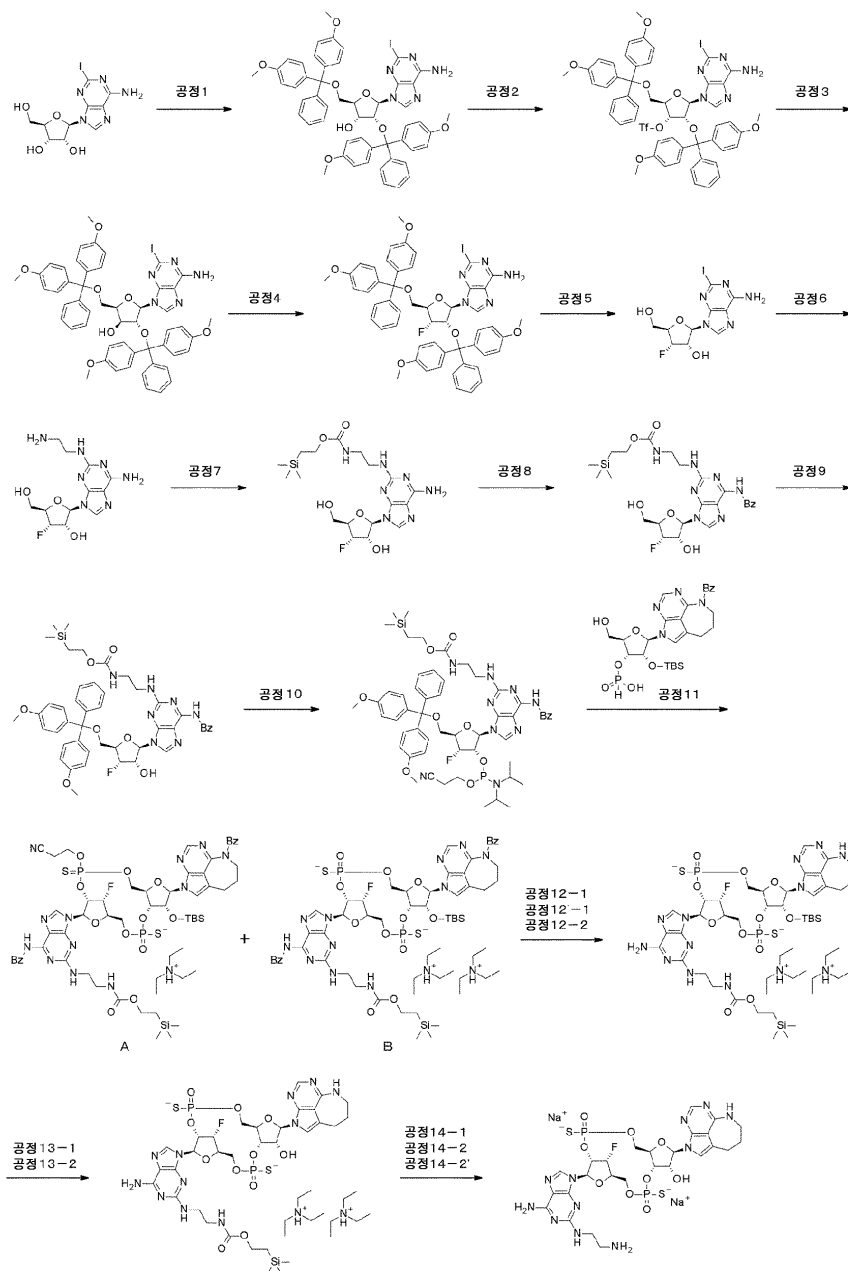
42a (디아스테레오머 1)

42b (디아스테레오머 2)

[3010]

[3011] [합성 스킴]

[3012] [화학식 197]



[3013]

[3014] (공정 1)

[3015] 2'5'-비스-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2'-요오드아데노신

[3016] 시판 (Amadis Chemical) 되는 2'-요오드아데노신 (1.35 g) 을 피리딘으로 3 회 공비하였다. 잔류물의 탈수 피리딘 (17.0 ml) 용액에, 4,4'-디메톡시트리틸클로라이드 (2.35 g) 를 첨가하고, 질소 분위기, 실온에서 밤새 교반하였다. 반응액에 메탄올 (5.00 ml) 을 첨가하여 반응을 정지시킨 후, 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸/0.1 % 트리에틸아민] 으로 정제하고, 표제 화합물 (1.96 g : 불순물 함유) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 998 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 7.88 (1H, s), 7.29–7.12 (18H, m), 6.73–6.60 (8H, m), 6.31 (1H, d, J=7.9 Hz), 5.69 (2H, brs), 5.13 (1H, dd, J=7.6, 4.5 Hz), 4.07 (1H, t, J=3.3 Hz), 3.77 (6H, s), 3.76 (3H, s), 3.74 (3H, s), 3.14 (2H, d, J=3.6 Hz), 2.87 (1H, d, J=4.2 Hz), 2.28 (1H, s).

[3017]

[3018]

(공정 2)

[3019]

2'-5'-비스-0-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2-요오드-3'-0-(트리플루오로메탄술포닐)아데노신

[3020]

상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (100 mg) 을 톨루엔으로 3 회 공비하였다. 잔류물의 탈수 디클로로메탄 (1.0 ml) 용액에, 질소 분위기하, 0 °C 에서 피리딘 (0.20 ml) 과 트리플루오로메탄술포산 무수물 (27.0 μ l) 을 첨가하고, 동 온도에서 80 분간 교반하였다. 트리플루오로메탄술포산 무수물 (27.0 μ l) 을 추가하고, 80 분간 더 교반하였다. 반응액에 포화 탄산수소나트륨 수용액을 첨가하여 반응을 정지시킨 후, 디클로로메탄으로 추출하였다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조 후, 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸/0.1 % 트리에틸아민] 으로 정제하고, 표제 화합물 (57.2 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 1130 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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, 3.9 Hz), 6.01 (1H, d, J=7.9 Hz), 5.59 (2H, brs), 4.05 (1H, d, J=3.6 Hz), 3.98 (1H, t, J=6.7 Hz), 3.78 (3H, s), 3.77 (3H, s), 3.71 (3H, s), 3.70 (3H, s), 3.39 (1H, dd, J=10.9, 6.0 Hz), 3.17 (1H, dd, J=10.6, 7.0 Hz).

[3021]

[3022]

(공정 3)

[3023]

9-{2,5-비스-0-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]- β -D-자일로푸라노실}-2-요오드-9H-푸린-6-아민

[3024]

상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (2.76 g) 의 N,N-디메틸포르미아미드 (24.4 ml) 용액에 아세트산세슘 (1.20 g) 을 첨가하고, 실온에서 3 시간 교반하였다. 반응액에 메탄올 (24.4 ml) 과 탄산칼륨 (675 mg) 을 첨가하고, 추가로 2 시간 교반하였다. 반응액에 물을 첨가하여 고체를 석출시킨 후, 감압하에서 메탄올 성분을 증류 제거하였다. 얻어진 고체 여과 채취하여 표제 화합물 (2.38 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 8.02 (1H, s), 7.42–7.13 (18H, m), 6.79–6.72 (8H, m), 5.68 (2H, br s), 5.55 (1H, d, $J=1.2\text{ Hz}$), 5.49 (1H, d, $J=9.1\text{ Hz}$), 4.48 (1H, s), 4.41–4.37 (1H, m), 4.06 (1H, dd, $J=9.1, 3.6\text{ Hz}$), 3.77 (9H, s), 3.76 (3H, s), 3.56–3.48 (2H, m).

[3025]

(공정 4)

[3026]

2'-5'-비스-0-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-데옥시-3'-플루오로-2-요오드아데노신

[3027]

상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (2.54 g) 의 디클로로메탄 (17.0 ml) 용액에, 피리딘 (1.13 ml) 을 첨가한 후, 빙랭하에서 3볼하N,N-디에틸아미노황 (0.397 ml) 을 첨가하고, 질소 분위기하, 실온에서 40 분간 교반하였다. 반응액에 포화 탄산수소나트륨 수용액을 첨가하여 반응을 정지시킨 후, 디클로로메탄으로 추출하였다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조 후, 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸/0.1 % 트리에틸아민] 으로 정제하고, 표제 화합물 (2.02 g : 불순물 함유) 을 얻었다.

[3028]

[3029]

MS(ESI)m/z : 1000(M+H)⁺.

[3030]

(공정 5)

[3031]

3'-데옥시-3'-플루오로-2-요오드아데노신

[3032]

상기 공정 4 에서 얻어진 혼합물 (2.02 g) 의 디클로로메탄 용액 (20.2 ml) 에, 빙랭하, 물 (0.364 ml) 과 디클로로아세트산 (0.996 ml) 을 첨가하고, 실온에서 15 분간 교반하였다. 반응액에 피리딘 (1.95 ml) 을 첨가하여 반응을 정지 후, 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (1.34 g : 불순물 함유) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ : 5.94 (1H, d, $J=7.9\text{ Hz}$), 5.09 (1H, dd, $J=54.7, 4.3\text{ Hz}$), 4.95–4.89 (1H, m), 4.40 (1H, d, $J=27.3\text{ Hz}$), 3.87–3.76 (2H, m).

[3033]

(관측 가능한 피크만 기재)

[3034]

(공정 6)

[3035]

2-[(2-아미노에틸)아미노]-3'-데옥시-3'-플루오로아데노신

[3036]

상기 공정 5 에서 얻어진 화합물 (1.34 g) 에 에틸렌디아민 (1.35 ml) 을 첨가하고, 110 °C 에서 1 시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축하고, 잔류물을 C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴] 로 정제하고, 표제 화합물 (543 mg : 불순물 함유) 을 얻었다.

[3037]

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ : 7.94 (1H, s), 5.88 (1, d, $J=7.9\text{ Hz}$), 5.09 (1H, dd, $J=54.7, 4.5\text{ Hz}$), 4.95 (1H, dq, $J=25.1, 4.2\text{ Hz}$), 4.38 (1H, dt, $J=27.6, 2.7\text{ Hz}$), 3.84–3.76 (2H, m), 3.56–3.53 (2H, m), 3.01 (2H, t, $J=5.7\text{ Hz}$).

[3038]

[3039] (공정 7)

[3040] 3'-데옥시-3'-플루오로-2-{[2-([2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐)아미노]에틸]아미노}아데노신

[3041] 상기 공정 6 에서 얻은 화합물 (543 mg) 의 테트라하이드로푸란 용액 (10 ml) 에, 1-([2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐)옥시)피롤리딘-2,5-디온 (961 mg), N,N-디메틸포름아미드 (5.0 ml), 및 메탄올 (5.0 ml) 을 첨가하고, 실온에서 1.5 시간 교반하였다. 1-([2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐)옥시)피롤리딘-2,5-디온 (800 mg) 을 추가하고, 40 분간 더 교반하였다. 반응액을 감압 농축 후, 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (483 mg) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ : 7.87 (1H, s), 5.83 (1H, d, $J=7.9\text{ Hz}$), 5.15-4.96 (2H, m), 4.35 (1H, dt, $J=27.4, 2.7\text{ Hz}$), 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).

[3042]

[3043] (공정 8)

[3044] N-벤조일-3'-데옥시-3'-플루오로-2-{[2-([2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐)아미노]에틸]아미노}아데노신

[3045] 상기 공정 7 에서 얻은 화합물 (483 mg) 을 사용하여, 실시예 11 공정 3 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (374 mg) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 9.16-9.03 (1H, m), 8.01 (2H, d, $J=7.3\text{ Hz}$), 7.63-7.33 (4H, m), 5.85-5.60 (2H, m), 5.21-4.91 (2H, m), 4.45 (1H, d, $J=27.8\text{ Hz}$), 4.19-4.06 (2H, m), 3.92 (1H, d, $J=12.7\text{ Hz}$), 3.77-3.34 (6H, m), 1.05-0.87 (2H, m), -0.02 (9H, s).

[3046]

[3047] (관측 가능한 피크만 기재)

[3048] (공정 9)

[3049] N-벤조일-5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-데옥시-3'-플루오로-2-{[2-([2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐)아미노]에틸]아미노}아데노신

[3050] 상기 공정 8 에서 얻어진 화합물 (374 mg) 을 사용하여, 실시예 11 공정 1 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (398 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 878 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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=27.8 Hz), 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).

[3051]

[3052] (공정 10)

[3053] N-벤조일-5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2'-O-((2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스포닐)-3'-데옥시-3'-플루오로-2-[[2-((2-(트리메틸실릴)에톡시)카르보닐)아미노)에틸]아미노]아데노신

[3054] 상기 공정 9 에서 얻어진 화합물 (398 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 6 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (434 mg) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물 (디아스테레오머비 = 1 : 1) 로서 얻었다.

¹H-NMR (CDCl₃) 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=6.3 Hz), 1.17 (3H, d, J=6.7 Hz), 1.15 (3H, d, J=6.7 Hz), 1.10 (3H, d, J=6.7 Hz), 0.92-0.86 (2H, m), 0.81 (3H, d, J=6.7 Hz), -0.01 (9H, s).

[3055]

[3056] (공정 11)

[3057] 화합물 A :

[3058] N,N-디에틸에탄아미늄 (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-벤즈아미드-2-[[2-((2-(트리메틸실릴)에톡시)카르보닐)아미노)에틸]아미노]-9H-푸린-9-일)-14-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)-15-[[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시]-10-(2-시아노에톡시)-16-플루오로-2-옥소-10-술폰리렌 옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스포시클로테트라데신-2-티올레이트

[3059] 화합물 B :

[3060] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-벤즈아미드-2-[[2-((2-(트리메틸실릴)에톡시)카르보닐)아미노)에틸]아미노]-9H-푸린-9-일)-14-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)-15-[[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시]-16-플루오로-2,10-디옥소옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스포시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[3061] 실시예 1 공정 7 과 동일한 반응을 이하의 스케일로 실시하였다 (원료 : 502 mg). 얻어진 화합물의 아세트 니트릴 용액과 상기 공정 10 에서 얻어진 화합물 (434 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 8 및 실시예 1 공정 9

와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 A 의 디아스테레오머 1 (43.9 mg) 및 디아스테레오머 2 (27.0 mg), 그리고 표제 화합물 B 의 디아스테레오머 1 (55.0 mg) 및 디아스테레오머 2 (121 mg) 를 얻었다 (각각 불순물 함유).

- [3062] 화합물 A 의 디아스테레오머 1 (저극성)
- [3063] MS(ESI) m/z : 1309(M+H)⁺.
- [3064] 화합물 A 의 디아스테레오머 2 (고극성)
- [3065] MS(ESI) m/z : 1309(M+H)⁺.
- [3066] 화합물 B 의 디아스테레오머 1 (저극성)
- [3067] MS(ESI) m/z : 1256(M+H)⁺.
- [3068] 화합물 B 의 디아스테레오머 2 (고극성)
- [3069] MS(ESI) m/z : 1256(M+H)⁺.
- [3070] (공정 12-1)
- [3071] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄)
(5R, 7R, 8S, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-7-(6-아미노-2-([2-([2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐)아미노)에틸]아미노)-9H-푸린-9-일)-15-([tert-부틸(디메틸)실릴]옥시)-16-플루오로-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스포시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [3072] 상기 공정 11 에서 얻어진 화합물 A (디아스테레오머 1) (43.9 mg) 를 사용하여, 실시예 1 공정 10 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물을 얻었다.
- [3073] MS(ESI) m/z : 1048(M+H)⁺.
- [3074] (공정 12'-1)
- [3075] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄)
(5R, 7R, 8S, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-7-(6-아미노-2-([2-([2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐)아미노)에틸]아미노)-9H-푸린-9-일)-15-([tert-부틸(디메틸)실릴]옥시)-16-플루오로-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스포시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [3076] 상기 공정 11 에서 얻어진 화합물 B (디아스테레오머 1) (55.0 mg) 를 사용하여, 실시예 1 공정 10 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물을 얻었다.
- [3077] MS(ESI) m/z : 1048(M+H)⁺.
- [3078] (공정 12-2)
- [3079] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄)
(5R, 7R, 8S, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-7-(6-아미노-2-([2-([2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐)아미노)에틸]아미노)-9H-푸린-9-일)-15-([tert-부틸(디메틸)실릴]옥시)-16-플루오로-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스포시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [3080] 상기 공정 11 에서 얻어진 화합물 A (디아스테레오머 2) (27.0 mg : 불순물 함유) 를 사용하여, 실시예 1 공정 10 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물을 얻었다.
- [3081] MS(ESI) m/z : 1048(M+H)⁺.

- [3082] (공정 13-1)
- [3083] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄)
(5R, 7R, 8S, 12aR, 14R, 15R, 15aS, 16R)-7-(6-아미노-2-([2-([2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐)아미노)에틸]아미노)-9H-푸린-9-일)-16-플루오로-15-하이드록시-2, 10-디옥소-14-(6, 7, 8, 9-테트라하이드로-2H-2, 3, 5, 6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5, 8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3, 2-1][1, 3, 6, 9, 11, 2, 10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2, 10-비스(티올레이트)
- [3084] 상기 공정 12-1 및 12'-1 에서 얻어진 화합물을 아울러, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (36.4 mg) 을 얻었다.
- [3085] MS(ESI)_{m/z} : 934(M+H)⁺.
- [3086] (공정 13-2)
- [3087] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄)
(5R, 7R, 8S, 12aR, 14R, 15R, 15aS, 16R)-7-(6-아미노-2-([2-([2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐)아미노)에틸]아미노)-9H-푸린-9-일)-16-플루오로-15-하이드록시-2, 10-디옥소-14-(6, 7, 8, 9-테트라하이드로-2H-2, 3, 5, 6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5, 8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3, 2-1][1, 3, 6, 9, 11, 2, 10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2, 10-비스(티올레이트)
- [3088] 상기 공정 12-2 에서 얻어진 화합물을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (12.4 mg) 을 얻었다.
- [3089] MS(ESI)_{m/z} : 934(M+H)⁺.
- [3090] (공정 14-1)
- [3091] 디나트륨 (5R, 7R, 8S, 12aR, 14R, 15R, 15aS, 16R)-7-{6-아미노-2-[(2-아미노에틸)아미노]-9H-푸린-9-일}-16-플루오로-15-하이드록시-2, 10-디옥소-14-(6, 7, 8, 9-테트라하이드로-2H-2, 3, 5, 6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5, 8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3, 2-1][1, 3, 6, 9, 11, 2, 10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2, 10-비스(티올레이트)
- [3092] (디아스테레오머 1)
- [3093] 상기 공정 13-1 에서 얻어진 화합물 (36.4 mg) 을 사용하여, 실시예 40 공정 5 와 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.
- [3094] [정제 조건] 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 2 % - 30 % (0 분 - 40 분)] 및 Sep-Pak (등록상표) C18 [물/아세토니트릴/0.1 % 트리에틸아민].
- [3095] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (21.0 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 790 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.26 (1H, brs), 8.01 (1H, s), 7.04 (1H, s), 6.27 (1H, d, J=4.8 Hz), 6.13 (1H, d, J=7.9 Hz), 5.69-5.50 (1H, m), 5.57 (1H, dd, J=53.5, 2.7 Hz), 5.14-5.10 (1H, m), 4.73 (1H, t, J=4.8 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 58.4 (s), 56.5 (s).

[3096]

[3097]

(공정 14-2)

[3098]

비스(N,N,N-트리부틸부탄-1-아미늄) (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{6-아미노-2-[(2-아미노에틸)아미노]-9H-푸린-9-일}-16-플루오로-15-하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스포시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[3099]

상기 공정 13-2 에서 얻어진 화합물 (29.5 mg) 을 사용하여, 실시예 40 공정 5 와 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물 (24.2 mg : 불순물 함유) 을 얻었다.

[3100]

[정제 조건] 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 2 % - 30 % (0 분 - 30 분)], Sep-Pak (등록상표) C18 [물/아세토니트릴/0.1 % 트리에틸아민], 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 10 % - 25 % (0 분 - 30 분)].

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.27 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.13 (1H, s), 6.32 (1H, d, J=6.0 Hz), 6.15 (1H, d, J=7.9 Hz), 5.63-5.51 (1H, m), 5.39-5.35 (1H, m), 5.30 (1H, dd, J=54.4, 3.6 Hz), 4.77 (1H, t, J=5.1 Hz), 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=7.3 Hz).

[3101]

[3102]

(공정 14-2')

[3103]

디나트륨 (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-{6-아미노-2-[(2-아미노에틸)아미노]-9H-푸린-9-일}-16-플루오로-15-하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스포시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[3104] (디아스테레오머 2)

[3105] 상기 공정 14-2 에서 얻어진 화합물 (19.0 mg : 불순물 함유) 을, 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 10 % - 25 % (0 분 - 30 분)] 로 정제하였다.

[3106] 얻어진 화합물을 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (8.4 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 790 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.27 (1H, s), 8.01 (1H, s), 7.12 (1H, s), 6.31 (1H, d, J=6.0 Hz), 6.15 (1H, d, J=8.5 Hz), 5.65-5.49 (1H, m), 5.38-5.34 (1H, m), 5.30 (1H, dd, J=55.0, 3.0 Hz), 4.77 (1H, dd, J=5.7, 4.5 Hz), 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).

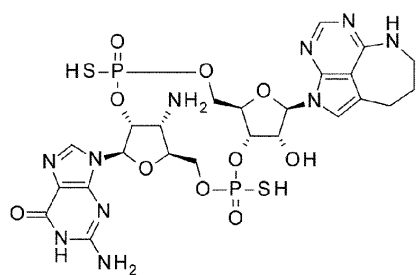
³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 62.6 (s), 59.5 (s).

[3107]

[3108] 실시예 53 : CDN43 의 합성

[3109] (5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-16-아미노-7-(2-아미노-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일)-15-하이드록시-2,10-비스(술폰닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라테신-2,10-디온

[3110] [화합식 198]



43

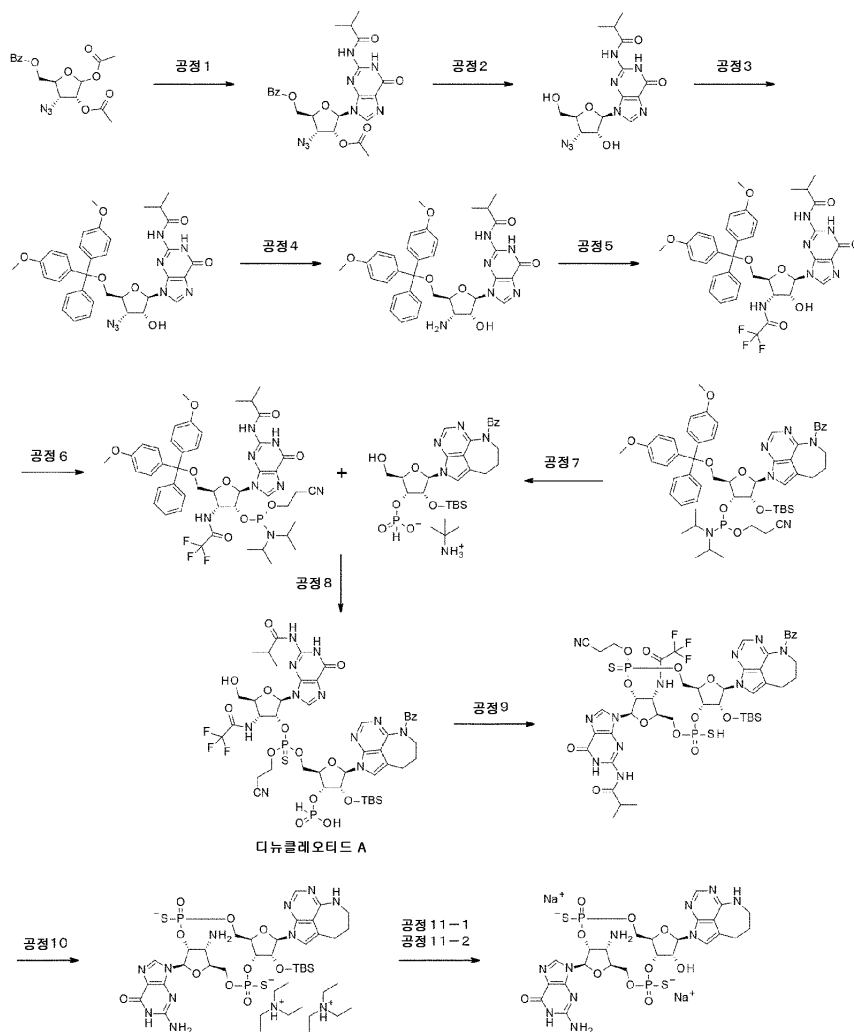
43a (디아스테레오머 1)

43b (디아스테레오머 2)

[3111]

[3112] [합성 스킴]

[3113] [화학적 199]



[3114]

[3115] (공정 1)

[3116] 2'-O-아세틸-3'-아지드-5'-O-벤조일-3'-데옥시-N-(2-메틸프로파노일)구아노신

[3117] 이미 알려진 문헌 (Recl. Trav. Chim. Pay-Bas 1986, 105, 85-91) 의 1,2-디-O-아세틸-3-아지드-5-O-벤조일-3-데옥시-D-리보푸라노스 (4.0 g) 의 아세트니트릴 (60 ml) 용액에, N2-이소부틸릴구아닌 (3.65 g) 과 N,O-비스 (트리메틸실릴)아세트아미드 (8.08 ml) 를 실온에서 첨가하고, 70 °C 에서 3 시간 교반하였다. 트리메틸실릴트리플루오로메탄술포네이트 (2.98 ml) 를 70 °C 에서 첨가하고, 동 온도에서 1 일간 교반하였다. 반응액을 냉각 후, 포화 탄산수소나트륨 수용액을 첨가하여 반응을 정지시키고, 아세트산에틸로 추출하였다. 유기층을 포화 식염수로 세정하고, 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (4.82 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=3.9\text{ Hz}$), 5.87 (1H, dd, $J=5.5, 3.9\text{ Hz}$), 5.10 (1H, dd, $J=11.7, 5.5\text{ Hz}$), 4.93 (1H, t, $J=5.9\text{ Hz}$), 4.66 (1H, dd, $J=11.7, 5.5\text{ Hz}$), 4.14 (1H, q, $J=7.2\text{ Hz}$), 2.77 (1H, m), 2.21 (3H, s), 1.31 (6H, m).

[3118]

[3119] (공정 2)

[3120] 3'-아지드-3'-데옥시-N-(2-메틸프로파노일)구아노신

[3121] 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (5.48 g) 의 테트라하이드로푸란 (64 ml) - 메탄올 (32 ml) 혼합 용액에, 5 M 수산화나트륨 (17 ml) 을 0 °C 에서 첨가하고, 15 분간 교반하였다. 반응액에 아세트산 (5.08 ml) 을 첨가하여 반응을 정지시키고, 반응액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [디클로로메탄/메탄올] 로 정제하고, 표제 화합물 (3.8 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ : 8.29 (1H, s), 5.97 (1H, d, $J=5.7\text{ Hz}$), 4.86 (1H, t, $J=5.3\text{ Hz}$), 4.29 (1H, t, $J=5.3\text{ Hz}$), 4.10 (1H, dt, $J=5.9, 2.4\text{ Hz}$), 3.87 (1H, dd, $J=12.1, 3.1\text{ Hz}$), 3.76 (1H, dd, $J=12.3, 3.3\text{ Hz}$), 2.74 (1H, m), 1.24 (6H, d, $J=6.7\text{ Hz}$).

[3122]

[3123] (공정 3)

[3124] 3'-아지드-5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-데옥시-N-(2-메틸프로파노일)구아노신

[3125] 상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (3.8 g) 을 사용하여, 실시예 11 공정 1 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (5.78 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 11.9 (1H, s), 7.68 (2H, d, $J=7.4\text{ Hz}$), 7.60 (1H, s), 7.57 (2H, d, $J=8.6\text{ Hz}$), 7.51 (2H, d, $J=8.6\text{ Hz}$), 7.39-7.18 (3H, m), 7.02 (1H, d, $J=4.7\text{ Hz}$), 6.95 (2H, d, $J=9.0\text{ Hz}$), 6.89 (2H, d, $J=9.0\text{ Hz}$), 5.84 (1H, m), 5.63 (1H, d, $J=7.8\text{ Hz}$), 4.58 (1H, dd, $J=6.7, 2.3\text{ Hz}$), 3.99 (1H, m), 3.83 (3H, s), 3.81 (3H, s), 3.63 (1H, dd, $J=11.0, 1.6\text{ Hz}$), 2.92 (1H, dd, $J=10.8, 2.5\text{ Hz}$), 0.91 (1H, m), 6.9 (3H, d, $J=6.7\text{ Hz}$), 0.21 (3H, d, $J=7.0\text{ Hz}$).

[3126]

[3127] (공정 4)

[3128] 3'-아미노-5'-0-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-데옥시-N-(2-메틸프로파노일)구아노신

[3129] 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (5.17 g) 의 메탄올 (60 ml) 용액에, 트리페닐포스핀 (3.98 g) 을 첨가하고, 실온에서 4 시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축하고, 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (2.22 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.77 (2H, d, $J=6.7\text{ Hz}$), 7.49-7.17 (8H, m), 6.86-6.77 (4H, m), 5.93 (1H, d, $J=2.7\text{ Hz}$), 5.85 (1H, d, $J=3.5\text{ Hz}$), 5.02 (1H, dd, $J=6.7, 2.7\text{ Hz}$), 4.74 (1H, m), 4.32 (1H, m), 4.06 (1H, m), 3.79 (3H, s), 3.78 (3H, s), 3.72 (1H, t, $J=5.9\text{ Hz}$), 3.49 (1H, dd, $J=10.4, 3.3\text{ Hz}$), 3.33 (1H, dd, $J=10.4, 3.7\text{ Hz}$), 2.26 (1H, m), 1.21-0.95 (6H, m).

[3130]

[3131] (공정 5)

[3132] 5'-0-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-데옥시-N-(2-메틸프로파노일)-3'-(2,2,2-트리플루오로아세트아미드)구아노신

[3133] 상기 공정 4 에서 얻어진 화합물 (2.22 g) 의 N,N-디메틸포름아미드 (20 ml) 용액에, 트리플루오로아세트산에틸 (4.0 ml) 을 첨가하고, 50 °C 에서 2 일간 교반하였다. 반응액을 냉각 후, 포화 탄산수소나트륨 수용액을 첨가하여 반응을 정지시키고, 아세트산에틸로 추출하였다. 유기층을 포화 식염수로 세정 후, 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [디클로로메탄/메탄올] 로 정제하고, 표제 화합물 (2.06 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 751 ($M+H$)⁺.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 12.0 (1H, brs), 7.81 (1H, brs), 7.65 (1H, s), 7.59 (2H, d, $J=7.4\text{ Hz}$), 7.47 (2H, d, $J=9.0\text{ Hz}$), 7.43 (2H, d, $J=8.6\text{ Hz}$), 7.27-7.18 (3H, m), 6.87 (2H, d, $J=9.0\text{ Hz}$), 6.82 (2H, d, $J=9.0\text{ Hz}$), 5.72 (1H, d, $J=6.3\text{ Hz}$), 5.67 (1H, m), 5.02 (1H, m), 4.33 (1H, m), 3.80 (3H, s), 3.78 (3H, s), 3.60 (1H, dd, $J=10.6, 1.6\text{ Hz}$), 3.29 (1H, dd, $J=10.6, 2.7\text{ Hz}$), 1.36 (1H, m), 0.82 (3H, d, $J=7.0\text{ Hz}$), 0.44 (3H, d, $J=6.7\text{ Hz}$).

[3134]

[3135] (공정 6)

[3136] 5'-0-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2'-0-[(2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스포닐]-3'-데옥시-N-(2-메틸프로파노일)-3'-(2,2,2-트리플루오로아세트아미드)구아노신

[3137] 상기 공정 5 에서 얻어진 화합물 (1.0 g) 을 사용하여, 실시예 5 공정 4 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (780 mg) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.

- [3138] (공정 7)
- [3139] 2-메틸프로판-2-아미늄 6-벤조일-2-{2-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3-O-[옥사이드(옥소)- λ^5 -포스포닐]- β -D-리보푸라노실]-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌
- [3140] 실시예 1 공정 6 에서 얻어진 화합물 (5.0 g) 의 아세토니트릴 (30 ml) 용액에, 물 (0.18 ml) 과 트리플루오로아세트산피리딘염 (1.2 g) 을 첨가하고, 실온에서 30 분간 교반하였다. 반응액에 tert-부틸아민 (30 ml) 을 첨가하고, 실온에서 30 분간 교반하였다. 반응액을 감압 농축 후, 잔류물을 아세토니트릴로 2 회 공비하였다. 잔류물의 디클로로메탄 (50 ml) 용액에 물 (0.88 ml) 과 디클로로아세트산 (3.2 ml) 의 디클로로메탄 (50 ml) 용액을 차례로 첨가하고, 실온에서 1 시간 교반하였다. 메탄올 (5 ml) 과 피리딘 (6.3 ml) 을 첨가하여 반응을 정지시킨 후, 반응액을 감압 농축하였다. 잔류물을 DIOL 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸 $\rightarrow$ 디클로로메탄/메탄올] 로 정제하고, 표제 화합물 (3.0 g) 을 얻었다.
- MS (ESI) m/z : 589 (M+H)⁺.
- ¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.01 (1H, s), 7.65 (1H, s), 7.44 (1H, m), 7.34-7.26 (4H, m), 7.02 (1H, d, J=639.3 Hz), 6.24 (1H, s), 4.89 (1H, m), 4.81 (1H, ddd, J=10.6, 5.1, 1.6 Hz), 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).
- [3141]
- [3142] (공정 8)
- [3143] 디뉴클레오타이드 A
- [3144] 상기 공정 7 에서 얻어진 화합물 (543 mg) 의 디클로로메탄 (6.0 ml) - 아세토니트릴 (6.0 ml) 혼합 용액에, 몰레큘러 시브스 3A, 1/16 (500 mg) 과 4,5-디시아노이미다졸 (126 mg) 을 첨가하고, 실온에서 15 분간 교반하였다. 반응액에 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (780 mg) 을 첨가하고, 5 시간 교반 후, N,N-디메틸-N'-(3-술파닐리덴-3H-1,2,4-디티아졸-5-일)메탄이미드아미드 (219 mg) 를 첨가하고, 추가로 2 시간 교반하였다. 반응액으로부터 몰레큘러 시브스 3A 를 여과 제거하고, 여과액에 포화 탄산수소나트륨 수용액을 첨가하고, 아세트산에틸로 추출하였다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조 후, 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하였다. 얻어진 화합물 (740 mg) 의 디클로로메탄 (6.0 ml) 용액에, 물 (0.086 ml) 과 디클로로아세트산 (0.158 ml) 의 디클로로메탄 (6.0 ml) 용액을 차례로 첨가하고, 실온에서 1.5 시간 교반하였다. 피리딘 (0.31 ml) 을 첨가하여 반응을 정지 후, 반응액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [디클로로메탄/메탄올] 로 정제하고, 표제 화합물 (520 mg) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.
- [3145] MS(ESI)m/z : 1168(M+H)⁺.
- [3146] (공정 9)
- [3147] N-{9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)-15-[[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시]-10-(2-시아노에톡시)-2-옥소-2-술파닐-10-술파닐리덴-16-(2,2,2-트리플루오로아세트아미드)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]헨타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-6-옥소-6,9-디하이드로-1H-푸린-2-일]-2-메틸프로판아미드
- [3148] 상기 공정 8 에서 얻어진 화합물 (270 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 9 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (110 mg) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.

- [3149] MS(ESI) m/z : 1182(M+H)⁺.
- [3150] (공정 10)
- [3151] 비스(N,N-디에틸에탄아민) (5S, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-16-아미노-7-(2-아미노-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일)-15-([tert-부틸(디메틸)실릴]옥시)-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5,8-메타노-2 λ^5 , 10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [3152] 상기 공정 9 에서 얻어진 화합물 (110 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 10 과 동일한 수법을 이용하여 반응을 실시하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (34.2 mg) 과 디아스테레오머 2 (19.3 mg) 를 얻었다.
- [3153] 디아스테레오머 1 (저극성)
- [3154] MS(ESI) m/z : 859(M+H)⁺.
- [3155] 디아스테레오머 2 (고극성)
- [3156] MS(ESI) m/z : 859(M+H)⁺.
- [3157] (공정 11-1)
- [3158] 디나트륨 (5S, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aS, 16R)-16-아미노-7-(2-아미노-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일)-15-하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5,8-메타노-2 λ^5 , 10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [3159] (디아스테레오머 1)
- [3160] 상기 공정 10 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (34.2 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴] 로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.
- [3161] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (8.9 mg) 을 얻었다.
- MS (ESI) m/z : 745 (M+H)⁺.
- ¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.01 (1H, s), 7.93 (1H, s), 7.01 (1H, s), 6.20 (1H, d, J=3.9 Hz), 6.01 (1H, d, J=8.6 Hz), 5.65 (1H, m), 5.19 (1H, dt, J=9.5, 4.0 Hz), 4.68 (1H, t, J=4.3 Hz), 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).
- ³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 58.0 (s), 54.3 (s).
- [3162]
- [3163] (공정 11-2)
- [3164] 디나트륨 (5S, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aS, 16R)-16-아미노-7-(2-아미노-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일)-15-하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5,8-메타노-2 λ^5 , 10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [3165] (디아스테레오머 2)

[3166] 상기 공정 10 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (19.3 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수
 법으로 반응을 실시한 후, C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니
 트릴] 로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.

[3167] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을
 실시하고, 표제 화합물 (5.6 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 745 (M+H)⁺.

¹H-NMR (DMSO-d₆) 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), 6.16 (2H, t, J=8.2 Hz), 5.57 (1H, q, J=8.0 Hz), 5.25 (1H, dd, J=7.8, 4.3 Hz), 4.61 (1H, dd, J=7.6, 4.5 Hz), 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).

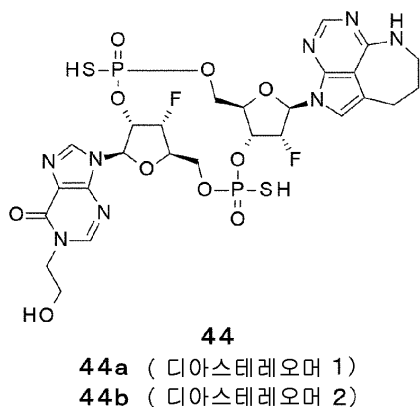
³¹P-NMR (DMSO-d₆) δ : 60.3 (s), 58.3 (s).

[3168]

[3169] 실시예 54 : CDN44 의 합성

[3170] (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-디플루오로-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-비스(술팜닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스포시클로테트라데신-2,10-디온

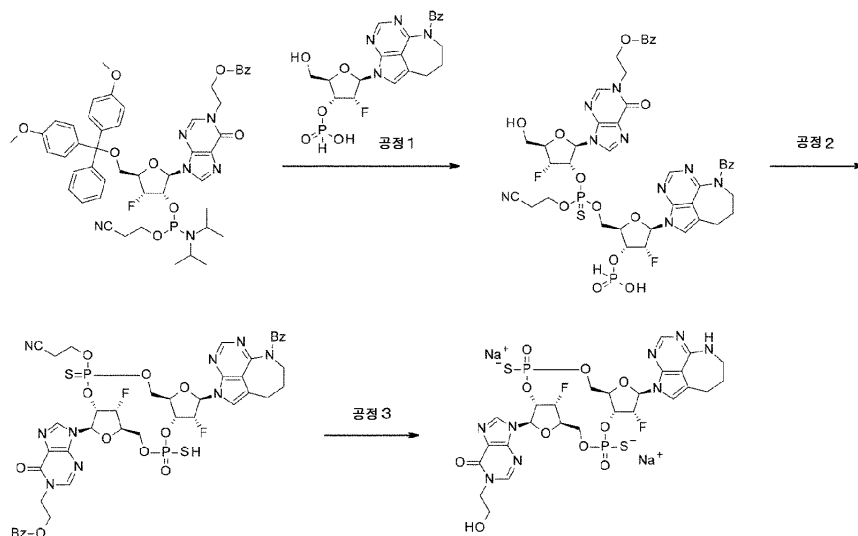
[3171] [화학식 200]



[3172]

[3173] [합성 스킴]

[3174] [화학식 201]



[3175]

[3176] (공정 1)

[3177] 실시예 44 공정 8 에서 얻어진 화합물 (636 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 7 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 6-벤조일-2-{2-데옥시-2-플루오로-3-O-[하이드록시(옥소)-λ⁵-포스파닐]-β-D-리보푸라노실}-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌의 아세트니트릴 용액을 얻었다. 얻어진 아세트니트릴 용액과 실시예 49 공정 7 에서 얻어진 화합물 (640 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 8 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 얻어진 미정제 생성물을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.

[3178] (공정 2)

[3179] 2-{9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)-10-(2-시아노에톡시)-15,16-디플루오로-2-옥소-2-술폰닐-10-술폰닐리텐옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-6-옥소-6,9-디하이드로-1H-푸린-1-일}에틸벤조에이트

[3180] 상기 공정 1 에서 얻어진 미정제 생성물을 사용하여, 실시예 1 공정 9 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (228 mg : 불순물 함유) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.

[3181] MS(ESI)_{m/z} : 1040(M+H)⁺.

[3182] (공정 3)

[3183] 디나트륨 (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-디플루오로-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[3184] 상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (228 mg) 을 메탄올 (5 ml) 과 28 % 암모니아 수용액 (5 ml) 에 용해하고, 60 °C 에서 12 시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축 후, C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산 트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴], 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 5 % - 30 % (0 분 - 40 분)], 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴 - 메탄올 용액 (1 : 1), 아세트니트릴 - 메탄올 용액 (1 : 1) : 7 % - 50 % (0 분 - 40 분)] 로 차례로 정제하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 과 디아스테레오머 2 를 각각 트리에틸아민염으로서 얻었다 (HPLC 의 유지 시간 : 디아스테레오머 1 > 2).

[3185] 얻어진 트리에틸아민염을 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (12.5 mg) 과 디아스테레오머 2 (15.8 mg) 를 얻었다.

[3186] 디아스테레오머 1 (저극성)

MS (ESI) m/z : 779 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.63 (1H, s), 8.16 (1H, s), 8.03 (1H, s), 7.08 (1H, s), 6.47 (1H, dd, J=17.5, 1.8 Hz), 6.27 (1H, d, J=7.9 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 57.5 (s), 55.0 (s).

[3187]

[3188] 디아스테레오머 2 (고극성)

MS (ESI) m/z : 779 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.69 (1H, s), 8.21 (1H, s), 8.03 (1H, s), 7.25 (1H, s), 6.49 (1H, dd, J=15.1, 3.0 Hz), 6.28 (1H, d, J=9.1 Hz), 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).

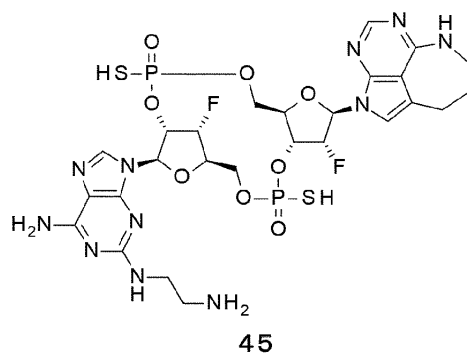
³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 60.7 (s), 57.4 (s).

[3189]

[3190] 실시예 55 : CDN45 의 합성

[3191] (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{6-아미노-2-[(2-아미노에틸)아미노]-9H-푸린-9-일}-15,16-디플루오로-2,10-비스(술포닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라테신-2,10-디온

[3192] [화학식 202]



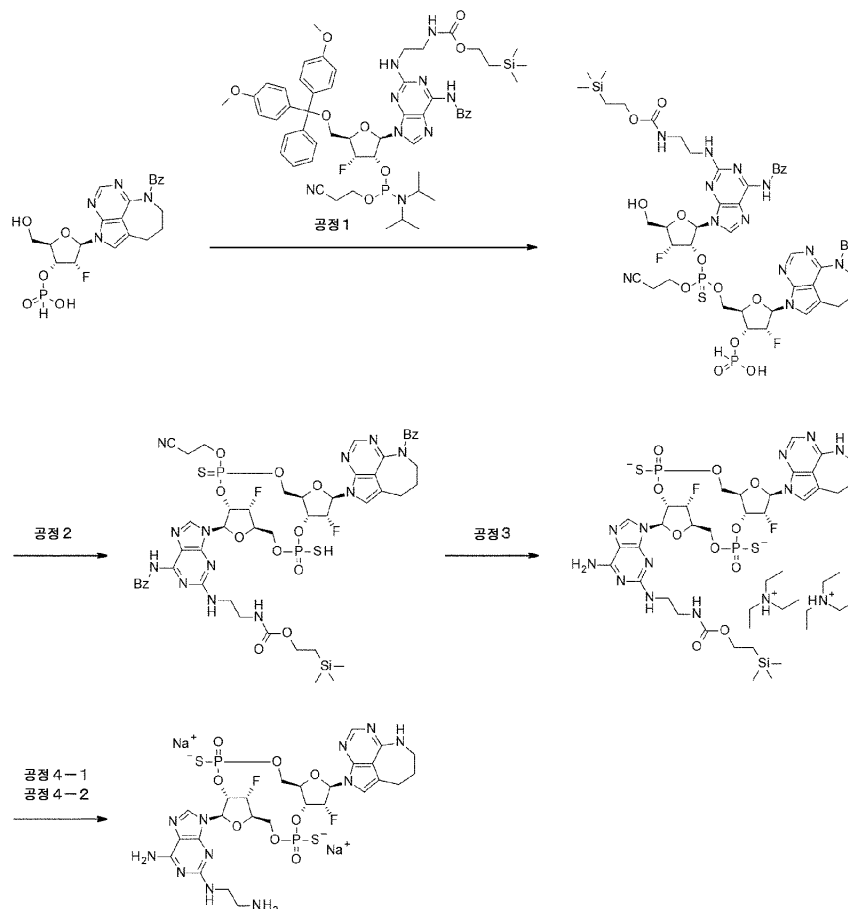
45a (디아스테레오머 1)

45b (디아스테레오머 2)

[3193]

[3194] [합성 스킴]

[3195] [화합식 203]



[3196]

[3197] (공정 1)

[3198] 실시예 44 공정 8 에서 얻어진 화합물 (696 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 7 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 6-벤조일-2-((2-데옥시-2-플루오로-3-O-[[하이드록시(옥소)-λ⁵-포스포닐]-β-D-리보푸라노실]-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌의 아세트니트릴 용액을 얻었다. 얻어진 아세트니트릴 용액과 실시예 52 공정 10 에서 얻어진 화합물 (738 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 8 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 얻어진 미정제 생성물을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.

[3199] (공정 2)

[3200] 2-(트리메틸실릴)에틸 [2-((6-벤즈아미드-9-((5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)-10-(2-시아노에톡시)-15,16-디플루오로-2-옥소-2-술팜닐-10-술팜닐리덴옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일)-9H-푸린-2-일)아미노)에틸]카르바메이트

[3201] 상기 공정 1 에서 얻어진 혼합물을 사용하여, 실시예 1 공정 9 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물을 포함하는 혼합물 (1.31 g) 을 얻었다. 얻어진 혼합물은 그대로 다음의 반응에 사용하였다.

[3202] MS(ESI)m/z : 1195(M-H)⁻.

[3203] (공정 3)

[3204] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄)

(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-아미노-2-([2-((2-(트리메틸실릴)에톡시)카르보닐)아미노)에틸]아미노)-9H-푸린-9-일)-15,16-디플루오로-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[c

d)아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[3205] 상기 공정 2 에서 얻어진 혼합물 (1.31 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 10 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (249 mg : 불순물 함유) 과 디아스테레오머 2 (344 mg : 불순물 함유) 를 각각 얻었다.

[3206] 디아스테레오머 1 (저극성)

[3207] MS(ESI)m/z : 936(M+H)⁺.

[3208] 디아스테레오머 2 (고극성)

[3209] MS(ESI)m/z : 936(M+H)⁺.

[3210] (공정 4-1)

[3211] 디나트륨 (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{6-아미노-2-[(2-아미노에틸)아미노]-9H-푸린-9-일}-15,16-디플루오로-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[3212] (디아스테레오머 1)

[3213] 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (249 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 40 공정 5 와 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.

[3214] [정제 조건] 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 10 % - 40 % (0 분 - 30 분)] 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 0 % - 30 % (0 분 - 30 분)].

[3215] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (9.2 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 792 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.17 (1H, brs), 8.01 (1H, s), 7.01 (1H, s), 6.45 (1H, d, J=17.5 Hz), 6.07 (1H, d, J=8.5 Hz), 5.84-5.64 (1H, m), 5.61 (1H, dd, J=53.5, 3.3 Hz), 5.40 (1H, dd, J=52.0, 4.2 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 57.3 (s), 54.8 (s).

[3216]

[3217] (공정 4-2)

[3218] 디나트륨 (5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{6-아미노-2-[(2-아미노에틸)아미노]-9H-푸린-9-일}-15,16-디플루오로-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[3219] (디아스테레오머 2)

[3220] 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (344 mg : 불순물 포함한다) 을 사용하여, 실시예 40 공정 5 와 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.

[3221] [정제 조건] 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 10 % - 40 % (0 분 - 30 분)] 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 10 % - 30 % (0 분 - 30 분)].

[3222] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (4.7 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 792 (M+H) ⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.05 (1H, brs), 8.01 (1H, s), 7.35 (1H, s), 6.50 (1H, d, J=16.3 Hz), 6.06 (1H, d, J=8.5 Hz), 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).

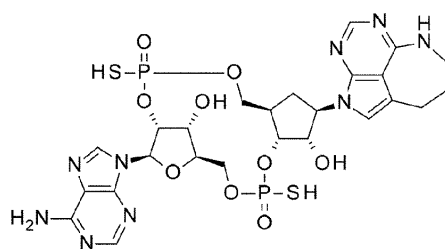
³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 58.4 (brs), 57.6 (s).

[3223]

[3224] 실시예 56 : CDN46 의 합성

[3225] (5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16R)-7-(6-아미노-9H-푸린-9-일)-15,16-디하이드록시-2,10-비스(술폰닐)-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)데카하이드로-2H,10H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-시클로펜타[1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

[3226] [화학식 204]



46

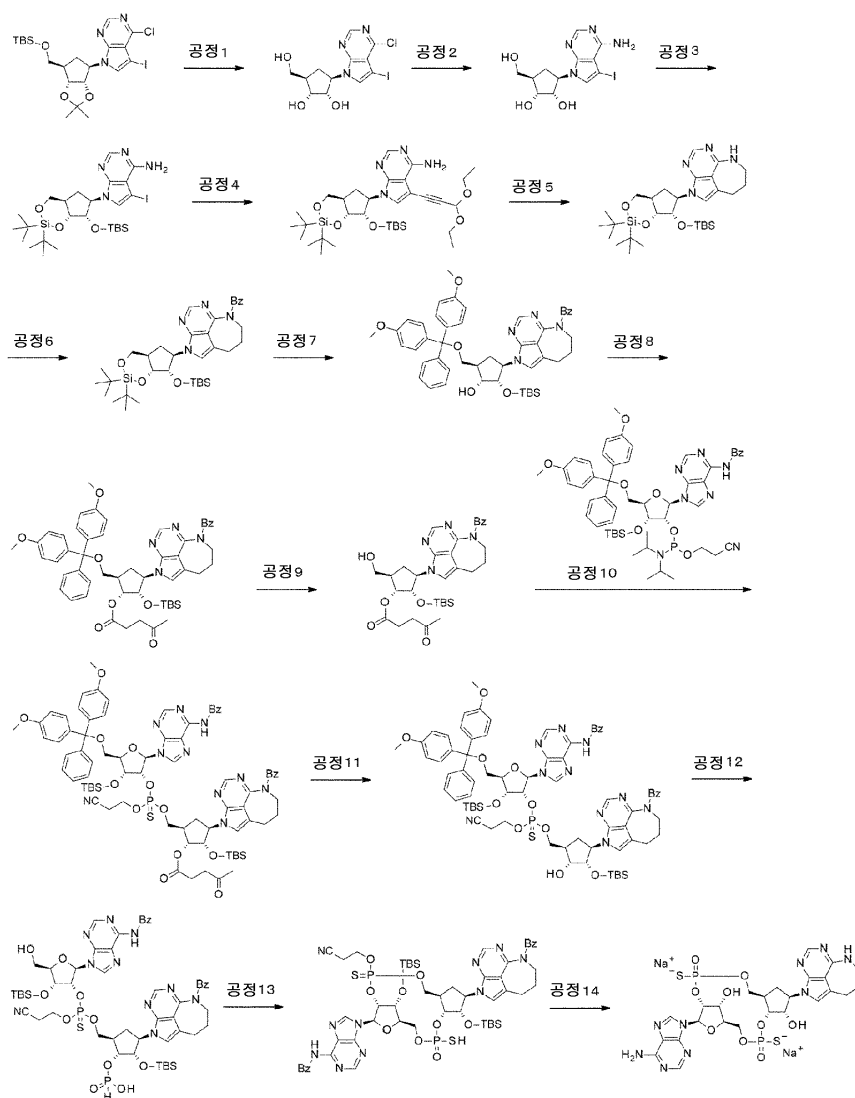
46a (디아스테레오머 1)

46b (디아스테레오머 2)

[3227]

[3228] [합성 스킴]

[3229] [화학식 205]



[3230]

[3231] (공정 1)

[3232] (1R,2S,3R,5R)-3-(4-클로로-5-요오드-7H-피콜로[2,3-d]피리미딘-7-일)-5-(하이드록시메틸)시클로헥탄-1,2-디올

[3233] 이미 알려진 문헌 (W02015/199136) 의 7-[(3aS,4R,6R,6aR)-6-({[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}메틸)-2,2-디메틸 테트라하이드로-2H,3aH-시클로헥타[d][1,3]디옥솔-4-일]-4-클로로-5-요오드-7H-피콜로[2,3-d]피리미딘 (6.0 g) 에, 트리플루오로아세트산 (36 ml) 과 물 (12 ml) 을 차례로 첨가하고, 실온에서 3 시간 교반하였다. 반응 액을 감압 농축하고, 표제 화합물의 미정제체를 얻었다. 얻어진 미정제 생성물을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.

[3234] (공정 2)

[3235] (1R,2S,3R,5R)-3-(4-아미노-5-요오드-7H-피콜로[2,3-d]피리미딘-7-일)-5-(하이드록시메틸)시클로헥탄-1,2-디올

[3236] 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (4.4 g) 의 1,4-디옥산 (40 ml) 용액에, 28 % 암모니아수 (40 ml) 를 첨가하고, 90 °C 에서 72 시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축 후, 잔류물을 C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [물/메탄올] 로 정제하고, 표제 화합물 (3.4 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ : 8.07 (1H, s), 7.56 (1H, s), 6.57 (1H, brs), 4.89 (1H, dd, $J=19.2, 8.6\text{ Hz}$), 4.79 (1H, d, $J=6.7\text{ Hz}$), 4.70 (1H, t, $J=5.3\text{ Hz}$), 4.59 (1H, d, $J=4.3\text{ Hz}$), 4.15 (1H, m), 3.78 (1H, m), 3.45 (2H, m), 2.14 (1H, m), 2.03 (1H, m), 1.48 (1H, m).

[3237]

[3238] (공정 3)

[3239] 7-[(4aR,6R,7S,7aR)-2,2-디-tert-부틸-7-{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}헥사하이드로-2H-시클로펜타[d][1,3,2]디옥사실린-6-일]-5-요오드-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-아민

[3240] 상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (3.3 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 1 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (4.6 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 8.27 (1H, s), 7.00 (1H, s), 5.69 (1H, brs), 4.92 (1H, dt, $J=9.0, 1.2\text{ Hz}$), 4.32 (3H, m), 3.98 (1H, t, $J=10.8\text{ Hz}$), 2.58 (1H, m), 2.26 (1H, m), 1.74 (1H, brs), 1.49 (1H, dt, $J=12.5, 8.6\text{ Hz}$), 1.13 (9H, s), 1.09 (9H, s), 0.86 (9H, s), 0.06 (3H, s), 0.00 (3H, s).

[3241]

[3242] (공정 4)

[3243] 7-[(4aR,6R,7S,7aR)-2,2-디-tert-부틸-7-{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}헥사하이드로-2H-시클로펜타[d][1,3,2]디옥사실린-6-일]-5-(3,3-디에톡시프로파-1-인-1-일)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-아민

[3244] 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (4.6 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 2 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (3.6 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 8.30 (1H, s), 7.15 (1H, s), 5.61 (1H, brs), 5.55 (1H, s), 4.90 (1H, dt, $J=9.0, 1.2\text{ Hz}$), 4.32 (3H, m), 3.97 (1H, t, $J=10.8\text{ Hz}$), 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, $J=7.0\text{ Hz}$), 1.13 (9H, s), 1.09 (9H, s), 0.86 (9H, s), 0.05 (3H, s), 0.04 (3H, s).

[3245]

[3246] (공정 5)

[3247] 2-[(4aR,6R,7S,7aR)-2,2-디-tert-부틸-7-{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}헥사하이드로-2H-시클로펜타[d][1,3,2]디옥사실린-6-일]-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌

[3248] 상기 공정 4 에서 얻어진 화합물 (3.60 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 3 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (2.44 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 589 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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=10.8 Hz), 3.57 (2H, m), 2.93 (2H, t, J=5.5 Hz), 2.58 (1H, m), 2.27 (1H, m), 2.09 (1H, m), 1.46 (1H, dt, J=12.5, 8.6 Hz), 1.29 (1H, m), 1.12 (9H, s), 1.08 (9H, s), 0.86 (9H, s), 0.04 (3H, s), 0.03 (3H, s).

[3249]

[3250] (공정 6)

[3251] {2-[(4aR,6R,7S,7aR)-2,2-di-tert-butyl-7-[[tert-butyl(dimethyl)silyl]oxy]hexahydro-2H-siklo헨타[d][1,3,2]디옥사실린-6-일]-2,7,8,9-테트라하이드로-6H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-6-일}(페닐)메타논

[3252] 상기 공정 5 에서 얻어진 화합물 (2.44 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 4 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (2.01 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 663 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 8.12 (1H, s), 7.42-7.25 (5H, m), 6.97 (1H, s), 5.04 (1H, t, J=9.0 Hz), 4.44 (1H, m), 4.38 (1H, dd, J=10.0, 4.9 Hz), 4.33-4.23 (3H, m), 4.00 (1H, t, J=10.8 Hz), 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).

[3253]

[3254] (공정 7)

[3255] {2-[(1R,2S,3R,4R)-4-{비스(4-메톡시페닐)(페닐)메톡시}메틸]-2-[[tert-butyl(dimethyl)silyl]oxy]-3-하이드록시시클로헨틸]-2,7,8,9-테트라하이드로-6H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-6-일}(페닐)메타논

[3256] 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (2.01 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 5 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (2.13 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=8.6$, 5.1 Hz), 4.29 (2H, m), 3.99 (1H, m), 3.79 (6H, s), 3.33 (1H, dd, $J=9.4$, 3.9 Hz), 3.22 (1H, dd, $J=9.2$, 4.1 Hz), 2.97 (2H, t, $J=6.5$ Hz), 2.68 (1H, d, $J=1.6$ Hz), 2.37–2.18 (5H, m), 0.73 (9H, s), –0.18 (3H, s), –0.47 (3H, s).

[3257]

[3258] (공정 8)

[3259] (1R,2S,3R,5R)-3-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)-5-{[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메톡시]메틸}-2-{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}시클로펜틸 4-옥소펜타노에이트

[3260] 레볼린산 (2.96 g) 의 테트로하이드로푸란 (20 ml) 용액에, N,N-디시클로헥실카르보디이미드 (2.63 g) 를 첨가하고, 실온에서 12 시간 교반하였다. 석출물을 여과 제거한 후, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물의 디클로로메탄 (20 ml) 용액에, 상기 공정 7 에서 얻어진 화합물 (2.10 g) 과 4-디메틸아미노피리딘 (155 mg) 을 첨가하고, 실온에서 1 시간 교반하였다. 반응액에 포화 탄산수소나트륨 수용액을 첨가하여 반응을 정지 후, 아세트산에틸로 추출하고, 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (2.35 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=5.1$, 2.0 Hz), 5.06 (1H, q, $J=9.0$ Hz), 4.61 (1H, dd, $J=8.8$, 4.9 Hz), 4.28 (2H, m), 3.79 (6H, s), 3.39 (1H, dd, $J=9.2$, 3.7 Hz), 3.19 (1H, dd, $J=9.4$, 3.9 Hz), 3.00–1.85 (14H, m), 0.64 (9H, s), –0.13 (3H, s), –0.45 (3H, s).

[3261]

[3262] (공정 9)

[3263] (1R,2S,3R,5R)-3-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)-2-{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-5-(하이드록시메틸)시클로펜틸-4-옥소펜타노에이트

[3264] 상기 공정 8 에서 얻어진 화합물 (2.35 g) 의 디클로로메탄 (25 ml) 용액에, 물 (0.24 ml) 과 디클로로아세트산 (1.05 ml) 의 디클로로메탄 (25 ml) 용액을 차례로 첨가하고, 실온에서 1 시간 교반하였다. 반응액에 메탄올 (1.0 ml) 과 포화 탄산수소나트륨 수용액을 첨가하여 반응을 정지시킨 후, 아세트산에틸로 추출하고, 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (1.15 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 621 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 8.05 (1H, s), 7.38-7.17 (5H, m), 7.04 (1H, s), 5.19 (1H, dd, J=4.5, 1.4 Hz), 4.82-4.69 (2H, m), 4.47 (1H, dd, J=14.5, 7.4 Hz), 4.31 (1H, d, J=7.8 Hz), 4.15-4.08 (1H, m), 3.83 (1H, m), 3.75 (1H, d, J=10.8 Hz), 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).

[3265]

[3266] (공정 10)

[3267] N-벤조일-2'-O-[(1R,2R,3S,4R)-4-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)-3-{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-2-[(4-옥소펜타노일)옥시]시클로펜틸]메톡시(2-시아노에톡시)포스포로티오일]-5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]아데노신

[3268] 상기 공정 9 에서 얻어진 화합물 (550 mg) 의 아세트니트릴 (12 ml) 용액에, 분자량 시브스 3A, 1/16 (500 mg) 과 N-벤조일-5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-2'-O-[(2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스포닐]아데노신 (1.23 g) 을 첨가하고, 실온에서 15 분 교반하였다. 반응액에 4,5-디시아노이미다졸을 첨가하여 1 시간 교반 후, 3H-1,2-벤조티올-3-온 1,1-디옥사이드 (355 mg) 를 첨가하고, 추가로 1 시간 교반하였다. 반응액으로부터 분자량 시브스 3A 를 여과 제거하고, 여과액에 포화 탄산수소나트륨 수용액을 첨가하고, 아세트산에틸로 추출하였다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조 후, 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (1.17 g) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.

[3269] MS(ESI) m/z : 1539(M+H)⁺.

[3270] (공정 11)

[3271] N-벤조일-2'-O-[(1R,2R,3S,4R)-4-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)-3-{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-2-하이드록시시클로펜틸]메톡시(2-시아노에톡시)포스포로티오일]-5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]아데노신

[3272] 상기 공정 10 에서 얻어진 화합물 (1.22 g) 의 아세트니트릴 (2.0 ml) 용액에, 하이드라진 1수화물 (0.25 ml) 의 아세트산 (5.0 ml) - 피리딘 (7.5 ml) 혼합 용액을 첨가하고, 실온에서 30 분 교반하였다. 반응액에 물을 첨가하여 반응을 정지시킨 후, 아세트산에틸로 추출하고, 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (770 mg) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.

[3273] MS(ESI) m/z : 1442(M+H)⁺.

[3274] (공정 12)

[3275] N-벤조일-2'-O-[(1R,2R,3S,4R)-4-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)-3-{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-2-[[하이드록시(옥소)- λ^5 -포스포닐]옥시]시클로펜틸]메톡시(2-시아노에톡시)포스포로티오일]-3'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]아데노신

[3276] 상기 공정 11 에서 얻어진 화합물 (770 mg) 의 피리딘 (8.0 ml) 용액에, 아인산디페닐 (0.61 ml) 을 첨가하고, 실온에서 2 시간 교반하였다. 반응액에 물 (20 ml), 아세트니트릴 (8.0 ml), 및 아세트산트리에틸암모늄 수용액 (2 M, 1.6 ml) 을 첨가하고, 1 시간 교반 후, 반응액을 감압 농축하였다. 잔류물의 디클로로메탄 (5.0 ml) 용액에, 물 (0.096 ml) 과 디클로로아세트산 (0.22 ml) 의 디클로로메탄 (5.0 ml) 용액을 차례로 첨가하고,

30 분간 교반하였다. 피리딘 (0.43 ml) 을 첨가하여 반응을 정지시킨 후, 반응액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (400 mg) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.

[3277] MS(ESI) m/z : 1203(M+H)⁺.

[3278] (공정 13)

[3279] N-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[c,d]아줄렌-2-일)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-10-(2-시아노에톡시)-2-옥소-2-술폰닐-10-술폰닐리덴데카하이드로-2H,10H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-시클로펜타[1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-9H-푸린-6-일}벤즈아미드

[3280] 상기 공정 12 에서 얻어진 화합물 (400 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 9 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (300 mg) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.

[3281] MS(ESI) m/z : 1217(M+H)⁺.

[3282] (공정 14)

[3283] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16R)-7-(6-아미노-9H-푸린-9-일)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)데카하이드로-2H,10H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-시클로펜타[1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[3284] 상기 공정 13 에서 얻어진 화합물 (300 mg) 의 메탄올 (10 ml) 용액에, 28 % 암모니아수 (10 ml) 를 첨가하고, 실온에서 12 시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축 후, 잔류물에 트리에틸아민3불화수소산염 (3.0 ml) 을 첨가하고, 45 °C 에서 2 시간 교반하였다. 빙랭한 1 M 탄산수소트리에틸암모늄 용액 (18 ml) - 트리에틸아민 (6.0 ml) 혼합 용액에 반응액을 적하하여 반응을 정지시켰다. 반응액을 감압 농축 후, C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴] 로 정제하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 과 디아스테레오머 2 를 각각 트리에틸아민염으로서 얻었다.

[3285] 얻어진 트리에틸아민염을 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (45.6 mg) 과 디아스테레오머 2 (12.6 mg) 를 얻었다.

[3286] 디아스테레오머 1 (저극성)

MS (ESI) m/z : 728 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.69 (1H, s), 8.10 (1H, s), 7.93 (1H, s), 7.10 (1H, s), 6.29 (1H, d, J=8.2 Hz), 5.38 (1H, dq, J=9.7, 2.7 Hz), 4.99 (2H, m), 4.79 (1H, d, J=3.9 Hz), 4.61 (1H, dd, J=7.2, 4.9 Hz), 4.36 (1H, m), 4.29 (1H, m), 4.19 (1H, m), 3.99 (1H, m), 3.89 (1H, q, J=9.9 Hz), 3.47 (2H, t, J=4.9 Hz), 2.80 (2H, q, J=5.7 Hz), 2.72 (1H, m), 2.37 (1H, dt, J=16.4, 6.7 Hz), 1.94 (2H, m), 1.61 (1H, dt, J=16.4, 6.7 Hz).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 58.3 (s), 54.0 (s).

[3287]

[3288] 디아스테레오머 2 (고극성)

MS (ESI) m/z : 728 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.74 (1H, s), 8.10 (1H, s), 7.95 (1H, s), 7.09 (1H, s), 6.26 (1H, d, J=8.6 Hz), 5.44 (1H, m), 5.24 (1H, m), 5.06 (1H, q, J=9.3 Hz), 4.59 (1H, dd, J=9.4, 4.3 Hz), 4.51 (1H, d, J=4.3 Hz), 4.34-4.21 (3H, m), 3.94 (1H, m), 3.74 (1H, m), 3.47 (2H, m), 2.85 (2H, t, J=5.5 Hz), 2.54 (1H, m), 2.45 (1H, dt, J=17.1, 6.7 Hz), 1.95 (2H, m), 1.38 (1H, ddd, J=14.6, 8.3, 5.0 Hz).

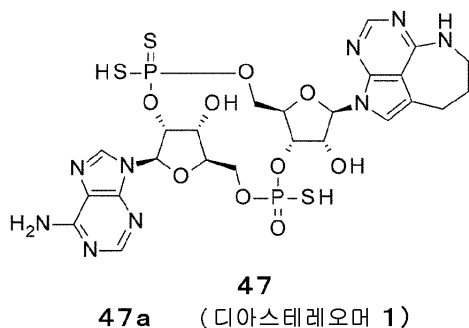
³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 62.7 (s), 60.1 (s).

[3289]

[3290] 실시예 57 : CDN47 의 합성

[3291] (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-아미노-9H-푸린-9-일)-15,16-디하이드록시-2,10-비스(술폰닐)-10-술폰닐리덴-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2-온

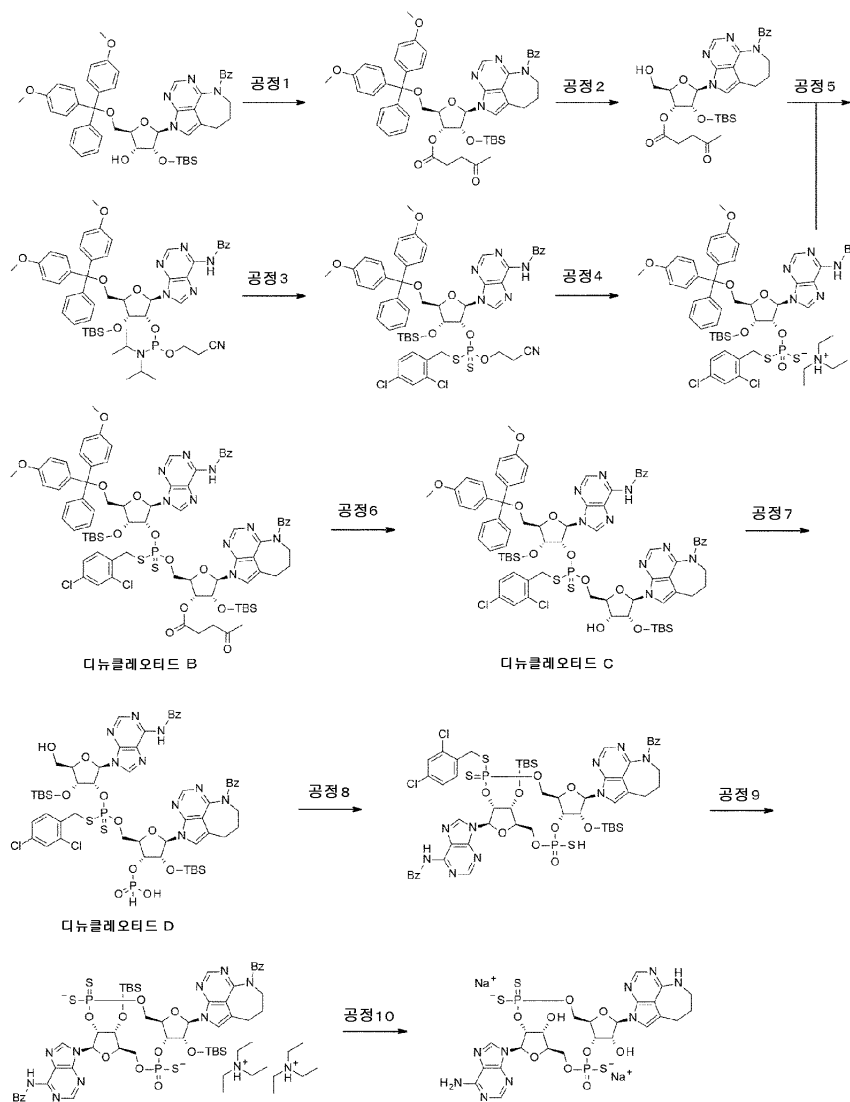
[3292] [화학식 206]



[3293]

[3294] [합성 스킴]

[3295] [화학적 207]



[3296]

[3297] (공정 1)

[3298] 6-벤조일-2-{5-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3-O-(4-옥소펜타노일)-β-D-리보푸라노실]-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌

[3299] 실시예 1 공정 5 에서 얻어진 화합물을 사용하여, 실시예 56 공정 8 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (2.8 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 8.08 (1H, s), 7.48-7.19 (15H, m), 6.37 (4H, d, $J=6.7\text{ Hz}$), 5.48 (1H, dd, $J=5.1, 2.3\text{ Hz}$), 4.83 (1H, dd, $J=6.7, 5.1\text{ Hz}$), 4.37-4.00 (3H, m), 3.80 (3H, s), 3.79 (3H, s), 3.69 (1H, m), 3.54 (1H, dd, $J=10.6, 2.7\text{ Hz}$), 3.39 (1H, dd, $J=11.0, 2.7\text{ Hz}$), 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).

[3300]

- [3301] (공정 2)
- [3302] 6-벤조일-2-{2-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-3-O-(4-옥소펜타노일)-β-D-리보푸라노실}-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌
- [3303] 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (2.8 g) 을 사용하여, 실시예 56 공정 9 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (1.74 g) 을 얻었다.
- $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 8.06 (1H, s), 7.38–7.20 (5H, m), 7.04 (1H, s), 6.32 (1H, dd, $J=12.1$, 1.6 Hz), 5.64 (1H, d, $J=7.8$ Hz), 5.47 (1H, d, $J=5.1$ Hz), 5.16 (1H, dd, $J=7.8$, 5.1 Hz), 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).
- [3304]
- [3305] (공정 3)
- [3306] N-벤조일-5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-2'-O-[(2-시아노에톡시){[(2,4-디클로로페닐)메틸]술폰}]포스포로티오일]아데노신
- [3307] 시판 (ChemGenes) 되는 N-벤조일-5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-2'-O-[(2-시아노에톡시){[(2,4-디클로로페닐)메틸]술폰}]아데노신 (3.73 g) 의 아세트니트릴 (30 ml) 용액에, 분자칼러 시브스 3A, 1/16 (1.0 g) 과 2,4-디클로로벤질메르캅탄 (1.8 ml) 을 첨가하고, 실온에서 10 분간 교반하였다. 반응액에 이미다졸과 염소산염 (3.18 g) 을 첨가하여 2.5 시간 교반 후, 황 (242 mg) 을 첨가하고, 추가로 1 시간 교반하였다. 반응액으로부터 분자칼러 시브스 3A 를 여과 제거하고, 여과액에 포화 탄산수소나트륨 수용액을 첨가하고, 아세트산에틸로 추출하였다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조 후, 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (2.73 g) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.

MS (ESI) m/z : 1111 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 8.89 (1H, s), 8.74 (1H, d, J=1.8 Hz), 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=6.7 Hz), 6.38 (0.5H, d, J=6.3 Hz), 5.88 (0.5H, ddd, J=14.2, 6.6, 4.8 Hz), 5.74 (0.5H, ddd, J=14.4, 6.4, 4.8 Hz), 4.75 (0.5H, dd, J=4.7, 2.7 Hz), 4.64 (0.5H, dd, J=4.7, 2.3 Hz), 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=6.3 Hz), 2.48 (1H, t, J=6.3 Hz), 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).

[3308]

[3309] (공정 4)

[3310] N,N-디에틸에탄아미늄 N-벤조일-5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-2'-O-[[[(2,4-디클로로페닐)메틸]술폰아이드}(술폰아이드)포스포릴]아데노신

[3311] 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (2.66 g) 의 아세트니트릴 (30 ml) 용액에, 트리에틸아민 (30 ml) 을 첨가하고, 실온에서 4 시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축하고, 잔류물을 DIOL 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (2.5 g) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.

[3312] MS(ESI) m/z : 1058(M+H)⁺.

[3313] (공정 5)

[3314] 디뉴클레오타이드 B

[3315] 상기 공정 4 에서 얻어진 화합물 (2.5 g) 의 디클로로메탄 (10 ml) 용액에, 몰레큘러 시브스 4A, 1/16 (1.0 g), 상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (930 mg), 및 1-메틸이미다졸 (1.18 ml) 을 차례로 첨가하고, 실온에서 20 분 간 교반하였다. 반응액에 2,4,6-트라이소프로필벤젠술폰포닐클로라이드 (905 mg) 를 첨가하고, 추가로 4 시간 교반하였다. 반응액으로부터 몰레큘러 시브스 4A 를 여과 제거하고, 여과액에 포화 탄산수소나트륨 수용액을 첨가하고, 아세트산에틸로 추출하였다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조 후, 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (1.04 g) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.

[3316] MS(ESI) m/z : 1662(M+H)⁺.

[3317] (공정 6)

[3318] 디뉴클레오타이드 C

[3319] 상기 공정 5 에서 얻어진 화합물 (1.04 g) 을 사용하여, 실시예 56 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (820 mg) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.

[3320] MS(ESI) m/z : 1564(M+H)⁺.

- [3321] (공정 7)
- [3322] 디뉴클레오타이드 D
- [3323] 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (820 mg) 을 사용하여, 실시예 56 공정 12 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (440 mg) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.
- [3324] (공정 8)
- [3325] N-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-10-{[(2,4-디클로로페닐)메틸]술팜닐}-2-옥소-2-술팜닐-10-술팜닐리텐옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-9H-푸린-6-일}벤즈아미드
- [3326] 상기 공정 7 에서 얻어진 화합물 (440 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 9 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (360 mg) 을 얻었다.
- [3327] MS(ESI)m/z : 1340(M+H)⁺.
- [3328] (공정 9)
- [3329] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-벤즈아미드-9H-푸린-9-일)-14-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)-15,16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-2-옥소-10-술팜닐리텐옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [3330] 상기 공정 8 에서 얻어진 화합물 (360 mg) 의 디메틸숯폭시드 용액에, 1-도데칸티올 (434 mg) 과 1,8-디아자비시클로[5.4.0]-7-운데센 (0.40 mL) 을 첨가하고, 실온에서 6 시간 교반하였다. 반응액을 그대로 C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴] 로 정제하고, 표제 화합물 (130 mg) 을 얻었다.
- [3331] MS(ESI)m/z : 1182(M+H)⁺.
- [3332] (공정 10)
- [3333] 디나트륨 (2S,5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-아미노-9H-푸린-9-일)-15,16-디하이드록시-2-옥소-10-술팜닐리텐-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [3334] 상기 공정 9 에서 얻어진 화합물 (130 mg) 을 사용하여, 실시예 56 공정 14 와 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴] 로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.
- [3335] 얻어진 트리에틸아민염을 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (62.8 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 746 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.70 (1H, s), 8.07 (1H, s), 8.03 (1H, s), 7.25 (1H, s), 6.26 (1H, d, J=8.6 Hz), 6.21 (1H, d, J=5.9 Hz), 5.52 (1H, dq, J=14.1, 5.2 Hz), 5.36 (1H, m), 4.70 (1H, dd, J=5.7, 4.5 Hz), 4.42 (1H, d, J=4.3 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 119.8 (s), 59.4 (s).

[3336]

[3337]

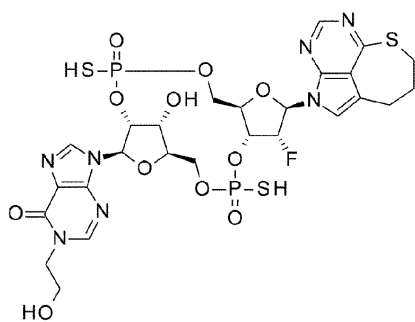
실시예 58 : CDN48 의 합성

[3338]

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(8,9-디하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌-2(7H)-일)-15-플루오로-16-하이드록시-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-비스(술포닐)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

[3339]

[화학식 208]



48

48a (디아스테레오머 1)

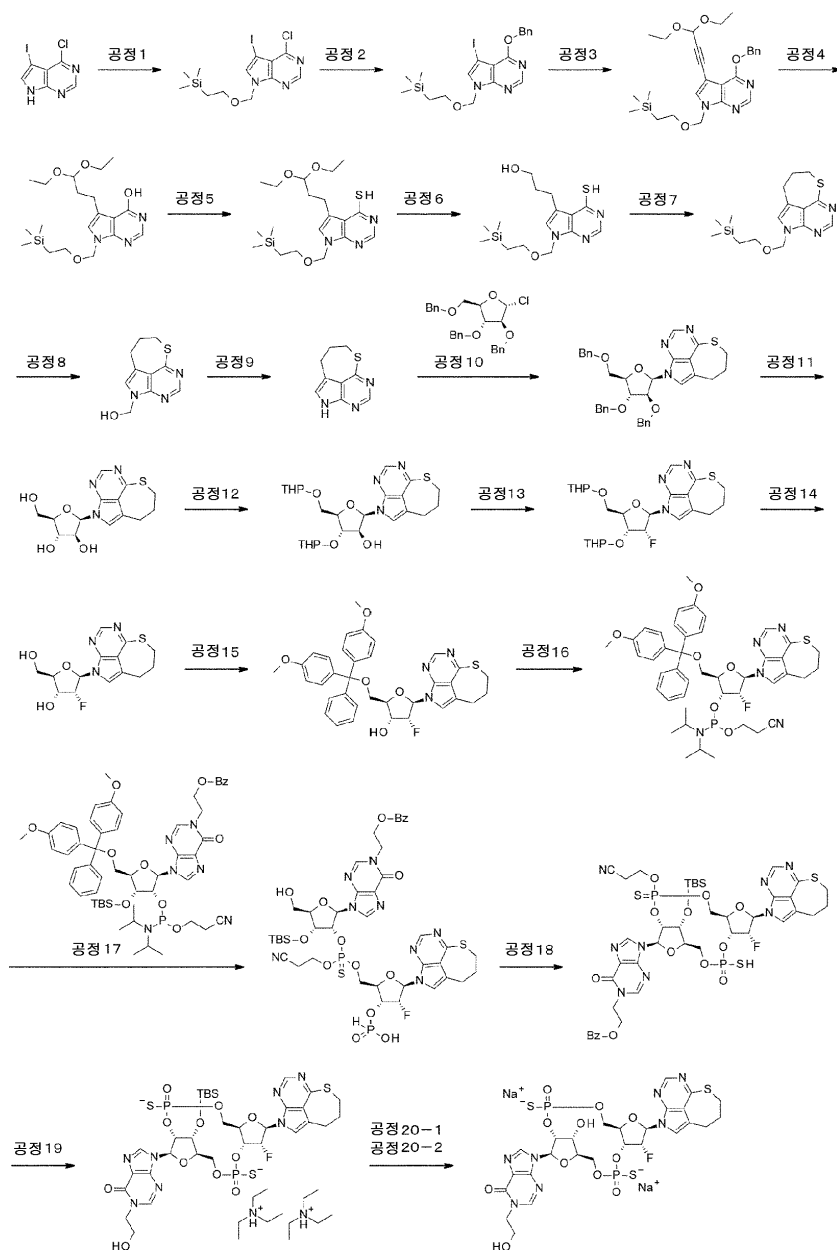
48b (디아스테레오머 2)

[3340]

[3341]

[합성 스킴]

[3342] [화학식 209]



[3343]

[3344] (공정 1)

[3345] 4-클로로-5-요오드-7-{[2-(트리메틸실릴)에톡시]메틸}-7H-피콜로[2,3-d]피리미딘

[3346] 시판 (PharmaBlock) 되는 4-클로로-5-요오드-7H-피콜로[2,3-d]피리미딘 (73.8 g) 의 N,N-디메틸포르미아미드 (10 ml) 용액에, 빙랭하에서 수소화나트륨 (미네랄 오일을 45 % 함유) (13.3 g) 을 첨가하고, 실온까지 승온하면서 40 분간 교반하였다. 재차 빙랭하고, [2-(클로로메톡시)에틸](트리메틸)실란 (51.0 ml) 을 10 분간 걸쳐 첨가한 후, 동 온도에서 30 분간 교반하였다. 대부분이 고화된 반응액에 물 (260 ml) 을 조금씩 첨가하여 반응을 정지시켰다. 고체를 여과 채취하고, 물 (1500 ml) 과 헥산 (600 ml) 으로 세정 후, 감압하 40 ℃ 에서 건조시키고, 표제 화합물 (97.63 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 410 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 8.64 (1H, s), 7.54 (1H, s), 5.61 (2H, s), 3.52 (2H, t, J=8.3 Hz), 0.92 (2H, t, J=8.3 Hz), -0.04 (9H, s).

[3347]

[3348] (공정 2)

[3349] 4-(벤질옥시)-5-요오드-7-{[2-(트리메틸실릴)에톡시]메틸}-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘

[3350] 벤질알코올 (27 ml) 의 N,N-디메틸포르미아미드 (170 ml) 용액에, 빙랭하에서 수소화나트륨 (미네랄 오일을 45 % 함유) (12 g) 을 첨가하고, 실온까지 승온하면서 40 분간 교반하였다. 제차 빙랭하고, 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (97.63 g) 의 N,N-디메틸포르미아미드 (360 ml) 현탁액을 40 분간 걸쳐 첨가하고, 동 온도에서 35 분간 교반하였다. 반응액에 빙편 (氷片) 과 포화 염화암모늄 수용액을 첨가하여 반응을 정지시켰다. 반응액을 포화 염화암모늄 수용액과 아세트산에틸의 2 층에 따르고, 아세트산에틸 : 톨루엔 (9 : 1) 으로 추출하였다. 유기층을 물과 포화 식염수로 2 회씩 세정 후, 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (107.7 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 482 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 8.47 (1H, s), 7.61 (2H, d, J=7.3 Hz), 7.41 (2H, t, J=7.6 Hz), 7.36-7.30 (1H, m), 7.30 (1H, s), 5.65 (2H, s), 5.57 (2H, s), 3.52 (2H, t, J=8.3 Hz), 0.91 (2H, t, J=8.3 Hz), -0.05 (9H, s).

[3351]

[3352] (공정 3)

[3353] 4-(벤질옥시)-5-(3,3-디에톡시프로파-1-인-1-일)-7-{[2-(트리메틸실릴)에톡시]메틸}-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘

[3354] 상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (113.4 g) 의 아세토니트릴 (1000 ml) - 트리에틸아민 (98 ml) 혼합 용액에, 질소 분위기하, 실온에서 요오드화구리 (4.49 g), 테트라키스트리페닐포스핀팔라듐(0) (8.17 g), 및 3,3-디에톡시프로파-1-인 (104 ml) 을 첨가하고, 동 온도에서 4.5 시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축 후, 잔류물에 아세트산에틸과 헥산을 첨가하고, 석출한 고체를 여과 제거하였다. 고체를 아세트산에틸 : 헥산 (1 : 1) 의 혼합액으로 세정 후, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (145.5 g : 불순물 함유) 을 얻었다.

[3355] MS(ESI) m/z : 482(M+H)⁺.

[3356] (공정 4)

[3357] 5-(3,3-디에톡시프로필)-7-{[2-(트리메틸실릴)에톡시]메틸}-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-올

[3358] 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (145.5 g) 의 에탄올 (900 ml) 용액에, 10 % 팔라듐탄소 촉매 (M) wet (50.2 g) 를 첨가하고, 수소 분위기하, 실온에서 5 시간 교반하였다. 반응액에 디클로로메탄 (500 ml) 을 첨가하고, 셀라이트로 촉매를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 2 회 정제하고, 표제 화합물 (59.6 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 418 (M+Na)⁺, 394 [M-H]⁻.
¹H-NMR (CDCl₃) δ : 11.23 (1H, brs), 7.85 (1H, s), 6.79 (1H, s), 5.47 (2H, s), 4.58 (1H, t, J=5.9 Hz), 3.69 (2H, m), 3.57-3.49 (4H, m), 2.90 (2H, t, J=7.8 Hz), 2.07 (2H, m), 1.23 (6H, t, J=7.1 Hz), 0.91 (2H, t, J=8.1 Hz), -0.04 (9H, s).

[3359]

(공정 5)

[3360]

5-(3,3-디에톡시프로필)-7-([2-(트리메틸실릴)에톡시]메틸)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-티올

[3361]

상기 공정 4 에서 얻어진 화합물 (59.6 g) 의 탈수 디클로로메탄 (300 ml) 용액에, 질소 분위기하, 2,6-루티딘 (42 ml) 을 첨가하였다. 트리플루오로메탄술폰산 무수물 (31 ml) 을 -20 °C 에서 20 분간 걸쳐 적하하고, 동 온도에서 20 분간 교반하였다. N,N-디메틸포름아미드 (500 ml) 와 1황화수소나트륨 수화물 (33.5 g) 을 빙랭하에서 첨가하고, 실온까지 승온한 후, 2.5 시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축하고, 저비점 성분을 증류 제거하였다. 잔류물을 아세트산에틸과 빙랭한 포화 염화암모늄 수용액의 2 층에 따르고, 아세트산에틸 : 톨루엔 (9 : 1) 의 혼합액으로 추출하였다. 유기층을 포화 염화암모늄 수용액으로 1 회, 포화 식염수로 2 회 세정 후, 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물과 2,6-루티딘의 혼합물을 얻었다. 얻어진 혼합물을 아세트산에틸과 1 규정 염산의 2 층에 따르고, 아세트산에틸로 2 회 추출하였다. 유기층을 포화 식염수로 3 회 세정 후, 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하고, 표제 화합물 (57.6 g) 을 얻었다.

[3362]

MS (ESI) m/z : 410 [M-H]⁻.
¹H-NMR (CDCl₃) δ : 11.69 (1H, brs), 7.90 (1H, s), 6.96 (1H, s), 5.49 (2H, s), 4.61 (1H, t, J=5.9 Hz), 3.71 (2H, m), 3.55 (2H, m), 3.49 (2H, t, J=8.1 Hz), 3.14 (2H, t, J=7.8 Hz), 2.08 (2H, m), 1.23 (6H, t, J=7.1 Hz), 0.90 (2H, t, J=8.3 Hz), -0.04 (9H, s).

[3363]

(공정 6)

[3364]

3-(4-술폰닐-7-([2-(트리메틸실릴)에톡시]메틸)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-5-일)프로판-1-올

[3365]

상기 공정 5 에서 얻어진 화합물 (31.62 g) 을 80 % 아세트산 수용액 (300 ml) 에 용해하고, 실온에서 30 분간 교반하였다. 원료의 소실을 확인 후, 빙랭하고, 수소화붕소나트륨 (1.45 g) 을 소량씩 주의 깊게 첨가하고, 동 온도에서 30 분간 교반하였다. 이어서, 수소화트리아세톡시붕소나트륨 (24.4 g) 을 15 분간 걸쳐 첨가하고, 동 온도에서 1.5 시간 교반하였다. 반응액을 5 분의 1 정도의 양까지 감압 농축하였다. 잔류물에 탄산수소나트륨 (고체) 을 주의 깊게 첨가하여 어느 정도 중화한 후, 아세트산에틸로 추출하였다. 유기층을 포화 탄산수소나트륨과 포화 식염수로 차례로 세정하고, 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (17.93 g) 을 얻었다.

[3366]

MS (ESI) m/z : 340 [M+H]⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 11.92 (1H, brs), 7.95 (1H, s), 7.01 (1H, s), 5.51 (2H, s), 3.70 (2H, t, J=5.9 Hz), 3.50 (2H, t, J=8.1 Hz), 3.23 (2H, t, J=7.3 Hz), 2.33 (1H, brs), 1.99 (2H, m), 0.91 (2H, t, J=8.3 Hz), -0.04 (9H, s).

[3367]

[3368] (공정 7)

[3369] 2-{[2-(트리메틸실릴)에톡시]메틸}-2,7,8,9-테트라하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌

[3370] 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (31.31 g) 의 탈수 테트라하이드로푸란 (600 ml) 용액에, 질소 분위기하, 0 °C 에서 트리페닐포스핀 (25.4 g) 과 디이소프로필아조디카르복실레이트 (21.8 g) 를 첨가하고, 동 온도에서 1 시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축 후, 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [디클로로메탄/아세트산에틸] 및 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 차례로 정제하고, 표제 화합물 (35.93 g : 불순물 함유) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 322 [M+H]⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 8.57 (1H, s), 7.08 (1H, s), 5.58 (2H, s), 3.52 (2H, t, J=8.3 Hz), 3.17 (2H, m), 3.06 (2H, t, J=5.6 Hz), 2.36 (2H, m), 0.92 (2H, t, J=8.3 Hz), -0.05 (9H, s).

[3371]

[3372] (공정 8)

[3373] (8,9-디하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌-2(7H)-일)메탄올

[3374] 상기 공정 7 에서 얻어진 화합물 (35.93 g) 의 디클로로메탄 (150 ml) 용액에, 실온에서 트리플루오로아세트산 (150 ml) 을 첨가하고, 동 온도에서 1.5 시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축 후, 톨루엔으로 4 회 공비하였다. 잔류물에 디클로로메탄 : 헥산 (1 : 2) 의 혼합액을 첨가하고, 석출한 고체를 여과 채취하였다 (고체 1). 여과액을 감압 농축 후, 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸 → 아세트산에틸/메탄올] 로 정제하고, 고체 2 를 얻었다. 고체 1 과 고체 2 를 아울러, 표제 화합물 (20.13 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 222 [M+H]⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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).

[3375]

[3376] (관측 가능한 피크만 기재)

[3377] (공정 9)

[3378] 2,7,8,9-테트라하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌

[3379] 상기 공정 8 에서 얻어진 화합물 (20.13 g) 의 메탄올 (250 ml) 현탁액에, 28 % 암모니아 수용액 (150 ml) 을 첨가하고, 실온에서 1.5 시간 교반하였다. 반응액을 감압하에서 절반 정도의 양까지 농축하였다. 석출한 고체를 여과 채취하고, 메탄올로 세정하고, 고체 1 을 얻었다. 여과액을 감압 농축하고, 동일한 조작으

로 고체 2 를 얻었다. 여과액을 실리카 겔에 바른 후, 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [디클로로메탄/메탄올] 로 정제하였다. 목적물을 포함하는 프랙션을 감압 농축하고, 에탄올로 슬러리 세정 후, 고체를 여과 채취하였다 (고체 3). 고체 1, 고체 2, 및 고체 3 을 아울러, 표제 화합물 (12.36 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 192 [M+H]⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 10.53 (1H, brs), 8.57 (1H, s), 7.10 (1H, s), 3.18 (2H, m), 3.08 (2H, t, J=5.6 Hz), 2.37 (2H, m).

[3380]

(공정 10)

[3381]

2-(2,3,5-트리-O-벤질- β -D-아라비노푸라노실)-2,7,8,9-테트라하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌

[3382]

[3383]

상기 공정 9 에서 얻어진 화합물 (13.47 g) 의 탈수 아세트니트릴 (350 ml) 현탁액에, 질소 분위기하, 분말상의 수산화칼륨 (10.3 g) 과 트리스[2-(2-메톡시에톡시)에틸]아민 (1.13 ml) 을 첨가하고, 실온에서 1.5 시간 교반하였다. 병행하, 이미 알려진 문헌 (J. Med. Chem. 1976, 19, 6, 814-816) 의 2,3,5-트리-O-벤질- α -D-아라비노푸라노실클로라이드 (40.2 g) 의 아세트니트릴 (100 ml) 용액을 조금씩 첨가한 후, 실온까지 승온하여 4 시간 교반하였다. 불용물을 여과 제거하고, 아세트니트릴로 세정하였다. 여과액을 감압 농축하고, 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 2 회 정제하고, 표제 화합물 (26.19 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 594 [M+H]⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 8.51 (1H, s), 7.37-7.17 (14H, m), 6.86 (2H, m), 6.82 (1H, d, J=4.9 Hz), 4.68 (1H, d, J=11.7 Hz), 4.59 (1H, d, J=11.7 Hz), 4.54 (1H, d, J=13.2 Hz), 4.52 (1H, d, J=11.7 Hz), 4.36-4.33 (2H, m), 4.22 (1H, d, J=11.7 Hz), 4.14-4.08 (2H, m), 3.77 (1H, dd, J=10.7, 3.9 Hz), 3.72 (1H, dd, J=10.5, 4.1 Hz), 3.13 (2H, m), 2.81 (2H, m), 2.27 (2H, m).

[3384]

(공정 11)

[3385]

2- β -D-아라비노푸라노실-2,7,8,9-테트라하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌

[3386]

[3387]

상기 공정 10 에서 얻어진 화합물 (26.19 g) 의 탈수 디클로로메탄 (300 ml) 용액에, 질소 분위기하, -78 °C 에서 3염화붕소의 디클로로메탄 용액 (1M, 200 ml) 을 첨가하고, 동 온도에서 2 시간 교반한 후, 0 °C 까지 승온하여 추가로 4 시간 교반하였다. 반응액을 재차 -78 °C 까지 냉각시키고, 메탄올 (80 ml) 의 디클로로메탄 (160 ml) 용액을 첨가하고, 실온까지 승온하면서 30 분간 교반하였다. 반응액을 감압 농축하고, 에탄올로 2 회 공비하였다. 잔류물에 에탄올 (200 ml) 과 디에틸에테르 (100 ml) 를 첨가하여 슬러리상으로 하고, 고체를 여과 채취하였다 (고체 1). 여과액을 감압 농축하고, 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [디클로로메탄/메탄올] 로 정제하였다. 목적물을 포함하는 프랙션을 감압 농축 후, 에탄올을 첨가하여 슬러리상으로 하고, 고체를 여과 채취하였다 (고체 2). 고체 1 과 고체 2 를 아울러 표제 화합물 (13.2 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 324 [M+H]⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.73 (1H, s), 7.96 (1H, s), 6.70 (1H, d, J=4.9 Hz), 4.32 (1H, t, J=4.6 Hz), 4.25 (1H, t, J=4.6 Hz), 3.97 (1H, m), 3.90 (1H, dd, J=12.0, 3.2 Hz), 3.85 (1H, dd, J=12.0, 4.6 Hz), 3.53 (2H, m), 3.17 (2H, m), 2.43 (2H, m).

[3388]

[3389] (공정 12)

[3390] 2-[3,5-비스-O-(옥산-2-일)- β -D-아라비노퓨라노실]-2,7,8,9-테트라하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌

[3391] 상기 공정 11 에서 얻어진 화합물 (15.35 g) 의 탈수 디메틸술폭시드 (160 ml) 용액에, 0 °C 에서 3,4-디하이드로-2H-피란 (17.2 ml) 과 p-톨루엔술폰산 1수화물 (9.02 g) 을 첨가하고, 실온에서 3 시간 교반하였다. 3,4-디하이드로-2H-피란 (8.6 ml) 을 추가하고, 45 분간 교반한 후, 곧바로 트리에틸아민 (13 ml) 을 첨가하여 반응을 정지시켰다. 반응액을 아세트산에틸과 포화 탄산수소나트륨 수용액의 2 층에 따르고, 아세트산에틸로 추출하였다. 유기층을 물로 1 회, 포화 식염수로 2 회 세정 후, 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (10.81 g) 을 4 종류의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.

MS (ESI) m/z : 492 [M+H]⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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=5.4 Hz), 6.71 (0.2H, d, J=5.9 Hz), 6.57 (0.3H, d, J=5.9 Hz), 6.56 (0.3H, d, J=5.9 Hz), 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).

[3392]

[3393] (공정 13)

[3394] 2-[2-데옥시-2-플루오로-3,5-비스-O-(옥산-2-일)- β -D-리보퓨라노실]-2,7,8,9-테트라하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌

[3395] 상기 공정 12 에서 얻어진 화합물 (10.81 g) 의 탈수 디클로로메탄 (150 ml) 용액에, 질소 분위기하, 0 °C 에서 피리딘 (5.3 ml) 과 트리플루오로메탄술폰산 무수물 (5.6 ml) 을 첨가하고, 동 온도에서 1 시간 교반하였다. 반응액에 빙편을 넣어 반응을 정지시킨 후, 반응액을 아세트산에틸과 포화 탄산수소나트륨 수용액의 2 층에 따르고, 아세트산에틸로 추출하였다. 유기층을 포화 식염수로 2 회 세정 후, 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하고, 트리플레이트의 미정제체를 아모르퍼스로서 얻었다. 얻어진 트리플레이트의 미정제체를 탈수 테트라하이드로푸란 (150 ml) 에 용해하고, 빙랭하에서 불화테트라부틸암모늄의 테트라하이드로푸란 용액 (약 1 M, 154 ml) 을 조금씩 첨가하고, 동 온도에서 밤새 교반하였다. 반응액에 포화 염화암모늄 수용액을 첨가하여 반응을 정지시켰다. 반응액을 절반 정도의 양까지 감압 농축하였다. 잔류물을 아세트산에틸과 포화 염화암모늄 수용액의 2 층에 따르고, 아세트산에틸로 추출하였다. 유기층을 포화 염화암모늄 수용액으로 1 회, 포화 식염수로 2 회 세정하였다. 수층을 아세트산에틸로 재

차 추출하고, 추출액을 포화 식염수로 세정하였다. 유기층을 아울러 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하고, 표제 화합물 (40.37 g) 의 미정제체를 얻었다.

[3396] MS(ESI) m/z : 494[M+H]⁺.

[3397] (공정 14)

[3398] 2-(2-테옥시-2-플루오로-β-D-리보퓨라노실)-2,7,8,9-테트라하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌

[3399] 상기 공정 13 에서 얻어진 화합물 (40.37 g) 의 메탄올 (400 mL) 용액에 p-톨루엔술폰산 1수화물 (2.09 g) 을 첨가하고, 60 ℃ 에서 4 시간 교반하였다. 반응액에 트리에틸아민 (16 mL) 을 첨가하여 반응을 정지시켰다.

반응액을 감압 농축하고, 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸 → 아세트산에틸/메탄올] 로 정제하였다. 목적물을 포함하는 프랙션을 슬러리상이 될 때까지 감압 농축하고, 고체를 여과 채취하였다. 얻어진 고체를 헥산/아세트산에틸 (1 : 1) 로 세정하고, 고체 1 을 얻었다. 여과액을 감압 농축하고, 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [디클로로메탄/메탄올] 로 정제하고, 고체 2 를 얻었다. 고체 1 과 고체 2 를 아울러 표제 화합물 (5.32 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 326 [M+H]⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 8.51 (1H, s), 7.01 (1H, s), 6.00 (1H, dd, J=13.7, 6.3 Hz), 5.95 (1H, dd, J=11.7, 2.0 Hz), 5.87 (1H, ddd, J=5.2, 7.6, 3.4 Hz), 4.69 (1H, m), 4.32 (1H, brs), 3.96 (1H, d, J=12.7 Hz), 3.77 (1H, m), 3.17 (2H, m), 3.04 (2H, m), 2.41-2.31 (3H, m).

[3400]

[3401] (공정 15)

[3402] 2-{5-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2-테옥시-2-플루오로-β-D-리보퓨라노실}-2,7,8,9-테트라하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌

[3403] 상기 공정 14 에서 얻어진 화합물 (5.32 g) 을 사용하여, 실시예 11 공정 1 과 동일한 수법을 이용하여 반응을 실시하고, 표제 화합물 (10.1 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 628 [M+H]⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 8.54 (1H, s), 7.42 (2H, d, J=7.3 Hz), 7.32-7.21 (8H, m), 6.81 (4H, m), 6.52 (1H, dd, J=17.3, 2.2 Hz), 5.37 (1H, ddd, J=53.3, 4.4, 2.4 Hz), 4.76 (1H, m), 4.16 (1H, m), 3.789 (3H, s), 3.786 (3H, s), 3.59 (1H, dd, J=10.7, 2.4 Hz), 3.44 (1H, dd, J=10.7, 3.4 Hz), 3.12 (2H, m), 2.76 (2H, t, J=5.6 Hz), 2.27 (2H, m), 2.18 (1H, d, J=7.8, 2.9 Hz).

[3404]

[3405] (공정 16)

[3406] 2-(5-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3-O-{(2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스파닐}-2-테옥시-2-플루오로-β-D-리보퓨라노실)-2,7,8,9-테트라하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌

[3407] 상기 공정 15 에서 얻어진 화합물 (10.1 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 6 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (12.6 g) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물 (디아스테레오머비 = 1 : 1) 로서 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=17.3, 2.2\text{ Hz}$), 6.48 (0.5H, dd, $J=17.6, 1.5\text{ Hz}$), 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, $J=6.3, 2.4\text{ Hz}$), 2.39 (1H, m), 2.28-2.21 (2H, m), 1.19-1.15 (9H, m), 1.03 (3H, d, $J=6.8\text{ Hz}$).

[3408]

[3409] (공정 17)

[3410] 상기 공정 16 에서 얻어진 화합물 (740 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 7 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 2-{2-테옥시-2-플루오로-3-0-[하이드록시(옥소)- λ^5 -포스파닐]- β -D-리보푸라노실}-2,7,8,9-테트라하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌의 아세토니트릴 용액을 얻었다. 얻어진 아세토니트릴 용액과 실시예 22 공정 3 에서 얻어진 화합물 (924 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 8 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 얻어진 미정제 생성물을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.

[3411] (공정 18)

[3412] 2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-16-{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-10-(2-시아노에톡시)-14-(8,9-디하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌-2(7H)-일)-15-플루오로-2-옥소-2-술폰닐-10-술폰닐리텐옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-6-옥소-6,9-디하이드로-1H-푸린-1-일]에틸 벤조에이트

[3413] 상기 공정 17 에서 얻어진 미정제 생성물을 사용하여, 실시예 1 공정 9 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (502 mg : 불순물 함유) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.

[3414] MS(ESI)m/z : 1065(M+H) $^+$.

[3415] (공정 19)

[3416] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-16-{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-14-(8,9-디하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌-2(7H)-일)-15-플루오로-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-디옥소옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[3417] 상기 공정 18 에서 얻어진 화합물 (502 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 10 과 동일한 수법을 이용하여 반응을 실시하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (67.8 mg : 불순물 함유) 과 디아스테레오머 2 (69.5 mg : 불순물 함유) 를 얻었다.

[3418] 디아스테레오머 1 (저극성)

- [3419] MS(ESI) m/z : 908(M+H)⁺.
- [3420] 디아스테레오머 2 (고극성)
- [3421] MS(ESI) m/z : 908(M+H)⁺.
- [3422] (공정 20-1)
- [3423] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(8,9-디하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌-2(7H)-일)-15-플루오로-16-하이드록시-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-디옥소옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [3424] (디아스테레오머 1)
- [3425] 상기 공정 19 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (67.8 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로 얻었다.
- [3426] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴], 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴 - 메탄올 용액 (1 : 1), 아세트니트릴 - 메탄올 용액 (1 : 1) : 10 % - 45 % (0 분 - 40 분)], 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/메탄올, 메탄올 : 25 % - 75 % (0 분 - 40 분)].
- [3427] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (21.2 mg) 을 얻었다.
- MS (ESI) m/z : 794 (M+H)⁺.
- ¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.55 (1H, brs), 8.41 (1H, s), 8.09 (1H, brs), 7.51 (1H, s), 6.58 (1H, d, J=16.9 Hz), 6.25 (1H, d, J=7.9 Hz), 5.55-5.34 (2H, m), 5.30-5.17 (1H, m), 4.74 (1H, d, J=4.2 Hz), 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).
- ³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 57.6 (s), 52.7 (s).
- [3428]
- [3429] (공정 20-2)
- [3430] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(8,9-디하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌-2(7H)-일)-15-플루오로-16-하이드록시-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-디옥소옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [3431] (디아스테레오머 2)
- [3432] 상기 공정 19 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (69.5 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11

과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.

[3433] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴], 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴 - 메탄올 용액 (1 : 1), 아세트니트릴 - 메탄올 용액 (1 : 1) : 10 % - 45 % (0 분 - 40 분)], 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/메탄올, 메탄올 : 25 % - 75 % (0 분 - 40 분)].

[3434] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (14.9 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 794 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.60 (1H, s), 8.41 (1H, s), 8.16 (1H, s), 7.72 (1H, s), 6.60 (1H, d, J=15.7 Hz), 6.28 (1H, d, J=7.9 Hz), 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).

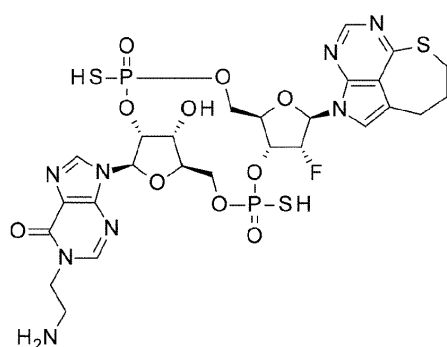
³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 59.1 (s), 57.9 (s).

[3435]

[3436] 실시예 59 : CDN49 의 합성

[3437] (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-[1-(2-아미노에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-14-(8,9-디하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌-2(7H)-일)-15-플루오로-16-하이드록시-2,10-비스(술폰닐)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

[3438] [화학식 210]

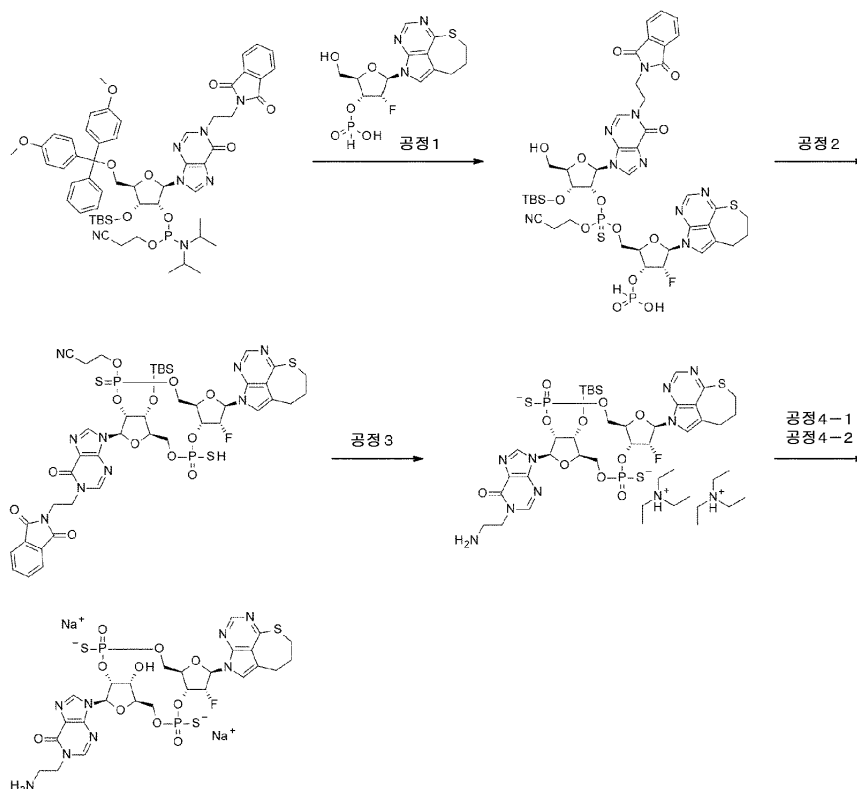


49
49a (디아스테레오머 1)
49b (디아스테레오머 2)

[3439]

[3440] [합성 스킴]

[3441] [화학식 211]



[3442]

[3443] (공정 1)

[3444] 실시예 58 공정 16 에서 얻어진 화합물 (1.80 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 7 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 2-{2-데옥시-2-플루오로-3-O-[하이드록시(옥소)- λ^5 -포스포닐]- β -D-리보푸라노실}-2,7,8,9-테트라하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌의 아세토니트릴 용액을 얻었다. 얻어진 아세토니트릴 용액과 실시예 45 공정 3 에서 얻어진 화합물 (2.30 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 8 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 얻어진 미정제 생성물을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.

[3445] (공정 2)

[3446] 3-{[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-16-{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-14-(8,9-디하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌-2(7H)-일)-7-{1-[2-(1,3-디옥소-1,3-디하이드로-2H-이소인돌-2-일)에틸]-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-15-플루오로-2-옥소-2-술팜닐-10-술팜닐리덴옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스포시클로테트라데신-10-일]옥시}프로판니트릴

[3447] 상기 공정 1 에서 얻어진 미정제 생성물을 사용하여, 실시예 1 공정 9 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (1.22 g) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.

[3448] MS(ESI)m/z : 1090(M+H)⁺.

[3449] (공정 3)

[3450] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-[1-(2-아미노에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-16-{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-14-(8,9-디하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌-2(7H)-일)-15-플루오로-2,10-디옥소옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스포시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[3451] 상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (1.22 g) 을 사용하여, 실시예 45 공정 6 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴] 로 정제하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (108 mg : 불순물 함유) 과 디아스테레오머 2 (111 mg : 불순물 함유) 를

얻었다.

[3452] 디아스테레오머 1 (저극성)

[3453] MS(ESI) m/z : 907(M+H)⁺.

[3454] 디아스테레오머 2 (고극성)

[3455] MS(ESI) m/z : 907(M+H)⁺.

[3456] (공정 4-1)

[3457] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-[1-(2-아미노에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-14-(8,9-디하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌-2(7H)-일)-15-플루오로-16-하이드록시-2,10-디옥소옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[3458] (디아스테레오머 1)

[3459] 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (108 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.

[3460] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴] 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴 - 메탄올 용액 (1 : 1), 아세트니트릴 - 메탄올 용액 (1 : 1) : 10 % - 50 % (0 분 - 40 분)].

[3461] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (44.4 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 793 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.50 (1H, s), 8.42 (1H, s), 7.92 (1H, s), 7.56 (1H, s), 6.56 (1H, d, J=16.3 Hz), 6.21 (1H, d, J=6.0 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 57.5 (s), 52.9 (s).

[3462]

[3463] (공정 4-2)

[3464] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-[1-(2-아미노에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-14-(8,9-디하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌-2(7H)-일)-15-플루오로-16-하이드록시-2,10-디옥소옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[3465] (디아스테레오머 2)

[3466] 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (111 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로

서 얻었다.

[3467] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴], 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 5 % - 25 % (0 분 - 40 분)], 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/메탄올, 메탄올 : 20 % - 60 % (0 분 - 40 분)].

[3468] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (40.6 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 793 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.57 (1H, s), 8.41 (1H, s), 8.13 (1H, s), 7.72 (1H, s), 6.59 (1H, dd, J=15.7, 1.8 Hz), 6.26 (1H, d, J=8.5 Hz), 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).

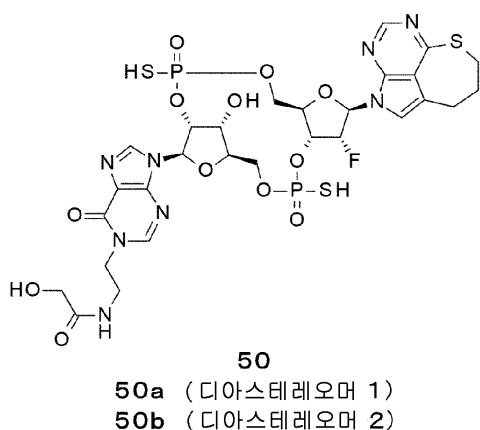
³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 58.7 (s), 57.8 (s).

[3469]

[3470] 실시예 60 : CDN50 의 합성

[3471] N-(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(8,9-디하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌-2(7H)-일)-15-플루오로-16-하이드록시-2,10-디옥소-2,10-비스(술폰닐)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-6-옥소-6,9-디하이드로-1H-푸린-1-일}에틸)-2-하이드록시아세트아미드

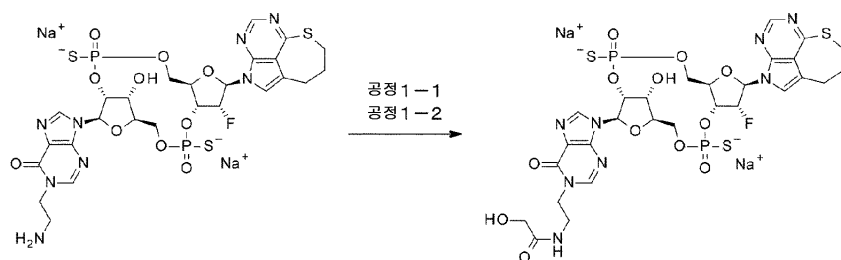
[3472] [화학식 212]



[3473]

[3474] [합성 스킴]

[3475] [화학식 213]



[3476]

[3477] (공정 1-1)

[3478] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(8,9-디하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌-2(7H)-일)-15-플루오로-16-하이드록시-7-{1-[2-(2-하이드록시아세트아미드)에틸]-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일}-2,10-디옥소옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[3479] (디아스테레오머 1)

[3480] 실시예 59 공정 4-1 에서 얻어진 화합물 (20.0 mg) 을 사용하여, 실시예 7 공정 1-1 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.

[3481] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴] 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 10 % - 30 % (0 분 - 40 분)].

[3482] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (15.6 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 851 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.43 (1H, s), 8.40 (1H, br s), 7.66 (1H, br s), 7.58 (1H, s), 6.53 (1H, d, J=16.3 Hz), 6.14 (1H, d, J=8.5 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 57.0 (s), 52.6 (s).

[3483]

[3484] (공정 1-2)

[3485] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(8,9-디하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌-2(7H)-일)-15-플루오로-16-하이드록시-7-{1-[2-(2-하이드록시아세트아미드)에틸]-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일}-2,10-디옥소옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

[3486] (디아스테레오머 2)

[3487] 실시예 59 공정 4-2 에서 얻어진 화합물 (10.0 mg) 을 사용하여, 실시예 7 공정 1-1 과 동일한 수법으로 반응을

실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.

[3488] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴] 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 7 % - 25 % (0 분 - 40 분)].

[3489] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (6.6 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 851 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.46 (1H, s), 8.42 (1H, s), 7.84 (1H, s), 7.78 (1H, s), 6.59 (1H, d, J=15.1 Hz), 6.20 (1H, d, J=7.9 Hz), 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).

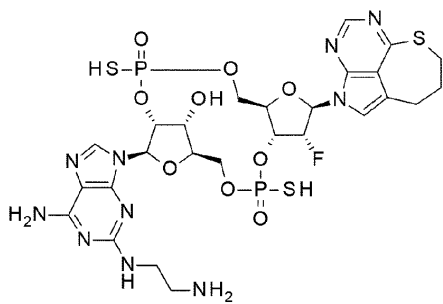
³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 58.2 (s), 57.6 (s).

[3490]

[3491] 실시예 61 : CDN51 의 합성

[3492] (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{6-아미노-2-[(2-아미노에틸)아미노]-9H-푸린-9-일}-14-(8,9-디하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌-2(7H)-일)-15-플루오로-16-하이드록시-2,10-비스(술파닐)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

[3493] [화학식 214]



51

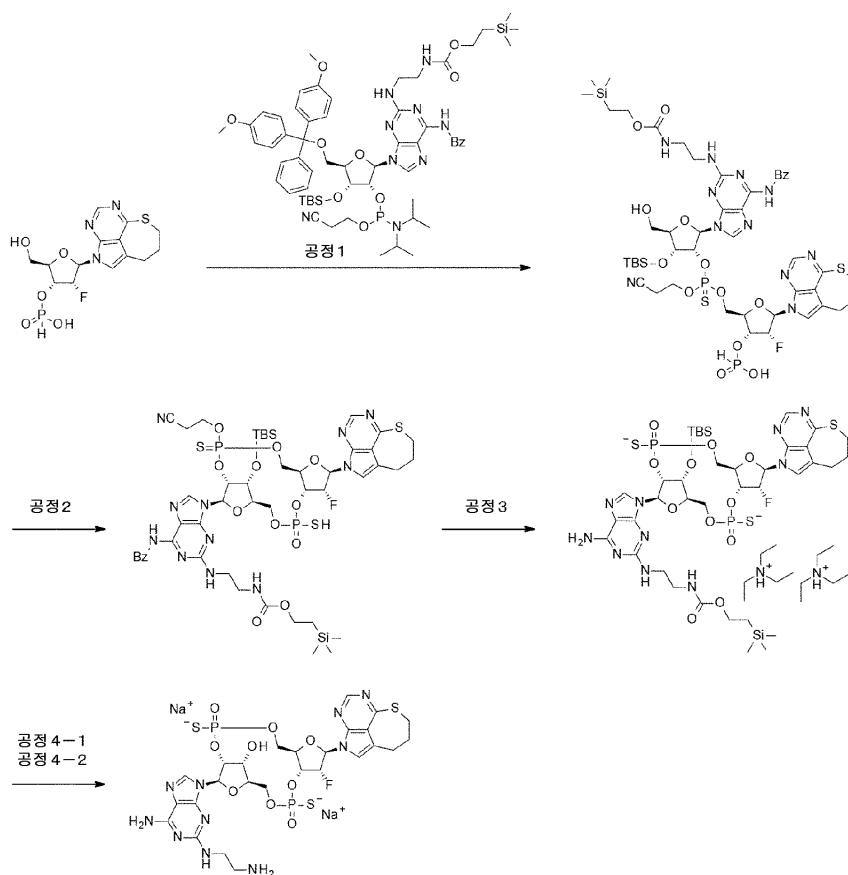
51a (디아스테레오머 1)

51b (디아스테레오머 2)

[3494]

[3495] [합성 스킴]

[3496] [화학식 215]



[3497]

[3498] (공정 1)

[3499] 실시예 58 공정 16 에서 얻어진 화합물 (1.80 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 7 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 2-{2-데옥시-2-플루오로-3-O-[하이드록시(옥소)-λ⁵-포스포닐]-β-D-리보푸라노실}-2,7,8,9-테트라하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌의 아세토니트릴 용액을 얻었다. 얻어진 아세토니트릴 용액과 실시예 47 공정 6 에서 얻어진 화합물 (3.10 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 8 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 얻어진 미정제 생성물을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.

[3500] (공정 2)

[3501] 2-(트리메틸실릴)에틸[2-({6-벤즈아미드-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-16-{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-10-(2-시아노에톡시)-14-(8,9-디하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌-2(7H)-일)-15-플루오로-2-옥소-2-술팜닐-10-술팜닐리덴옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스포시클로테트라데신-7-일]-9H-푸린-2-일}아미노)에틸]카르바메이트

[3502] 상기 공정 1 에서 얻어진 미정제 생성물을 사용하여, 실시예 1 공정 9 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (1.83 g : 불순물 함유) 을 얻었다.

[3503] MS(ESI)m/z : 1222(M+H)⁺.

[3504] (공정 3)

[3505] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄)
(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-아미노-2-{[2-({2-(트리메틸실릴)에톡시}카르보닐)아미노)에틸]아미노}-9H-푸린-9-일)-16-{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-14-(8,9-디하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌-2(7H)-일)-15-플루오로-2,10-디옥소옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스포시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)

- [3506] 상기 공정 2 에서 얻어진 혼합물 (1.83 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 10 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (151 mg : 불순물 함유) 과 디아스테레오머 2 (103 mg : 불순물 함유) 를 얻었다.
- [3507] 디아스테레오머 1 (저극성)
- [3508] MS(ESI) m/z : 1065(M+H)⁺.
- [3509] 디아스테레오머 2 (고극성)
- [3510] MS(ESI) m/z : 1065(M+H)⁺.
- [3511] (공정 4-1)
- [3512] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{6-아미노-2-[(2-아미노에틸)아미노]-9H-푸린-9-일}-14-(8,9-디하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아졸렌-2(7H)-일)-15-플루오로-16-하이드록시-2,10-디옥소옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [3513] (디아스테레오머 1)
- [3514] 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (151 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 40 공정 5 와 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로 얻었다.
- [3515] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴] 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴, 아세트오니트릴 : 2 % - 30 % (0 분 - 30 분)].
- [3516] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (10.6 mg) 을 얻었다.
- MS (ESI) m/z : 807 (M+H)⁺.
- ¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.39 (1H, s), 7.97 (1H, br s), 7.55 (1H, s), 6.51 (1H, d, J=16.3 Hz), 6.00-5.92 (1H, m), 5.83-5.65 (1H, m), 5.44 (1H, dd, J=52.0, 3.6 Hz), 5.34-5.20 (1H, m), 4.77 (1H, d, J=3.6 Hz), 4.49-4.31 (5H, m), 4.11-4.07 (1H, m), 3.28-2.72 (8H, m), 2.29-1.99 (2H, m).
- ³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 57.3 (s), 52.3 (s).
- [3517]
- [3518] (공정 4-2)
- [3519] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{6-아미노-2-[(2-아미노에틸)아미노]-9H-푸린-9-일}-14-(8,9-디하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아졸렌-2(7H)-일)-15-플루오로-16-하이드록시-2,10-디옥소옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(티올레이트)
- [3520] (디아스테레오머 2)
- [3521] 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (103 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 40 공정 5 와 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로 얻었다.
- [3522] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴] 및 분취

HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 10 % - 30 % (0 분 - 30 분)].

[3523]

얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (12.1 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 807 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.39 (1H, s), 7.95 (1H, br s), 7.82 (1H, s), 6.58 (1H, d, J=15.1 Hz), 6.00-5.95 (1H, m), 5.90-5.71 (1H, m), 5.40 (1H, dd, J=51.7, 3.3 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 57.9 (s), 57.3 (s).

[3524]

[3525]

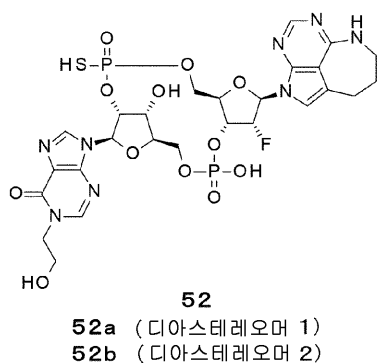
실시예 62 : CDN52 의 합성

[3526]

(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-플루오로-2,16-디하이드록시-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-10-술폰닐-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

[3527]

[화학식 216]

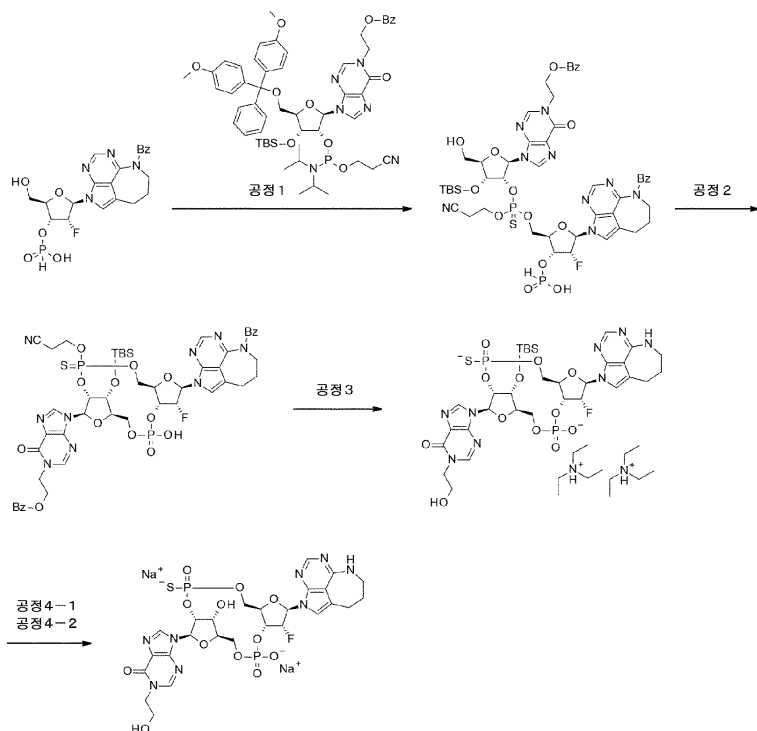


[3528]

[3529]

[합성 스킴]

[3530] [화학식 217]



[3531]

[3532] (공정 1)

[3533] 실시예 44 공정 8 에서 얻어진 화합물 (1.00 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 7 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 6-벤조일-2-{2-테옥시-2-플루오로-3-O-[하이드록시(옥소)-λ⁵-포스포닐]-β-D-리보푸라노실}-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌의 아세트니트릴 용액을 얻었다. 얻어진 아세트니트릴 용액과 실시예 22 공정 3 에서 얻어진 화합물 (1.13 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 8 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 얻어진 미정제 생성물을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.

[3534] (공정 2)

[3535] 2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)-16-{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-10-(2-시아노에톡시)-15-플루오로-2-하이드록시-2-옥소-10-술폰리덴옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스포시클로테트라데신-7-일]-6-옥소-6,9-디하이드로-1H-푸린-1-일}에틸 벤조에이트

[3536] 상기 공정 1 에서 얻어진 미정제 생성물의 피리딘 (32.5 ml) 용액을 25 ml 정도까지 농축 후, 2-클로로-5,5-디메틸-1,3,2λ⁵-디옥사포스포피난-2-온 (945 mg) 을 첨가하고, 실온에서 30 분간 교반하였다. 반응액에 요오드 (1.11 g) 를 첨가하고, 1 시간 교반하였다. 반응액을 탄산수소나트륨 (4.30 g) 의 수용액 (150 ml) 에 따르고, 30 분간 교반 후, 아세트산에틸로 추출하였다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조 후, 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸/메탄올] 로 정제하고, 표제 화합물 (671 mg : 불순물 함유) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.

[3537] MS(ESI)m/z : 1136(M+H)⁺.

[3538] (공정 3)

[3539] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-16-{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-15-플루오로-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-디옥소-10-술폰리덴-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로

[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2-올레이트

[3540] 상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (671 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 10 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (55.6 mg : 불순물 함유) 과 디아스테레오머 2 (65.7 mg : 불순물 함유) 를 얻었다.

[3541] 디아스테레오머 1 (저극성)

[3542] MS(ESI)m/z : 875(M+H)⁺.

[3543] 디아스테레오머 2 (고극성)

[3544] MS(ESI)m/z : 875(M+H)⁺.

[3545] (공정 4-1)

[3546] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-플루오로-16-하이드록시-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-디옥소-10-술파이드-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[c d]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스 파시클로테트라데신-2-올레이트

[3547] (디아스테레오머 1)

[3548] 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (55.6 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로 얻었다.

[3549] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴] 과 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 5 % - 25 % (0 분 - 30 분)].

[3550] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (11.3 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 761 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.55 (1H, m), 8.15 (1H, m), 8.03 (1H, s), 7.14 (1H, d, J=4.8 Hz), 6.46 (1H, d, J=18.1 Hz), 6.28 (1H, d, J=7.9 Hz), 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).

³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 53.4 (s), -0.86 (s).

[3551]

[3552] (공정 4-2)

[3553] 디나트륨 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-플루오로-16-하이드록시-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-디옥소-10-술파이드-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[c d]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스 파시클로테트라데신-2-올레이트

[3554] (디아스테레오머 2)

[3555] 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (65.7 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로

서 얻었다.

[3556] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴] 과 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 3 % - 20 % (0 분 - 30 분)].

[3557] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (23.5 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 761 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.58 (1H, d, J=3.0 Hz), 8.19 (1H, d, J=2.4 Hz), 8.03 (1H, s), 7.40 (1H, s), 6.49 (1H, dd, J=16.3, 1.8 Hz), 6.29 (1H, d, J=8.5 Hz), 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).

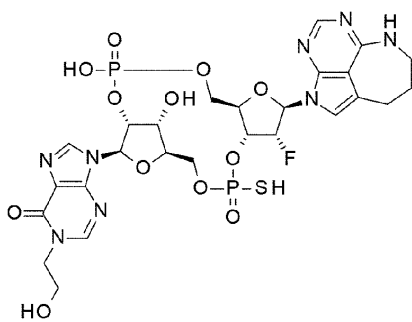
³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 59.7 (s), -0.75 (s).

[3558]

[3559] 실시예 63 : CDN53 의 합성

[3560] (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-플루오로-10,16-디하이드록시-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2-술팜닐-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

[3561] [화학식 218]

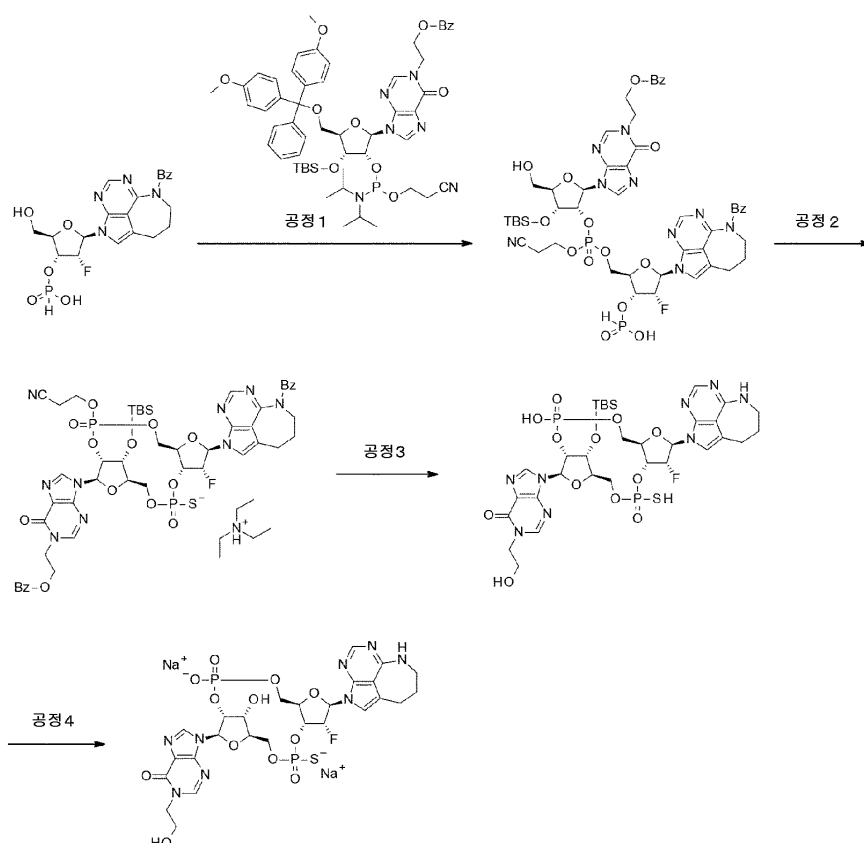


53
53a (디아스테레오머 1)

[3562]

[3563] [합성 스킴]

[3564] [화학식 219]



[3565]

[3566] (공정 1)

[3567] 실시예 44 공정 8 에서 얻어진 화합물 (1.02 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 7 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 6-벤조일-2-(2-데옥시-2-플루오로-3-O-[하이드록시(옥소)-λ⁵-포스포닐]-β-D-리보퓨라노실)-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌의 아세트니트릴 용액을 얻었다 (아세트니트릴 용액 A). 실시예 22 공정 3 에서 얻어진 화합물 (1.23 g) 을 탈수 아세트니트릴 (10 ml) 로 3 회 공비 탈수하였다. 마지막 1 회는 7 ml 정도의 아세트니트릴을 남기고, 몰레큘러 시브스 3A, 1/16 (펠릿상의 5 립) 을 첨가하였다 (아세트니트릴 용액 B). 아세트니트릴 용액 A 와 아세트니트릴 용액 B 를 혼합하고, 질소 분위기하, 실온에서 15 분간 교반하였다. 반응액에 tert-부틸하이드로퍼옥사이드의 데칸 용액 (5.5 M, 0.50 ml) 을 첨가하고, 40 분간 교반 후, 반응액을 빙랭하고, 티오황산나트륨 5 수화물 (826 mg) 의 수용액 (1.1 ml) 을 첨가하고, 10 분간 교반하였다. 반응액에 물 (20 ml) 을 첨가하고, 디클로로메탄-메탄올 혼합액으로 추출하였다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조 후, 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물의 디클로로메탄 (15.9 ml) 용액에 물 (0.200 ml) 과 디클로로아세트산 (1.00 ml) 의 디클로로메탄 (15.9 ml) 용액을 차례로 첨가하고, 실온에서 15 분간 교반하였다. 반응액에 피리딘 (11.0 ml) 을 첨가하여 반응을 정지 후, 반응액을 감압 농축하였다. 얻어진 미정제 생성물을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.

[3568] (공정 2)

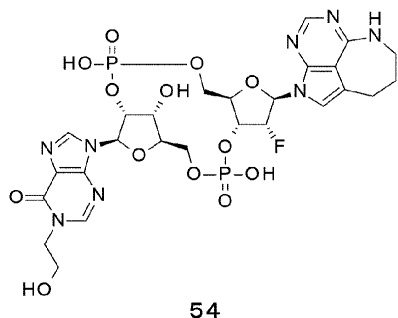
[3569] N,N-디에틸에탄아미늄 (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-{1-[2-(벤조일옥시)에틸]-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일}-14-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)-16-{{tert-부틸(디메틸)실릴}옥시}-10-(2-시아노에톡시)-15-플루오로-2,10-디옥소옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스포시클로테트라데신-2-티올레이트

[3570] 상기 공정 1 에서 얻어진 미정제 생성물을, 실시예 1 공정 9 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (122 mg : 불순물 함유) 을 얻었다.

[3571] MS(ESI)m/z : 1136(M+H)⁺.

- [3572] (공정 3)
- [3573] (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-16-([tert-부틸(디메틸)실릴]옥시)-15-플루오로-10-하이드록시-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2-술폰닐-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5,8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온
- [3574] 상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (122 mg, 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 10 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 얻어진 미정제 생성물을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.
- [3575] MS(ESI)m/z : 875(M+H)⁺.
- [3576] (공정 4)
- [3577] 디나트륨 (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-15-플루오로-16-하이드록시-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-디옥소-2-술폰닐-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5,8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-10-올레이트
- [3578] 상기 공정 3 에서 얻어진 미정제 생성물을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 2 % - 30 % (0 분 - 30 분)] 로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다. 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (30 mg) 을 얻었다.
- MS (ESI) m/z : 761 (M+H)⁺.
- ¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.58 (1H, s), 8.12 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.13 (1H, s), 6.47 (1H, d, J=18.1 Hz), 6.27 (1H, d, J=8.5 Hz), 5.41 (1H, dd, J=51.7, 3.9 Hz), 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).
- ³¹P-NMR (CD₃OD) δ : 58.0 (s), -0.97 (s).
- [3579]
- [3580] 실시예 64 : CDN54 의 합성
- [3581] (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-15-플루오로-2,10,16-트리하이드록시-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5,8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-디온

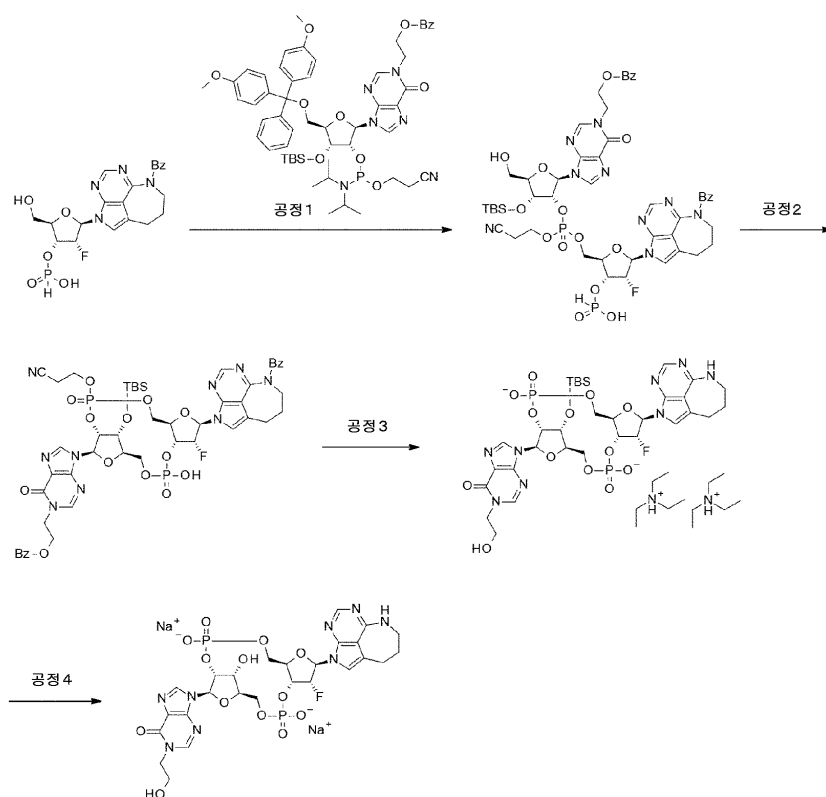
[3582] [화학식 220]



[3583]

[3584] [합성 스킴]

[3585] [화학식 221]



[3586]

[3587] (공정 1)

[3588] 실시예 44 공정 8 에서 얻어진 화합물 (1.00 g) 과 실시예 22 공정 3 에서 얻어진 화합물 (1.13 g) 을 사용하여, 실시예 63 공정 1 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 얻어진 미정제 생성물을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.

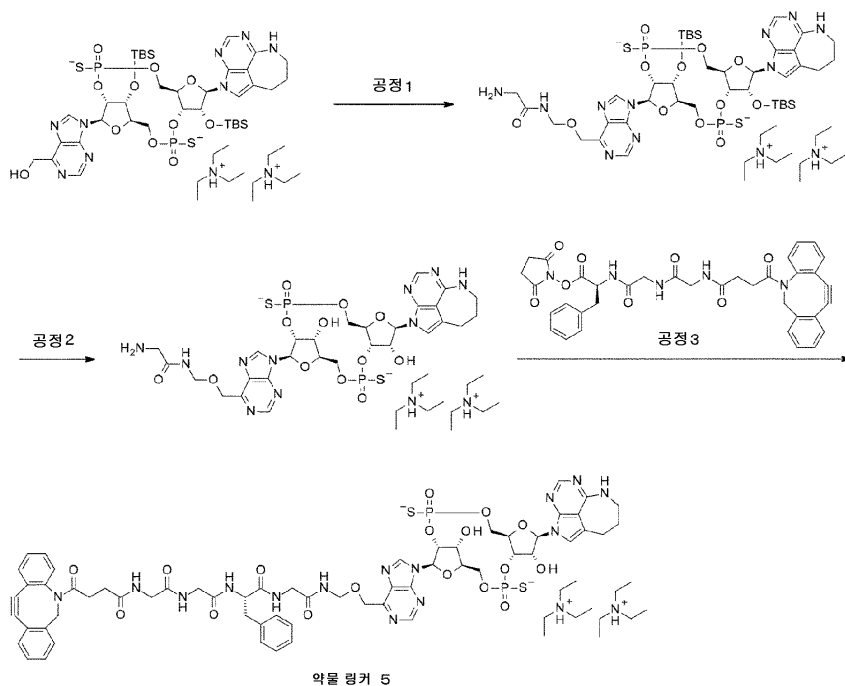
[3589] (공정 2)

[3590] 2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[c,d]아졸렌-2-일)-16-[[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시]-10-(2-시아노에톡시)-15-플루오로-2-하이드록시-2,10-디옥소옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-6-옥소-6,9-디하이드로-1H-푸린-1-일}에틸 벤조에이트

[3591] 상기 공정 1 에서 얻어진 미정제 생성물을 사용하여, 실시예 62 공정 2 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (602 mg : 불순물 함유) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.

- [3592] MS(ESI) m/z : 1120(M+H)⁺.
- [3593] (공정 3)
- [3594] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-16-{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-15-플루오로-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(올레이트)
- [3595] 상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (602 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 10 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (90.8 mg : 불순물 함유) 을 얻었다.
- [3596] MS(ESI) m/z : 859(M+H)⁺.
- [3597] (공정 4)
- [3598] 디나트륨 (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-15-플루오로-16-하이드록시-7-[1-(2-하이드록시에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2,10-비스(올레이트)
- [3599] 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (90.8 mg : 불순물 함유) 을 사용하여, 실시예 1 공정 11 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물을 트리에틸아민염으로서 얻었다.
- [3600] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴] 과 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴, 아세트오니트릴 : 1 % - 20 % (0 분 - 40 분)].
- [3601] 얻어진 트리에틸아민염을, 실시예 1 공정 11 에 기재된 [나트륨염으로의 변환] 과 동일한 수법으로 염 교환을 실시하고, 표제 화합물 (40.4 mg) 을 얻었다.
- MS (ESI) m/z : 745 (M+H)⁺.
- ¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.56 (1H, s), 8.19 (1H, s), 8.03 (1H, s), 7.10 (1H, s), 6.46 (1H, d, J=18.7 Hz), 6.31 (1H, d, J=8.5 Hz), 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).
- ³¹P-NMR (CD₃OD) δ : -0.59 (s), -0.81 (s).
- [3602]
- [3603] 실시예 65 : 약물 링커 5 의 합성
- [3604] [합성 스킴]

[3605] [화학식 222]



[3606]

[3607] (공정 1)

[3608] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-15, 16-비스{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-7-(6-{[(글리실아미노)메톡시]메틸}-9H-푸린-9-일)-2, 10-디옥소-14-(6, 7, 8, 9-테트라하이드로-2H-2, 3, 5, 6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5, 8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3, 2-1][1, 3, 6, 9, 11, 2, 10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2, 10-비스(티올레이트)

[3609] 실시예 17 공정 7 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (80.6 mg) 을 사용하여, 실시예 22 공정 7-1 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (66.1 mg : 불순물 함유) 을 얻었다.

[3610] MS(ESI)m/z : 1059(M+H)⁺.

[3611] (공정 2)

[3612] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aS, 16R)-7-(6-{[(글리실아미노)메톡시]메틸}-9H-푸린-9-일)-15, 16-디하이드록시-2, 10-디옥소-14-(6, 7, 8, 9-테트라하이드로-2H-2, 3, 5, 6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5, 8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3, 2-1][1, 3, 6, 9, 11, 2, 10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2, 10-비스(티올레이트)

[3613] 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (66.1 mg) 을 사용하여, 실시예 22 공정 8-1 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (40.4 mg : 불순물 함유) 을 얻었다.

[3614] MS(ESI)m/z : 831(M+H)⁺.

[3615] (공정 3)

[3616] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) N-[4-(11, 12-디테히드로디벤조[b, f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-페닐알라닌-N-[(9-[(5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aS, 16R)-15, 16-디하이드록시-2, 10-디옥소-2, 10-디술파이드-14-(6, 7, 8, 9-테트라하이드로-2H-2, 3, 5, 6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5, 8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3, 2-1][1, 3, 6, 9, 11, 2, 10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-9H-푸린-6-일)메톡시]메틸]글리신아미드

[3617] (약물 링커 5)

[3618]

상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (40.4 mg) 을 사용하여, 실시예 22 공정 9-1 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴] 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 10 % - 45 % (0 분 - 30 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (5.0 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 1379 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 9.17 (1H, s), 8.83 (1H, d, J=4.8 Hz), 8.01 (1H, d, J=3.6 Hz), 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=8.5 Hz), 6.31 (1H, d, J=6.7 Hz), 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=7.3 Hz), 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=7.3 Hz).

[3619]

[3620]

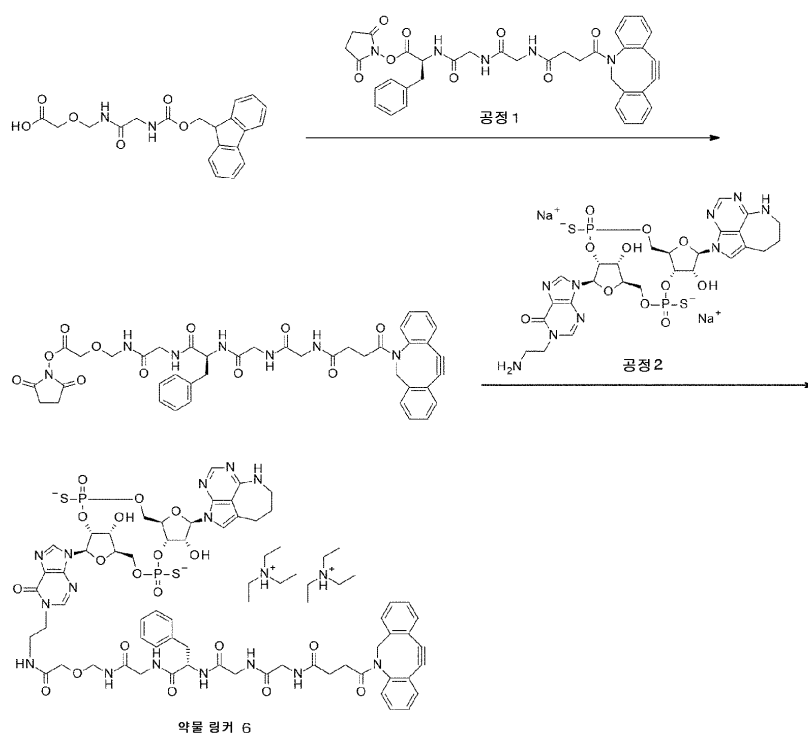
실시예 66 : 약물 링커 6 의 합성

[3621]

[합성 스킴]

[3622]

[화학식 223]



[3623]

[3624]

(공정 1)

[3625]

N-[4-(11,12-디데히드로벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-페닐알라닌-N-((2-[(2,5-다옥소피롤리딘-1-일)옥시]-2-옥소에톡시}메틸)글리신아미드

[3626] 이미 알려진 문헌 (W02014/057687) 의 $\{[(N-\{(9H\text{-플루오렌-9-일})메톡시\}카르보닐)글리실]아미노\}메톡시\}$ 아세트산 (955 mg) 의 N,N-디메틸포름아미드 (8.0 ml) 용액에, 1,8-디아자비시클로[5.4.0]-7-운데센 (0.74 ml) 을 첨가하고, 실온에서 1 시간 교반하였다 (반응액 A). 실시예 22 공정 10 에서 얻어진 화합물 (938 mg) 의 N,N-디메틸포름아미드 (8.0 ml) 용액에 N-하이드록시숙신이미드 (229 mg) 와 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)-카르보디이미드염산염 (380 mg) 을 첨가하고, 실온에서 50 분간 교반하였다 (반응액 B). 반응액 A 를 반응액 B 에 첨가하고, 실온에서 1 시간 교반하였다. 반응액에 디클로로메탄 (50 ml) 과 10 % 시트르산 수용액 (10 ml) 을 첨가하고, 디클로로메탄으로 추출하였다. 유기층을 포화 식염수로 세정 후, 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [클로로포름/(클로로포름/메탄올/물 = 7 : 3 : 1 의 하층)] 으로 정제하였다. 얻어진 화합물의 N,N-디메틸포름아미드 (8.0 ml) 용액에, N-하이드록시숙신이미드 (229 mg) 와 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)-카르보디이미드염산염 (380 mg) 을 첨가하고, 실온에서 30 분간 교반하였다. 반응액에 디클로로메탄 (100 ml) 과 물 (25 ml) 을 첨가하고, 디클로로메탄으로 추출하였다. 유기층을 포화 식염수로 세정 후, 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [클로로포름/메탄올] 로 정제하였다. 목적물을 포함하는 프랙션을 감압 농축하고, 잔류물에 디에틸에테르를 첨가하여 슬러리상으로 하였다. 얻어진 고체를 여과 채취하고, 표제 화합물 (412 mg) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (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, $J=13.9\text{ Hz}$), 4.70-4.48 (5H, m), 3.81-3.51 (7H, m), 3.05 (1H, dd, $J=14.2, 3.9\text{ Hz}$), 2.83 (4H, s), 2.80 (1H, m), 2.64 (1H, m), 2.28 (1H, m), 2.07 (1H, m), 1.79 (1H, m).

[3627]

[3628] (공정 2)

[3629] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) N-[4-(11,12-디데히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-페닐알라닌-N-({2-[(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-2,10-디술폜-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-6-옥소-6,9-디하이드로-1H-푸린-1-일}에틸)아미노]-2-옥소에톡시}메틸)글리신아미드

[3630] (약물 링커 6)

[3631] 실시예 5 공정 8-2 에서 얻어진 화합물 (20.0 mg) 과 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (23.7 mg) 을 사용하여, 실시예 21 공정 4 와 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산 트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴], 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴, 아세트오니트릴 : 20 % - 45 % (0 분 - 40 분)], 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/메탄올, 메탄올 : 30 % - 80 % (0 분 - 40 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (14.1 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 1466 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) 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=7.3 Hz), 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=7.3 Hz).

[3632]

[3633]

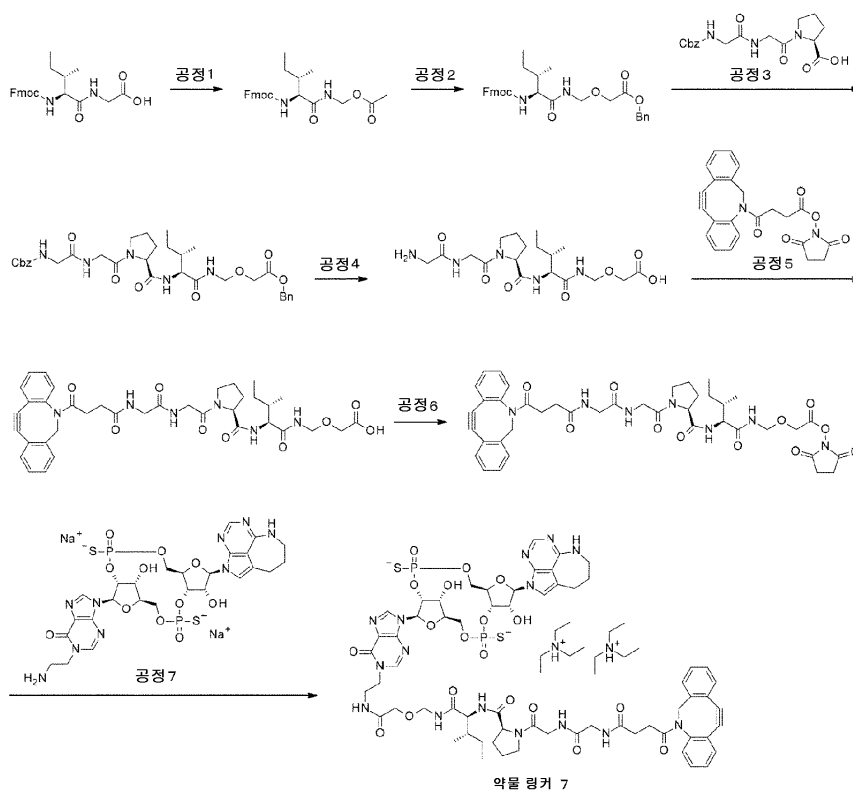
실시예 67 : 약물 링커 7 의 합성

[3634]

[합성 스킴]

[3635]

[화학식 224]



[3636]

[3637]

(공정 1)

[3638]

[N-{(9H-플루오렌-9-일)메톡시}카르보닐]-L-이소류실아미노]메틸 아세테이트

[3639]

시판 (IRIS) 되는 N-[(9H-플루오렌-9-일)메톡시]카르보닐]-L-이소류실글리신 (2.50 g) 의 테트라하이드로푸란 (45 ml) - 톨루엔 (15 ml) 혼합액에, 실온에서 피리딘 (0.588 ml) 과 4아세트산납 (3.24 g) 을 첨가하고, 65 °C 에서 3 시간 교반하였다. 반응액을 아세트산에틸로 희석하고, 물과 포화 식염수로 차례로 세정하였다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조 후, 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (2.06 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 447 (M+Na) ⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 7.77 (2H, d, J=7.9 Hz), 7.58 (2H, d, J=7.3 Hz), 7.40 (2H, t, J=7.3 Hz), 7.32 (2H, td, J=7.6, 1.2 Hz), 6.97-6.92 (1H, br m), 5.32-5.20 (3H, m), 4.47-4.37 (2H, m), 4.21 (1H, t, J=6.7 Hz), 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).

[3640]

[3641] (공정 2)

[3642] 벤질 {[N-[(9H-플루오렌-9-일)메톡시]카르보닐]-L-이소류실}아미노}메톡시}아세테이트

[3643] 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (2.06 g) 의 테트라하이드로푸란 (48 ml) 현탁액에, 0 °C 에서 글리콜산벤질 (1.38 ml) 과 p-톨루엔술폰산 1수화물 (92.3 mg) 을 첨가하고, 실온에서 4 시간 교반하였다. 반응액을 아세트산에틸로 희석하고, 포화 탄산수소나트륨수로 세정 후, 수층을 아세트산에틸로 추출하였다. 유기층을 아올러, 포화 식염수로 세정하고, 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (1.72 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 553 (M+Na) ⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 7.76 (2H, d, J=7.9 Hz), 7.58 (2H, d, J=7.3 Hz), 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=6.7 Hz), 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).

[3644]

[3645] (공정 3)

[3646] N-[(벤질옥시)카르보닐]글리실글리실-L-프롤린-N-([2-(벤질옥시)-2-옥소에톡시]메틸)-L-이소류신아미드

[3647] 상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (1.72 g) 의 아세트니트릴 (40 ml) 현탁액에, 실온에서 1,8-디아자비시클로 [5.4.0]-7-운데센 (0.290 ml) 을 첨가하고, 1 시간 교반하였다 (반응액 A). 시판되는 N-[(벤질옥시)카르보닐]글리실글리실-L-프롤린 (1.41 g) 의 아세트니트릴 (20 ml) 현탁액에, 실온에서 3H-[1,2,3]트리아졸[4,5-b]피리딘-3-올 (529 mg), 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)-카르보디이미드염산염 (746 mg), 및 N,N-디이소프로필에틸아민 (0.678 ml) 을 첨가하고, 1 시간 교반하였다. 이 반응액을 실온에서 상기 반응액 A 에 첨가하고, 6 시간 교반 후, 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [클로로포름/메탄올] 로 정제하고, 표제 화합물 (1.56 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 676 (M+Na)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) 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).

[3648]

[3649] (공정 4)

[3650] 글리실글리실-L-프롤릴-N-[(카르복시메톡시)메틸]-L-이소류신아미드

[3651] 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (1.56 g) 의 메탄올 (8 ml) - 테트라하이드로푸란 (24 ml) - 디클로로메탄 (8 ml) 혼합액에, 10 % 팔라듐탄소 (M) wet (1.4 g) 를 첨가하고, 수소 분위기하, 실온에서 23 시간 교반하였다.

반응액에 메탄올/테트라하이드로푸란 (1 : 1) 혼합액 (50 ml) 을 첨가하고, 셀라이트로 여과하였다. 셀라이트를 메탄올/테트라하이드로푸란 (1 : 1) 혼합액으로 세정하였다. 여과액을 감압 농축 후, 잔류물에 메탄올 (20 ml), 테트라하이드로푸란 (20 ml), 및 10 % 팔라듐탄소 (M) wet (1.0 g) 를 첨가하고, 수소 분위기하, 실온에서 3 시간 교반하였다. 반응액을 셀라이트로 여과 후, 셀라이트를 메탄올/테트라하이드로푸란 (1 : 1) 으로 세정하였다. 여과액을 감압 농축하고, 표제 화합물의 미정제체 (1.02 g) 를 얻었다.

[3652] MS(ESI) m/z : 430(M+H)⁺.

[3653] (공정 5)

[3654] N-[4-(11,12-디데히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-프롤릴-N-[(카르복시메톡시)메틸]-L-이소류신아미드

[3655] 상기 공정 4 에서 얻어진 화합물 (1.02 g) 의 N,N-디메틸폼아미드 (24 ml) 용액에, 1-[[4-(11,12-디데히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]옥시]피롤리딘-2,5-디온 (956 mg) 과 N,N-디이소프로필에틸아민 (0.496 ml) 을 첨가하고, 실온에서 1 시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축하고, 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [클로로포름/메탄올] 로 정제하였다. 목적물을 포함하는 프랙션을 감압 농축 후, 잔류물에 아세트산에틸을 첨가하여 고화시켰다. 얻어진 고체를 여과 채취하고, 표제 화합물 (1.06 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 739 (M+Na)⁺, 715 (M-H)⁻.

¹H-NMR (CD₃OD) 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).

[3656]

[3657] (공정 6)

[3658] N-[4-(11,12-디데히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-프롤릴-N-[(2-[(2,5-디옥소피롤리딘-1-일)옥시]-2-옥소에톡시)메틸]-L-이소류신아미드

[3659] 상기 공정 5 에서 얻어진 화합물 (1.06 g) 의 N,N-디메틸포름아미드 (16 ml) 현탁액에, N-하이드록시숙신이미드 (187 mg) 와 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)-카르보다이미드염산염 (312 mg) 을 첨가하고, 실온에서 16 시간 교반하였다. 반응액을 클로로포름으로 희석하고, 물로 3 회 세정하였다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조 후, 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물에 아세트산에틸을 첨가하고, 얻어진 고체를 여과 채취하였다. 여과 채취한 고체에 디에틸에테르를 첨가하고, 슬러리상으로 한 후, 고체를 여과 채취하여, 표제 화합물 (767 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 836 (M+Na) ⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) 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, m), 1.60-1.52 (1H, m), 1.25-1.13 (1H, m), 0.98-0.87 (6H, m).

[3660]

[3661] (공정 7)

[3662] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) N-[4-(11,12-디테히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-프롤릴-N-({2-[(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-2,10-디술폰아이드-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-6-옥소-6,9-디하이드로-1H-푸린-1-일}에틸)아미노)-2-옥소에톡시}메틸)-L-이소류신아미드

[3663] (약물 링커 7)

[3664] 실시예 5 공정 8-2 에서 얻어진 화합물 (20.0 mg) 과 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (20.9 mg) 을 사용하여, 실시예 21 공정 4 와 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산 트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴], 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 20 % - 45 % (0 분 - 40 분)], 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/메탄올, 메탄올 : 30 % - 80 % (0 분 - 40 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (11.9 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 1472 (M+H) ⁺

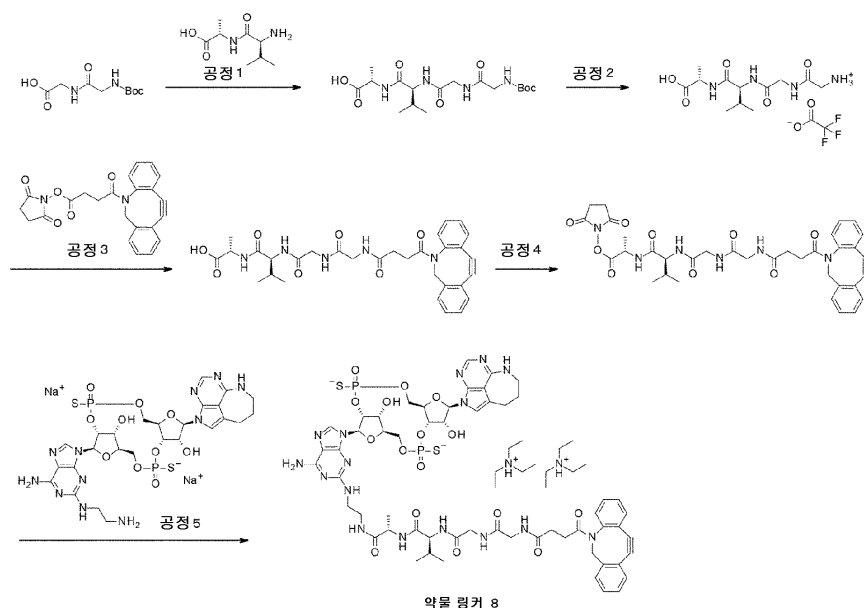
¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.71 (1H, brs), 8.19-8.13 (1H, m), 8.02 (1H, s), 7.64-7.56 (2H, m), 7.48-7.41 (3H, m), 7.37-7.08 (4H, m), 6.34-6.23 (2H, m), 5.48-5.36 (2H, m), 5.16-5.08 (1H, m), 4.98-4.55 (6H, m), 4.52-4.15 (7H, m), 4.07-3.81 (6H, m), 3.80-3.45 (8H, m), 3.19 (12H, q, J=7.3 Hz), 2.93-2.85 (2H, m), 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=7.3 Hz), 1.28-1.10 (1H, m), 1.01-0.85 (7H, m).

[3665]

[3666] 실시예 68 : 약물 링커 8 의 합성

[3667] [합성 스킴]

[3668] [화학식 225]



[3669]

[3670] (공정 1)

[3671] N-(tert-부톡시카르보닐)글리실글리실-L-발릴-L-알라닌

[3672] 시판 (ChemFun) 되는 N-(tert-부톡시카르보닐)글리실글리신 (5.00 g) 과 N-하이드록시숙신이미드 (2.97 g) 의 N,N-디메틸포르미아미드 (50 ml) 용액에, 질소 분위기하, 0 °C 에서 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)-카르보디이미드염산염 (4.95 g) 을 첨가하고, 실온으로 승온하여 1 시간 교반하였다. 반응액에 트리에틸아민 (3.6 ml) 과 시판 (고쿠산 화학) 되는 L-발릴-L-알라닌 (4.05 g) 을 첨가하고, 동 온도 6 시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축하고, 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [디클로로메탄/메탄올] 로 정제하였다. 목적물을 포함하는 프랙션을 감압 농축하고, 디에틸에테르를 첨가하여 슬러리상으로 하였다. 얻어진 고체를 여과 채취하고, 표제 화합물 (4.99 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 401 (M-H)⁻.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 12.43 (1H, br), 8.27 (1H, d, J=6.8 Hz), 7.92 (1H, t, J=5.4 Hz), 7.79 (1H, d, J=9.3 Hz), 6.99 (1H, t, J=5.9 Hz), 4.19 (1H, t, J=8.1 Hz), 4.13 (1H, m), 3.73 (2H, d, J=5.4 Hz), 3.52 (2H, d, J=5.9 Hz), 1.92 (1H, dd, m), 1.35 (9H, s), 1.24 (3H, d, J=7.3 Hz), 0.85 (3H, d, J=6.3 Hz), 0.79 (3H, d, J=6.8 Hz).

[3673]

[3674] (공정 2)

[3675] N-(아자니우밀아세틸)글리실-L-발릴-L-알라닌 트리플루오로아세테이트

[3676] 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (1.00 g) 을 사용하여, 실시예 21 공정 1 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (1.10 g) 의 미정제체를 얻었다.

MS (ESI) m/z : 301 (M-H)⁻.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 12.49 (1H, br), 8.54 (1H, t, J=5.6 Hz), 8.34 (1H, d, J=6.8 Hz), 8.03 (1H, d, J=9.3 Hz), 8.00 (3H, brs), 4.24 (1H, dd, J=8.8, 6.8 Hz), 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=7.3 Hz), 0.89 (3H, d, J=6.8 Hz), 0.84 (3H, d, J=6.8 Hz).

[3677]

(공정 3)

[3678]

N-[4-(11,12-디테히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-발릴-L-알라닌

[3679]

상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (861 mg) 을 사용하여, 실시예 21 공정 2 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (737 mg) 을 얻었다.

[3680]

MS (ESI) m/z : 590 (M+H)⁺.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 12.46 (1H, s), 8.28 (1H, t, J=8.1 Hz), 8.18 (1H, t, J=5.9 Hz), 8.13 (0.5H, t, J=5.6 Hz), 8.04 (0.5H, t, J=5.9 Hz), 7.99 (0.5H, t, J=5.9 Hz), 7.73 (0.5H, d, J=1.5 Hz), 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=6.3 Hz), 5.00 (0.5H, d, J=6.3 Hz), 4.21 (1H, dd, J=9.0, 7.1 Hz), 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=7.8 Hz), 2.09-2.03 (1H, m), 1.99-1.91 (1H, m), 1.79 (1H, m), 1.25 (1.5H, d, J=5.4 Hz), 1.24 (1.5H, d, J=5.4 Hz), 0.87 (3H, d, J=6.8 Hz), 0.82-0.79 (3H, m).

[3681]

(공정 4)

[3682]

2,5-디옥소피롤리딘-1-일 N-[4-(11,12-디테히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-발릴-L-알라니네이트

[3683]

상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (260 mg) 을 사용하여, 실시예 21 공정 3 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (84 mg) 을 얻었다.

[3684]

MS (ESI) m/z : 687 (M+H)⁺.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 8.73 (1H, t, J=7.0 Hz), 8.18 (0.5H, t, J=5.7 Hz), 8.12 (0.5H, t, J=5.7 Hz), 8.04 (0.5H, t, J=5.7 Hz), 7.98 (0.5H, t, J=5.7 Hz), 7.84-7.60 (3H, m), 7.52-7.44 (3H, m), 7.40-7.28 (3H, m), 5.03 (0.5H, d, J=6.0 Hz), 5.00 (0.5H, d, J=6.0 Hz), 4.69-4.58 (1H, m), 4.22 (1H, t, J=7.6 Hz), 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=3.6 Hz), 1.43 (1.5H, d, J=3.6 Hz), 0.85 (3H, d, J=6.7 Hz), 0.83-0.79 (3H, m).

[3685]

[3686] (공정 5)

[3687] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) N-[4-(11,12-디테히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-발릴-N-[2-({6-아미노-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-2,10-디술폰-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2 λ^5 ,10 λ^5 -푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헨타옥사디포스포시클로테트라데신-7-일]-9H-푸린-2-일}아미노)에틸]-L-알라닌아미드

[3688] (약물 링커 8)

[3689] 실시예 8 공정 8-2 에서 얻어진 화합물 (5.3 mg) 과 상기 공정 4 에서 얻어진 화합물 (4.5 mg) 을 사용하여, 실시예 23 공정 1 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 25 % - 35 % (0 분 - 30 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (5.1 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 1359 (M+H)⁺.

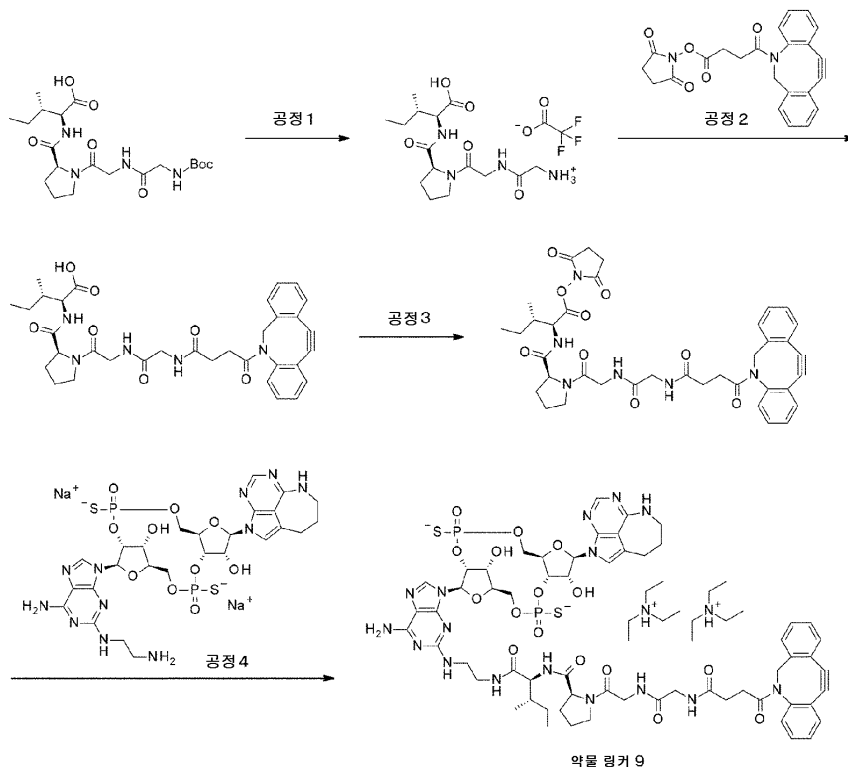
¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.37 (1H, brs), 8.02 (1H, s), 7.66-7.13 (9H, m), 6.33 (1H, d, J=6.7 Hz), 6.13 (1H, d, J=9.1 Hz), 5.49-5.42 (2H, m), 5.13-5.04 (1H, m), 4.83-4.80 (1H, m), 4.51-3.63 (14H, m), 3.51-3.37 (4H, m), 3.14 (12H, q, J=7.3 Hz), 2.90-2.72 (5H, m), 2.36-1.96 (6H, m), 1.34-1.25 (21H, m), 0.98-0.86 (6H, m).

[3690]

[3691] 실시예 69 : 약물 링커 9 의 합성

[3692] [합성 스킴]

[3693] [화학식 226]



[3694]

[3695] (공정 1)

[3696] N-(아자니우밀아세틸)글리실-L-프롤릴-L-이소류신 트리플루오로아세테이트

[3697] 시판 (Hangzhou Peptide Biochem) 되는 N-(tert-부톡시카르보닐)글리실글리실-L-프롤릴-L-이소류신 (1.00 g) 을 사용하여, 실시예 21 공정 1 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (1.02 g) 의 미정제체를 얻 었다.

MS (ESI) m/z : 343 (M+H) ⁺.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 12.61 (1H, s), 8.51 (0.7H, t, J=5.1 Hz), 8.48 (0.3H, t, J=4.9 Hz), 8.35 (0.3H, d, J=8.8 Hz), 8.05 (0.7H, d, J=8.3 Hz), 7.99 (3H, brs), 4.55 (0.3H, dd, J=8.3, 2.4 Hz), 4.46 (0.7H, dd, J=8.8, 2.9 Hz), 4.23 (0.3H, dd, J=8.5, 5.6 Hz), 4.15 (0.7H, dd, J=8.3, 5.9 Hz), 4.06 (0.7H, dd, J=17.6, 5.4 Hz), 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).

[3698]

[3699] (공정 2)

[3700] N-[4-(11,12-디테히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-프롤릴-L-이소류신

[3701] 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (1.02 g) 을 사용하여, 실시예 21 공정 2 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (993 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 630 (M+H)⁺.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 12.57 (1H, s), 8.30 (0.3H, dd, J=8.5, 3.6 Hz), 8.14-8.06 (1H, m), 8.00 (0.7H, d, J=7.9 Hz), 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=14.5 Hz), 5.02 (0.3H, d, J=14.5 Hz), 4.56 (0.3H, dd, J=8.5, 2.4 Hz), 4.47-4.43 (0.7H, m), 4.20 (0.3H, dd, J=8.2, 5.7 Hz), 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).

[3702]

[3703] (공정 3)

[3704] 2,5-디옥소피롤리딘-1-일 N-[4-(11,12-디테히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-프롤릴-L-이소류시네이트

[3705] 상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (300 mg) 을 사용하여, 실시예 21 공정 3 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (287 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 727 (M+H)⁺.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 8.77-8.67 (0.3H, m), 8.50 (0.5H, d, J=8.3 Hz), 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=14.2 Hz), 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).

[3706]

[3707] (공정 4)

[3708] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) N-[4-(11,12-디테히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-프롤릴-N-[2-({6-아미노-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-2,10-디숄파이드-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-9H-푸린-2-일}아미노)에틸]-L-이소류신아미드

[3709] (약물 링커 9)

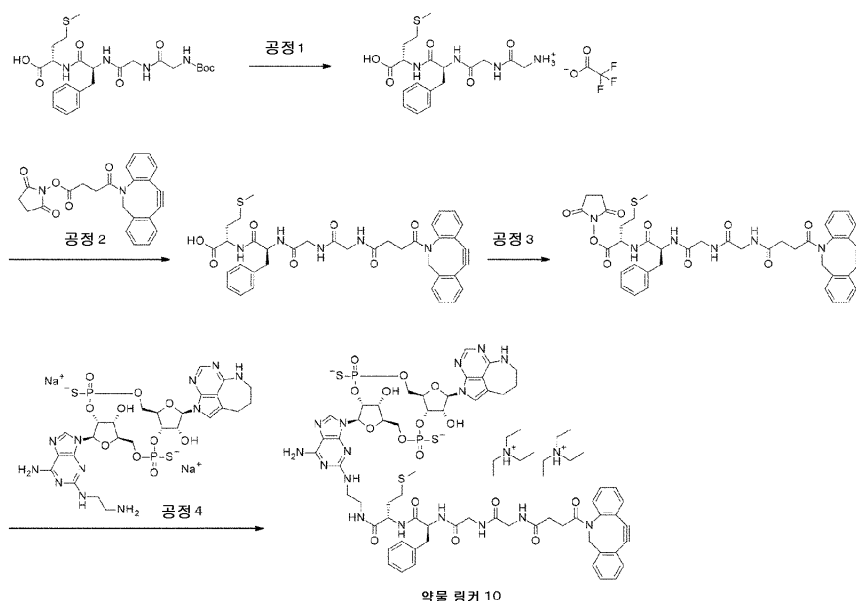
[3710] 실시예 8 공정 8-2 에서 얻어진 화합물 (51.8 mg) 과 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (36.9 mg) 을 사용하여, 실시예 23 공정 1 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 20 % - 35 % (0 분 - 30 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (62.5 mg) 을 얻었다.

[3711] MS(ESI) m/z : 1397(M-H)⁻.

[3712] 실시예 70 : 약물 링커 10 의 합성

[3713] [합성 스킴]

[3714] [화학식 227]



[3715]

[3716] (공정 1)

[3717] N-(아자니우밀아세틸)글리실-L-페닐알라닐-L-메티오닌 트리플루오로아세테이트

[3718] 시판 (Hangzhou Peptide Biochem) 되는 N-(tert-부톡시카르보닐)글리실글리실-L-페닐알라닐-L-메티오닌 (1.00 g) 을 사용하여, 실시예 21 공정 1 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (1.19 g) 의 미정제체를 얻었다.

MS (ESI) m/z : 411 (M+H)⁺.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 8.48 (1H, t, J=5.4 Hz), 8.41 (1H, d, J=7.8 Hz), 8.27 (1H, d, J=8.3 Hz), 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, 5.9 Hz), 3.68 (1H, dd, J=16.6, 5.4 Hz), 3.56 (2H, m), 3.04 (1H, dd, J=13.9, 3.7 Hz), 2.74 (1H, dd, J=13.7, 10.3 Hz), 2.47 (1H, m), 2.05 (3H, s), 2.00 (1H, m), 1.88 (1H, m), 1.48 (1H, d, J=10.3 Hz).

[3719]

[3720] (관측 가능한 피크만 기재)

[3721] (공정 2)

[3722] N-[4-(11,12-디테히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-페닐알라닐-L-메티오닌

[3723] 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (1.03 g) 을 사용하여, 실시예 21 공정 2 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (652 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 698 (M+H)⁺.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 12.67 (1H, brs), 8.28 (0.7H, d, J=7.9 Hz), 8.25 (0.3H, d, J=7.9 Hz), 8.17 (0.7H, t, J=5.7 Hz), 8.10 (0.3H, t, J=5.7 Hz), 8.04-7.93 (2H, m), 7.73-7.15 (13H, m), 5.00 (1H, d, J=13.9 Hz), 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, 3.6 Hz), 2.79-2.22 (5H, m), 2.11-1.76 (4H, m), 2.02 (2.1H, s), 2.02 (0.9H, s).

[3724]

[3725] (공정 3)

[3726] 2,5-디옥소피롤리딘-1-일 N-[4-(11,12-디테히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-페닐알라닐-L-메티오닌네이트

[3727] 상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (201 mg) 을 사용하여, 실시예 21 공정 3 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (95 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 795 (M+H)⁺.

¹H-NMR (DMSO-d₆) 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=14.5 Hz), 5.00 (0.45H, d, J=13.9 Hz), 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).

[3728]

[3729] (공정 4)

[3730] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) N-[4-(11,12-디테히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-페닐알라닐-N-[2-({6-아미노-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-2,10-디숄파이드-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-9H-푸린-2-일}아미노)에틸]-L-메티오닌아미드

[3731] (약물 링커 10)

[3732] 실시예 8 공정 8-2 에서 얻어진 화합물 (6.0 mg) 과 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (5.5 mg) 을 사용하여, 실시예 23 공정 1 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 20 % - 40 % (0 분 - 30 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (2.0 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 1467 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.23 (1H, brs), 7.93 (1H, s), 7.54–7.07 (14H, m), 6.23 (1H, d, J=6.7 Hz), 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=7.3 Hz), 2.38–2.13 (3H, m), 2.02–1.80 (8H, m), 1.19 (18H, t, J=7.3 Hz).

[3733]

[3734]

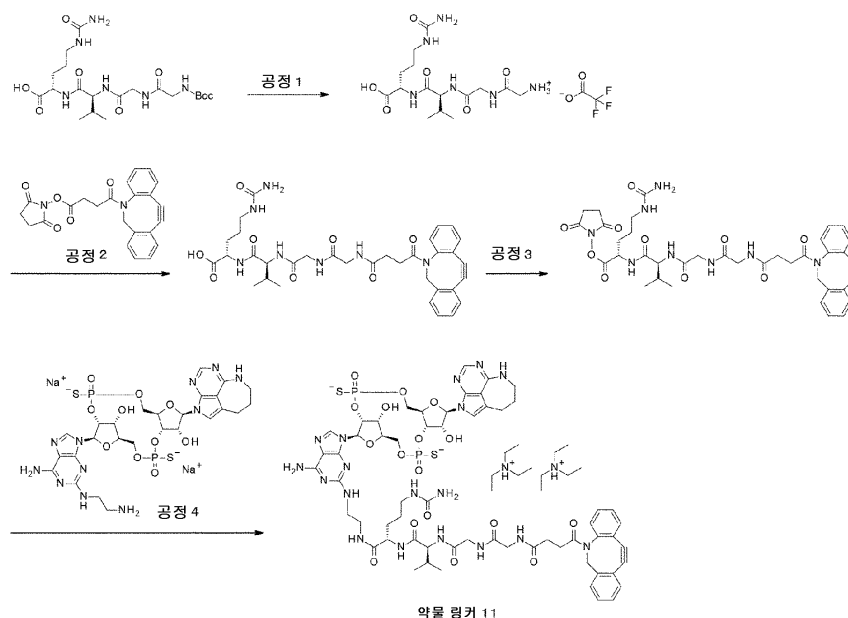
실시예 71 : 약물 링커 11 의 합성

[3735]

[합성 스킴]

[3736]

[화학식 228]



[3737]

[3738]

(공정 1)

[3739]

N-(아자니우밀아세틸)글리실-L-발릴-N⁵-카르바모일-L-오르니틴 트리플루오로아세테이트

[3740]

시판 (Hangzhou Peptide Biochem) 되는 N-(tert-부톡시카르보닐)글리실글리실-L-발릴-N⁵-카르바모일-L-오르니틴 (1.00 g) 을 사용하여, 실시예 21 공정 1 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (1.02 g) 의 미정 제체를 얻었다.

MS (ESI) m/z : 389 (M+H)⁺.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 12.52 (1H, brs), 8.55 (1H, t, J=5.4 Hz), 8.29 (1H, d, J=7.3 Hz), 8.03-7.96 (4H, m), 5.97 (1H, brs), 5.40 (1H, brs), 4.26 (1H, t, J=7.8 Hz), 4.11 (1H, m), 3.93-3.85 (2H, m), 3.60 (2H, d, J=5.9 Hz), 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=6.8 Hz), 0.84 (3H, d, J=6.8 Hz).

[3741]

[3742] (관측 가능한 피크만 기재)

[3743] (공정 2)

[3744] N-[4-(11,12-디데히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-발릴-N⁵-카르바모일-L-오르니틴

[3745] 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (1.02 g) 을 사용하여, 실시예 21 공정 2 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (795 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 676 (M+H)⁺.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 12.49 (1H, s), 8.28-8.22 (1H, m), 8.18 (0.5H, t, J=6.0 Hz), 8.13 (0.5H, t, J=5.7 Hz), 8.06 (0.5H, t, J=5.7 Hz), 8.01 (0.5H, t, J=6.0 Hz), 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=5.7 Hz), 5.38 (2H, brs), 5.02 (0.5H, d, J=13.9 Hz), 5.01 (0.5H, d, J=13.9 Hz), 4.24 (1H, dd, J=8.8, 7.0 Hz), 4.10 (1H, m), 3.79-3.54 (5H, m), 2.93 (2H, q, J=6.4 Hz), 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=6.7 Hz), 0.81 (1.5H, d, J=6.7 Hz), 0.80 (1.5H, d, J=6.7 Hz).

[3746]

[3747] (공정 3)

[3748] 2,5-디옥소피롤리딘-1-일 N-[4-(11,12-디데히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-발릴-N⁵-카르바모일-L-오르니티네이트

[3749] 상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (300 mg) 을 사용하여, 실시예 21 공정 3 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (177 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 773 (M+H)⁺.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 8.75 (1H, t, J=6.1 Hz), 8.20 (0.5H, t, J=6.1 Hz), 8.15 (0.5H, t, J=5.6 Hz), 8.06 (0.5H, t, J=5.9 Hz), 8.02 (0.5H, t, J=5.9 Hz), 7.83 (0.5H, d, J=8.8 Hz), 7.77 (0.5H, d, J=8.8 Hz), 7.72 (0.5H, d, J=7.8 Hz), 7.67 (0.5H, d, J=6.3 Hz), 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=13.7 Hz), 5.01 (0.5H, d, J=14.2 Hz), 4.59-4.54 (1H, m), 4.25 (1H, m), 3.79-3.68 (5H, m), 2.97 (2H, q, J=6.5 Hz), 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=5.4 Hz), 0.81 (1.5H, d, J=4.9 Hz), 0.80 (1.5H, d, J=6.8 Hz).

[3750]

[3751] (공정 4)

[3752] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) N-[4-(11,12-디테히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-발릴-N-[2-({6-아미노-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-2,10-디술과이드-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-9H-푸린-2-일}아미노)에틸]-N⁵-카르바모일-L-오르니틴아미드

[3753] (약물 링커 11)

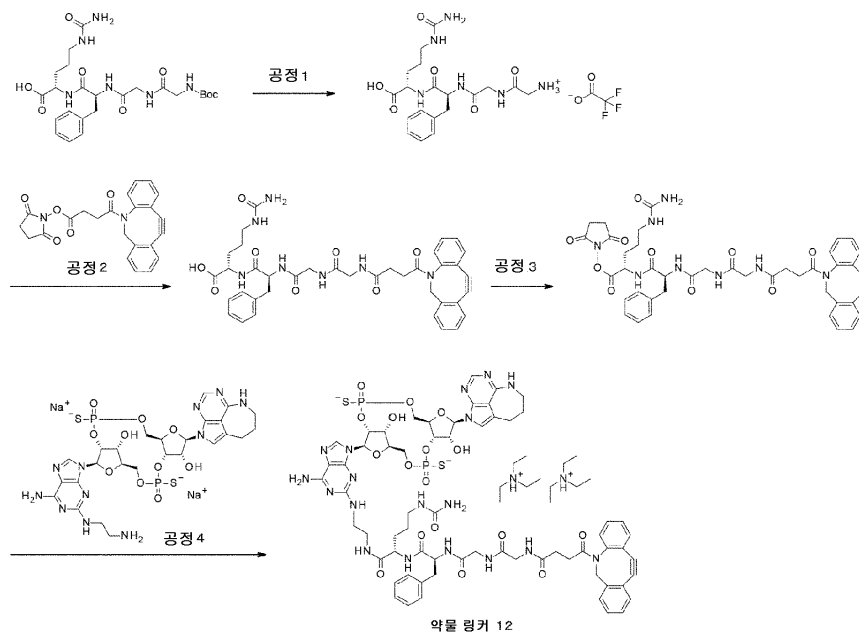
[3754] 실시예 8 공정 8-2 에서 얻어진 화합물 (5.0 mg) 과 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (3.8 mg) 을 사용하여, 실시예 23 공정 1 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴, 아세트오니트릴 : 20 % - 35 % (0 분 - 30 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (3.0 mg) 을 얻었다.

[3755] MS(ESI) m/z : 1443(M-H)⁻.

[3756] 실시예 72 : 약물 링커 12 의 합성

[3757] [합성 스킴]

[3758] [화학식 229]



[3759]

[3760] (공정 1)

[3761] N-(아자니우밀아세틸)글리실-L-페닐알라닌-N⁵-카르바모일-L-오르니틴 트리플루오로아세테이트

[3762] 시판 (Hangzhou Peptide Biochem) 되는 N-(tert-부톡시카르보닐)글리실글리실-L-페닐알라닌-N⁵-카르바모일-L-오르니틴 (1.00 g) 을 사용하여, 실시예 21 공정 1 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (1.05 g) 의 미정제체를 얻었다.

MS (ESI) m/z : 437 (M+H)⁺.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 12.63 (1H, brs), 8.49 (1H, t, J=5.4 Hz), 8.40 (1H, d, J=7.8 Hz), 8.26 (1H, d, J=8.3 Hz), 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, 5.4 Hz), 3.67 (1H, dd, J=16.6, 5.4 Hz), 3.56 (2H, d, J=5.9 Hz), 3.03 (1H, dd, J=13.9, 3.7 Hz), 2.96 (2H, brs), 2.73 (1H, dd, J=13.9, 10.5 Hz), 1.73 (1H, m), 1.58 (1H, m), 1.40 (2H, m).

[3763]

[3764] (공정 2)

[3765] N-[4-(11,12-디테히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-페닐알라닌-N⁵-카르바모일-L-오르니틴

[3766] 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (1.05 g) 을 사용하여, 실시예 21 공정 2 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (550 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 724 (M+H)⁺.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 12.60 (1H, s), 8.29 (1H, t, J=9.1 Hz), 8.17 (0.5H, t, J=5.7 Hz), 8.10 (0.5H, t, J=5.7 Hz), 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=13.9 Hz), 5.00 (0.5H, d, J=14.5 Hz), 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).

[3767]

[3768] (공정 3)

[3769] 2,5-디옥소피롤리딘-1-일 N-[4-(11,12-디데히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-페닐알라닐-N⁵-카르바모일-L-오르니티네이트

[3770] 상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (225 mg) 을 사용하여, 실시예 21 공정 3 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (226 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 821 (M+H)⁺.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 8.80 (1H, t, J=7.6 Hz), 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=14.0 Hz), 4.99 (0.5H, d, J=14.0 Hz), 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).

[3771]

[3772] (공정 4)

[3773] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) N-[4-(11,12-디데히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-페닐알라닐-N-[2-(6-아미노-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-2,10-디설파이드-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일)-9H-푸린-2-일}아미노)에틸]-N⁵-카르바모일-L-오르니틴아미드

[3774] (약물 링커 12)

[3775] 실시예 8 공정 8-2 에서 얻어진 화합물 (5.1 mg) 과 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (4.0 mg) 을 사용하여, 실시예 23 공정 1 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 20 % - 35 % (0 분 - 30 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (4.6 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 1493 (M+H)⁺.

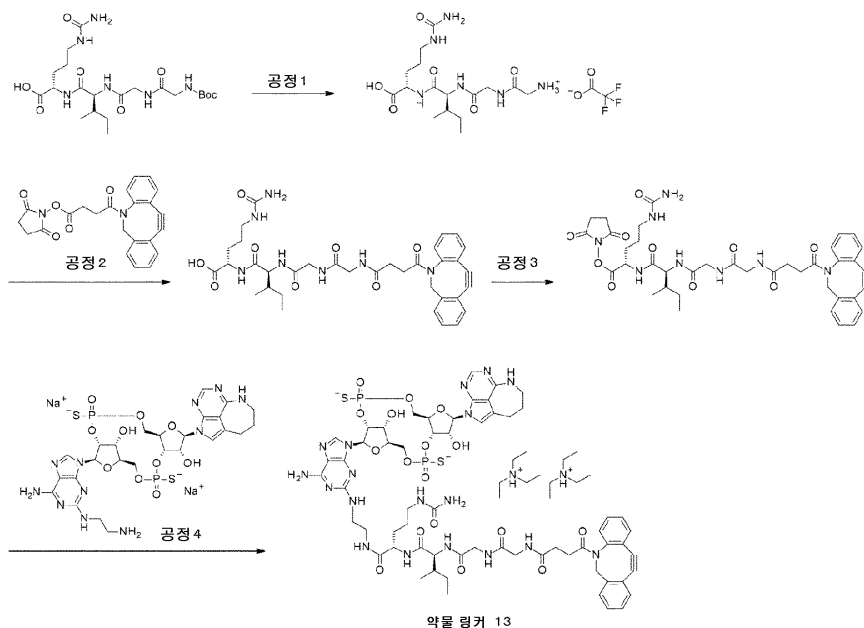
¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.31 (1H, brs), 8.02 (1H, s), 7.62–7.14 (14H, m), 6.32 (1H, d, J=6.0 Hz), 6.11 (1H, brd, J=5.4 Hz), 5.55–5.41 (2H, m), 5.06 (1H, dd, J=13.9, 11.5 Hz), 4.86–2.73 (28H, m), 3.19 (12H, q, J=7.5 Hz), 2.39–2.16 (2H, m), 2.04–1.94 (3H, m), 1.84–1.74 (1H, m), 1.73–1.62 (1H, m), 1.51–1.37 (2H, m), 1.29 (18H, t, J=7.3 Hz).

[3776]

[3777] 실시예 73 : 약물 링커 13 의 합성

[3778] [합성 스킴]

[3779] [화합식 230]



[3780]

[3781] (공정 1)

[3782] N-(아자니우밀아세틸)글리실-L-이소류실-N⁵-카르바모일-L-오르니틴 트리플루오로아세테이트

[3783] 시판 (Hangzhou Peptide Biochem) 되는 N-(tert-부톡시카르보닐)글리실글리실-L-이소류실-N⁵-카르바모일-L-오르니틴 (1.00 g) 을 사용하여, 실시예 21 공정 1 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (1.09 g) 의 미정제체를 얻었다.

MS (ESI) m/z : 403 (M+H)⁺.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 8.54 (1H, t, J=5.4 Hz), 8.30 (1H, d, J=7.3 Hz), 8.03 (1H, d, J=9.3 Hz), 7.99 (3H, brs), 5.99 (1H, brs), 4.27 (1H, t, J=8.1 Hz), 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=6.8 Hz), 0.81 (3H, t, J=7.3 Hz).

[3784]

(관측 가능한 피크만 기재)

[3785]

(공정 2)

[3786]

N-[4-(11,12-디테히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-이소류실-N⁵-카르바모일-L-오르니틴

[3787]

상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (1.08 g) 을 사용하여, 실시예 21 공정 2 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (524 mg) 을 얻었다.

[3788]

MS (ESI) m/z : 690 (M+H)⁺.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 12.47 (1H, brs), 8.25 (1H, t, J=6.0 Hz), 8.17 (0.5H, t, J=5.7 Hz), 8.12 (0.5H, t, J=6.0 Hz), 8.04 (0.5H, t, J=6.0 Hz), 7.99 (0.5H, t, J=6.0 Hz), 7.76-7.66 (2H, m), 7.62-7.59 (1H, m), 7.52-7.29 (6H, m), 5.92 (1H, t, J=5.4 Hz), 5.38 (2H, s), 5.02 (0.5H, d, J=14.5 Hz), 5.01 (0.5H, d, J=13.9 Hz), 4.25 (1H, t, J=8.2 Hz), 4.09 (1H, m), 3.78-3.54 (5H, m), 2.93 (2H, q, J=6.4 Hz), 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, 5.7 Hz), 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=6.7 Hz), 0.79 (1.5H, t, J=6.7 Hz), 0.77 (1.5H, t, J=7.0 Hz).

[3789]

(공정 3)

[3790]

2,5-디옥소피롤리딘-1-일 N-[4-(11,12-디테히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-이소류실-N⁵-카르바모일-L-오르니티네이트

[3791]

상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (250 mg) 을 사용하여, 실시예 21 공정 3 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (224 mg) 을 얻었다.

[3792]

MS (ESI) m/z : 787 (M+H)⁺.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 8.75 (1H, t, J=6.4 Hz), 8.19 (0.5H, t, J=5.8 Hz), 8.14 (0.5H, t, J=5.8 Hz), 8.06 (0.5H, t, J=5.8 Hz), 8.01 (0.5H, t, J=5.8 Hz), 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=14.0 Hz), 5.01 (0.5H, d, J=14.0 Hz), 4.64-4.51 (1H, m), 4.26 (1H, t, J=8.2 Hz), 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=6.7 Hz), 0.78 (1.5H, t, J=6.7 Hz), 0.76 (1.5H, t, J=6.7 Hz).

[3793]

(공정 4)

[3794]

비스(N,N-디에틸에탄아미늄) N-[4-(11,12-디테히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-이소류실-N-[2-(6-아미노-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-2,10-디숄파이드-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-9H-푸린-2-일}아미노)에틸]-N⁵-카르바모일-L-오르니틴아미드

[3796]

(약물 링커 13)

[3797]

실시예 8 공정 8-2 에서 얻어진 화합물 (5.4 mg) 과 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (4.0 mg) 을 사용하여, 실시예 23 공정 1 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 20 % - 35 % (0 분 - 30 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (4.7 mg) 을 얻었다.

[3798]

MS(ESI) m/z : 1457(M-H)⁻.

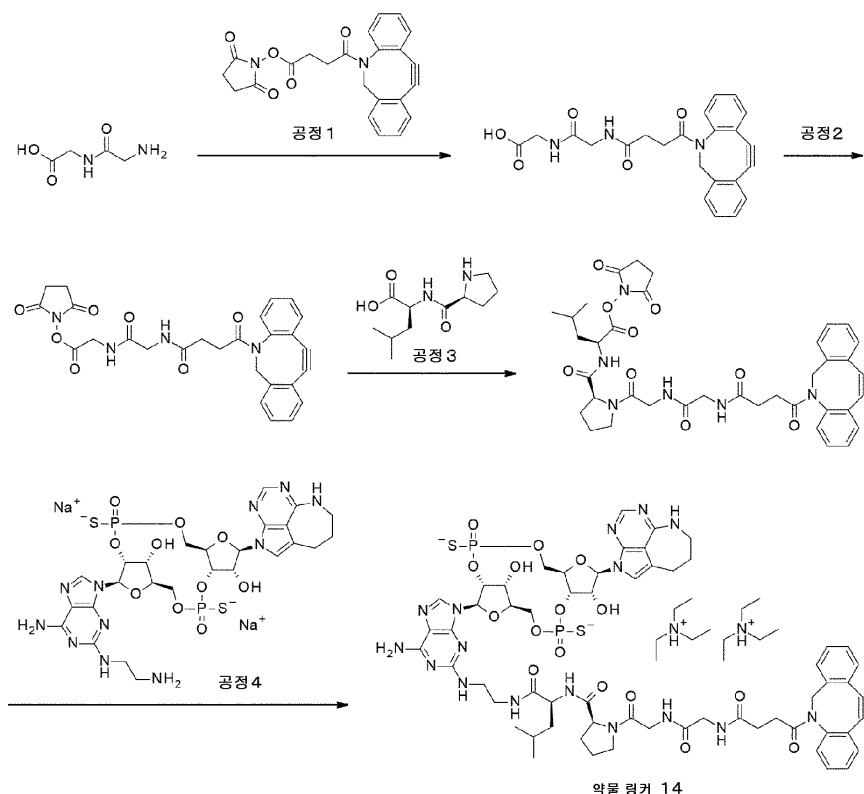
[3799]

실시예 74 : 약물 링커 14 의 합성

[3800]

[합성 스킴]

[3801] [화학식 231]



[3802]

[3803] (공정 1)

[3804] N-[4-(11,12-디테히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리신

[3805] 시판 (도쿄 화학 공업) 되는 글리실글리신 (0.61 g) 을 사용하여, 실시예 21 공정 2 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (1.08 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 420 (M+H)⁺.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 12.57 (1H, s), 8.12 (1H, t, J=6.0 Hz), 8.07 (1H, t, J=5.7 Hz), 7.69-7.67 (1H, m), 7.62-7.60 (1H, m), 7.52-7.29 (6H, m), 5.03 (1H, d, J=13.9 Hz), 3.73 (2H, d, J=6.0 Hz), 3.70-3.55 (3H, m), 2.64 (1H, m), 2.28 (1H, m), 2.06 (1H, ddd, J=15.3, 7.7, 5.6 Hz), 1.79 (1H, ddd, J=16.5, 7.4, 5.6 Hz).

[3806]

[3807] (공정 2)

[3808] 2,5-디옥소피롤리딘-1-일 N-[4-(11,12-디테히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리시네이트

[3809] 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (1.07 g) 을 사용하여, 실시예 21 공정 3 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (942 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 517 (M+H)⁺.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 8.40 (1H, t, J=6.0 Hz), 8.19 (1H, t, J=6.0 Hz), 7.69-7.67 (1H, m), 7.64-7.62 (1H, m), 7.53-7.29 (6H, m), 5.05 (1H, d, J=14.5 Hz), 4.26 (1H, dd, J=18.1, 6.0 Hz), 4.19 (1H, dd, J=18.1, 6.0 Hz), 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, 5.7 Hz), 1.80 (1H, dd, J=16.3, 7.3, 5.4 Hz).

[3810]

[3811] (공정 3)

[3812] 2,5-디옥소피롤리딘-1-일 N-[4-(11,12-디테히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-프롤릴-L-류시네이트

[3813] 상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (250 mg) 과 시판 (고쿠산 화학) 되는 L-프롤릴-L-류신 (166 mg) 의 N,N-디메틸포름아미드 (5.0 ml) 현탁액에, N,N-디이소프로필에틸아민 (0.25 ml) 을 첨가하고, 실온에서 2.5 시간 교반하였다. L-프롤릴-L-류신 (833 mg) 을 추가하여 밤새 교반하였다. 반응액을 감압 농축 후, 잔류물에 클로로포름 (50 ml) 과 10 % 시트르산 수용액 (10 ml) 을 첨가하고, 클로로포름으로 추출하였다. 유기층을 감압 농축하고, 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [클로로포름/(클로로포름 : 메탄올 : 물 = 7 : 3 : 1) 의 하층] 으로 조정제하였다. 미정제 생성물의 N,N-디메틸포름아미드 (5.0 ml) 용액에 N-하이드록시숙신이미드 (67 mg) 와 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)-카르보디이미드염산염 (111 mg) 을 첨가하고, 실온에서 1.5 시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축하고, 잔류물에 클로로포름 (40 ml) 과 물 (15 ml) 을 첨가하고, 클로로포름으로 추출하였다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조 후, 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [클로로포름/메탄올], [아세트산에틸/메탄올] 로 차례로 정제하고, 표제 화합물 (127 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 727 (M+H)⁺.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 8.85 (0.3H, m), 8.56 (0.5H, d, J=7.3 Hz), 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).

[3814]

[3815] (공정 4)

[3816] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) N-[4-(11,12-디테히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-프롤릴-N-[2-(6-아미노-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-2,10-디숄파이드-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-9H-푸린-2-일}아미노)에틸]-L-류신아미드

[3817] (약물 링커 14)

[3818] 실시예 8 공정 8-2 에서 얻어진 화합물 (6.9 mg) 과 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (4.7 mg) 을 사용하여, 실

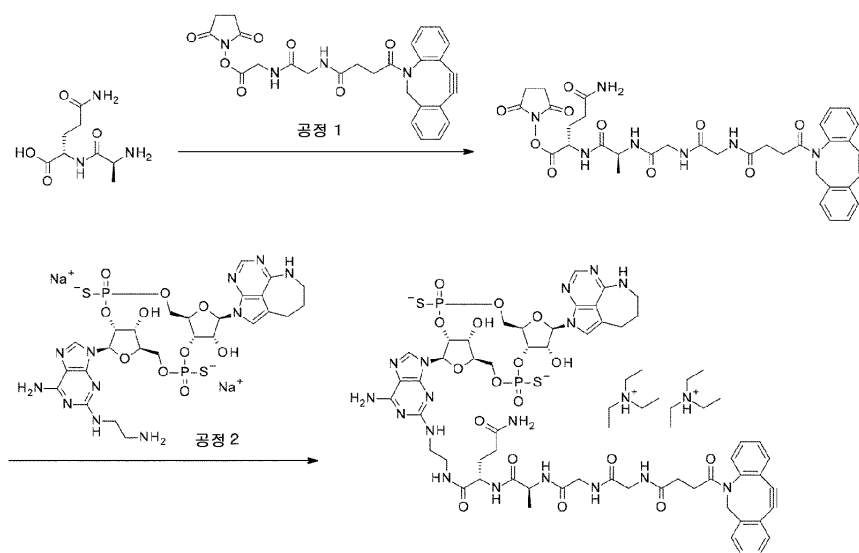
시에 23 공정 1 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 20 % - 40 % (0 분 - 30 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (7.2 mg) 을 얻었다.

[3819] MS(ESI) m/z : 1397(M-H)⁻.

[3820] 실시예 75 : 약물 링커 15 의 합성

[3821] [합성 스킴]

[3822] [화학식 232]



[3823]

[3824] (공정 1)

[3825] 2,5-디옥소피롤리딘-1-일 N-[4-(11,12-디테히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-알라닐-L-글루타미네이트

[3826] 시판 (와코 준야쿠 공업) 되는 L-알라닐-L-글루타민 (263 mg) 과 실시예 74 공정 2 에서 얻어진 화합물 (250 mg) 을 사용하여, 실시예 74 공정 3 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (90 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 716 (M+H)⁺.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 8.59 (0.8H, d, J=7.3 Hz), 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=13.9 Hz), 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).

[3827]

[3828] (공정 2)

[3829] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄)N-[4-(11,12-디테히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-알라닐-N¹-[2-({6-아미노-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-2,10-디숄파이드-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-9H-푸린-2-

일}아미노)에틸]-L-글루탐아미드

[3830] (약물 링커 15)

[3831] 실시예 8 공정 8-2 에서 얻어진 화합물 (6.9 mg) 과 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (4.7 mg) 을 사용하여, 실시예 23 공정 1 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 20 % - 40 % (0 분 - 30 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (3.9 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 1388 (M+H)⁺.

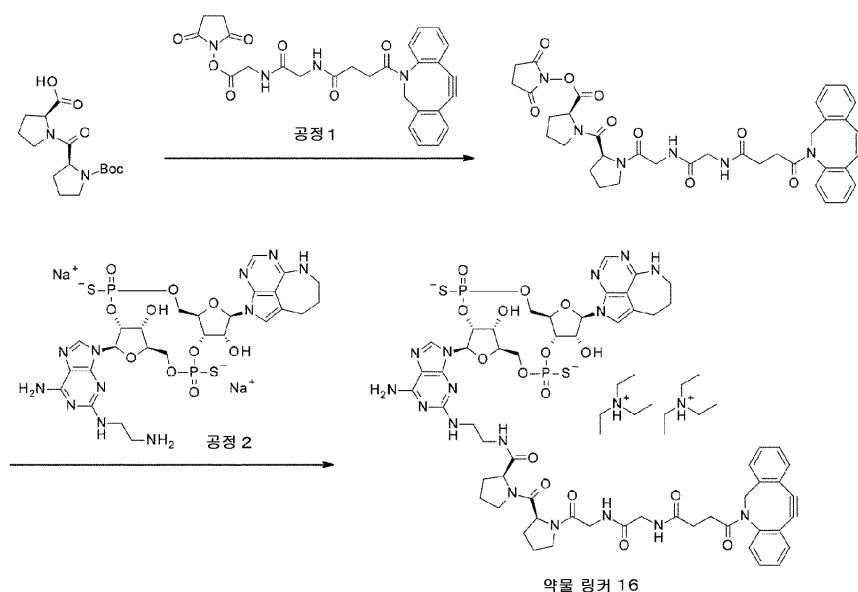
¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.38-8.35 (1H, m), 8.02 (1H, s), 7.66-7.13 (9H, m), 6.33 (1H, d, J = 6.7 Hz), 6.14-6.10 (1H, m), 5.51-5.42 (2H, m), 5.14-5.06 (1H, m), 4.84-4.79 (1H, m), 4.53-3.64 (14H, m), 3.56-3.11 (6H, m), 3.15 (12H, q, J = 7.5 Hz), 2.92-2.69 (4H, m), 2.42-1.93 (8H, m), 1.45-1.24 (3H, m), 1.27 (18H, t, J = 7.3 Hz).

[3832]

[3833] 실시예 76 : 약물 링커 16 의 합성

[3834] [합성 스킴]

[3835] [화학식 233]



[3836]

[3837] (공정 1)

[3838] 2,5-디옥소피롤리딘-1-일 N-[4-(11,12-디테히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-프롤릴-L-프롤리네이트

[3839] 시판 (Cool Pharm) 되는 1-(tert-부톡시카르보닐)-L-프롤릴-L-프롤린 (777 mg) 을 사용하여, 실시예 21 공정 1 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 1-[(2S)-피롤리딘-1-이움-2-카르보닐]-L-프롤린 트리플루오로아세트레이트 의 미정제체를 얻었다. 이 미정제 생성물과 실시예 74 공정 2 에서 얻어진 화합물 (428 mg) 을 사용하여, 실시예 74 공정 3 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (238 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 711 (M+H)⁺.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 8.12-8.08 (1H, m), 7.90 (0.2H, s), 7.82 (0.8H, d, J=4.8 Hz), 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).

[3840]

[3841]

(공정 2)

[3842]

비스(N,N-디에틸에탄아미늄) N-[4-(11,12-디데히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-프롤릴-N-[2-(6-아미노-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-2,10-디설폴파이드-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-9H-푸린-2-일}아미노)에틸]-L-프롤린아미드

[3843]

(약물 링커 16)

[3844]

실시예 8 공정 8-2 에서 얻어진 화합물 (6.9 mg) 과 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (4.6 mg) 을 사용하여, 실시예 23 공정 1 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 20 % - 40 % (0 분 - 30 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (5.8 mg) 을 얻었다.

[3845]

MS(ESI) m/z : 1383(M+H)⁺.

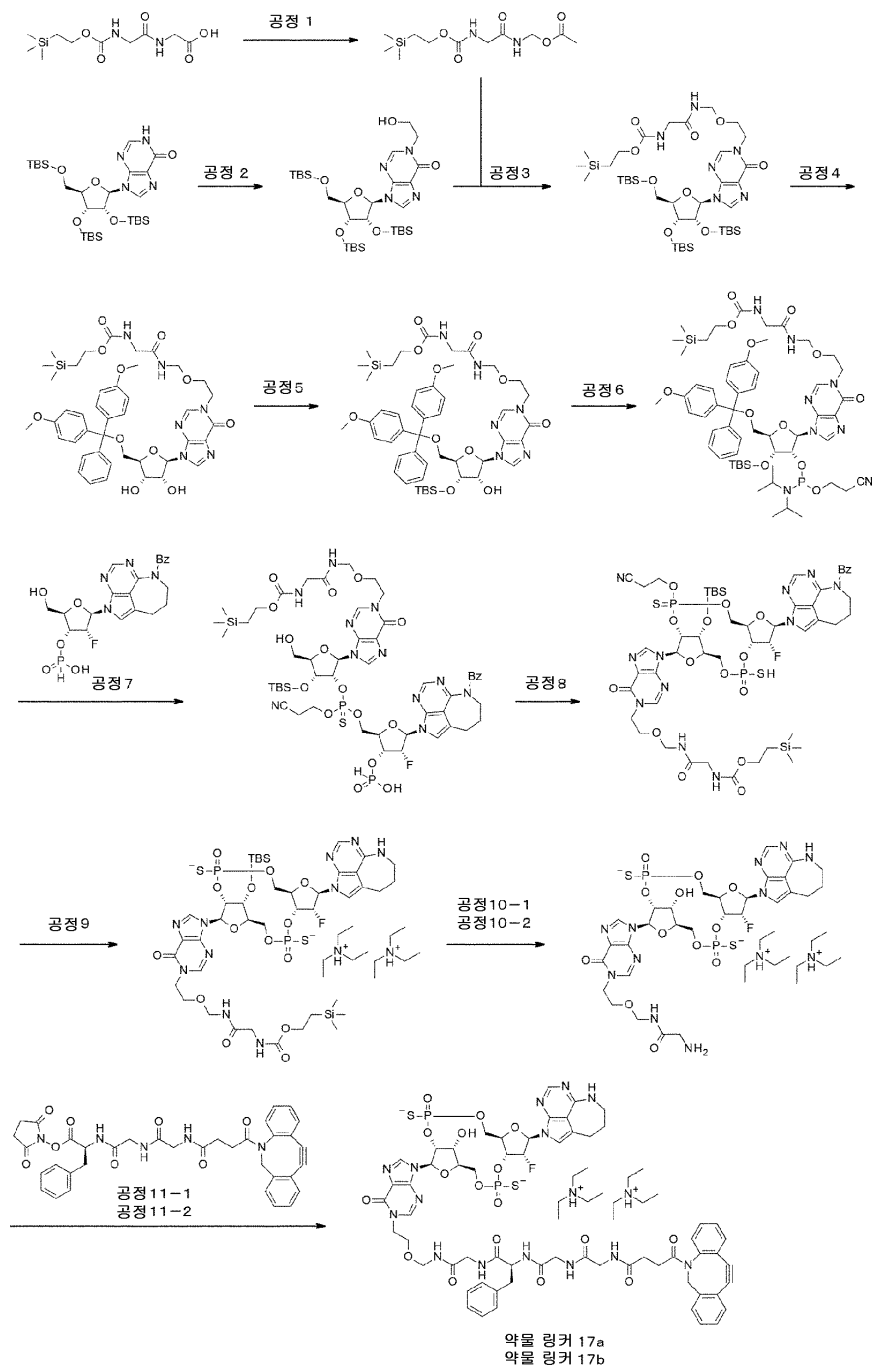
[3846]

실시예 77 : 약물 링커 17 의 합성

[3847]

[합성 스킴]

[3848] [화학식 234]



[3849]

[3850] (공정 1)

[3851] [(N-{[2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐}글리실)아미노]메틸 아세테이트

[3852] 시판 (SUNDIA) 되는 N-{[2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐}글리실글리신 (9.32 g) 을 사용하여, 실시예 67 공정 1 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (8.24 g) 을 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7.14 (1H, brs), 5.27 (2H, d, $J=7.3\text{ Hz}$), 5.20 (1H, brs), 4.22-4.16 (2H, m), 3.88 (2H, d, $J=6.0\text{ Hz}$), 2.08 (3H, s), 1.04-0.97 (2H, m), 0.05 (9H, s).

[3853]

- [3854] (공정 2)
- [3855] 2',3',5'-트리스-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-1-(2-하이드록시에틸)이노신
- [3856] 이미 알려진 문헌 (Chem. Pharm. Bull. 1987, 35 (1), 72-79) 의 2',3',5'-트리스-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]이노신 (31.3 g) 의 테트라하이드로푸란 (75 ml) - N,N-디메틸아세트아미드 (75 ml) 혼합 용액에, 2-브로모에탄올 (4.82 ml) 과 1,8-디아자비시클로[5.4.0]-7-운데센 (7.65 ml) 을 첨가하고, 실온에서 23 시간 교반하였다. 반응액에, 물과 아세트산에틸을 첨가하고, 아세트산에틸로 추출하였다. 유기층을 포화 식염수로 세정하고, 무수 황산나트륨으로 건조 후, 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (29.4 g) 을 얻었다.
- MS (ESI) m/z : 655 (M+H)⁺.
- ¹H-NMR (CDCl₃) δ : 8.16 (1H, s), 7.99 (1H, d, J=2.4 Hz), 5.97 (1H, d, J=4.2 Hz), 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, 2.4 Hz), 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).
- [3857]
- [3858] (공정 3)
- [3859] 2',3',5'-트리스-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-1-(2-((N-([2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐)글리실)아미노)메톡시)에틸)이노신
- [3860] 상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (15.6 g) 의 톨루엔 (46.8 ml) 용액에 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (10.4 g) 과 피리딘 (9.63 ml) 을 첨가하고, 110 °C 에서 12 시간 교반하였다. 반응액에 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (3.46 g) 을 추가하고, 110 °C 에서 1 일간 교반하였다. 반응액에 포화 탄산수소나트륨 수용액과 디클로로메탄을 첨가하고, 디클로로메탄으로 추출하였다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조 후, 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸] 로 정제하고, 표제 화합물 (20.6 g : 불순물 함유) 을 얻었다.
- [3861] MS(ESI)m/z : 885(M+H)⁺.
- [3862] (공정 4)
- [3863] 5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-1-(2-((N-([2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐)글리실)아미노)메톡시)에틸)이노신
- [3864] 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (20.6 g) 의 테트라하이드로푸란 (50 ml) 용액에 트리에틸아민3불화수소산염 (10 ml) 을 첨가하고, 실온에서 17 시간 교반하였다. 병행하, 반응액에 1 M 탄산수소트리에틸암모늄 용액 (50 ml) 과 트리에틸아민 (10 ml) 의 혼합액을 천천히 첨가한 후, 반응액을 감압 농축하였다. 잔류물을 C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [물/아세트니트릴] 로 조정제 후, 동결 건조시켰다. 얻어진 미정제체를 피리딘으로 공비하고, 잔류물의 피리딘 (50 ml) 용액에, 4,4'-디메톡시트리틸클로라이드 (4.73 g) 를 0 °C 에서 첨가하고, 4 °C 에서 17 시간 교반하였다. 반응액에 메탄올 (2 ml) 을 첨가하고, 실온에서 15 분간 교반 후, 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [헥산/아세트산에틸/메탄올/0.1 % 트리에틸아민] 으로 정제하고, 표제 화합물 (9.18 g : 불순물 함유) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 845 (M+H) ⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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=6.1 Hz), 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).

[3865]

[3866] (공정 5)

[3867] 5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-1-(2-((N-([2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐)글리실)아미노)메톡시)에틸)이노신

[3868] 상기 공정 4 에서 얻어진 화합물 (5.96 g) 을 사용하여, 실시예 5 공정 3 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (2.33 g) 과 표제 화합물의 위치 이성체인 5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-1-(2-((N-([2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐)글리실)아미노)메톡시)에틸)이노신 (2.45 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 959 (M+H) ⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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=5.4 Hz), 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=6.0 Hz), 3.48 (1H, dd, J=10.9, 4.2 Hz), 3.26 (1H, dd, J=10.9, 4.2 Hz), 3.16 (1H, d, J=6.7 Hz), 1.00-0.93 (2H, m), 0.89 (9H, s), 0.09 (3H, s), 0.02 (9H, s), 0.02 (3H, s).

[3869]

[3870] 위치 이성체 (2'-O-TBS 체)

MS (ESI) m/z : 959 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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=5.4 Hz), 5.63 (1H, brs), 4.88 (1H, t, J=5.1 Hz), 4.66 (2H, d, J=6.7 Hz), 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, 3.6 Hz), 3.38 (1H, dd, J=10.9, 3.6 Hz), 2.73 (1H, d, J=4.2 Hz), 0.97-0.90 (2H, m), 0.86 (9H, s), 0.02 (3H, s), 0.01 (9H, s), -0.09 (3H, s).

[3871]

[3872] (공정 6)

[3873] 5'-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-3'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-2'-O-[(2-시아노에톡시)[디(프로판-2-일)아미노]포스포닐]-1-(2-{[(N-{[2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐}글리실)아미노]메톡시}에틸)이노신

[3874] 상기 공정 5 에서 얻어진 화합물 (2.33 g) 을 사용하여, 실시예 5 공정 4 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (2.72 g) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물 (디아스테레오머비 = 6 : 4) 로서 얻었다.

MS (ESI) m/z : 1159 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) 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=4.2 Hz), 6.10 (0.4H, d, J=4.8 Hz), 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=6.7 Hz), 1.11 (6H, d, J=6.7 Hz), 1.04-0.92 (2H, m), 0.97 (2.4H, d, J=6.7 Hz), 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).

[3875]

[3876] (공정 7)

[3877] 실시예 44 공정 8 에서 얻어진 화합물 (2.15 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 7 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 6-벤조일-2-{2-데옥시-2-플루오로-3-O-[하이드록시(옥소)- λ^5 -포스포닐]- β -D-리보퓨라노실}-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌의 아세트니트릴 용액을 얻었다. 얻어진 아세트니트릴 용액과 상기 공정 6 에서 얻어진 화합물 (2.72 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 8 과 동일한 수법으로 반응을 실

시하고, 얻어진 미정제 생성물을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.

- [3878] (공정 8)
- [3879] 2-(트리메틸실릴)에틸 (2-((2-(9-((5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-14-(6-벤조일-6, 7, 8, 9-테트라하이드로-2H-2, 3, 5, 6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)-16-([tert-부틸(디메틸)실릴]옥시)-10-(2-시아노에톡시)-15-플루오로-2-옥소-2-솔파닐-10-솔파닐리덴옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5, 8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3, 2-1][1, 3, 6, 9, 11, 2, 10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-6-옥소-6, 9-디하이드로-1H-푸린-1-일)에톡시)메틸]아미노)-2-옥소에틸)카르바메이트
- [3880] 상기 공정 7 에서 얻어진 미정제 생성물을 사용하여, 실시예 1 공정 9 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (1.47 g : 불순물 함유) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.
- [3881] MS(ESI)m/z : 1278(M+H)⁺.
- [3882] (공정 9)
- [3883] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-16-([tert-부틸(디메틸)실릴]옥시)-15-플루오로-2, 10-디옥소-7-[6-옥소-1-(2-((N-([2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐)글리실]아미노)메톡시)에틸]-1, 6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-14-(6, 7, 8, 9-테트라하이드로-2H-2, 3, 5, 6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5, 8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3, 2-1][1, 3, 6, 9, 11, 2, 10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2, 10-비스(티올레이트)
- [3884] 상기 공정 8 에서 얻어진 화합물 (1.47 g) 의 메탄올 (10 ml) - 테트라하이드로푸란 (10 ml) 혼합 용액에, 28 % 암모니아수 (10 ml) 를 첨가하고, 50 ℃ 에서 6 시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축 후, 잔류물을 C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴] 로 정제하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (204 mg : 불순물 함유) 과 디아스테레오머 2 (205 mg : 불순물 함유) 를 얻었다.
- [3885] 디아스테레오머 1 (저극성)
- [3886] MS(ESI)m/z : 1121(M+H)⁺.
- [3887] 디아스테레오머 2 (고극성)
- [3888] MS(ESI)m/z : 1121(M+H)⁺.
- [3889] (공정 10-1)
- [3890] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-15-플루오로-7-(1-(2-([글리실아미노)메톡시]에틸)-6-옥소-1, 6-디하이드로-9H-푸린-9-일)-16-하이드록시-2, 10-디옥소-14-(6, 7, 8, 9-테트라하이드로-2H-2, 3, 5, 6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5, 8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3, 2-1][1, 3, 6, 9, 11, 2, 10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2, 10-비스(티올레이트)
- [3891] 상기 공정 9 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (204 mg) 을 사용하여, 실시예 11 공정 9-1 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴] 과 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴 - 메탄올 용액 (1 : 1), 아세트오니트릴 - 메탄올 용액 (1 : 1) : 10 % - 50 % (0 분 - 40 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (40.7 mg : 불순물 함유) 을 얻었다.
- [3892] MS(ESI)m/z : 863(M+H)⁺.
- [3893] (공정 10-2)
- [3894] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-15-플루오로-7-(1-(2-([글리실아미노)메톡시]에틸)-6-옥소-1, 6-디하이드로-9H-푸린-9-일)-16-하이드록시-2, 10-디옥소-14-(6, 7, 8, 9-테트라하이드로-2H-2, 3, 5, 6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H, 10H, 12H-5, 8-메타노-2λ⁵, 10λ⁵-푸로[3, 2-1][1, 3, 6, 9, 11, 2, 10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2, 10-비스(티올레이트)

- [3895] 상기 공정 9 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (205 mg) 을 사용하여, 실시예 11 공정 9-1 과 동일한 수
 법으로 반응을 실시한 후, C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니
 트릴] 과 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴 - 메탄올 용액 (1 : 1), 아세트니트릴
 - 메탄올 용액 (1 : 1) : 10 % - 50 % (0 분 - 40 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (50.8 mg : 불순물 함유)
 을 얻었다.
- [3896] MS(ESI) m/z : 863(M+H)⁺.
- [3897] (공정 11-1)
- [3898] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) N-[4-(11,12-디테히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실
 -L-페닐알라닌-N-[(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-플루오로-16-하이드록시-2,10-디옥소-2,10-디
 술폰아이드-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-
 5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스포시클로테트라데신-7-일]-6-옥소-6,9-
 디하이드로-1H-푸린-1-일}에톡시)메틸]글리신아미드
- [3899] (약물 링커 17a : 디아스테레오머 1)
- [3900] 상기 공정 10-1 에서 얻어진 화합물 (40.7 mg) 을 사용하여, 실시예 22 공정 9-1 과 동일한 수법으로 반응을 실
 시한 후, C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴], 분취 HPLC
 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 20 % - 45 % (0 분 - 40 분)], 및 분취
 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/메탄올, 메탄올 : 40 % - 90 % (0 분 - 40 분)] 로 정제하고, 표
 제 화합물 (25.1 mg) 을 얻었다.
- MS (ESI) m/z : 1411 (M+H)⁺.
- ¹H-NMR (CD₃OD) 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=16.9 Hz), 6.23 (1H, d, J=7.9 Hz), 5.56-5.37 (2H, m), 5.31-5.17 (1H, m), 5.03 (1H, d, J=13.9 Hz), 4.79 (1H, d, J=4.2 Hz), 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=7.3 Hz), 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=7.3 Hz).
- [3901]
- [3902] (공정 11-2)
- [3903] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) N-[4-(11,12-디테히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실
 -L-페닐알라닌-N-[(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-플루오로-16-하이드록시-2,10-디옥소-2,10-디
 술폰아이드-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-
 5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스포시클로테트라데신-7-일]-6-옥소-6,9-디
 하이드로-1H-푸린-1-일}에톡시)메틸]글리신아미드
- [3904] (약물 링커 17b : 디아스테레오머 2)
- [3905] 상기 공정 10-2 에서 얻어진 화합물 (50.8 mg) 을 사용하여, 실시예 22 공정 9-1 과 동일한 수법으로 반응을 실
 시한 후, C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴], 분취 HPLC
 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 25 % - 45 % (0 분 - 40 분)], 및 분취

HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/메탄올, 메탄올 : 45 % - 90 % (0 분 - 40 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (23.4 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 1411 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) 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=15.1 Hz), 6.26 (1H, t, J=8.8 Hz), 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=7.3 Hz), 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=7.3 Hz).

[3906]

[3907]

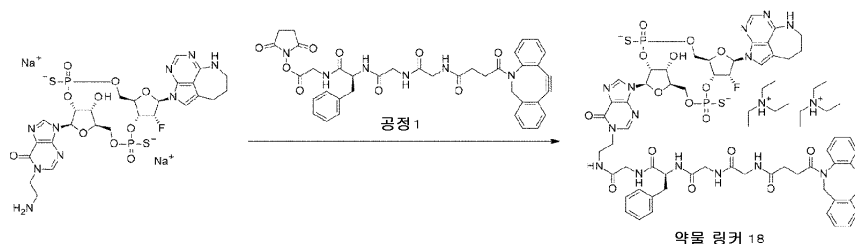
실시예 78 : 약물 링커 18 의 합성

[3908]

[합성 스킴]

[3909]

[화학식 235]



[3910]

[3911]

(공정 1)

[3912]

비스(N,N-디에틸에탄아미늄) N-[4-(11,12-디테히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-페닐알라닐-N-(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-플루오로-16-하이드록시-2,10-디옥소-2,10-디술폰-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스포시클로테트라데신-7-일]-6-옥소-6,9-디하이드로-1H-푸린-1-일}에틸)글리신아미드

[3913]

(약물 링커 18)

[3914]

실시예 45 공정 7-2 에서 얻어진 화합물 (10.0 mg) 과 실시예 21 공정 3 에서 얻어진 화합물 (8.8 mg) 을 사용하여, 실시예 21 공정 4 와 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴], 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴, 아세트오니트릴 : 25 % - 50 % (0 분 - 40 분)], 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/메탄올, 메탄올 : 45 % - 90 % (0 분 - 40 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (10.9 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 1381 (M+H)⁺.

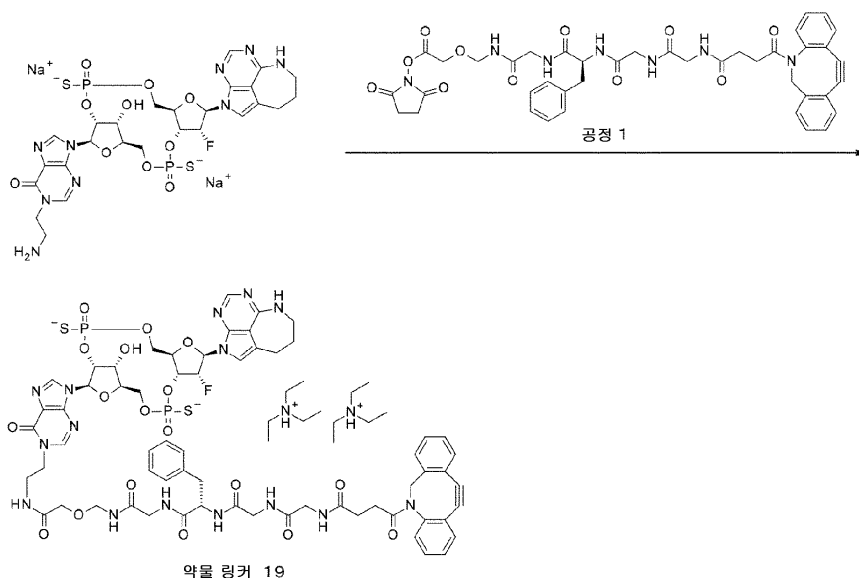
¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.61 (1H, s), 8.03 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.64-7.49 (2H, m), 7.44-7.37 (3H, m), 7.35-7.11 (9H, m), 6.48 (1H, dd, J=15.1, 1.8 Hz), 6.24 (1H, d, J=8.5 Hz), 5.62-5.39 (3H, m), 5.03 (1H, dd, J=18.4, 14.2 Hz), 4.55-4.37 (5H, m), 4.29-4.18 (2H, m), 4.04-3.91 (3H, m), 3.87-3.52 (8H, m), 3.50-3.41 (3H, m), 3.19 (12H, q, J=7.3 Hz), 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=7.3 Hz).

[3915]

[3916] 실시예 79 : 약물 링커 19 의 합성

[3917] [합성 스킴]

[3918] [화합식 236]



[3919]

[3920] (공정 1)

[3921] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) N-[4-(11,12-디데히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-페닐알라닌-N-((2-[(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-플루오로-16-하이드록시-2,10-디옥소-2,10-디설파이드-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일)-6-옥소-6,9-디하이드로-1H-푸린-1-일}에틸)아미노]-2-옥소에톡시)메틸)글리신아미드

[3922] (약물 링커 19)

[3923] 실시예 45 공정 7-2 에서 얻어진 화합물 (20.0 mg) 과 실시예 66 공정 1 에서 얻어진 화합물 (19.8 mg) 을 사용하여, 실시예 21 공정 4 와 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴], 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴],

아세트니트릴 : 20 % - 45 % (0 분 - 40 분)], 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/메탄올, 메탄올 : 30 % - 80 % (0 분 - 40 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (22.1 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 1468 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) 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=7.3 Hz), 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=7.3 Hz).

[3924]

[3925]

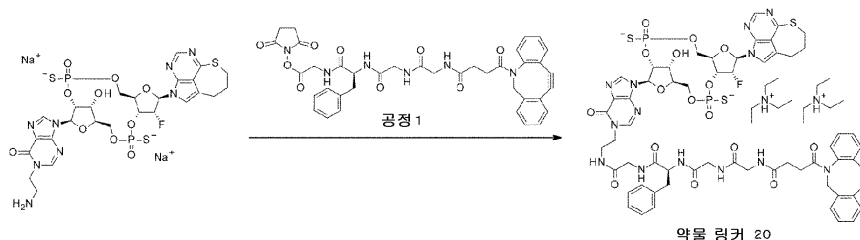
실시예 80 : 약물 링커 20 의 합성

[3926]

[합성 스킴]

[3927]

[화학식 237]



[3928]

[3929]

(공정 1)

[3930]

비스(N,N-디에틸에탄아미늄) N-[4-(11,12-디테히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-페닐알라닌-N-(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(8,9-디하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[c,d]아줄렌-2(7H)-일)-15-플루오로-16-하이드록시-2,10-디옥소-2,10-디술폰아이드옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-6-옥소-6,9-디하이드로-1H-푸린-1-일}에틸)글리신아미드

[3931]

(약물 링커 20)

[3932]

실시예 59 공정 4-2 에서 얻어진 화합물 (25.0 mg) 과 실시예 21 공정 3 에서 얻어진 화합물 (25.8 mg) 을 사용하여, 실시예 21 공정 4 와 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴], 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 30 % - 50 % (0 분 - 40 분)], 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/메탄올, 메탄올 : 50 % - 90 % (0 분 - 40 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (33.1 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 1398 (M+H)⁺.

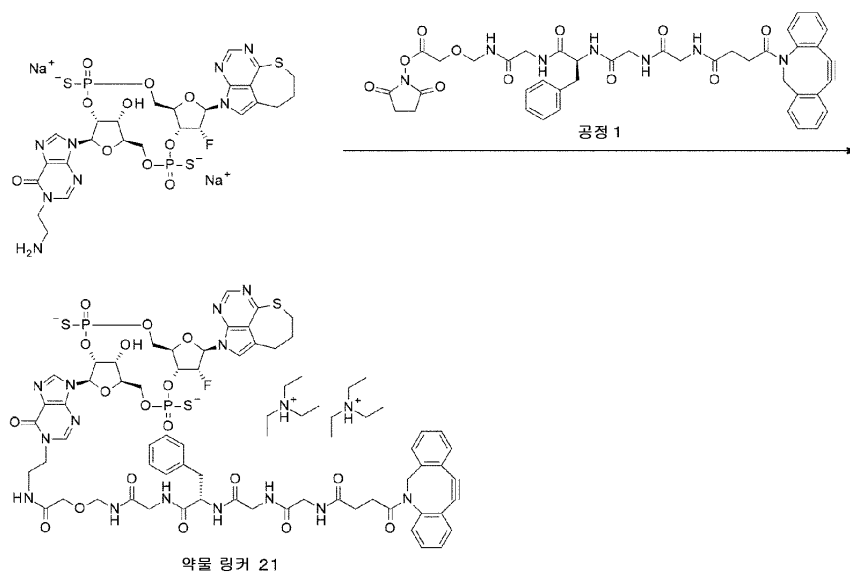
¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.58 (1H, brs), 8.39 (1H, d, J=8.5 Hz), 8.00 (1H, brs), 7.71 (1H, brs), 7.64-7.49 (2H, m), 7.44-7.37 (3H, m), 7.32-7.10 (8H, m), 6.59 (1H, d, J=15.1 Hz), 6.23 (1H, d, J=8.5 Hz), 5.65-5.36 (3H, m), 5.03 (1H, dd, J=16.6, 14.2 Hz), 4.57-4.38 (5H, m), 4.30-4.17 (2H, m), 4.07-3.95 (2H, m), 3.94-3.50 (9H, m), 3.50-3.35 (1H, m), 3.19 (12H, q, J=7.3 Hz), 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=7.3 Hz).

[3933]

[3934] 실시예 81 : 약물 링커 21 의 합성

[3935] [합성 스킴]

[3936] [화학식 238]



[3937]

[3938] (공정 1)

[3939] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) N-[4-(11,12-디테히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-페닐알라닌-N-((2-((2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(8,9-디하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌-2(7H)-일)-15-플루오로-16-하이드록시-2,10-디옥소-2,10-디설파이드옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-6-옥소-6,9-디하이드로-1H-푸린-1-일)에틸)아미노]-2-옥소에톡시)메틸]글리신아미드

[3940] (약물 링커 21)

[3941] 실시예 59 공정 4-2 에서 얻어진 화합물 (15.0 mg) 과 실시예 66 공정 1 에서 얻어진 화합물 (17.4 mg) 을 사용하여, 실시예 21 공정 4 와 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아

세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴], 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴, 아세트오니트릴 : 25 % - 50 % (0 분 - 40 분)], 및 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/메탄올, 메탄올 : 40 % - 90 % (0 분 - 40 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (21.8 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 1485 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) 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=7.3 Hz), 3.06-2.67 (4H, m), 2.40-2.11 (4H, m), 2.05-1.88 (1H, m), 1.29 (18H, t, J=7.3 Hz).

[3942]

[3943]

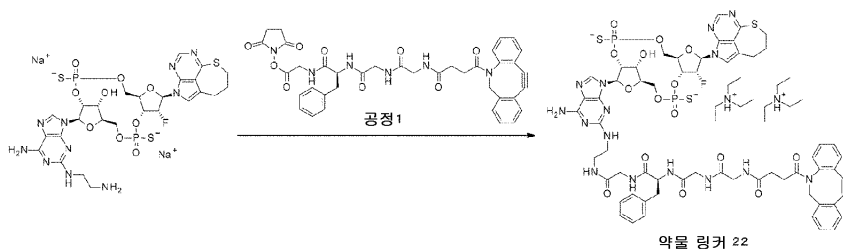
실시예 82 : 약물 링커 22 의 합성

[3944]

[합성 스킴]

[3945]

[화학식 239]



[3946]

[3947]

(공정 1)

[3948]

비스(N,N-디에틸에탄아미늄) N-[4-(11,12-디데히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-페닐알라닌-N-[2-({6-아미노-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(8,9-디하이드로-6-티아-2,3,5-트리아자벤조[cd]아줄렌-2(7H)-일)-15-플루오로-16-하이드록시-2,10-디옥소-2,10-디설파이드옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-9H-푸린-2-일}아미노)에틸]글리신아미드

[3949]

(약물 링커 22)

[3950]

실시예 61 공정 4-2 에서 얻어진 화합물 (4.4 mg) 과 실시예 21 공정 3 에서 얻어진 화합물 (3.5 mg) 을 사용하여, 실시예 21 공정 4 와 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴, 아세트오니트릴 : 25 % - 45 % (0 분 - 30 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (6.4 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 1412 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.37 (1H, d, J=1.2 Hz), 8.10-7.98 (1H, m), 7.75 (1H, s), 7.62-7.13 (13H, m), 6.59 (1H, d, J=16.3 Hz), 6.01 (1H, brs), 5.82-5.62 (1H, m), 5.54-5.33 (2H, m), 5.04 (1H, d, J=14.5 Hz), 4.57-3.48 (14H, m), 3.35-2.65 (12H, m), 3.17 (12H, q, J=7.3 Hz), 2.35-2.11 (4H, m), 2.00-1.92 (1H, m), 1.28 (18H, t, J=7.3 Hz).

[3951]

[3952]

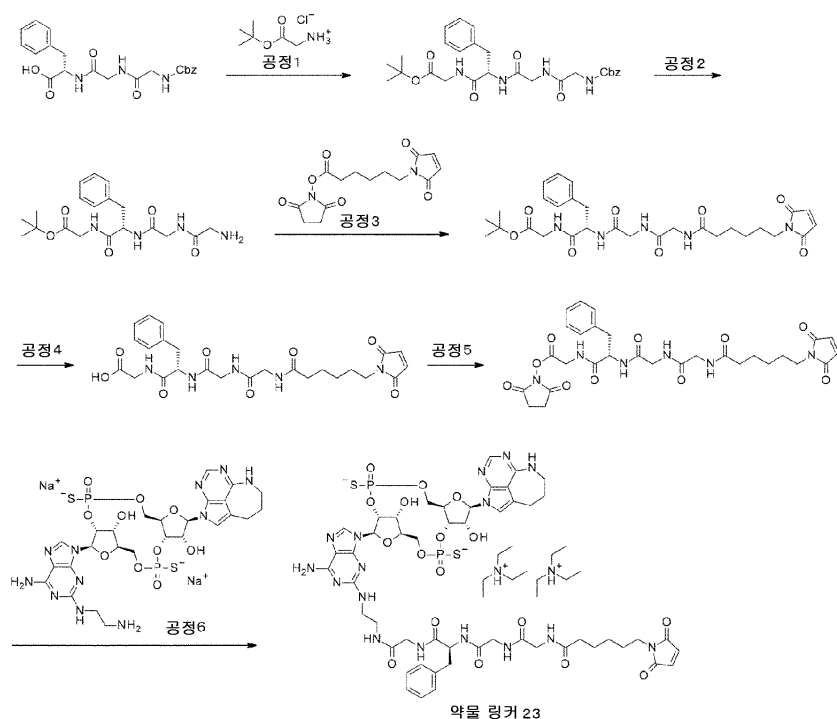
실시예 83 : 약물 링커 23 의 합성

[3953]

[합성 스킴]

[3954]

[화학식 240]



[3955]

(공정 1)

[3956]

tert-부틸 N-[(벤질옥시)카르보닐]글리실글리실-L-페닐알라닐글리시네이트

[3957]

시판 (BACHEM) 되는 N-[(벤질옥시)카르보닐]글리실글리실-L-페닐알라닌 (5.00 g) 과 글리신 tert-부틸에스테르 염산염 (2.03 g) 의 N,N-디메틸포름아미드 (50 ml) 용액에, 병행하, N,N-디이소프로필에틸아민 (4.11 ml) 과 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)-카르보디이미드염산염 (3.01 g) 을 첨가하고, 실온까지 승온하면서 밤새 교반 하였다. 반응액을 클로로포름과 포화 탄산수소나트륨 수용액의 2 층에 따르고, 클로로포름으로 추출하였다.

[3958]

유기층을 물과 포화 식염수로 세정 후, 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축 후, 톨루엔으로 2 회 공비하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [디클로로메탄/메탄올] 로 정제하고, 표제 화합물 (4.51 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 527 (M+H)⁺.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 8.40 (1H, t, J=5.7 Hz), 8.15 (1H, d, J=9.1 Hz), 8.00 (1H, t, J=5.7 Hz), 7.51 (1H, t, J=6.0 Hz), 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, 3.6 Hz), 2.76 (1H, dd, J=14.2, 10.6 Hz), 1.41 (9H, s).

[3959]

[3960]

(공정 2)

[3961]

tert-부틸 글리실글리실-L-페닐알라닐글리시네이트

[3962]

상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (4.51 g) 의 메탄올 (20 ml) - 디클로로메탄 (80 ml) 혼합액에, 10 % 팔라듐탄소 (M) wet (750 mg) 를 첨가하고, 수소 분위기하, 실온에서 밤새 교반하였다. 10 % 팔라듐탄소 (M) wet (1.5 g) 를 추가하고, 수소 분위기하, 실온에서 밤새 교반하였다. 반응액을 셀라이트로 여과하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 아미노 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [디클로로메탄/메탄올] 로 정제하고, 표제 화합물 (3.18 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 393 (M+H)⁺.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 8.42 (1H, t, J=6.1 Hz), 8.20 (1H, d, J=8.8 Hz), 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=16.1 Hz), 3.06 (3H, dd, J=15.4, 5.6 Hz), 2.76 (1H, dd, J=14.2, 10.3 Hz), 1.88 (2H, br), 1.41 (9H, s).

[3963]

[3964]

(공정 3)

[3965]

tert-부틸 N-[6-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)헥사노일]글리실글리실-L-페닐알라닐글리시네이트

[3966]

상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (2.65 g) 과 시판 (도쿄 화학 공업) 되는 6-말레이미드헥산산 N-숙신이미딜 (2.20 g) 을 N,N-디메틸포름아미드 (20 ml) 에 용해하고, 실온에서 7 시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축 후, 잔류물을 디클로로메탄과 물의 2 층에 따르고, 디클로로메탄으로 추출하였다. 유기층을 물로 3 회, 포화 식염수로 1 회 세정 후, 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조제를 여과 제거하고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [디클로로메탄/메탄올] 로 정제하고, 표제 화합물 (3.52 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 586 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 7.28–7.17 (5H, m), 7.09 (1H, t, J=5.1 Hz), 6.96 (1H, t, J=5.1 Hz), 6.91 (1H, d, J=8.3 Hz), 6.68 (2H, s), 6.52 (1H, t, J=4.9 Hz), 4.86 (1H, q, J=7.3 Hz), 4.02–3.88 (5H, m), 3.82 (1H, dd, J=18.1, 4.9 Hz), 3.51 (2H, t, J=7.1 Hz), 3.15 (1H, dd, J=14.2, 6.3 Hz), 3.04 (1H, dd, J=13.7, 7.3 Hz), 2.25 (2H, t, J=7.6 Hz), 1.70–1.57 (4H, m), 1.45 (9H, s), 1.32 (2H, s).

[3967]

[3968] (공정 4)

[3969] N-[6-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)헥사노일]글리실글리실-L-페닐알라닐글리신

[3970] 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (1.00 g) 의 디클로로메탄 (9.0 ml) 용액에, 0 °C 에서 트리플루오로아세트산 (4.5 ml) 을 첨가하고, 실온에서 2.5 시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축 후, 톨루엔으로 2 회 공비하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [디클로로메탄/메탄올] 로 정제하고, 표제 화합물 (534 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 530 (M+H)⁺.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 12.59 (1H, br), 8.34 (1H, t, J=5.9 Hz), 8.10 (1H, d, J=8.8 Hz), 8.07 (1H, t, J=5.9 Hz), 7.99 (1H, t, J=5.6 Hz), 7.27–7.16 (5H, m), 7.00 (2H, s), 4.52 (1H, m), 3.76 (2H, d, J=5.9 Hz), 3.74 (1H, m), 3.66 (2H, d, J=5.4 Hz), 3.57 (1H, dd, J=16.8, 5.6 Hz), 3.36 (2H, t, J=7.1 Hz), 3.04 (1H, dd, J=13.9, 4.1 Hz), 2.77 (1H, dd, J=13.9, 10.0 Hz), 2.10 (2H, t, J=7.3 Hz), 1.51–1.43 (4H, m), 1.19 (2H, m).

[3971]

[3972] (공정 5)

[3973] 2,5-디옥소피롤리딘-1-일 N-[6-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)헥사노일]글리실글리실-L-페닐알라닐글리시네이트

[3974] 상기 공정 4 에서 얻어진 화합물 (462 mg) 을 사용하여, 실시예 21 공정 3 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (258 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 627 (M+H)⁺.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 8.70 (0.85H, t, J=6.1 Hz), 8.44 (0.15H, t, J=5.9 Hz), 8.17 (0.85H, d, J=8.8 Hz), 8.11 (0.15H, d, J=8.8 Hz), 8.06 (1H, t, J=5.6 Hz), 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=5.9 Hz), 3.85 (0.3H, d, J=5.9 Hz), 3.74 (1H, dd, J=17.1, 5.9 Hz), 3.66 (2H, d, J=5.9 Hz), 3.58 (1H, dd, J=16.8, 5.6 Hz), 3.36 (2H, t, J=7.1 Hz), 3.04 (1H, dd, J=13.9, 4.1 Hz), 2.81 (4H, brs), 2.77 (1H, dd, J=10.0, 3.7 Hz), 2.10 (2H, t, J=7.3 Hz), 1.51-1.44 (4H, m), 1.20 (2H, d, J=7.3 Hz).

[3975]

[3976] (공정 6)

[3977]

비스(N,N-디에틸에탄아미늄) N-[6-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-1H-피롤-1-일)헥사노일]글리실글리실-L-페닐알라닌-N-[2-(6-아미노-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-15,16-디하이드록시-2,10-디옥소-2,10-디솔파이드-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-9H-푸린-2-일}아미노)에틸]글리신아미드

[3978]

(약물 링커 23)

[3979]

실시에 8 공정 8-2 에서 얻어진 화합물 (9.5 mg) 과 상기 공정 5 에서 얻어진 화합물 (7.5 mg) 을 사용하여, 실시에 23 공정 1 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 10 % - 30 % (0 분 - 30 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (7.8 mg) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 1299 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.35 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.29-7.15 (6H, m), 6.76 (2H, s), 6.32 (1H, d, J=6.7 Hz), 6.11 (1H, d, 8.5 Hz), 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=7.3 Hz), 2.21-1.96 (4H, m), 1.58-1.48 (4H, m), 1.30-1.21 (2H, m), 1.27 (18H, t, J=7.3 Hz).

[3980]

[3981]

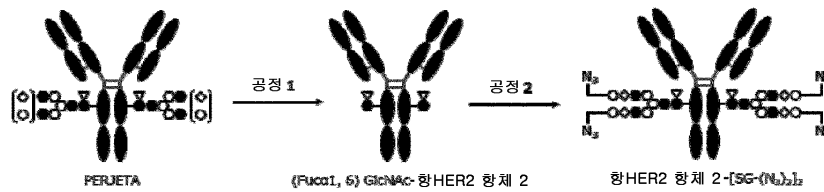
실시에 84 : 당사슬 리모델링 항체 3 의 합성

[3982]

항HER2 항체 2 - [SG-(N₃)₂]₂ 의 조제

[3983] [합성 스킴]

[3984] [화학식 241]



[3985]

[3986] (공정 1)

[3987] (Fuc α 1,6)GlcNAc-항체 2 의 조제

[3988] 시판되는 PERJETA (등록상표) 점적정주 (點滴靜注) 420 mg/14 ml (추가이 제약) (3.5 ml) 를 공통 조작 C 에 따라서 버퍼 교환하고, 인산 완충 생리 식염수 용액 (6.0 ml, 15.39 mg/ml, pH 6.0) 을 얻었다. 실시예 25 공정 1 과 동일한 조작을 실시하고, 표제 항체의 20 mM 인산 완충 용액 (12.96 mg/ml, 7.5 ml, pH 6.0) 을 얻었다.

[3989] (공정 2)

[3990] 항체 2 - [SG-(N₃)₂]₂ 의 조제

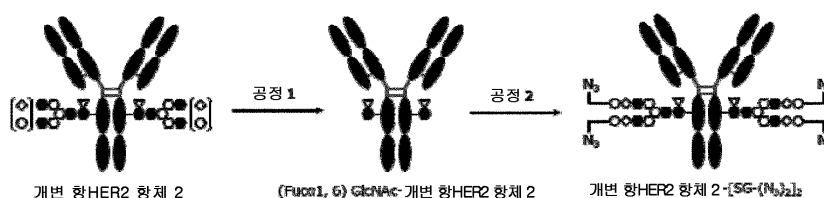
[3991] 상기 공정 1 에서 얻어진 항체의 20 mM 인산 완충 용액 (12.96 mg/ml, 7.5 ml, pH 6.0) 과 [N₃-PEG(3)]₂-SG(10)Ox (22.5 mg) 를 사용하여, 실시예 25 공정 2 과 동일한 조작을 실시하고, 표제 항체의 인산 완충 생리 식염수 용액 (10.21 mg/ml, 9.0 ml, pH 6.0) 을 얻었다.

[3992] 실시예 85 : 당사슬 리모델링 항체 4 의 합성

[3993] 개변 항HER2 항체 2 - [SG-(N₃)₂]₂ 의 조제

[3994] [합성 스킴]

[3995] [화학식 242]



[3996]

[3997] (공정 1)

[3998] (Fuc α 1,6)GlcNAc - 개변 항HER2 항체 2 의 조제

[3999] 참고예 5 에 따라서 조제한 개변 항HER2 항체 2 의 인산 완충 생리 식염수 용액 (24 ml, 12.25 mg/ml, pH 6.0) 을 사용하여, 실시예 25 공정 1 과 동일한 조작을 실시하고, 표제 항체의 20 mM 인산 완충 용액 (20.86 mg/ml, 12.5 ml, pH 6.0) 을 얻었다.

[4000] (공정 2)

[4001] 개변 항HER2 항체 2 - [SG-(N₃)₂]₂ 의 조제

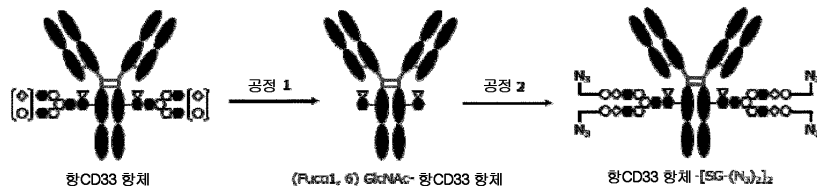
[4002] 상기 공정 1 에서 얻어진 항체의 20 mM 인산 완충 용액 (20.86 mg/ml, 12.5 ml, pH 6.0) 과 [N₃-PEG(3)]₂-SG(10)Ox (52 mg) 를 사용하여, 실시예 25 공정 2 와 동일한 조작을 실시하고, 표제 항체의 인산 완충 생리 식염수 용액 (10.87 mg/ml, 22 ml, pH 6.0) 을 얻었다.

[4003] 실시예 86 : 당사슬 리모델링 항체 5 의 합성

[4004] 항CD33 항체 - $[SG-(N_3)_2]_2$ 의 조제

[4005] [합성 스킴]

[4006] [화학식 243]



[4007]

[4008] (공정 1)

[4009] (Fuc a 1,6)GlcNAc-항CD33 항체의 조제

[4010] 참고예 6 에 따라서 조제한 항CD33 항체의 인산 완충 생리 식염수 용액 (9.0 ml, 11.56 mg/ml, pH 6.0) 을 사용하여, 실시예 25 공정 1 과 동일한 조작을 실시하고, 표제 항체의 20 mM 인산 완충 용액 (11.62 mg/ml, 8 ml, pH 6.0) 을 얻었다.

[4011] (공정 2)

[4012] 항CD33 항체 - $[SG-(N_3)_2]_2$ 의 조제

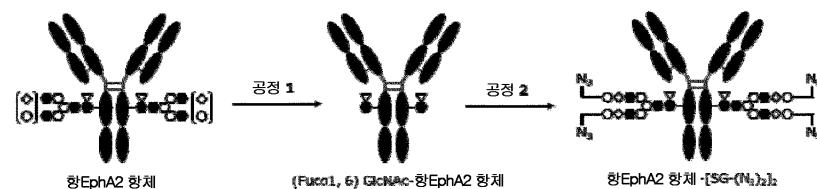
[4013] 상기 공정 1 에서 얻어진 항체의 20 mM 인산 완충 용액 (11.62 mg/ml, 8 ml, pH 6.0) 과 $[N_3-PEG(3)]_2-SG(10)Ox$ (21.5 mg) 를 사용하여, 실시예 25 공정 2 와 동일한 조작을 실시하고, 표제 항체의 인산 완충 생리 식염수 용액 (10.01 mg/ml, 8 ml, pH 6.0) 을 얻었다.

[4014] 실시예 87 : 당사슬 리모델링 항체 6 의 합성

[4015] 항EphA2 항체 - $[SG-(N_3)_2]_2$ 의 조제

[4016] [합성 스킴]

[4017] [화학식 244]



[4018]

[4019] (공정 1)

[4020] (Fuc a 1,6)GlcNAc-항EphA2 항체의 조제

[4021] 참고예 7 에 따라서 조제한 항EphA2 항체의 인산 완충 생리 식염수 용액 (8.0 ml, 12.83 mg/ml, pH 6.0) 을 사용하여, 실시예 25 공정 1 과 동일한 조작을 실시하고, 표제 항체의 20 mM 인산 완충 용액 (13.51 mg/ml, 7 ml, pH 6.0) 을 얻었다.

[4022] (공정 2)

[4023] 항EphA2 항체 - $[SG-(N_3)_2]_2$ 의 조제

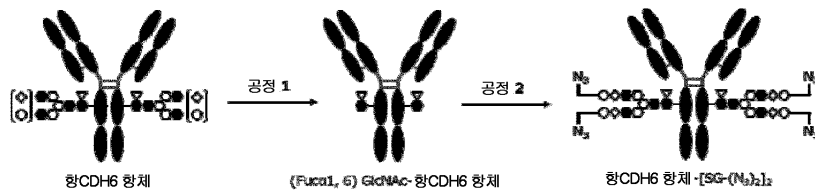
[4024] 상기 공정 1 에서 얻어진 항체의 20 mM 인산 완충 용액 (13.51 mg/ml, 7 ml, pH 6.0) 과 $[N_3-PEG(3)]_2-SG(10)Ox$ (21.7 mg) 를 사용하여, 실시예 25 공정 2 와 동일한 조작을 실시하고, 표제 항체의 인산 완충 생리 식염수 용액 (8.91 mg/ml, 7.5 ml, pH 6.0) 을 얻었다.

[4025] 실시예 88 : 당사슬 리모델링 항체 7 의 합성

[4026] 항CDH6 항체 - $[SG-(N_3)_2]_2$ 의 조제

[4027] [합성 스킴]

[4028] [화학식 245]



[4029]

[4030] (공정 1)

[4031] (Fuc a 1, 6)GlcNAc-항CDH6 항체의 조제

[4032] 참고예 8 에 따라서 조제한 항CDH6 항체의 HBSor (25 mM 히스티딘/5 % 소르비톨, pH = 6.0) 완충액 (5.0 ml, 20.0 mg/ml) 을 공통 조작 C 에 따라서, 인산 완충 생리 식염수 용액 (pH = 6.0) 으로 버퍼 교환 후, 실시예 25 공정 1 과 동일한 조작을 실시하고, 표제 항체의 20 mM 인산 완충 용액 (9.58 mg/ml, 9.0 ml, pH 6.0) 을 얻었다.

[4033] (공정 2)

[4034] 항CDH6 항체 - $[SG-(N_3)_2]_2$ 의 조제

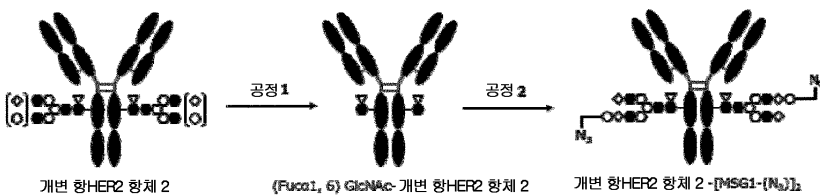
[4035] 상기 공정 1 에서 얻어진 항체의 20 mM 인산 완충 용액 (9.58 mg/ml, 9.0 ml, pH 6.0) 과 $[N_3-PEG(3)]_2-SG(10)Ox$ (24.5 mg) 를 사용하여, 실시예 25 공정 2 와 동일한 조작을 실시하고, 표제 항체의 인산 완충 생리 식염수 용액 (10.69 mg/ml, 7.5 ml, pH 6.0) 을 얻었다.

[4036] 실시예 89 : 당사슬 리모델링 항체 8 의 합성

[4037] 개변 항HER2 항체 2 - $[MSG1-(N_3)]_2$ 의 조제

[4038] [합성 스킴]

[4039] [화학식 246]



[4040]

[4041] (공정 1)

[4042] (Fuc a 1, 6)GlcNAc - 개변 항HER2 항체 2 의 조제

[4043] 실시예 85 공정 1 과 동일한 반응을 실시하고, 원료 항체의 완충 용액 (10 ml, 12.25 mg/ml, pH 6.0) 으로부터, 표제 항체의 20 mM 인산 완충 용액 (14.84 mg/ml, 7.5 ml, pH 6.0) 을 얻었다.

[4044] (공정 2)

[4045] 개변 항HER2 항체 2 - $[MSG1-(N_3)]_2$ 의 조제

[4046] 상기 공정 1 에서 얻어진 항체의 20 mM 인산 완충 용액 (14.84 mg/ml, 7.5 ml, pH 6.0) 과 $[N_3-PEG(3)]_2-MSG1(9)-Ox$ (W02018/003983 의 화합물 1-11) (19 mg) 를 사용하여, 실시예 25 공정 2 와 동일한 조작을 실시하고, 표제 항체의 인산 완충 생리 식염수 용액 (10.48 mg/ml, 9.25 ml, pH 6.0) 을 얻었다.

[4047] 실시예 90 : 항체 약물 콘쥬게이트 5 의 합성 (항HER2 항체 - CDN 콘쥬게이트 4 의 합성)

- [4048] 당사슬 리모델링 항체 1 의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (10.97 mg/ml, 0.500 ml) 을 프로필렌글리콜 (0.250 ml) 로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 1 의 디메틸술폭시드 용액 (10 mM, 0.091 ml, 항체 1 분자에 대하여 24 당량) 과 프로필렌글리콜 (0.159 ml) 의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈원 주식회사) 를 사용하여 실온에서 3 일간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D 에 기재된 방법에 따라서 정제하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘쥬게이트의 ABS 용액 (3.5 ml) 을 얻었다.
- [4049] 공통 조작 E 및 G 에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.
- [4050] 항체 농도 : 0.49 mg/ml
- [4051] 항체 수량 : 1.71 mg (31 %)
- [4052] 약물 평균 결합수 : 3.6
- [4053] 실시예 91 : 항체 약물 콘쥬게이트 6 의 합성 (항HER2 항체 - CDN 콘쥬게이트 5 의 합성)
- [4054] 당사슬 리모델링 항체 1 의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (10.97 mg/ml, 0.500 ml) 을 프로필렌글리콜 (0.250 ml) 로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 2a 의 디메틸술폭시드 용액 (10 mM, 0.091 ml, 항체 1 분자에 대하여 24 당량) 과 프로필렌글리콜 (0.159 ml) 의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈원 주식회사) 를 사용하여 실온에서 2 일간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D 에 기재된 방법에 따라서 정제하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘쥬게이트의 ABS 용액 (3.5 ml) 을 얻었다.
- [4055] 공통 조작 E 및 G 에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.
- [4056] 항체 농도 : 0.91 mg/ml
- [4057] 항체 수량 : 3.17 mg (58 %)
- [4058] 약물 평균 결합수 : 3.6
- [4059] 실시예 92 : 항체 약물 콘쥬게이트 7 의 합성 (항HER2 항체 - CDN 콘쥬게이트 6 의 합성)
- [4060] 당사슬 리모델링 항체 1 의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (10.70 mg/ml, 4.00 ml) 을 프로필렌글리콜 (2.00 ml) 로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 2b 의 디메틸술폭시드 용액 (10 mM, 0.707 ml, 항체 1 분자에 대하여 24 당량) 과 프로필렌글리콜 (1.293 ml) 의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈원 주식회사) 를 사용하여 실온에서 3 일간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D 에 기재된 방법에 따라서 정제하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘쥬게이트의 ABS 용액 (24.5 ml) 을 얻었다.
- [4061] 공통 조작 E 및 G 에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.
- [4062] 항체 농도 : 0.96 mg/ml
- [4063] 항체 수량 : 23.57 mg (59 %)
- [4064] 약물 평균 결합수 : 3.7
- [4065] 실시예 93 : 항체 약물 콘쥬게이트 8 의 합성 (항HER2 항체 - CDN 콘쥬게이트 7 의 합성)
- [4066] 당사슬 리모델링 항체 1 의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (10.70 mg/ml, 4.00 ml) 을 프로필렌글리콜 (2.00 ml) 로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 5 의 디메틸술폭시드 용액 (10 mM, 0.707 ml, 항체 1 분자에 대하여 24 당량) 과 프로필렌글리콜 (1.293 ml) 의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈원 주식회사) 를 사용하여 실온에서 2 일간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D 에 기재된 방법에 따라서 정제하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘쥬게이트의 ABS 용액 (24.5 ml) 을 얻었다.
- [4067] 공통 조작 E 및 G 에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.
- [4068] 항체 농도 : 1.10 mg/ml
- [4069] 항체 수량 : 26.86 mg (67 %)
- [4070] 약물 평균 결합수 : 3.7
- [4071] 실시예 94 : 항체 약물 콘쥬게이트 9 의 합성 (항HER2 항체 - CDN 콘쥬게이트 8 의 합성)
- [4072] 당사슬 리모델링 항체 1 의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (10.70 mg/ml, 4.00 ml) 을 프로필렌글리콜

(2.00 ml) 로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 6 의 디메틸술폭시드 용액 (10 mM, 0.707 ml, 항체 1 분자에 대하여 24 당량) 과 프로필렌글리콜 (1.293 ml) 의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈윈 주식회사) 를 사용하여 실온에서 2 일간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D 에 기재된 방법에 따라서 정제하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘쥬게이트의 ABS 용액 (24.5 ml) 을 얻었다.

[4073] 공통 조작 E 및 G 에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.

[4074] 항체 농도 : 1.34 mg/ml

[4075] 항체 수량 : 32.92 mg (82 %)

[4076] 약물 평균 결합수 : 3.7

[4077] 실시예 95 : 항체 약물 콘쥬게이트 10 의 합성 (항LPS 항체 - CDN 콘쥬게이트 2 의 합성)

[4078] 당사슬 리모델링 항체 2 의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (10.55 mg/ml, 0.500 ml) 을 프로필렌글리콜 (0.250 ml) 로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 2a 의 디메틸술폭시드 용액 (10 mM, 0.087 ml, 항체 1 분자에 대하여 24 당량) 과 프로필렌글리콜 (0.163 ml) 의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈윈 주식회사) 를 사용하여 실온에서 2 일간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D 에 기재된 방법에 따라서 정제하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘쥬게이트의 ABS 용액 (3.5 ml) 을 얻었다.

[4079] 공통 조작 E 및 G 에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.

[4080] 항체 농도 : 0.88 mg/ml

[4081] 항체 수량 : 3.08 mg (62 %)

[4082] 약물 평균 결합수 : 3.6

[4083] 실시예 96 : 항체 약물 콘쥬게이트 11 의 합성 (항EphA2 항체 - CDN 콘쥬게이트 1 의 합성)

[4084] 당사슬 리모델링 항체 6 의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (8.91 mg/ml, 0.500 ml) 을 프로필렌글리콜 (0.250 ml) 로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 2b 의 디메틸술폭시드 용액 (10 mM, 0.073 ml, 항체 1 분자에 대하여 24 당량) 과 프로필렌글리콜 (0.177 ml) 의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈윈 주식회사) 를 사용하여 실온에서 2 일간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D 에 기재된 방법에 따라서 정제하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘쥬게이트의 ABS 용액 (3.5 ml) 을 얻었다.

[4085] 공통 조작 E 및 F 에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.

[4086] 항체 농도 : 0.60 mg/ml

[4087] 항체 수량 : 2.10 mg (47 %)

[4088] 약물 평균 결합수 : 3.8

[4089] 실시예 97 : 항체 약물 콘쥬게이트 12 의 합성 (항CD33 항체 - CDN 콘쥬게이트 1 의 합성)

[4090] 당사슬 리모델링 항체 5 의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (10.01 mg/ml, 0.500 ml) 을 프로필렌글리콜 (0.250 ml) 로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 2b 의 디메틸술폭시드 용액 (10 mM, 0.083 ml, 항체 1 분자에 대하여 24 당량) 과 프로필렌글리콜 (0.167 ml) 의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈윈 주식회사) 를 사용하여 실온에서 2 일간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D 에 기재된 방법에 따라서 정제하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘쥬게이트의 ABS 용액 (3.5 ml) 을 얻었다.

[4091] 공통 조작 E 및 G 에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.

[4092] 항체 농도 : 0.73 mg/ml

[4093] 항체 수량 : 2.57 mg (51 %)

[4094] 약물 평균 결합수 : 3.9

[4095] 실시예 98 : 항체 약물 콘쥬게이트 13 의 합성 (항CDH6 항체 - CDN 콘쥬게이트 1 의 합성)

[4096] 당사슬 리모델링 항체 7 의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (10.69 mg/ml, 0.500 ml) 을 프로필렌글리콜 (0.250 ml) 로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 2b 의 디메틸술폭시드 용액 (10 mM, 0.088 ml, 항체 1 분

자에 대하여 24 당량) 과 프로필렌글리콜 (0.162 ml) 의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈원 주식회사) 를 사용하여 실온에서 3 일간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D 에 기재된 방법에 따라서 정제하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘주게이트의 ABS 용액 (3.5 ml) 을 얻었다.

[4097] 공통 조작 E 및 G 에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.

[4098] 항체 농도 : 0.96 mg/ml

[4099] 항체 수량 : 3.37 mg (63 %)

[4100] 약물 평균 결합수 : 3.8

[4101] 실시예 99 : 항체 약물 콘주게이트 14 의 합성 (항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트 1 의 합성)

[4102] 당사슬 리모델링 항체 3 의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (10.21 mg/ml, 1.50 ml) 을 프로필렌글리콜 (0.750 ml) 로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 3 의 디메틸술폰옥시드 용액 (10 mM, 0.253 ml, 항체 1 분자에 대하여 24 당량) 과 프로필렌글리콜 (0.497 ml) 의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈원 주식회사) 를 사용하여 실온에서 2 일간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D 에 기재된 방법에 따라서 정제하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘주게이트의 ABS 용액 (9.5 ml) 을 얻었다.

[4103] 공통 조작 E 및 G 에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.

[4104] 항체 농도 : 1.02 mg/ml

[4105] 항체 수량 : 9.73 mg (64 %)

[4106] 약물 평균 결합수 : 3.7

[4107] 실시예 100 : 항체 약물 콘주게이트 15 의 합성 (항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 9 의 합성)

[4108] 당사슬 리모델링 항체 1 의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (10.70 mg/ml, 0.500 ml) 을 프로필렌글리콜 (0.250 ml) 로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 8 의 디메틸술폰옥시드 용액 (10 mM, 0.088 ml, 항체 1 분자에 대하여 24 당량) 과 프로필렌글리콜 (0.162 ml) 의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈원 주식회사) 를 사용하여 실온에서 2 일간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D 에 기재된 방법에 따라서 정제하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘주게이트의 ABS 용액 (3.5 ml) 을 얻었다.

[4109] 공통 조작 E 및 G 에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.

[4110] 항체 농도 : 0.93 mg/ml

[4111] 항체 수량 : 3.24 mg (61 %)

[4112] 약물 평균 결합수 : 3.6

[4113] 실시예 101 : 항체 약물 콘주게이트 16 의 합성 (항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 10 의 합성)

[4114] 당사슬 리모델링 항체 1 의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (10.35 mg/ml, 13.50 ml) 을 프로필렌글리콜 (6.750 ml) 로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 9 의 디메틸술폰옥시드 용액 (10 mM, 2.310 ml, 항체 1 분자에 대하여 24 당량) 과 프로필렌글리콜 (4.440 ml) 의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈원 주식회사) 를 사용하여 실온에서 2 일간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D 에 기재된 방법에 따라서 정제하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘주게이트의 ABS 용액 (74.3 ml) 을 얻었다.

[4115] 공통 조작 E 및 G 에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.

[4116] 항체 농도 : 1.36 mg/ml

[4117] 항체 수량 : 100.8 mg (72 %)

[4118] 약물 평균 결합수 : 3.7

[4119] 실시예 102 : 항체 약물 콘주게이트 17 의 합성 (항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 11 의 합성)

[4120] 당사슬 리모델링 항체 1 의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (10.70 mg/ml, 0.500 ml) 을 프로필렌글리콜 (0.250 ml) 로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 10 의 디메틸술폰옥시드 용액 (10 mM, 0.088 ml, 항체 1 분자에 대하여 24 당량) 과 프로필렌글리콜 (0.162 ml) 의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈원

주식회사)를 사용하여 실온에서 3일간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D에 기재된 방법에 따라서 정제하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘주게이트의 ABS 용액 (3.5 ml)을 얻었다.

[4121] 공통 조작 E 및 G에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.

[4122] 항체 농도 : 0.63 mg/ml

[4123] 항체 수량 : 2.22 mg (42 %)

[4124] 약물 평균 결합수 : 3.5

[4125] 실시예 103 : 항체 약물 콘주게이트 18의 합성 (항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 12의 합성)

[4126] 당사슬 리모델링 항체 1의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (10.70 mg/ml, 0.500 ml)을 프로필렌글리콜 (0.250 ml)로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 11의 디메틸술폭시드 용액 (10 mM, 0.088 ml, 항체 1분자에 대하여 24당량)과 프로필렌글리콜 (0.162 ml)의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈원 주식회사)를 사용하여 실온에서 3일간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D에 기재된 방법에 따라서 정제하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘주게이트의 ABS 용액 (3.5 ml)을 얻었다.

[4127] 공통 조작 E 및 G에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.

[4128] 항체 농도 : 0.94 mg/ml

[4129] 항체 수량 : 3.29 mg (62 %)

[4130] 약물 평균 결합수 : 3.6

[4131] 실시예 104 : 항체 약물 콘주게이트 19의 합성 (항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 13의 합성)

[4132] 당사슬 리모델링 항체 1의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (10.70 mg/ml, 0.500 ml)을 프로필렌글리콜 (0.250 ml)로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 12의 디메틸술폭시드 용액 (10 mM, 0.088 ml, 항체 1분자에 대하여 24당량)과 프로필렌글리콜 (0.162 ml)의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈원 주식회사)를 사용하여 실온에서 3일간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D에 기재된 방법에 따라서 정제하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘주게이트의 ABS 용액 (3.5 ml)을 얻었다.

[4133] 공통 조작 E 및 G에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.

[4134] 항체 농도 : 0.92 mg/ml

[4135] 항체 수량 : 3.20 mg (60 %)

[4136] 약물 평균 결합수 : 3.5

[4137] 실시예 105 : 항체 약물 콘주게이트 20의 합성 (항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 14의 합성)

[4138] 당사슬 리모델링 항체 1의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (10.70 mg/ml, 0.500 ml)을 프로필렌글리콜 (0.250 ml)로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 13의 디메틸술폭시드 용액 (10 mM, 0.088 ml, 항체 1분자에 대하여 24당량)과 프로필렌글리콜 (0.162 ml)의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈원 주식회사)를 사용하여 실온에서 3일간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D에 기재된 방법에 따라서 정제하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘주게이트의 ABS 용액 (3.5 ml)을 얻었다.

[4139] 공통 조작 E 및 G에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.

[4140] 항체 농도 : 1.01 mg/ml

[4141] 항체 수량 : 3.52 mg (66 %)

[4142] 약물 평균 결합수 : 3.5

[4143] 실시예 106 : 항체 약물 콘주게이트 21의 합성 (항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 15의 합성)

[4144] 당사슬 리모델링 항체 1의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (10.70 mg/ml, 0.500 ml)을 프로필렌글리콜 (0.250 ml)로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 14의 디메틸술폭시드 용액 (10 mM, 0.088 ml, 항체 1분자에 대하여 24당량)과 프로필렌글리콜 (0.162 ml)의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈원 주식회사)를 사용하여 실온에서 2일간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D에 기재된 방법에 따라서 정제

하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘주게이트의 ABS 용액 (3.5 ml) 을 얻었다.

[4145] 공통 조작 E 및 G 에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.

[4146] 항체 농도 : 0.78 mg/ml

[4147] 항체 수량 : 2.74 mg (51 %)

[4148] 약물 평균 결합수 : 3.6

[4149] 실시예 107 : 항체 약물 콘주게이트 22 의 합성 (항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 16 의 합성)

[4150] 당사슬 리모델링 항체 1 의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (10.70 mg/ml, 0.500 ml) 을 프로필렌글리콜 (0.250 ml) 로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 15 의 디메틸술폭시드 용액 (10 mM, 0.088 ml, 항체 1 분자에 대하여 24 당량) 과 프로필렌글리콜 (0.162 ml) 의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈원 주식회사) 를 사용하여 실온에서 2 일간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D 에 기재된 방법에 따라서 정제하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘주게이트의 ABS 용액 (3.5 ml) 을 얻었다.

[4151] 공통 조작 E 및 G 에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.

[4152] 항체 농도 : 1.32 mg/ml

[4153] 항체 수량 : 4.61 mg (86 %)

[4154] 약물 평균 결합수 : 3.6

[4155] 실시예 108 : 항체 약물 콘주게이트 23 의 합성 (항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 17 의 합성)

[4156] 당사슬 리모델링 항체 1 의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (10.70 mg/ml, 0.500 ml) 을 프로필렌글리콜 (0.250 ml) 로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 16 의 디메틸술폭시드 용액 (10 mM, 0.088 ml, 항체 1 분자에 대하여 24 당량) 과 프로필렌글리콜 (0.162 ml) 의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈원 주식회사) 를 사용하여 실온에서 2 일간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D 에 기재된 방법에 따라서 정제하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘주게이트의 ABS 용액 (3.5 ml) 을 얻었다.

[4157] 공통 조작 E 및 G 에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.

[4158] 항체 농도 : 0.93 mg/ml

[4159] 항체 수량 : 3.25 mg (61 %)

[4160] 약물 평균 결합수 : 3.6

[4161] 실시예 109 : 항체 약물 콘주게이트 24 의 합성 (항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 18 의 합성)

[4162] 당사슬 리모델링 항체 1 의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (10.70 mg/ml, 4.00 ml) 을 프로필렌글리콜 (2.00 ml) 로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 7 의 디메틸술폭시드 용액 (10 mM, 0.707 ml, 항체 1 분자에 대하여 24 당량) 과 프로필렌글리콜 (1.293 ml) 의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈원 주식회사) 를 사용하여 실온에서 3 일간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D 에 기재된 방법에 따라서 정제하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘주게이트의 ABS 용액 (24.5 ml) 을 얻었다.

[4163] 공통 조작 E 및 G 에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.

[4164] 항체 농도 : 1.33 mg/ml

[4165] 항체 수량 : 32.64 mg (82 %)

[4166] 약물 평균 결합수 : 3.7

[4167] 실시예 110 : 항체 약물 콘주게이트 25 의 합성 (항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트 2 의 합성)

[4168] 당사슬 리모델링 항체 4 의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (10.87 mg/ml, 8.00 ml) 을 프로필렌글리콜 (4.00 ml) 로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 17a 의 디메틸술폭시드 용액 (10 mM, 1.079 ml, 항체 1 분자에 대하여 18 당량) 과 프로필렌글리콜 (2.921 ml) 의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈원 주식회사) 를 사용하여 실온에서 3 일간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D 에 기재된 방법에 따라서 정제

하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘주게이트의 ABS 용액 (44.5 ml) 을 얻었다.

[4169] 공통 조작 E 및 G 에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.

[4170] 항체 농도 : 1.16 mg/ml

[4171] 항체 수량 : 51.5 mg (59 %)

[4172] 약물 평균 결합수 : 3.8

[4173] 실시예 111 : 항체 약물 콘주게이트 26 의 합성 (항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트 3 의 합성)

[4174] 당사슬 리모델링 항체 4 의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (10.87 mg/ml, 8.00 ml) 을 프로필렌글리콜 (4.00 ml) 로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 17b 의 디메틸술폭시드 용액 (10 mM, 1.079 ml, 항체 1 분자에 대하여 18 당량) 과 프로필렌글리콜 (2.921 ml) 의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈원 주식회사) 를 사용하여 실온에서 3 일간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D 에 기재된 방법에 따라서 정제하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘주게이트의 ABS 용액 (44.5 ml) 을 얻었다.

[4175] 공통 조작 E 및 G 에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.

[4176] 항체 농도 : 1.24 mg/ml

[4177] 항체 수량 : 54.99 mg (63 %)

[4178] 약물 평균 결합수 : 3.9

[4179] 실시예 112 : 항체 약물 콘주게이트 27 의 합성 (항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트 4 의 합성)

[4180] 당사슬 리모델링 항체 4 의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (10.89 mg/ml, 1.00 ml) 을 프로필렌글리콜 (0.500 ml) 로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 19 의 디메틸술폭시드 용액 (10 mM, 0.180 ml, 항체 1 분자에 대하여 24 당량) 과 프로필렌글리콜 (0.320 ml) 의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈원 주식회사) 를 사용하여 실온에서 3 일간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D 에 기재된 방법에 따라서 정제하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘주게이트의 ABS 용액 (7.0 ml) 을 얻었다.

[4181] 공통 조작 E 및 G 에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.

[4182] 항체 농도 : 0.79 mg/ml

[4183] 항체 수량 : 5.53 mg (51 %)

[4184] 약물 평균 결합수 : 3.9

[4185] 실시예 113 : 항체 약물 콘주게이트 28 의 합성 (항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트 5 의 합성)

[4186] 당사슬 리모델링 항체 4 의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (10.89 mg/ml, 1.00 ml) 을 프로필렌글리콜 (0.500 ml) 로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 21 의 디메틸술폭시드 용액 (10 mM, 0.180 ml, 항체 1 분자에 대하여 24 당량) 과 프로필렌글리콜 (0.320 ml) 의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈원 주식회사) 를 사용하여 실온에서 3 일간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D 에 기재된 방법에 따라서 정제하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘주게이트의 ABS 용액 (7.0 ml) 을 얻었다.

[4187] 공통 조작 E 및 G 에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.

[4188] 항체 농도 : 0.84 mg/ml

[4189] 항체 수량 : 5.91 mg (54 %)

[4190] 약물 평균 결합수 : 3.9

[4191] 실시예 114 : 항체 약물 콘주게이트 29 의 합성 (항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트 6 의 합성)

[4192] 당사슬 리모델링 항체 4 의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (10.89 mg/ml, 1.00 ml) 을 프로필렌글리콜 (0.500 ml) 로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 22 의 디메틸술폭시드 용액 (10 mM, 0.180 ml, 항체 1 분자에 대하여 24 당량) 과 프로필렌글리콜 (0.320 ml) 의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈원 주식회사) 를 사용하여 실온에서 2 일간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D 에 기재된 방법에 따라서 정제

하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘주게이트의 ABS 용액 (5.0 ml) 을 얻었다.

[4193] 공통 조작 E 및 G 에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.

[4194] 항체 농도 : 0.92 mg/ml

[4195] 항체 수량 : 4.60 mg (42 %)

[4196] 약물 평균 결합수 : 3.5

[4197] 실시예 115 : 항체 약물 콘주게이트 30 의 합성 (항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트 7 의 합성)

[4198] 당사슬 리모델링 항체 4 의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (10.89 mg/ml, 1.00 ml) 을 프로필렌글리콜 (0.500 ml) 로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 18 의 디메틸술폭시드 용액 (10 mM, 0.180 ml, 항체 1 분자에 대하여 24 당량) 과 프로필렌글리콜 (0.320 ml) 의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈윈 주식회사) 를 사용하여 실온에서 2 일간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D 에 기재된 방법에 따라서 정제하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘주게이트의 ABS 용액 (7.0 ml) 을 얻었다.

[4199] 공통 조작 E 및 G 에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.

[4200] 항체 농도 : 1.08 mg/ml

[4201] 항체 수량 : 7.53 mg (69 %)

[4202] 약물 평균 결합수 : 3.9

[4203] 실시예 116 : 항체 약물 콘주게이트 31 의 합성 (항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트 8 의 합성)

[4204] 당사슬 리모델링 항체 4 의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (10.89 mg/ml, 1.00 ml) 을 프로필렌글리콜 (0.500 ml) 로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 20 의 디메틸술폭시드 용액 (10 mM, 0.180 ml, 항체 1 분자에 대하여 24 당량) 과 프로필렌글리콜 (0.320 ml) 의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈윈 주식회사) 를 사용하여 실온에서 2 일간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D 에 기재된 방법에 따라서 정제하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘주게이트의 ABS 용액 (7.0 ml) 을 얻었다.

[4205] 공통 조작 E 및 G 에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.

[4206] 항체 농도 : 1.09 mg/ml

[4207] 항체 수량 : 7.62 mg (70 %)

[4208] 약물 평균 결합수 : 3.8

[4209] 실시예 117 : 항체 약물 콘주게이트 32 의 합성 (항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트 9 의 합성)

[4210] 당사슬 리모델링 항체 8 의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (10.48 mg/ml, 1.00 ml) 을 프로필렌글리콜 (0.500 ml) 로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 17a 의 디메틸술폭시드 용액 (10 mM, 0.087 ml, 항체 1 분자에 대하여 12 당량) 과 프로필렌글리콜 (0.413 ml) 의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈윈 주식회사) 를 사용하여 실온에서 2 일간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D 에 기재된 방법에 따라서 정제하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘주게이트의 ABS 용액 (7.0 ml) 을 얻었다.

[4211] 공통 조작 E 및 G 에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.

[4212] 항체 농도 : 0.77 mg/ml

[4213] 항체 수량 : 5.36 mg (51 %)

[4214] 약물 평균 결합수 : 1.8

[4215] 실시예 118 : 항체 약물 콘주게이트 33 의 합성 (항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트 10 의 합성)

[4216] 당사슬 리모델링 항체 8 의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (10.48 mg/ml, 1.00 ml) 을 프로필렌글리콜 (0.500 ml) 로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 17b 의 디메틸술폭시드 용액 (10 mM, 0.087 ml, 항체 1 분자에 대하여 12 당량) 과 프로필렌글리콜 (0.413 ml) 의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈윈 주식회사) 를 사용하여 실온에서 2 일간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D 에 기재된 방법에 따라서 정제

하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘주게이트의 ABS 용액 (7.0 ml) 을 얻었다.

[4217] 공통 조작 E 및 G 에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.

[4218] 항체 농도 : 0.91 mg/ml

[4219] 항체 수량 : 6.34 mg (61 %)

[4220] 약물 평균 결합수 : 1.8

[4221] 실시예 119 : 항체 약물 콘주게이트 34 의 합성 (항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 19 의 합성)

[4222] 참고예 1 에 따라서 조제한 항HER2 항체의 인산 완충 용액을, 공통 조작 C 에 따라서 버퍼 교환하고, 인산 완충 생리 식염수/5 mM - EDTA 의 항체 용액 (7.69 mg/ml) 을 조제하였다. 이 항체 용액 (0.65 ml) 에 트리스 (2-카르복시에틸)포스핀염산염의 수용액 (10 mM, 20.7 μ l) 과 인산수소2칼륨 수용액 (1 M, 9.8 μ l) 을 첨가하였다. 반응액의 pH 가 7.4 ± 1.0 이내인 것을 확인한 후, 37 $^{\circ}$ C 에서 2 시간 교반하였다. 약물 링커 23 의 DMSO 용액 (10 mM, 0.0689 ml) 을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈원 주식회사) 를 사용하여 실온에서 1 시간 반응시켰다. 반응액에 N-아세틸-L-시스테인 수용액 (100 mM, 6.9 μ l) 을 첨가하여 반응을 정지시켰다. 반응액을 공통 조작 C 에 기재된 방법에 따라서 버퍼 교환하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘주게이트의 ABS 용액 (1.6 ml) 을 얻었다.

[4223] 공통 조작 E 및 G 에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.

[4224] 항체 농도 : 1.46 mg/ml

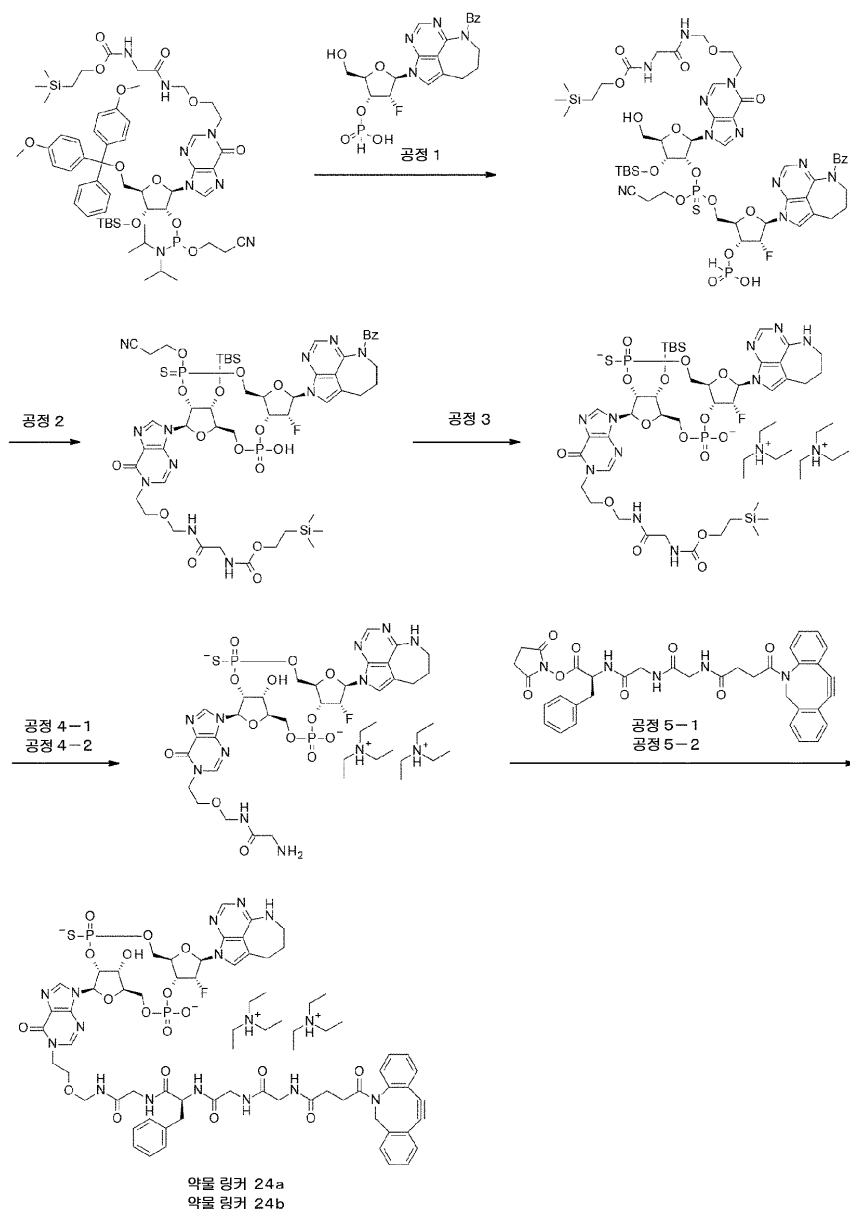
[4225] 항체 수량 : 2.34 mg (47 %)

[4226] 약물 평균 결합수 : 6.5

[4227] 실시예 120 : 약물 링커 24 의 합성

[4228] [합성 스킴]

[4229] [화합식 247]



[4230]

[4231] (공정 1)

[4232] 실시예 44 공정 8 에서 얻어진 화합물 (1.55 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 7 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 6-벤조일-2-{2-데옥시-2-플루오로-3-O-[하이드록시(옥소)-λ⁵-포스파닐]-β-D-리보푸라노실}-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌의 아세트니트릴 용액을 얻었다. 얻어진 아세트니트릴 용액과 실시예 77 공정 6 에서 얻어진 화합물 (1.96 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 8 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 얻어진 미정제 생성물을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.

[4233] (공정 2)

[4234] 2-(트리메틸실릴)에틸 (2-[(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)-16-{tert-부틸(디메틸)실릴}옥시}-10-(2-시아노에톡시)-15-플루오로-2-하이드록시-2-옥소-10-술폰리덴옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-6-옥소-6,9-디하이드로-1H-푸린-1-일}에톡시)메틸]아미노)-2-옥소에틸)카르바메이트

[4235] 상기 공정 1 에서 얻어진 미정제 생성물을 사용하여, 실시예 62 공정 2 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고,

표제 화합물 (1.07 g : 불순물 함유) 을 인 원자 상의 디아스테레오머 혼합물로서 얻었다.

- [4236] MS(ESI)m/z : 1262(M+H)⁺.
- [4237] (공정 3)
- [4238] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 16R)-16-([tert-부틸(디메틸)실릴]옥시)-15-플루오로-2,10-디옥소-7-[6-옥소-1-(2-((N-([2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐)글리실)아미노]메톡시)에틸]-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-10-술폰아이드-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2-올레이트
- [4239] 상기 공정 2 에서 얻어진 (1.07 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 10 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴] 과 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴 - 메탄올 (1 : 1), 아세트니트릴 - 메탄올 (1 : 1) : 25 % - 90 % (0 분 - 40 분)] 로 정제하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (67.8 mg : 불순물 함유) 과 디아스테레오머 2 (56.6 mg : 불순물 함유) 를 얻었다.
- [4240] 디아스테레오머 1 (저극성)
- [4241] MS(ESI)m/z : 1105(M+H)⁺.
- [4242] 디아스테레오머 2 (고극성)
- [4243] MS(ESI)m/z : 1105(M+H)⁺.
- [4244] (공정 4-1)
- [4245] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 16R)-15-플루오로-7-(1-{2-[(글리실아미노)메톡시]에틸}-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일)-16-하이드록시-2,10-디옥소-10-술폰아이드-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2-올레이트
- [4246] 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (67.8 mg) 을 사용하여, 실시예 11 공정 9-1 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴] 과 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴 - 메탄올 (1 : 1), 아세트니트릴 - 메탄올 (1 : 1) : 10 % - 60 % (0 분 - 30 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (33.7 mg : 불순물 함유) 을 얻었다.
- [4247] MS(ESI)m/z : 847(M+H)⁺.
- [4248] (공정 4-2)
- [4249] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 16R)-15-플루오로-7-(1-{2-[(글리실아미노)메톡시]에틸}-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일)-16-하이드록시-2,10-디옥소-10-술폰아이드-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-2-올레이트
- [4250] 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (56.6 mg) 을 사용하여, 실시예 11 공정 9-1 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴] 과 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴 - 메탄올 (1 : 1), 아세트니트릴 - 메탄올 (1 : 1) : 10 % - 60 % (0 분 - 30 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (32.6 mg : 불순물 함유) 을 얻었다.
- [4251] MS(ESI)m/z : 847(M+H)⁺.
- [4252] (공정 5-1)

- [4253] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) N-[4-(11,12-디데히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-페닐알라닐-N-[(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-플루오로-16-하이드록시-2-옥사이드-2,10-디옥소-10-술폰아이드-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라테신-7-일]-6-옥소-6,9-디하이드로-1H-푸린-1-일}에톡시)메틸]글리신아미드
- [4254] (디아스테레오머 1)
- [4255] 상기 공정 4-1 에서 얻어진 화합물 (33.7 mg) 과 실시예 22 공정 11 에서 얻어진 화합물 (21.3 mg) 을 사용하여, 실시예 22 공정 9-1 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제를 실시하고, 표제 화합물 (11.2 mg) 을 얻었다.
- [4256] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴] 과 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/메탄올, 메탄올 : 40 % - 90 % (0 분 - 40 분)].
- MS (ESI) m/z : 1395 (M+H)⁺.
- ¹H-NMR (CD₃OD) 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=18.1 Hz), 6.26 (1H, d, J=8.5 Hz), 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=7.3 Hz), 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=7.3 Hz).
- [4257]
- [4258] (공정 5-2)
- [4259] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) N-[4-(11,12-디데히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-페닐알라닐-N-[(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-플루오로-16-하이드록시-2-옥사이드-2,10-디옥소-10-술폰아이드-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라테신-7-일]-6-옥소-6,9-디하이드로-1H-푸린-1-일}에톡시)메틸]글리신아미드
- [4260] (디아스테레오머 2)
- [4261] 상기 공정 4-2 에서 얻어진 화합물 (32.6 mg) 과 실시예 22 공정 11 에서 얻어진 화합물 (20.6 mg) 을 사용하여, 실시예 22 공정 9-1 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제를 실시하고, 표제 화합물 (16.7 mg) 을 얻었다.
- [4262] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트오니트릴], 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/메탄올, 메탄올 : 40 % - 90 % (0 분 - 40 분)], 및 분취 HPLC [100 mM 헥사플루오로-2-프로판올, 8 mM 트리에틸아민 수용액/아세트오니트릴, 아세트오니트릴 : 10 % - 45 % (0 분 - 40 분)].

MS (ESI) m/z : 1395 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) 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=16.3 Hz), 6.27 (1H, dd, J=8.2, 6.3 Hz), 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=7.3 Hz), 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=7.3 Hz).

[4263]

[4264]

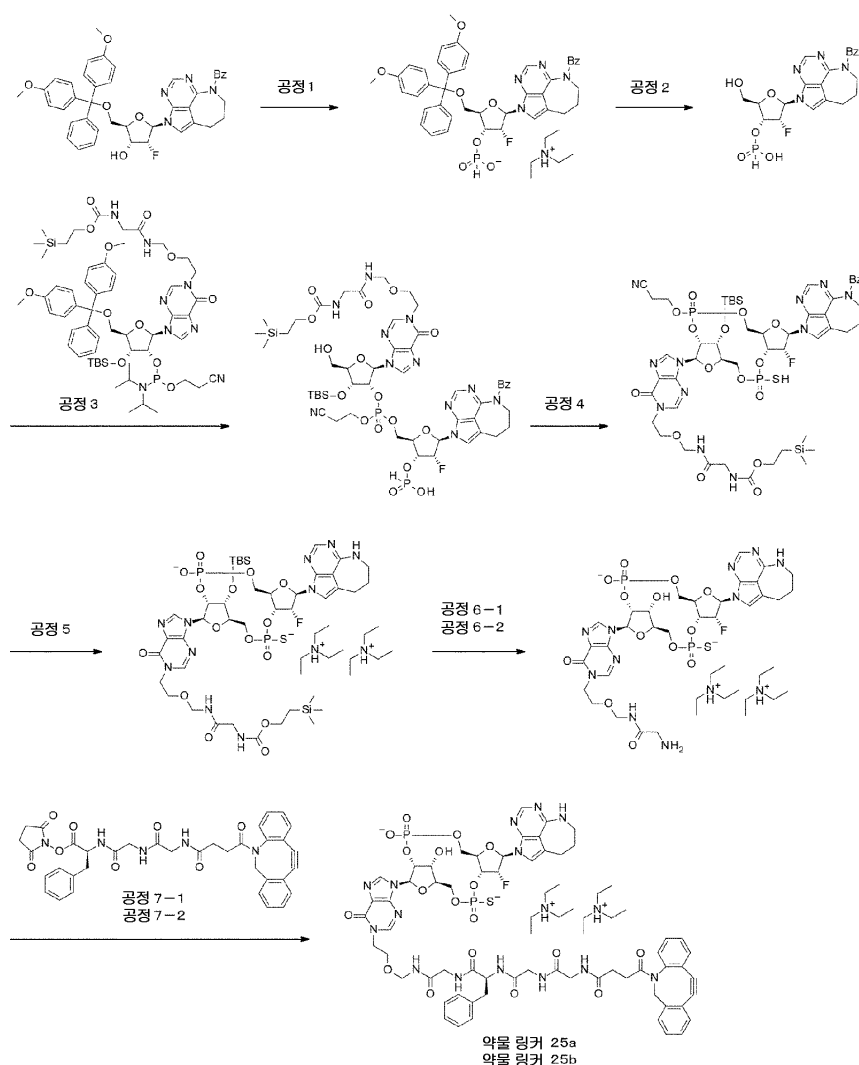
실시예 121 : 약물 링커 25 의 합성

[4265]

[합성 스킴]

[4266]

[화학식 248]



[4267]

[4268] (공정 1)

[4269] N,N-디에틸에탄아미늄 6-벤조일-2-{5-O-[비스(4-메톡시페닐)(페닐)메틸]-2-테옥시-2-플루오로-3-O-[옥사이드(옥소)-λ⁵-포스포닐]}-β-D-리보푸라노실}-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌

[4270] 실시예 44 공정 7 에서 얻어진 화합물 (1.49 g) 의 피리딘 (10.4 ml) 용액에, 빙랭하에서 아인산디페닐 (599 μl) 을 첨가하고, 실온까지 승온하여 30 분간 교반하였다. 아인산디페닐 (200 μl) 을 추가하여, 2 시간 더 교반하였다. 빙랭하, 반응액에 물 (1.5 ml) 을 첨가하고, 실온에서 30 분간 교반한 후, 감압 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [아세트산에틸/메탄올/0.1 % 트리에틸아민] 으로 정제하고, 표제 화합물 (1.41 g) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 779 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) 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, 1.8 Hz), 6.83-6.79 (4H, m), 6.53 (1H, dd, J=17.5, 1.8 Hz), 5.54 (1H, ddd, J=52.1, 4.0, 2.0 Hz), 5.37-5.27 (1H, m), 4.31-4.21 (3H, m), 3.55 (1H, dd, J=11.2, 2.1 Hz), 3.38 (1H, dd, J=10.9, 3.0 Hz), 3.34 (6H, s), 3.19 (6H, q, J=7.5 Hz), 2.84-2.69 (2H, m), 2.18-2.12 (2H, m), 1.29 (9H, t, J=7.3 Hz).

[4271]

[4272] (공정 2)

[4273] 6-벤조일-2-{2-테옥시-2-플루오로-3-O-[하이드록시(옥소)-λ⁵-포스포닐]}-β-D-리보푸라노실}-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌

[4274] 상기 공정 1 에서 얻어진 화합물 (1.41 g) 의 디클로로메탄 (20.0 ml) 용액에, 물 (289 μl) 과 디클로로아세트산 (1.14 ml) 의 디클로로메탄 (20.0 ml) 용액을 첨가하고, 실온에서 10 분간 교반하였다. 반응액에 피리딘 (2.19 ml) 을 첨가하여 반응을 정지시킨 후, 감압 농축하였다. 잔류물에 트리플루오로아세트산피리딘염 (402 mg) 을 첨가하고, 탈수 아세토니트릴 (15 ml) 로 3 회 공비하고, 마지막 1 회는 10 ml 정도의 아세토니트릴을 남겼다. 얻어진 아세토니트릴 용액을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.

[4275] MS(ESI)m/z : 477(M+H)⁺.

[4276] (공정 3)

[4277] 실시예 77 공정 6 에서 얻어진 화합물 (2.15 g) 과 상기 공정 2 에서 얻어진 화합물의 아세토니트릴 용액을 사용하여, 실시예 63 공정 1 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 얻어진 미정제 생성물을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.

[4278] (공정 4)

[4279] 2-(트리메틸실릴)에틸 2-{(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)-16-{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-10-(2-시아노에톡시)-15-플루오로-2,10-디옥소-2-술폰옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스포시클로테트라데신-7-일]-6-옥소-6,9-디하이드로-1H-푸린-1-일}에톡시)메틸)아미노}-2-옥소에틸)카르바메이트

[4280] 상기 공정 3 에서 얻어진 미정제 생성물을 사용하여, 실시예 1 공정 9 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (1.00 g : 불순물 함유) 을 얻었다.

[4281] MS(ESI)m/z : 1262(M+H)⁺.

[4282] (공정 5)

[4283] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-16-([tert-부틸(디메틸)실릴]옥시)-15-플루오로-2,10-디옥소-7-[6-옥소-1-(2-([N-([2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐)글리실]아미노)메톡시)에틸]-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일]-2-술파이드-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-10-올레이트

[4284] 상기 공정 4 에서 얻어진 화합물 (1.00 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 10 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물의 디아스테레오머 1 (191 mg : 불순물 함유) 과 디아스테레오머 2 (369 mg : 불순물 함유) 를 얻었다.

[4285] 디아스테레오머 1 (저극성)

[4286] MS(ESI)m/z : 1105(M+H)⁺.

[4287] 디아스테레오머 2 (고극성)

[4288] MS(ESI)m/z : 1105(M+H)⁺.

[4289] (공정 6-1)

[4290] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-플루오로-7-(1-(2-([글리실아미노)메톡시]에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일)-16-하이드록시-2,10-디옥소-2-술파이드-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-10-올레이트

[4291] 상기 공정 5 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 1) (191 mg) 을 사용하여, 실시예 40 공정 5 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (21.9 mg : 불순물 함유) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 847 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.39 (1H, s), 8.03 (1H, s), 7.71 (1H, s), 7.24 (1H, s), 6.45 (1H, d, J = 17.5 Hz), 6.15 (1H, d, J = 8.5 Hz), 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 = 7.3 Hz), 2.76-2.68 (1H, m), 2.39-2.30 (1H, m), 1.92-1.82 (2H, m), 1.28 (18H, t, J = 7.6 Hz).

[4292]

[4293] (공정 6-2)

[4294] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-플루오로-7-(1-(2-([글리실아미노)메톡시]에틸)-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일)-16-하이드록시-2,10-디옥소-2-술파이드-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-10-올레이트

[4295]

상기 공정 5 에서 얻어진 화합물 (디아스테레오머 2) (369 mg) 을 사용하여, 실시예 40 공정 5 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (137 mg : 불순물 함유) 을 얻었다.

MS (ESI) m/z : 847 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.96 (1H, s), 8.14 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.04 (1H, s), 6.46 (1H, d, J=19.3 Hz), 6.28 (1H, d, J=8.5 Hz), 5.61 (1H, dd, J=52.0, 4.2 Hz), 5.38-5.23 (2H, m), 4.69-4.63 (2H, m), 4.56 (1H, d, J=10.3 Hz), 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=7.3 Hz), 2.74-2.63 (2H, m), 2.03-1.84 (2H, m), 1.21 (18H, t, J=7.3 Hz).

[4296]

[4297]

(공정 7-1)

[4298]

비스(N,N-디에틸에탄아미늄) N-[4-(11,12-디데히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-페닐알라닌-N-[(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-플루오로-16-하이드록시-10-옥사이드-2,10-디옥소-2-술폰아이드-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]헵타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-6-옥소-6,9-디하이드로-1H-푸린-1-일}에톡시)메틸]글리신아미드

[4299]

(약물 링커 25a : 디아스테레오머 1)

[4300]

상기 공정 6-1 에서 얻어진 화합물 (21.9 mg) 을 사용하여, 실시예 22 공정 9-1 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물 (26.3 mg) 을 얻었다.

[4301]

[정제 조건] 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 30 % - 50 % (0 분 - 30 분)] 및 Sep-Pak (등록상표) C18 [물/아세토니트릴/0.1 % 트리에틸아민].

MS (ESI) m/z : 1395 (M+H)⁺.

¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.58 (1H, d, J=4.2 Hz), 8.08-8.02 (2H, m), 7.64-7.13 (14H, m), 6.46 (1H, d, J=18.1 Hz), 6.26-6.21 (1H, m), 5.45 (1H, d, J=53.2 Hz), 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=7.3 Hz), 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=7.3 Hz).

[4302]

[4303]

(공정 7-2)

[4304] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) N-[4-(11,12-디데히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-페닐알라닐-N-[(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-플루오로-16-하이드록시-10-옥사이드-2,10-디옥소-2-설파이드-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라테신-7-일]-6-옥소-6,9-디하이드로-1H-푸린-1-일}에톡시)메틸]글리신아미드

[4305] (약물 링커 25b : 디아스테레오머 2)

[4306] 상기 공정 6-2 에서 얻어진 화합물 (47.5 mg) 을 사용하여, 실시예 22 공정 9-1 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제하고, 표제 화합물 (15.1 mg) 을 얻었다.

[4307] [정제 조건] 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세토니트릴, 아세토니트릴 : 30 % - 50 % (0 분 - 30 분)] 및 Sep-Pak (등록상표) C18 [물/아세토니트릴/0.1 % 트리에틸아민].

MS (ESI) m/z : 1395 (M+H)⁺.

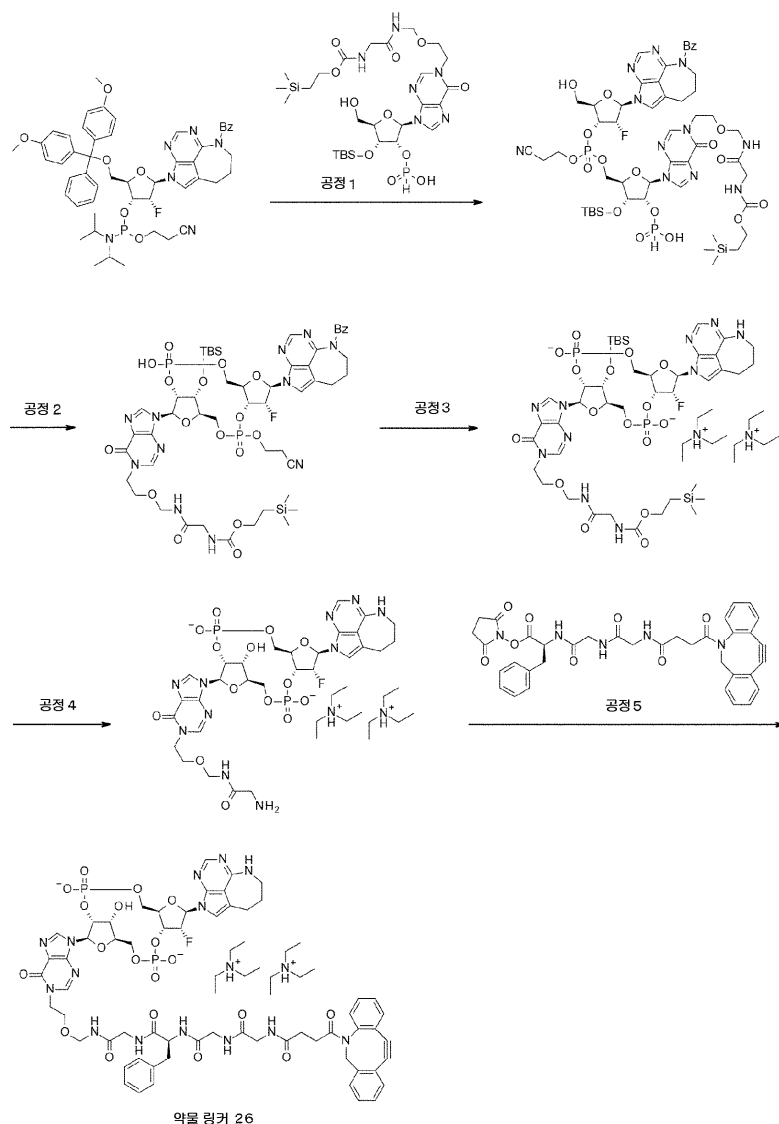
¹H-NMR (CD₃OD) δ : 8.99 (1H, d, J=3.6 Hz), 8.14 (1H, d, J=1.8 Hz), 8.02-8.00 (1H, m), 7.64-7.13 (13H, m), 7.01-6.98 (1H, m), 6.47 (1H, dd, J=19.0, 2.7 Hz), 6.27 (1H, dd, J=8.5, 4.2 Hz), 5.67-5.52 (1H, m), 5.37-5.16 (2H, m), 5.08-5.01 (1H, m), 4.67-4.14 (11H, m), 4.10-3.61 (10H, m), 3.47-3.42 (2H, m), 3.17-3.10 (1H, m), 3.15 (12H, q, J=7.5 Hz), 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=7.3 Hz).

[4308]

[4309] 실시예 122 : 약물 링커 26 의 합성

[4310] [합성 스킴]

[4311] [화학식 249]



[4312]

[4313] (공정 1)

[4314] 실시예 77 공정 6 에서 얻어진 화합물 (1.26 g) 을 사용하여, 실시예 1 공정 7 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 3'-O-[tert-부틸(디메틸)실릴]-2'-O-[하이드록시(옥소)-λ⁵-포스파닐]-1-(2-{(N-[2-(트리메틸실릴)에톡시]카르보닐)글리실)아미노}메톡시)에틸)이노신의 아세토니트릴 용액을 얻었다. 얻어진 아세토니트릴 용액과 실시예 44 공정 8 에서 얻어진 화합물 (1.00 g) 을 사용하여, 실시예 63 공정 1 과 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 얻어진 미정제 생성물을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.

[4315] (공정 2)

[4316] 2-(트리메틸실릴)에틸 (2-{(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)-16-{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-10-(2-시아노에톡시)-15-플루오로-2-하이드록시-2,10-디옥소옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스파시클로테트라데신-7-일]-6-옥소-6,9-디하이드로-1H-푸린-1-일}에톡시)메틸)아미노}-2-옥소에틸)카르바메이트

[4317] 상기 공정 1 에서 얻어진 미정제 생성물을 사용하여, 실시예 62 공정 2 와 동일한 수법으로 반응을 실시하고, 표제 화합물 (678 mg : 불순물 함유) 을 얻었다.

- [4318] MS(ESI) m/z : 1246(M+H)⁺.
- [4319] (공정 3)
- [4320] 2-(트리메틸실릴)에틸 (2-[(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-벤조일-6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)-16-{[tert-부틸(디메틸)실릴]옥시}-10-(2-시아노에톡시)-15-플루오로-2-하이드록시-2,10-디옥소옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스포시클로테트라데신-7-일]-6-옥소-6,9-디하이드로-1H-푸린-1-일}에톡시)메틸]아미노)-2-옥소에틸)카르바메이트
- [4321] 상기 공정 2 에서 얻어진 화합물 (678 mg) 을 사용하여, 실시예 1 공정 10 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴] 과 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴 - 메탄올 용액 (1 : 1), 아세트니트릴 - 메탄올 용액 (1 : 1) : 25 % - 90 % (0 분 - 30 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (99.6 mg : 불순물 함유) 을 얻었다.
- [4322] MS(ESI) m/z : 1089(M+H)⁺.
- [4323] (공정 4)
- [4324] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,16R)-15-플루오로-7-(1-{2-[(글리실아미노)메톡시]에틸}-6-옥소-1,6-디하이드로-9H-푸린-9-일)-16-하이드록시-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스포시클로테트라데신-2,10-비스(올레이트)
- [4325] 상기 공정 3 에서 얻어진 화합물 (99.6 mg) 을 사용하여, 실시예 11 공정 9-1 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴] 과 분취 HPLC [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴 - 메탄올 용액 (1 : 1), 아세트니트릴 - 메탄올 용액 (1 : 1) : 10 % - 60 % (0 분 - 30 분)] 로 정제하고, 표제 화합물 (60.8 mg : 불순물 함유) 을 얻었다.
- [4326] MS(ESI) m/z : 831(M+H)⁺.
- [4327] (공정 5)
- [4328] 비스(N,N-디에틸에탄아미늄) N-[4-(11,12-디데히드로디벤조[b,f]아조신-5(6H)-일)-4-옥소부타노일]글리실글리실-L-페닐알라닌-N-[(2-{9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-플루오로-16-하이드록시-2,10-디옥사이드-2,10-디옥소-14-(6,7,8,9-테트라하이드로-2H-2,3,5,6-테트라아자벤조[cd]아줄렌-2-일)옥타하이드로-2H,10H,12H-5,8-메타노-2λ⁵,10λ⁵-푸로[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]펜타옥사디포스포시클로테트라데신-7-일]-6-옥소-6,9-디하이드로-1H-푸린-1-일}에톡시)메틸]글리신아미드
- [4329] 상기 공정 4 에서 얻어진 화합물 (60.8 mg) 과 실시예 22 공정 11 에서 얻어진 화합물 (21.3 mg) 을 사용하여, 실시예 22 공정 9-1 과 동일한 수법으로 반응을 실시한 후, 이하의 [정제 조건] 으로 정제를 실시하고, 표제 화합물 (30.5 mg) 을 얻었다.
- [4330] [정제 조건] C18 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 [10 mM 아세트산트리에틸암모늄 수용액/아세트니트릴] 과 분취 HPLC [100 mM 헥사플루오로-2-프로판올, 8 mM 트리에틸아민 수용액/아세트니트릴, 아세트니트릴 : 10 % - 45 % (0 분 - 40 분)].

MS (ESI) m/z : 1379 (M+H)⁺.
¹H-NMR (CD₃OD) 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=18.3 Hz), 6.27 (1H, d, J=9.8 Hz), 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=7.3 Hz), 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=7.3 Hz).

[4331]

[4332]

실시에 123 : 항체 약물 콘주게이트 35 의 합성 (항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트 11 의 합성)

[4333]

당사슬 리모델링 항체 4 의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (10.87 mg/ml, 1.00 ml) 을 프로필렌글리콜 (0.500 ml) 로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 24a 의 디메틸술폭시드 용액 (10 mM, 0.135 ml, 항체 1 분자에 대하여 18 당량) 과 프로필렌글리콜 (0.365 ml) 의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈원 주식회사) 를 사용하여 실온에서 2 일간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D 에 기재된 방법에 따라서 정제하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘주게이트의 ABS 용액 (7.0 ml) 을 얻었다.

[4334]

공통 조작 E 및 F 에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.

[4335]

항체 농도 : 1.08 mg/ml

[4336]

항체 수량 : 7.54 mg (69 %)

[4337]

약물 평균 결합수 : 3.8

[4338]

실시에 124 : 항체 약물 콘주게이트 36 의 합성 (항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트 12 의 합성)

[4339]

당사슬 리모델링 항체 4 의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (10.87 mg/ml, 1.00 ml) 을 프로필렌글리콜 (0.500 ml) 로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 24b 의 디메틸술폭시드 용액 (10 mM, 0.135 ml, 항체 1 분자에 대하여 18 당량) 과 프로필렌글리콜 (0.365 ml) 의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈원 주식회사) 를 사용하여 실온에서 2 일간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D 에 기재된 방법에 따라서 정제하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘주게이트의 ABS 용액 (7.0 ml) 을 얻었다.

[4340]

공통 조작 E 및 F 에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.

[4341]

항체 농도 : 1.12 mg/ml

[4342]

항체 수량 : 7.85 mg (72 %)

[4343]

약물 평균 결합수 : 3.8

[4344]

실시에 125 : 항체 약물 콘주게이트 37 의 합성 (항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트 13 의 합성)

[4345]

당사슬 리모델링 항체 4 의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (10.87 mg/ml, 2.00 ml) 을 프로필렌글리콜 (1.00 ml) 로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 26 의 디메틸술폭시드 용액 (10 mM, 0.270 ml, 항체 1 분자에 대하여 18 당량) 과 프로필렌글리콜 (0.730 ml) 의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈원 주식회사) 를 사용하여 실온에서 2 일간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D 에 기재된 방법에 따라서 정제하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘주게이트의 ABS 용액 (14.0 ml) 을 얻었다.

[4346]

공통 조작 E 및 F 에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.

[4347]

항체 농도 : 1.05 mg/ml

- [4348] 항체 수량 : 14.71 mg (68 %)
- [4349] 약물 평균 결합수 : 3.8
- [4350] 실시예 126 : 항체 약물 콘주게이트 38 의 합성 (항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트 14 의 합성)
- [4351] 당사슬 리모델링 항체 4 의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (10.89 mg/ml, 3.00 ml) 을 프로필렌글리콜 (1.50 ml) 로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 25a 의 디메틸술폭시드 용액 (10 mM, 0.540 ml, 항체 1 분자에 대하여 24 당량) 과 프로필렌글리콜 (0.960 ml) 의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈원 주식회사) 를 사용하여 실온에서 3 일간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D 에 기재된 방법에 따라서 정제하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘주게이트의 ABS 용액 (19 ml) 을 얻었다.
- [4352] 공통 조작 E 및 G 에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.
- [4353] 항체 농도 : 1.38 mg/ml
- [4354] 항체 수량 : 26.28 mg (80 %)
- [4355] 약물 평균 결합수 : 3.7
- [4356] 실시예 127 : 항체 약물 콘주게이트 39 의 합성 (항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트 15 의 합성)
- [4357] 당사슬 리모델링 항체 4 의 인산 완충 생리 식염수 (pH 6.0) 용액 (10.89 mg/ml, 0.500 ml) 을 프로필렌글리콜 (0.250 ml) 로 희석하였다. 이 용액에 약물 링커 25b 의 디메틸술폭시드 용액 (10 mM, 0.090 ml, 항체 1 분자에 대하여 24 당량) 과 프로필렌글리콜 (0.160 ml) 의 혼합액을 첨가하고, 튜브 로테이터 (MTR-103, 애즈원 주식회사) 를 사용하여 실온에서 2 일간 반응시켰다. 반응액을 공통 조작 D 에 기재된 방법에 따라서 정제하고, 목적으로 하는 항체 약물 콘주게이트의 ABS 용액 (3.5 ml) 을 얻었다.
- [4358] 공통 조작 E 및 G 에 기재된 방법에 따라서 분석하여, 하기의 결과를 얻었다.
- [4359] 항체 농도 : 0.93 mg/ml
- [4360] 항체 수량 : 3.25 mg (60 %)
- [4361] 약물 평균 결합수 : 3.5
- [4362] (참고예 1 : 항HER2 항체의 제조)
- [4363] 본 명세서에 있어서, 「트라스투주맙」 은 HERCEPTIN (등록상표), huMAb4D5-8, rhuMAb4D5-8 이라고 불리는 경우도 있으며, 서열 번호 1 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 및 서열 번호 2 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬을 갖는 인간화 IgG1 항체이다. 아미노산 서열은 US5821337 을 참조하였다. 트라스투주맙의 경사슬 아미노산 서열 (서열 번호 1) 및 중사슬 아미노산 서열 (서열 번호 2) 을 도 4 에 나타낸다.
- [4364] 본 명세서에서 사용한 항HER2 항체는, 트라스투주맙의 중사슬 아미노산 서열의 EU 인덱스 234 번째 및 235 번째의 류신 (L) 을 알라닌 (A) 으로 변이 (본 명세서 중, LALA 변이라고도 한다) 시킨, 트라스투주맙의 정상 영역 개변 IgG1 항체 (본 명세서 중, 개변 항HER2 항체라고도 한다) 를 설계하고, 제조하였다. 개변 항HER2 항체의 경사슬 아미노산 서열 (서열 번호 1) 및 중사슬 아미노산 서열 (서열 번호 3) 을 도 5 에 나타낸다.
- [4365] (참고예 2 : 항LPS 항체의 제조)
- [4366] 항LPS 항체는 W02015/046505 를 참조하여 제조하였다. 본 실시예에서 사용한 항LPS 항체는, 아이소타입이 IgG1 이며, LALA 변이를 갖는다 (본 명세서 중, 개변 항LPS 항체라고도 한다). 본 실시예에서 사용한 개변 항LPS 항체의 경사슬 및 중사슬의 아미노산 서열을 서열 번호 26 및 서열 번호 27 에 나타낸다.
- [4367] (참고예 3 : ML-RR-CDA · 2Na⁺ 의 합성)
- [4368] 본 명세서에서, 레퍼런스 화합물로서 사용한 ML-RR-CDA · 2Na⁺ 는, 특허문헌 3 (W02014/189805) 에 기재된 방법에 따라서 합성하였다.
- [4369] (참고예 4 : 2',3'-cGAMP 의 합성)
- [4370] 본 명세서에서, 레퍼런스 화합물로서 사용한 2',3'-cGAMP 는, cGAS 를 사용하여 ATP 와 GTP 로부터 효소적으로

합성하였다. cGAS 의 조제 및 효소 반응은, 문헌 기재의 방법 (Immunity, 2013, 39, 1019-1031, Cell Rep. 2014, 6, 421-430) 을 적절히 개변하여 실시하였다. 정제는, 약염기성 음이온 교환 수지 (DIAION WA10) 및 합성 흡착제 (SEPA BEADS SP207SS) 를 사용한 칼럼 크로마토그래피에 의해 실시하였다.

[4371] (참고예 5 : 항HER2 항체 2 의 제조)

[4372] 「페르투주맵」 은 PERJETA (등록상표) 라고 불리는 경우도 있으며, 서열 번호 28 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 경사슬 및 서열 번호 29 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 중사슬을 갖는 인간화 IgG1 항체이다. 아미노산 서열은 W02004/008099 를 참조하였다. 본 명세서에서는 항HER2 항체 2 라고도 한다. 페르투주맵의 경사슬 아미노산 서열 (서열 번호 28) 및 중사슬 아미노산 서열 (서열 번호 29) 을 도 17 에 나타낸다.

[4373] 본 명세서에서는, LALA 변이에 더하여, 중사슬 아미노산 서열의 EU 인덱스 214 번째의 리신 (K) 을 아르기닌 (R) 으로 변이시킨 G1m3 알로타입의 정상 영역을 갖는 항HER2 항체 2 를 설계하고, 제조하였다 (본 명세서 중, 개변 항HER2 항체 2라고도 한다). 본 실시예에서 사용한 개변 항HER2 항체 2 의 경사슬 아미노산 서열 (서열 번호 28) 및 중사슬 아미노산 서열 (서열 번호 30) 을 도 18 에 나타낸다.

[4374] (참고예 6 : 항CD33 항체의 제조)

[4375] 항CD33 항체는 W02014/057687 을 참조하여 제조하였다. 본 실시예에서 사용한 항CD33 항체는, 아이소타입이 IgG1 이며, LALA 변이를 갖는다. 본 실시예에서 사용한 항CD33 항체의 경사슬 아미노산 서열 (서열 번호 31) 및 중사슬 아미노산 서열 (서열 번호 32) 을 도 19 에 나타낸다.

[4376] (참고예 7 : 항EphA2 항체의 제조)

[4377] 항EphA2 항체는 W02009/028639 를 참조하여 제조하였다. 본 실시예에서 사용한 항EphA2 항체는, 아이소타입이 IgG1 이다. 본 실시예에서 사용한 항EphA2 항체의 경사슬 아미노산 서열 (서열 번호 33) 및 중사슬 아미노산 서열 (서열 번호 34) 을 도 20 에 나타낸다.

[4378] (참고예 8 : 항CDH6 항체의 제조)

[4379] 항CDH6 항체는 W02018/212136 을 참조하여 제조하였다. 본 실시예에서 사용한 항CDH6 항체는, 아이소타입이 IgG1 이며, LALA 변이에 더하여, 중사슬 아미노산 서열의 EU 인덱스 329 번째의 프롤린 (P) 을 글리신 (G) 으로 한 변이를 갖는다. 본 실시예에서 사용한 항CDH6 항체의 경사슬 아미노산 서열 (서열 번호 35) 및 중사슬 아미노산 서열 (서열 번호 36) 을 도 21 에 나타낸다.

[4380] (시험예 1) 리포터 세포를 사용한 STING 아고니스트 활성 평가

[4381] <리포터 유전자 어세이>

[4382] 인간 STING 아고니스트 활성은, STING 경로의 하류에 있는 인터페론 제어 인자 3 (interferon regulatory factor-3 (IRF3)) 의 경로의 활성화를 확인할 수 있는 THP1-DualTM 세포 (HAQ 변이형) (InvivoGen, CA, US) 를 사용하여 평가하였다. 마우스 STING 아고니스트 활성은 RAW-DualTM 세포 (InvivoGen) 를 사용하여 평가하였다.

[4383] 어세이는 이하와 같이 실시하였다. 처음에, 투명 96 웰 플레이트 (Corning, NY, US) 에, PBS 로 희석한 시험 화합물을 20 μ l/웰로 분주 (分注) 하였다. 이어서, 어세이 버퍼 (10 % 소 혈청 알부민을 포함하는 RPMI1640 배지 또는 DMEM 배지) 에 현탁한 리포터 세포를 180 μ l/웰 (1×10^5 세포/웰) 로 첨가하고 자극을 개시하였다. 37 $^{\circ}$ C, 5 % CO₂ 환경하에서 24 시간 배양한 후의 원심 상청을 회수하였다. 6 μ l 의 회수한 상청을 백색 384 웰 플레이트에 첨가하고, 거기에 QUANTI-Luc (InvivoGen) 용액을 15 μ l 첨가하였다. 잘 혼합한 후, 플레이트 리더 (PerkinElmer, MA, US) 를 사용하여 발광을 측정하였다. 1.37 내지 100 μ M 의 ML-RR-CDA $\cdot$ 2Na⁺ (Compound 21 in W02014/189805) 를 처리한 세포에 있어서의 최대 카운트값을 100 %, PBS 로 처리한 세포에서의 카운트를 0 % 로 하고, 시험 화합물이 50 % 의 카운트를 얻는 데에 필요한 농도를 EC50 (μ M) 값으로 하여 GraphPad Prism (GraphPad Software, CA, US) 을 사용하여 산출하였다. 표 1 에 인간 STING 아고니스트 활성 시험의 결과를 나타낸다.

[4384] [표 1]

화합물 번호	THP1-Dual 세포 IRF EC50 (μ M)
1 a	5.9
1 b	0.3
2 a	4.7
4 a	2.1
4 b	1.5
5 a	2.4
6 a	0.6
6 b	2.1

[4385]

7 a	3.5
7 b	6.1
8 a	3.1
8 b	6.6
9 a	5.7
9 b	2.4
10 a	6.3
11 a	4.0
12 b	1.8
17 a	4.4
17 b	1.0
20 b	0.40
21 b	0.70
22 b	4.3
23 a	2.6
23 b	0.055
25 a	1.3
25 b	0.9
26 a	1.4
26 b	1.2
32 a	1.2
32 b	6.4
33 a	0.18
34 a	0.20
34 b	0.55
35 a	2.0
35 b	3.4
36 a	2.0
36 b	2.0
37 a	0.98
37 b	4.5
38 a	0.45
38 b	1.6
39 a	0.19
39 b	0.41
40 a	3.4
40 b	3.2
41 a	1.1
41 b	3.6
42 a	4.2
42 b	4.7
44 a	0.21

[4386]

4 4 b	0. 3 5
4 5 a	1. 2
4 5 b	3. 1
4 6 a	3. 9
4 6 b	0. 8 7
4 7 a	0. 5 8
4 8 a	0. 0 3 5
4 8 b	0. 0 3 9
4 9 a	0. 3 3
4 9 b	0. 4 1
5 0 a	0. 3 4
5 0 b	0. 2 0
5 1 a	0. 3 2
5 1 b	0. 4 3
5 2 a	0. 3 1
5 2 b	0. 4 6
5 3 a	6. 0
5 4	4. 0
ML-RR-CDA • 2 Na ⁺	4. 2
2' 3' - c GAMP	2 1. 8

[4387]

[4388]

이 결과, 본원 화합물이 인간 STING 에 대한 아고니스트 활성을 갖는 것이 분명해졌다. 또, 마우스 STING 에 대해서도, 기존의 CDN 과 동등 이상의 아고니스트 활성을 확인하였다.

[4389]

(시험예 2) 리콤비넨트 STING C말 결합 도메인 단백질을 사용한 Protein thermal shift 어세이

[4390]

(i) 각종 발현 플라스미드의 구축

[4391]

<인간 TMEM173 발현 플라스미드 (Plasmid) 의 구축>

[4392]

인간 STING (본 명세서 중, 인간 TMEM173 이라고 칭하는 경우도 있다) 의 포유 동물 세포 발현용 플라스미드는, 232 번째의 아르기닌 (R) 이 히스티딘 (H) 으로 변이한 (본 명세서 중, H232 변이 또는 REF 변이라고 한다) 인간 TMEM173 cDNA Clone (Accession NM_198282.3, H232 (REF) 변이형 STING 발현 플라스미드) (GeneCopoeia, MD, US) 을 구입하였다. 인간 H232 (REF) 변이형 STING 의 아미노산 서열을 서열 번호 4 에, 뉴클레오티드 서열을 서열 번호 5 에 나타낸다. 또, H232 변이형 STING 발현 플라스미드를 주형 (鑄型) 으로 하고, Inverse PCR 법에 기초하는 부위 특이적 변이 도입을 실시하여 야생형 STING 및 변이형 STING 의 발현 플라스미드를 제조하였다. 상세하게는, 먼저 2 종류의 프라이머 (5'-CGTGCTGGCATCAAGGATCGGGTTTAC-3' (H232R(WT)fwd) (서열 번호 12) 및 5'-GTCACCGTCTGCTGGGCAGTTTATC-3' (H232R(WT)rev)) (서열 번호 13) 와 KOD-Plus-Mutagenesis 키트 (SMK-101) (토요보) 를 사용하여 PCR 을 실시하고, DNA 시퀀싱에 의해 목적으로 하는 야생형 (R232) STING 발현 플라스미드의 구축을 확인하였다. 인간 야생형 STING 의 아미노산 서열을 서열 번호 6 에, 뉴클레오티드 서열을 서열 번호 7 에 나타낸다.

[4393]

다음으로, HAQ (R71H, G230A 및 R293Q) 변이형을, 야생형 STING 발현 플라스미드와 동일한 수법으로 제조하였다. 상세하게는, H232 변이형 STING 발현 플라스미드를 주형으로 하고, 2 종류의 프라이머 (5'-GCTGACCGTCTGGCATCAAGGATCGGGTTTAC-3' (H232R/G230A fwd) (서열 번호 14) 및 5'-GGTCTGCTGGGCAGTTTATCCAGG-3' (H232R/G230A rev) (서열 번호 15)) 와 Mutagenesis 키트를 사용하여 PCR 을 실시. 2 개 지점에 동시에 변이를 도입함으로써, G230A 변이형 STING 플라스미드를 취득하였다. 또한, G230A 변이형 STING 발현 플라스미드를 주형으로 하고, 2 종류의 프라이머 (5'-CACCACATCCACTCCAGGTACCGG-3' (R71H fwd) (서열 번호 16) 및 5'-CAGCTCCTCAGCCAGGCTGCAGAC-3' (R71H rev) (서열 번호 17)) 와 Mutagenesis 키트를 사용하여 PCR 을 실시하여, R71H/G230A 변이형 STING 발현 플라스미드를 취득하였다.

[4394]

계속해서, R71H/G230A 변이형의 STING 발현 플라스미드를 주형으로 하고, 2 종류의 프라이머 (5'-CAGACACTTGAGGACATCCTGGCAG-3' (R293Q fwd) (서열 번호 18) 및 5'-GCAGAAGAGTTTGGCCTGCTCAA-3' (R293Q rev) (서열 번호 19)) 와 Mutagenesis 키트를 사용하여 PCR 을 실시하고, HAQ (R71H/G230A/R293Q) 변이형의 발현 플라스미드를 취득하였다. 인간 HAQ 변이형 STING 의 아미노산 서열을 서열 번호 8 에, 뉴클레오티드 서열을 서열 번호 9 에 나타낸다.

[4395]

인간의 야생형 STING, REF 형 STING, HAQ 형 STING 의 아미노산 서열을 도 6 에 나타낸다.

- [4396] <리콰비넨트 STING C말 결합 도메인 단백질 발현 플라스미드 등의 구축>
- [4397] 인간 STING C말 결합 도메인 (aa139-342) 단백질 (UniProt entry Q86WV6) cDNA 는, 전체 길이의 인간 TMEM173 cDNA clone 발현 플라스미드 (야생형, H232 변이형 및 HAQ 변이형) 로부터 2 종류의 프라이머 (5'-ACCTGTATTTCAGGGCCTGGCCCCAGCTGAGATCTCTG-3' (hST Fw_v2) (서열 번호 20) 및 5'-CAGAATTCGCAAGCTTTTAAGTAACCTCTTCCTTTCTCCTCTGC-3' (hST Rv_V3) (서열 번호 21)) 를 사용한 PCR 로 제조하였다. PCR 산물은, N말에 히스티딘 6 염기로 이루어지는 6xHis 태그, Avidin 태그 및 TEV 프로테아제 절단 사이트를 갖도록, In-Fusion HD Cloning 키트 (다카라 바이오) 를 사용하여 대장균 발현용 벡터인 pET15b 에 삽입하고, pET15b-HisAviTEV-hSTING (139-342) 인간 야생형, pET15b-HisAviTEV-hSTING (139-342) 인간 REF 변이형 및 pET15b-HisAviTEV-hSTING (139-342) 인간 AQ 변이형의 발현 플라스미드를 구축하였다.
- [4398] 마우스 STING C말 결합 도메인 (aa138-341) 단백질 (UniProt entry Q3TBT3) 발현용 cDNA 에는, 마우스 TMEM173 cDNA 서열로부터 138 번째 내지 341 번째의 아미노산에 해당하는 cDNA 를 eurofins Genomics 로 인공 합성한 것을 사용하였다. 마우스 STING 의 아미노산 서열을 서열 번호 10 에, 뉴클레오티드 서열을 서열 번호 11 에 나타낸다. 합성한 cDNA 는, N말에 히스티딘 6 염기로 이루어지는 6xHis 태그, Avidin 태그 및 TEV 프로테아제 절단 사이트를 갖도록 In-Fusion HD Cloning 키트를 사용하여 대장균 발현용 벡터인 pET15b 에 삽입하고, pET15b-HisAviTEV-mSTING (138-341) 마우스 야생형의 발현 플라스미드를 구축하였다.
- [4399] pCDF_Duet-1 벡터에 인공 합성한 대장균 BirA (UniProt entry P06709) cDNA 를 삽입하고, pCDF_Duet-1 BirA (1-321) 발현 플라스미드를 구축하였다.
- [4400] (ii) STING C말 결합 도메인 단백질의 조제법
- [4401] 제조한 각 pET15b-HisAviTEV-hSTING (139-342) (인간 야생형, 인간 REF 변이형 및 인간 AQ 변이형의 STING C말 결합 도메인 단백질) 발현 플라스미드 및 pET15b-HisAviTEV-mSTING (138-341) (마우스 야생형의 STING C말 결합 도메인 단백질) 발현 플라스미드는 각각 pCDF_Duet-1 BirA (1-321) 발현 플라스미드와 동시에 Competent E. coli Rosetta 2 (DE3) (Merck Millipore, MA, US) 로 형질 전환하고, 각 HisAviTEV-STING 발현주를 제조하였다. 이들 발현주를 100 µg/ml 암피실린, 50 µg/ml 스트렙토마이신, 및 30 µg/ml 카나마이신을 포함하는 TB 배지에 첨가하고, 37 °C 에서 배양 후, 100 µM IPTG 로 유도 발현하고 추가로 16 °C 에서 배양하였다.
- [4402] 배양액을 원심하고, 얻어진 균체를 50 mM HEPES pH 8.0, 500 mM NaCl, 20 mM imidazole, 1 mM DTT, 5 % (w/v) glycerol, Complete EDTA free 에 현탁 후, 동결 용해하였다. Lysozyme, DNase I 을 첨가한 후, 초음파 파쇄에 의해 단백질을 추출하고, 원심을 거쳐 상청을 회수하였다. 얻어진 상청을 AKTAexpress 크로마토그래피 시스템 (GE Healthcare, IL, US) 을 사용하여 HisTrap FF 칼럼 (GE Healthcare) 으로 정제하고, Superdex200 16/60 칼럼 (GE Healthcare) 에 통과시켜 Buffer (20 mM HEPES pH 7.5, 120 mM NaCl, 20 % Glycerol, 0.8 mM DTT) 로 용출하였다. SEC 로 목적 분자량의 단백질을 포함하는 획분 회수하고, His-Avi-TEV-hSTING (139-342) 인간 야생형 단백질, HisAviTEV-hSTING (139-342) 인간 REF 변이형 단백질, HisAviTEV-hSTING (139-342) 인간 AQ 변이형 단백질 및 His-Avi-TEV-mSTING (138-341) 마우스 야생형 단백질로서 회수하였다. 단백질 농도는 Nanodrop2000 (Thermo Fisher Scientific, MA, US) 을 사용하여 측정하고, 사용까지 -80 °C 에서 동결 보존하였다.
- [4403] HisAviTEV-hSTING (139-342) 인간 야생형 단백질의 아미노산 서열을 서열 번호 22, HisAviTEV-hSTING (139-342) 인간 REF 변이형 단백질의 아미노산 서열을 서열 번호 23, HisAviTEV-hSTING (139-342) 인간 AQ 변이형 단백질의 아미노산 서열을 서열 번호 24, His-Avi-TEV-mSTING (138-341) 마우스 야생형 단백질의 아미노산 서열을 서열 번호 25 에 나타낸다.
- [4404] (iii) STING 결합 시험
- [4405] STING C말 결합 도메인 단백질에 대한 화합물의 결합성은, 단백질의 열 변성 온도의 상승을 지표로 하는 Protein thermal shift assay 에 의해 실시하였다.
- [4406] 상세하게는, 384 웰의 리얼타임 PCR 플레이트에, 어세이 버퍼 (20 mM Tris-HCl pH 7.5, 120 mM NaCl) 를 사용하여, 3 µl 의 피험 화합물 (중농도 0.5 mM), 3 µl 의 SYPRO Orange Protein Gel Stain (Thermo Fisher Scientific) (중농도 20 × 농도) 와 6 µl 의 STING 단백질을 혼합하고, 플레이트 셰이커를 사용하여 혼화하였다. 리얼타임 PCR 시스템 (Thermo Fisher Scientific) 에 의해, 온도를 매초 0.03 °C 의 속도로 25 °C 에서 95 °C 까지 상승시켜, 단백질의 열 변성 온도를 SYPRO Orange 가 발하는 형광을 지표로 측정하였다. 얻

어진 측정값은, 해석 소프트웨어인 Protein Thermal Shift software (Thermo Fisher Scientific) 를 사용하여, 형광 강도의 증가 속도가 최대값을 나타내는 온도로서 T_m (the midpoint of the unfolding transition) ($^{\circ}\text{C}$) 을 구하였다. 각 화합물의 T_m 값으로부터, 화합물 무첨가 웰의 T_m 값을 뺌으로써, 피험 화합물에 의한 T_m 의 시프트를 ΔT_m ($^{\circ}\text{C}$) 으로서 산출하였다. STING 단백질에 대한 결합 시험의 결과를 표 2 에 나타낸다.

[표 2]

화합물 번호	ΔT_m ($^{\circ}\text{C}$)			
	Hu-WT	Hu-REF	Hu-AQ	Ms-WT
1 a	8.4	3.4	12.0	14.3
4 a	11.5	5.2	17.0	17.5
4 b	9.8	3.5	13.1	14.9
6 a	10.6	5.7	14.8	15.7
6 b	8.4	3.4	11.3	12.9
7 a	8.0	3.9	9.7	11.5
7 b	7.2	2.8	9.5	13.2
8 a	7.6	2.8	10.8	11.5
12 a	8.0	3.0	9.6	11.9
17 a	7.3	2.7	10.7	12.6
17 b	7.4	2.2	10.4	12.6
20 a	7.5	3.7	9.7	12.4
23 a	9.7	4.2	12.2	15.6
25 a	11.4	6.2	15.0	16.0
25 b	10.6	4.6	13.1	15.8
26 b	9.1	3.9	11.5	14.1
34 a	14.7	8.8	18.9	20.3
34 b	12.0	6.5	14.0	16.7
35 a	11.0	6.6	13.1	13.5
35 b	10.3	5.8	12.6	14.2
36 a	10.8	5.8	13.3	15.4
36 b	10.1	5.5	11.8	19.3
37 a	11.2	5.2	13.6	15.3
37 b	8.1	3.4	9.4	12.3
39 a	10.4	5.7	12.9	15.0
39 b	8.9	3.7	10.5	13.1
42 a	6.5	2.8	9.0	11.2
42 b	5.3	1.4	7.4	10.6
44 a	13.4	8.7	18.2	19.3
44 b	11.4	6.2	14.3	17.0
45 a	8.9	4.4	10.8	12.3
45 b	7.5	3.1	9.1	12.1
48 a	15.9	9.3	22.2	16.0
48 b	14.0	7.3	17.8	15.8
49 b	12.6	6.6	16.1	19.3
50 a	12.3	6.5	15.6	13.0
50 b	12.3	6.3	15.3	7.4
51 b	9.9	4.3	11.6	17.0
52 a	10.9	5.6	13.5	14.3
52 b	9.2	4.4	10.8	12.3
53 a	9.6	5.4	11.6	14.3
54	8.3	3.4	9.8	12.1
ML-RR-CDA $\cdot$ 2Na $^{+}$	7.0	2.7	12.7	15.2
2' 3' -cGAMP	13.7	4.1	24.3	25.8

이 결과, 본원 화합물이 인간의 야생형 STING 및 변이형 STING, 마우스의 야생형 STING 에 대하여 결합 활성을 갖는 것이 분명해졌다.

(시험예 3) 항종양 시험 (1)

마우스 : 5 주령의 자성 (雌性) BALB/c 마우스 (BALB/cAnNCr1Cr1j) (일본 찰스·리버) 를 실험 사용 전에 SPF 조건하에서 4 일간 이상 순화하였다.

측정, 계산식 : 모든 연구에 있어서, 종양의 장경 및 단경을 전자식 디지털 캘리퍼 (CD15-CX, 미츠토요) 로 1 주간에 2 ~ 3 회 측정하고, 종양 체적 (mm ^{3}) 을 계산하였다. 계산식은 이하에 나타내는 바와 같음.

- [4413] 종양 체적 (mm^3) = $0.5 \times \text{장경} (\text{mm}) \times [\text{단경} (\text{mm})]^2$
- [4414] 시험 화합물은 생리 식염수 (오즈카 제약 공장) 에 의해 희석하여 사용하였다. 투여 시에는 $50 \mu\text{l}$ 를 종양 내 투여하였다.
- [4415] American Type Culture Collection 사로부터 구입한 마우스 대장암 세포주 CT26.WT (CRL2638) 세포를 사용하였다. CT26.WT 세포를 생리 식염수에 현탁하고, 1.0×10^6 세포를 BALB/c 마우스의 우측 액와부에 피하 이식하고 (Day 0), 7 일 후에 무작위로 군 분류를 실시하였다. 각 시험 화합물은 $10 \mu\text{g}$ 의 용량으로, Day 7, 9 및 11 에 합계 3 회 종양내 투여하였다. 또 비히클군으로서 생리 식염수를 투여하는 군을 설정하였다. 각 군의 마우스 마릿수는 5 마리 또는 6 마리로 하였다.
- [4416] 결과를 도 7a 및 도 7b 에 나타낸다. 도면 중의 흑색 사각선은 비히클군, 백색 사각선은 화합물 번호 6a 투여군, 백색 역삼각선은 화합물 번호 8b 투여군, 백색 동그라미선은 화합물 번호 9b 투여군을 나타낸다. 세로축은 종양 체적 (mm^3), 가로축은 종양 이식 후의 일수를 나타내고 있다. 비히클군은 종양의 증식이 진행되었다. 이에 반해, 화합물 투여군에서는 종양의 증식이 현저하게 억제되었다.
- [4417] 이상으로부터, 고리형 디뉴클레오타이드 유도체의 종양내 투여에 의한 항종양 효과가 확인되었다.
- [4418] (시험예 4) 항종양 시험 (2)
- [4419] American Type Culture Collection 사로부터 구입한 마우스 대장암 세포주 CT26.WT (CRL2638) 에 인간 HER2 유전자를 도입한 CT26.WT-hHER2 세포를 만들었다. 상세하게는, 인간 HER2 의 cDNA 를 포함하는 플라스미드 (Clone ID IOH82145 ; Thermo Fisher Scientific) 를 사용하여 cDNA 를 증폭하고, 이것을 In-Fusion HD Cloning 키트 (Clontech) 를 사용하여 pQCXIN 레트로바이러스 벡터 (다카라 바이오) 에 삽입하였다. 인간 HER2 삽입 pQCXIN 레트로바이러스 벡터를 EcoPack2-293 세포주 (다카라 바이오) 에 Lipofectamine 3000 (Thermo Fisher Scientific) 을 사용하여 도입하고, 상청을 회수하여 CT26.WT 에 감염시켰다. 세포는 $250 \mu\text{g}/\text{ml}$ Geneticin (Thermo Fisher Scientific) 첨가 배지에서 유지하였다.
- [4420] 항체 - CDN 콘주게이트는 아세트산염 완충액 (10 mM Acetate Buffer, 5% Sorbitol, pH 5.5) (나칼라이 테스크) 에 의해 희석하여 사용하였다. 투여 시에는 $200 \mu\text{l}$ 를 꼬리 정맥내 투여하였다.
- [4421] CT26.WT-hHER2 세포를 생리 식염수에 현탁하고, 5.0×10^6 세포를 BALB/c 마우스의 우측 액와부에 피하 이식하고 (Day 0), 7 일 후에 무작위로 군 분류를 실시하였다. 각 항체 - CDN 콘주게이트는 $30 \mu\text{g}$ 의 용량으로, Day 7 에 합계 1 회 꼬리 정맥내 투여하였다. 또 비히클군으로서 아세트산염 완충액을 투여하는 군을 설정하였다. 각 군의 마우스 마릿수는 8 마리로 하였다.
- [4422] 결과를 도 8 에 나타낸다. 도면 중의 흑색 사각선은 비히클군, 백색 삼각선은, 참고예 1 에서 제조한 개변 항HER2 항체에 실시예 8b 의 화합물을 콘주게이트시킨 항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 (1) 투여군, 흑색 삼각선은, 참고예 2 에서 제조한 개변 항LPS 항체에 동일하게 실시예 8b 의 화합물을 콘주게이트시킨 항LPS 항체 - CDN 콘주게이트 (1) 투여군을 나타낸다. 세로축은 종양 체적 (mm^3), 가로축은 종양 이식 후의 일수를 나타내고 있다. 비히클군 및 HER2 에 결합하지 않는 항LPS 항체 - CDN 콘주게이트 (1) 투여군에서는 종양의 증식이 진행되었다. 이에 반해, 항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 (1) 투여군에서는 종양의 증식이 현저하게 억제되었다.
- [4423] 이상으로부터, 항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 (1) 의 정맥내 투여에 의한 항체 표적 의존적인 항종양 효과가 확인되었다.
- [4424] (시험예 5) 항종양 시험 (3)
- [4425] CT26.WT-hHER2 세포를 생리 식염수에 현탁하고, 5.0×10^6 세포를 BALB/c 마우스의 우측 액와부에 피하 이식하고 (Day 0), 6 일 후에 무작위로 군 분류를 실시하였다. 각 항체 - CDN 콘주게이트는 $30 \mu\text{g}$ 의 용량으로, Day 6 에 합계 1 회 꼬리 정맥내 투여하였다. 또 비히클군으로서 아세트산염 완충액을 투여하는 군을 설정하였다. 각 군의 마우스 마릿수는 6 마리 또는 8 마리로 하였다.
- [4426] 결과를 도 9 에 나타낸다. 도면 중의 흑색 사각선은 비히클군, 백색 사각선은 항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 (2) 투여군, 백색 삼각선은 항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 (3) 투여군을 나타낸다. 세로축은 종양 체적 (mm^3), 가로축은 종양 이식 후의 일수를 나타내고 있다. 비히클군은 종양의 증식이 진행되었다. 이에 반

해, 항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 (2) 및 (3) 투여군에서는 종양의 증식이 현저하게 억제되었다.

[4427] 이상으로부터, 항HER2 항체 - CDN 콘주게이트의 강한 항종양 효과가 확인되었다.

[4428] (시험예 6) 항종양 시험 (4)

[4429] CT26.WT-hHER2 세포를 생리 식염수에 현탁하고, 5.0×10^6 세포를 BALB/c 마우스의 우측 액와부에 피하 이식하고 (Day 0), 7 일 후에 무작위로 군 분류를 실시하였다. 항체 - CDN 콘주게이트 (19) 는 30 μ g 의 용량으로, Day 7 에 합계 1 회 꼬리 정맥내 투여하였다. 또 비히클군으로서 아세트산염 완충액을 투여하는 군을 설정하였다. 각 군의 마우스 마릿수는 6 마리로 하였다.

[4430] 결과를 도 10 에 나타낸다. 도면 중의 흑색 사각선은 비히클군, 백색 삼각선은 항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 (19) 투여군을 나타낸다. 항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 (19) 는 약물 링커가 시스테인 콘주게이션으로 항체에 결합되어 있다. 세로축은 종양 체적 (mm³), 가로축은 종양 이식 후의 일수를 나타내고 있다. 비히클군은 종양의 증식이 진행되었다. 이에 반해, 항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 (19) 투여군에서는 종양의 증식이 현저하게 억제되었다.

[4431] 이상으로부터, 항체와 약물 링커를 시스테인 콘주게이션 한 항HER2 항체 - CDN 콘주게이트의 강한 항종양 효과가 확인되었다.

[4432] (시험예 7) 항종양 시험 (5)

[4433] CT26.WT-hHER2 세포를 생리 식염수에 현탁하고, 5.0×10^6 세포를 BALB/c 마우스의 우측 액와부에 피하 이식하고 (Day 0), 6 일 후에 무작위로 군 분류를 실시하였다. 각 항체 - CDN 콘주게이트는 30 μ g 의 용량으로, Day 6 에 합계 1 회 꼬리 정맥내 투여하였다. 또 비히클군으로서 아세트산염 완충액을 투여하는 군을 설정하였다. 각 군의 마우스 마릿수는 5 마리로 하였다.

[4434] 결과를 도 11 에 나타낸다. 도면 중의 흑색 사각선은 비히클군, 백색 삼각선은 항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 (9) 투여군, 백색 역삼각선은 항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 (10) 투여군, 백색 마름모꼴선은 항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 (11) 투여군, 백색 동그라미선은 항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 (12) 투여군, 백색 사각선은 항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 (1) 투여군을 나타낸다. 항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 (9), (10), (11), (12) 및 (1) 은 각각 상이한 링커로 실시예 8b 의 화합물이 콘주게이션 되어 있다. 세로축은 종양 체적 (mm³), 가로축은 종양 이식 후의 일수를 나타내고 있다. 비히클군은 종양의 증식이 진행되었다. 이에 반해, 항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 (9), (10), (11) 및 (12) 투여군에서는 항HER2 항체 - CDN 콘주게이트 (1) 투여군과 마찬가지로 종양의 증식이 현저하게 억제되었다.

[4435] 이상으로부터, 항HER2 항체 - CDN 콘주게이트는 링커를 바꾼 경우에 있어서도 항종양 효과를 나타내는 것이 확인되었다.

[4436] (시험예 8) 항종양 시험 (6)

[4437] CT26.WT-hHER2 세포를 생리 식염수에 현탁하고, 5.0×10^6 세포를 BALB/c 마우스의 우측 액와부에 피하 이식하고 (Day 0), 7 일 후에 무작위로 군 분류를 실시하였다. 각 투여 검체는, Day 7 에 합계 1 회 꼬리 정맥내 투여하였다. 또 비히클군으로서 아세트산염 완충액을 투여하는 군을 설정하였다. 각 군의 마우스 마릿수는 5 마리로 하였다.

[4438] 결과를 도 12 에 나타낸다. 도면 중의 흑색 사각선은 비히클군, 백색 삼각선은 항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트 (1) 의 60 μ g 투여군, 흑색 역삼각선은 항HER2 항체 2 의 59 μ g 투여군, 흑색 동그라미선은 화합물 번호 8b 의 1.2 μ g 투여군을 나타낸다. 항HER2 항체 2 및 화합물 번호 8b 의 투여량은, 항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트 (1) 을 구성하는 각 성분의 당량이다. 세로축은 종양 체적 (mm³), 가로축은 종양 이식 후의 일수를 나타내고 있다. 비히클군은 종양의 증식이 진행되었다. 이에 반해, 항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트 (1) 투여군에서는 종양의 증식이 현저하게 억제되었다. 그러나, 항HER2 항체 2 및 화합물 번호 8b 의 당량을 투여했을 때는 종양의 증식을 억제하지 않았다.

[4439] 이상으로부터, 항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트 (1) 은 항종양 효과를 나타내고, 당량의 항HER2 항체 2 및 화합물 번호 8b 는, 꼬리 정맥내 투여에서는 항종양 효과를 나타내지 않는 것이 확인되었다.

[4440] (시험예 9) 항종양 시험 (7)

- [4441] CT26.WT-hHER2 세포를 생리 식염수에 현탁하고, 5.0×10^6 세포를 BALB/c 마우스의 우측 액와부에 피하 이식하고 (Day 0), 7 일 후에 무작위로 군 분류를 실시하였다. 각 항체 - CDN 콘주게이트는 $30 \mu\text{g}$ 의 용량으로, Day 7 에 합계 1 회 꼬리 정맥내 투여하였다. 또 비히클군으로서 아세트산염 완충액을 투여하는 군을 설정하였다. 각 군의 마우스 마릿수는 5 마리 또는 6 마리로 하였다.
- [4442] 결과를 도 13(a) 내지 (c) 에 나타낸다. 도면 중의 흑색 사각선은 비히클군, 각 백색 삼각선은 평가한 각 항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트 (2), (3), (4), (5), (6), (7) 및 (8) 투여군을 나타낸다. 세로축은 종양 체적 (mm^3), 가로축은 종양 이식 후의 일수를 나타내고 있다. 비히클군은 종양의 증식이 진행되었다. 이에 반해, 항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트 (2), (3), (4), (5), (6), (7) 및 (8) 투여군에서는 종양의 증식이 현저하게 억제되었다.
- [4443] 이상으로부터, 항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트의 강한 항종양 효과가 확인되었다.
- [4444] (시험예 10) 항종양 시험 (8)
- [4445] CT26.WT-hHER2 세포를 생리 식염수에 현탁하고, 5.0×10^6 세포를 BALB/c 마우스의 우측 액와부에 피하 이식하고 (Day 0), 7 일 후에 무작위로 군 분류를 실시하였다. 각 항체 - CDN 콘주게이트는 $60 \mu\text{g}$ 의 용량으로, Day 7 에 합계 1 회 꼬리 정맥내 투여하였다. 또 비히클군으로서 아세트산염 완충액을 투여하는 군을 설정하였다. 각 군의 마우스 마릿수는 5 마리로 하였다.
- [4446] 결과를 도 14 에 나타낸다. 도면 중의 흑색 사각선은 비히클군, 백색 삼각선은 항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트 (9) 투여군, 백색 동그라미선은 항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트 (10) 투여군을 나타낸다. 항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트 (9) 및 (10) 은 약물 평균 결합수가 약 2 인 MSG 형 당사슬 리모델링 항체를 사용한 항체 - CDN 콘주게이트이다. 세로축은 종양 체적 (mm^3), 가로축은 종양 이식 후의 일수를 나타내고 있다. 비히클군은 종양의 증식이 진행되었다. 이에 반해, 항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트 (9) 및 (10) 투여군에서는 종양의 증식이 현저하게 억제되었다.
- [4447] 이상으로부터, 약물 평균 결합수가 약 2 인 항HER2 항체 2 - CDN 콘주게이트의 강한 항종양 효과가 확인되었다.
- [4448] (시험예 11) 항종양 시험 (9)
- [4449] American Type Culture Collection 사로부터 구입한 마우스 대장암 세포주 CT26.WT (CRL2638) 에 인간 EphA2 유전자를 도입한 CT26.WT-hEphA2 세포를 만들었다. 상세하게는, 인간 EphA2 의 cDNA 를 포함하는 pDONR221 (Thermo Fisher Scientific) 를 사용하여 cDNA 를 증폭하고, 이것을 Gateway vector conversion system (Thermo Fisher Scientific) 을 사용하여 pLNCX 레트로바이러스 벡터 (다카라 바이오) 에 삽입하였다. 인간 EphA2 삽입 pLNCX 레트로바이러스 벡터를 EcoPack2-293 세포주 (다카라 바이오) 에 Lipofectamine 2000 (Thermo Fisher Scientific) 을 사용하여 도입하고, 상청을 회수하여 CT26.WT 에 감염시켰다. 세포는 $500 \mu\text{g}/\text{ml}$ Geneticin (Thermo Fisher Scientific) 첨가 배지에서 유지하였다.
- [4450] CT26.WT-hEphA2 세포를 인산 완충액에 현탁하고, 1.9×10^6 세포를 BALB/c 마우스의 우측 액와부에 피하 이식하고 (Day 0), 7 일 후에 무작위로 군 분류를 실시하였다. 항EphA2 항체 및 항EphA2 항체 - CDN 콘주게이트 (1) 은 $60 \mu\text{g}$ 의 용량으로, Day 7 에 합계 1 회 꼬리 정맥내 투여하였다. 또 비히클군으로서 아세트산염 완충액을 투여하는 군을 설정하였다. 각 군의 마우스 마릿수는 8 마리로 하였다.
- [4451] 결과를 도 15 에 나타낸다. 도면 중의 흑색 사각선은 비히클군, 백색 동그라미선은 항EphA2 항체 투여군, 백색 삼각선은 항EphA2 항체 - CDN 콘주게이트 (1) 투여군을 나타낸다. 세로축은 종양 체적 (mm^3), 가로축은 종양 이식 후의 일수를 나타내고 있다. 비히클군은 종양의 증식이 진행되었다. 항EphA2 항체 투여군은 종양의 증식을 억제하지 않았다. 이에 반해, 항EphA2 항체 - CDN 콘주게이트 (1) 투여군에서는 종양의 증식이 현저하게 억제되었다.
- [4452] 이상으로부터, 항EphA2 항체가 항종양 효과를 나타내지 않는 모델을 사용하여, 항EphA2 항체 - CDN 콘주게이트의 강한 항종양 효과가 확인되었다.
- [4453] (시험예 12) 항종양 시험 (10)
- [4454] American Type Culture Collection 사로부터 구입한 마우스 림프구형 세포주 P388D1 (CCL-46) 에 인간 CD33 유전자를 도입한 P388D1-hCD33 세포를 만들었다. 상세하게는, 인간 CD33 의 cDNA 를 삽입한 pLVISIN 렌티바이

러스 벡터 (다카라 바이오) 를 만들고, Lenti-X293T 세포주 (다카라 바이오) 에 Lentiviral High Titer Packaging Mix (다카라 바이오) 를 사용하여 도입하고, 상청을 회수하여 P388D1 에 감염시켰다. 세포는 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Puromycin (Thermo Fisher Scientific) 첨가 배지에서 유지하였다.

- [4455] 마우스는 4 주령의 자성 DBA/2 마우스 (DBA/2NCr1) (일본 찰스 · 리버) 를 구입하고, 실험 사용 전에 SPF 조건하에서 5 일간 순화하였다.
- [4456] P388D1-hCD33 세포를 인산 완충액에 현탁하고, 1.0×10^6 세포를 DBA/2 마우스의 우측 액와부에 피하 이식하고 (Day 0), 4 일 후에 무작위로 군 분류를 실시하였다. 항CD33 항체 및 항CD33 항체 - CDN 콘쥬게이트 (1) 은 60 μg 의 용량으로, Day 4 에 함께 1 회 꼬리 정맥내 투여하였다. 또 비히클군으로서 아세트산염 완충액을 투여하는 군을 설정하였다. 각 군의 마우스 마릿수는 10 마리로 하였다.
- [4457] 결과를 도 16 에 나타낸다. 도면 중의 흑색 사각선은 비히클군, 백색 동그라미선은 항CD33 항체 투여군, 백색 삼각선은 항CD33 항체 - CDN 콘쥬게이트 (1) 투여군을 나타낸다. 세로축은 종양 체적 (mm^3), 가로축은 종양 이식 후의 일수를 나타내고 있다. 비히클군은 종양의 증식이 진행되었다. 항CD33 항체 투여군은 종양의 증식을 억제하지 않았다. 이에 반해, 항CD33 항체 - CDN 콘쥬게이트 (1) 투여군에서는 종양의 증식이 현저하게 억제되었다.
- [4458] 이상으로부터, 항CD33 항체가 항종양 효과를 나타내지 않는 모델을 사용하여, 항CD33 항체 - CDN 콘쥬게이트의 강한 항종양 효과가 확인되었다.
- [4459] (시험예 13) 항종양 시험 (11)
- [4460] CT26.WT-hHER2 세포를 생리 식염수에 현탁하고, 5.0×10^6 세포를 BALB/c 마우스의 우측 액와부에 피하 이식하고 (Day 0), 7 일 후에 무작위로 군 분류를 실시하였다. 각 항체 - CDN 콘쥬게이트는 60 μg 의 용량으로, Day 7 에 함께 1 회 꼬리 정맥내 투여하였다. 또 비히클군으로서 아세트산염 완충액을 투여하는 군을 설정하였다. 각 군의 마우스 마릿수는 6 마리로 하였다.
- [4461] 결과를 도 22 에 나타낸다. 도면 중의 흑색 사각선은 비히클군, 백색 삼각선은 항HER2 항체 2 - CDN 콘쥬게이트 (11) 투여군, 백색 동그라미선은 항HER2 항체 2 - CDN 콘쥬게이트 (12) 투여군을 나타낸다. 항HER2 항체 2 - CDN 콘쥬게이트 (11) 및 (12) 에 콘쥬게이션 되어 있는 화합물 번호 52a 및 52b 는 인산기를 갖는 CDN 이다. 세로축은 종양 체적 (mm^3), 가로축은 종양 이식 후의 일수를 나타내고 있다. 비히클군은 종양의 증식이 진행되었다. 이에 반해, 항HER2 항체 2 - CDN 콘쥬게이트 (11) 및 (12) 투여군에서는 종양의 증식이 현저하게 억제되었다.
- [4462] 이상으로부터, 인산기를 갖는 CDN 을 콘쥬게이트 한 항HER2 항체 2 - CDN 콘쥬게이트 (11) 및 (12) 의 강한 항종양 효과가 확인되었다.

산업상 이용가능성

- [4464] 본 발명에 의해 강한 STING 아고니스트 활성을 갖고, 강한 항종양 효과를 나타내는 신규 CDN 유도체가 제공된다. 또, 본 발명에 의해 당해 신규 CDN 유도체를 포함하는 항체 약물 콘쥬게이트가 제공된다. 이들은, STING 아고니스트 활성이 관련하는 질환 (예를 들어, 암) 의 치료제로서 유용하다.

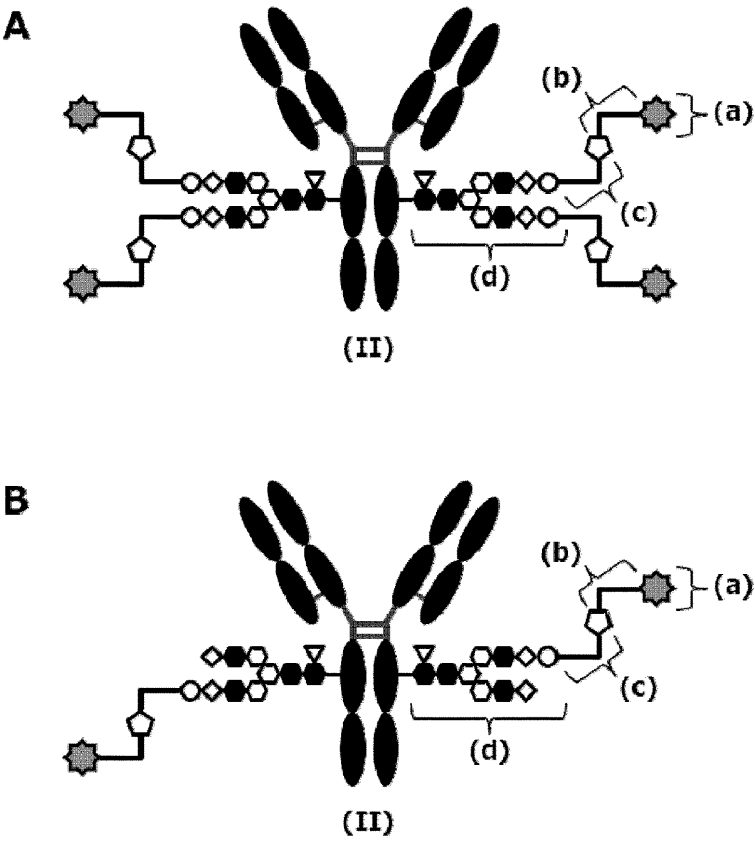
[4465] 서열표 프리텍스트

- [4466] 서열 번호 1 : 트라스투주맙의 경사슬의 아미노산 서열
- [4467] 서열 번호 2 : 트라스투주맙의 중사슬의 아미노산 서열
- [4468] 서열 번호 3 : 개변 항HER2 항체의 중사슬의 아미노산 서열
- [4469] 서열 번호 4 : 인간 H232 (REF) 변이형 STING 의 아미노산 서열
- [4470] 서열 번호 5 : 인간 H232 (REF) 변이형 STING 의 뉴클레오타이드 서열
- [4471] 서열 번호 6 : 인간 야생형 STING 의 아미노산 서열

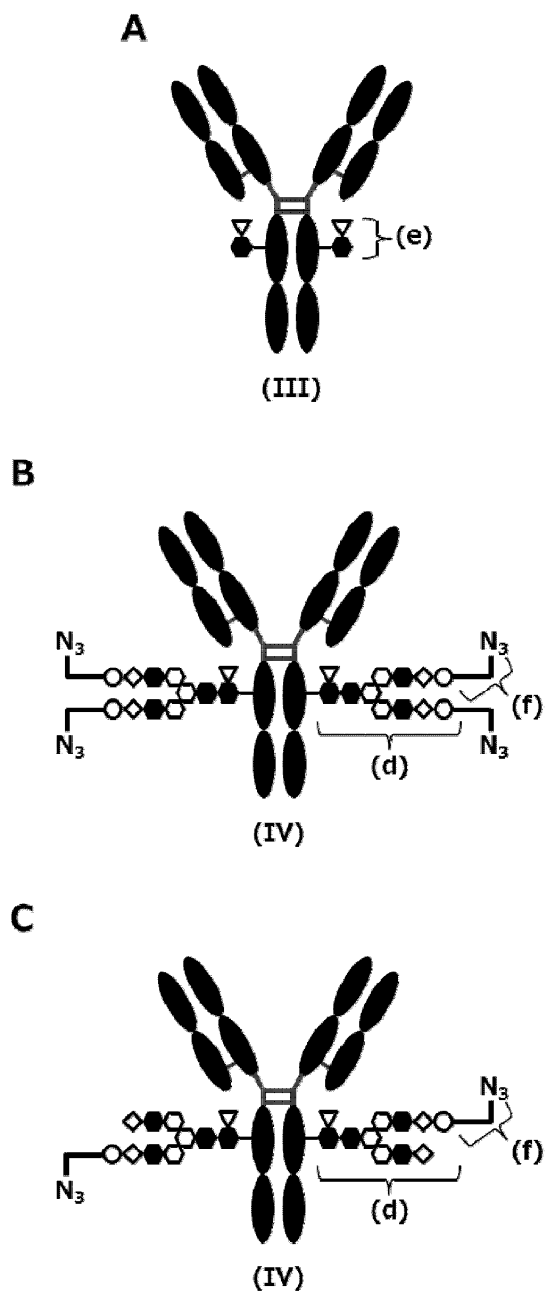
- [4472] 서열 번호 7 : 인간 야생형 STING 의 뉴클레오티드 서열
- [4473] 서열 번호 8 : 인간 HAQ 변이형 STING 의 아미노산 서열
- [4474] 서열 번호 9 : 인간 HAQ 변이형 STING 의 뉴클레오티드 서열
- [4475] 서열 번호 10 : 마우스 STING 의 아미노산 서열
- [4476] 서열 번호 11 : 마우스 STING 의 뉴클레오티드 서열
- [4477] 서열 번호 12 ~ 21 : 프라이머의 서열
- [4478] 서열 번호 22 : HisAviTEV-hSTING (139-342) 인간 야생형 단백질의 아미노산 서열
- [4479] 서열 번호 23 : HisAviTEV-hSTING (139-342) 인간 REF 변이형 단백질의 아미노산 서열
- [4480] 서열 번호 24 : HisAviTEV-hSTING (139-342) 인간 AQ 변이형 단백질의 아미노산 서열
- [4481] 서열 번호 25 : His-Avi-TEV-mSTING (138-341) 마우스 야생형 단백질의 아미노산 서열
- [4482] 서열 번호 26 : 개변 항LPS 항체의 경사슬의 아미노산 서열
- [4483] 서열 번호 27 : 개변 항LPS 항체의 중사슬의 아미노산 서열
- [4484] 서열 번호 28 : 페르투주맵 경사슬의 아미노산 서열
- [4485] 서열 번호 29 : 페르투주맵 중사슬의 아미노산 서열
- [4486] 서열 번호 30 : 개변 항HER2 항체 2 의 중사슬의 아미노산 서열
- [4487] 서열 번호 31 : 항CD33 항체 경사슬의 아미노산 서열
- [4488] 서열 번호 32 : 항CD33 항체 중사슬의 아미노산 서열
- [4489] 서열 번호 33 : 항EphA2 항체 경사슬의 아미노산 서열
- [4490] 서열 번호 34 : 항EphA2 항체 중사슬의 아미노산 서열
- [4491] 서열 번호 35 : 항CDH6 항체 경사슬의 아미노산 서열
- [4492] 서열 번호 36 : 항CDH6 항체 중사슬의 아미노산 서열

도면

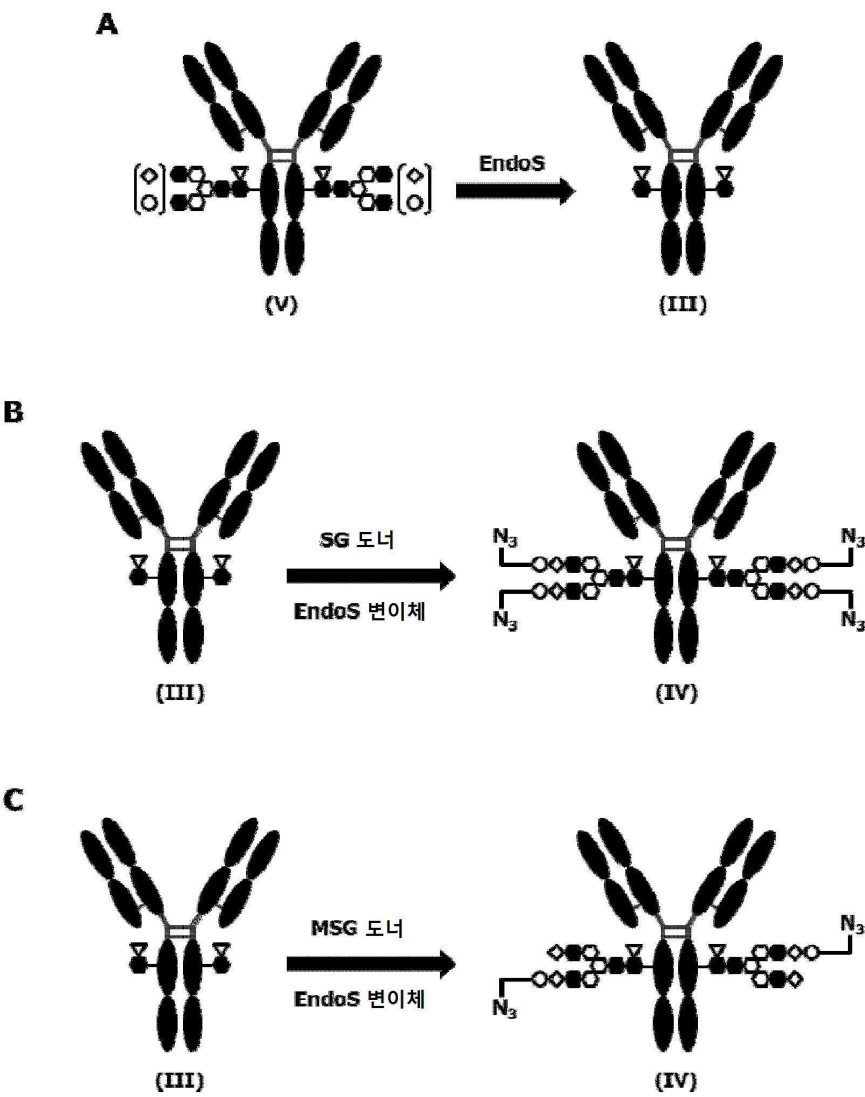
도면1



도면2



도면3



도면4

트라스투주맙 경사슬의 아미노산 서열 (서열 번호 1)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPS
RFGSGRSGTDFTLTIISSLPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

트라스투주맙 중사슬의 아미노산 서열 (서열 번호 2)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRY
ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

도면5

개변 항HER2 항체의 경사슬의 아미노산 서열 (서열 번호 1)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPS
RFGSGRSGTDFTLTIISSLPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

개변 항HER2 항체의 중사슬의 아미노산 서열 (서열 번호 3)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRY
ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAG
GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE
EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(밑줄은, LALA 변이 부분을 나타낸다.)

도면6

(a) 인간 STING 야생형의 아미노산 서열

MPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTWGLGEPPEHTLRYLVHLASLQLGLLL
 NGVCSLAEELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPPLRRGALLLLSIYFYSLPNAVGPFTWM
 LALLGLSQALNILLGLKGLAPAEISAVCEKGNFNVAGLAWSYYIGYLRILPELQARIR
 TYNQHYNNLLRGAVSQRLYILLPLDCGVDPNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDRAGIKDRVY
 SNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTLFAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLEDILA
 DAPESQNNCRILAYQEPADDSSFSLSQEVLRLRQEEKEEVTGSLKTSAVPSTSTMSQE
 PELLISGMEKPLPLRTDFS

(b) 인간 STING REF 변이형 (R232H) 의 아미노산 서열

MPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTWGLGEPPEHTLRYLVHLASLQLGLLL
 NGVCSLAEELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPPLRRGALLLLSIYFYSLPNAVGPFTWM
 LALLGLSQALNILLGLKGLAPAEISAVCEKGNFNVAGLAWSYYIGYLRILPELQARIR
 TYNQHYNNLLRGAVSQRLYILLPLDCGVDPNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKDRVY
 SNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTLFAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLEDILA
 DAPESQNNCRILAYQEPADDSSFSLSQEVLRLRQEEKEEVTGSLKTSAVPSTSTMSQE
 PELLISGMEKPLPLRTDFS

(밑줄은, R232H 변이의 장소를 나타낸다)

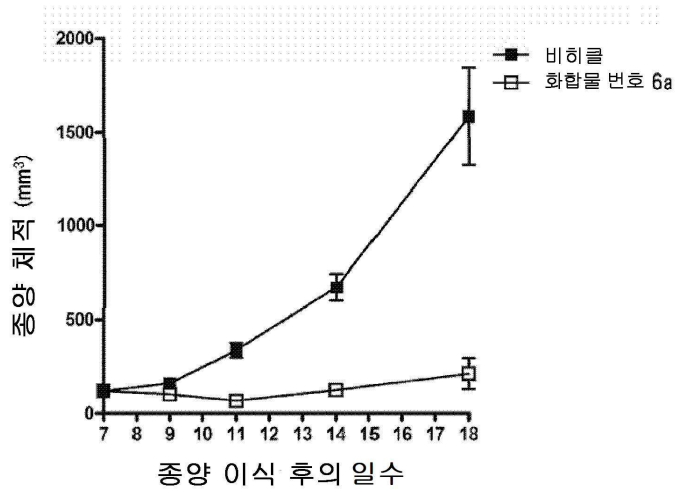
(c) 인간 STING HAQ 변이체 (R71H, G230A, R293Q) 의 아미노산 서열

MPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTWGLGEPPEHTLRYLVHLASLQLGLLL
 NGVCSLAEELHHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPPLRRGALLLLSIYFYSLPNAVGPFTWM
 LALLGLSQALNILLGLKGLAPAEISAVCEKGNFNVAGLAWSYYIGYLRILPELQARIR
 TYNQHYNNLLRGAVSQRLYILLPLDCGVDPNLSMADPNIRFLDKLPQQTAD²³⁰RAGIKDRVY
 SNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTLFAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCQTLEDILA
 DAPESQNNCRILAYQEPADDSSFSLSQEVLRLRQEEKEEVTGSLKTSAVPSTSTMSQE
 PELLISGMEKPLPLRTDFS

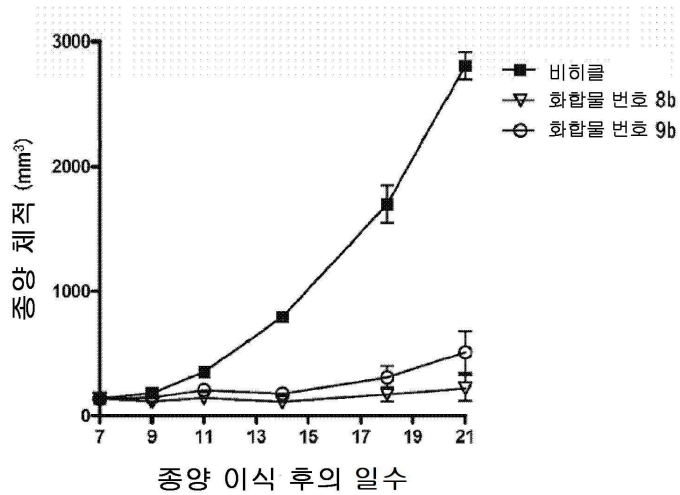
(3 개의 밑줄은, 각각, R71H 변이, G230A 변이 및 R293Q 변이의 장소를 나타낸다.)

도면7

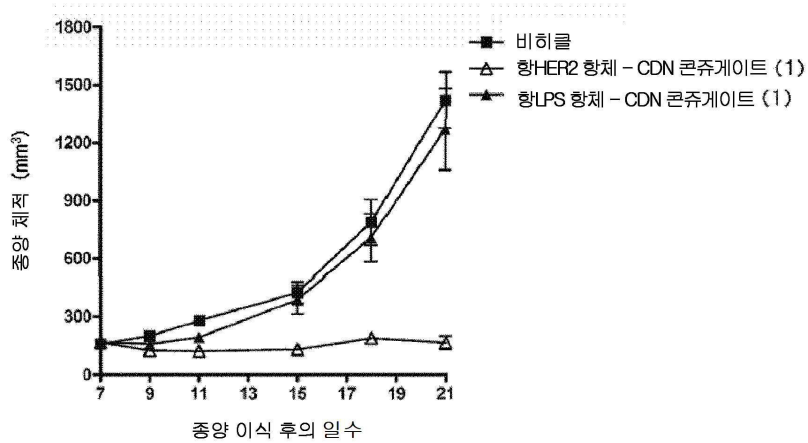
(a)



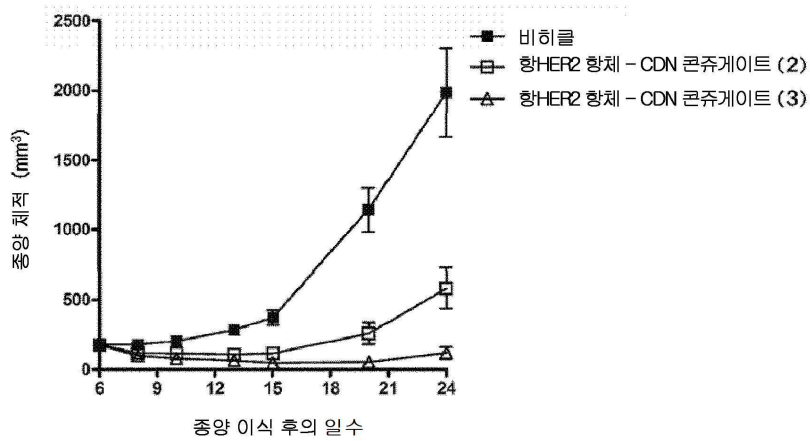
(b)



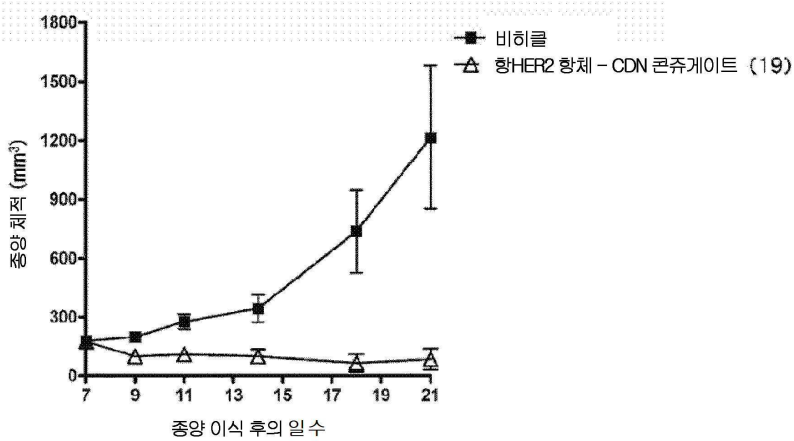
도면8



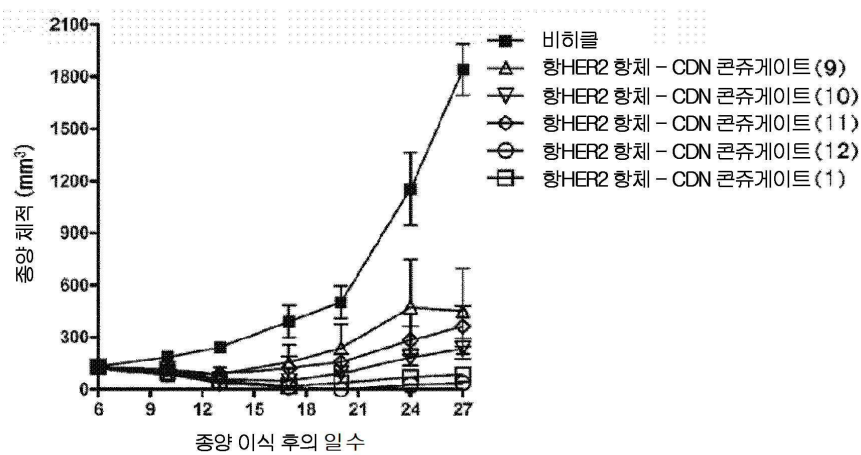
도면9



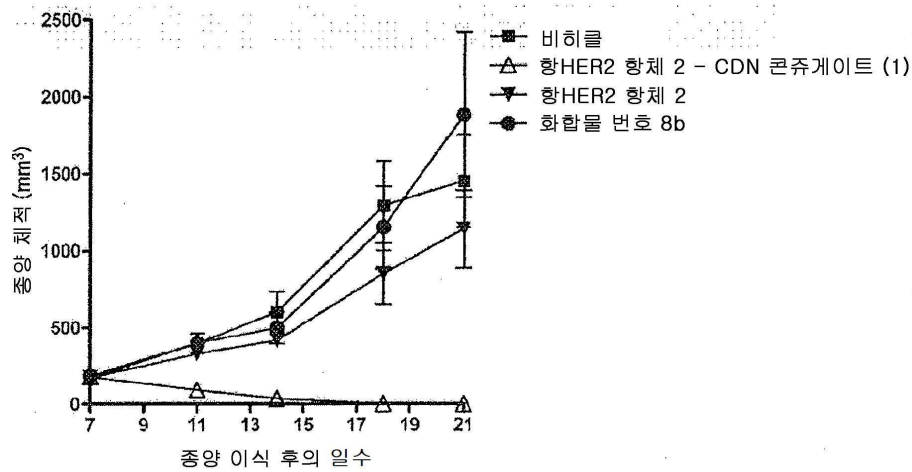
도면10



도면11

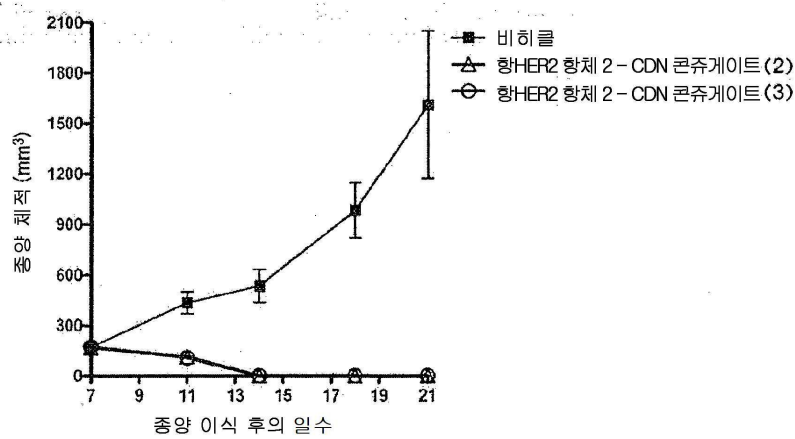


도면12



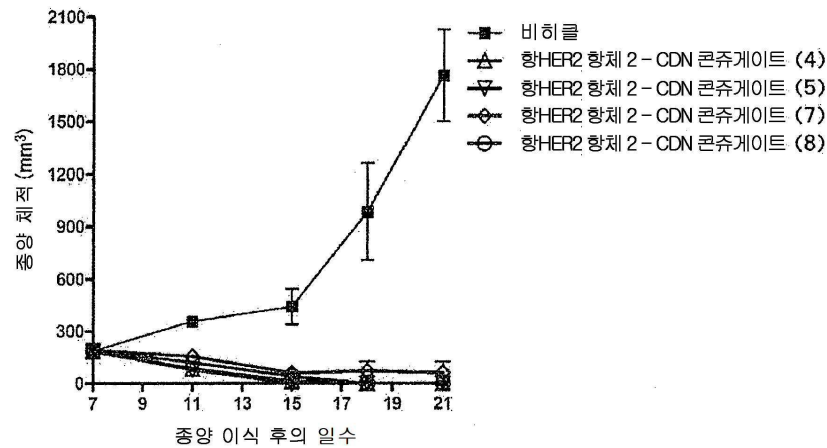
도면13a

(a)



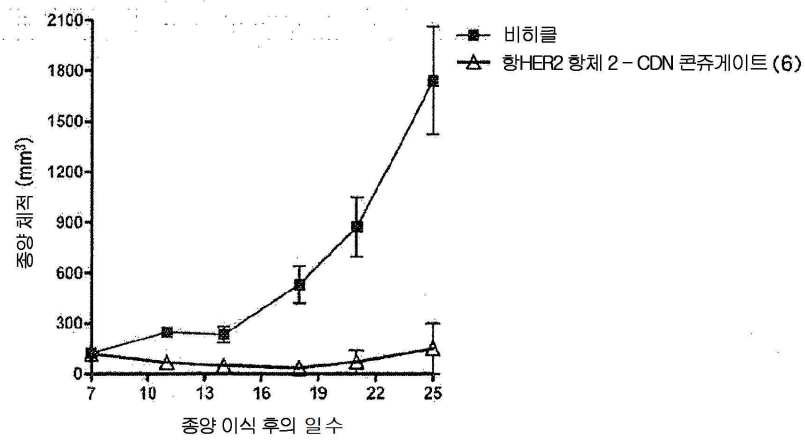
도면13b

(b)

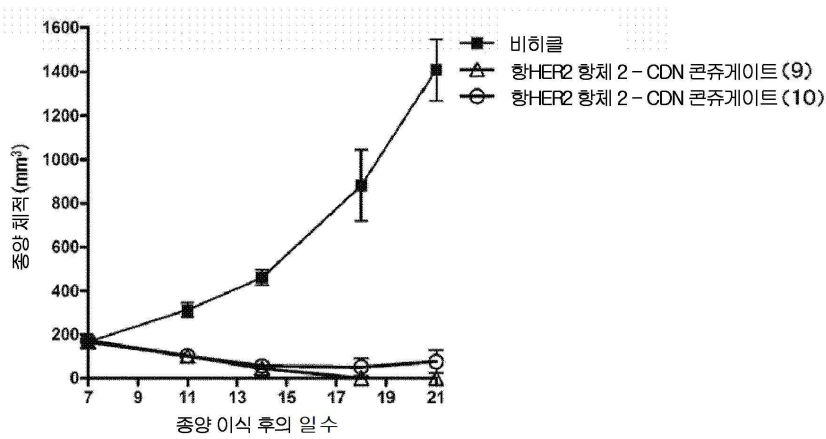


도면13c

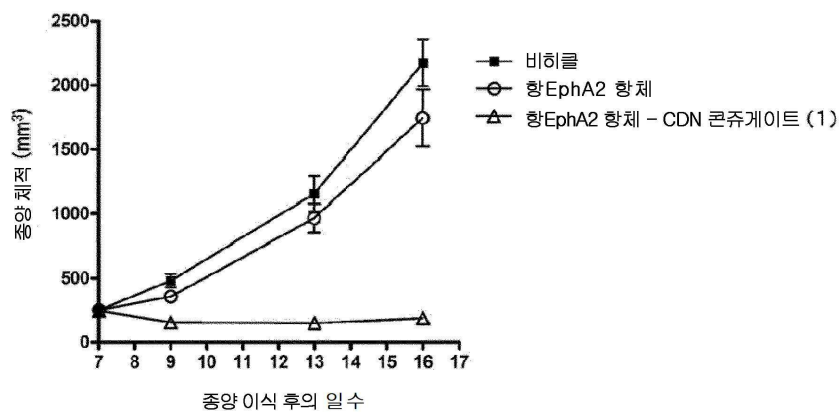
(c.)



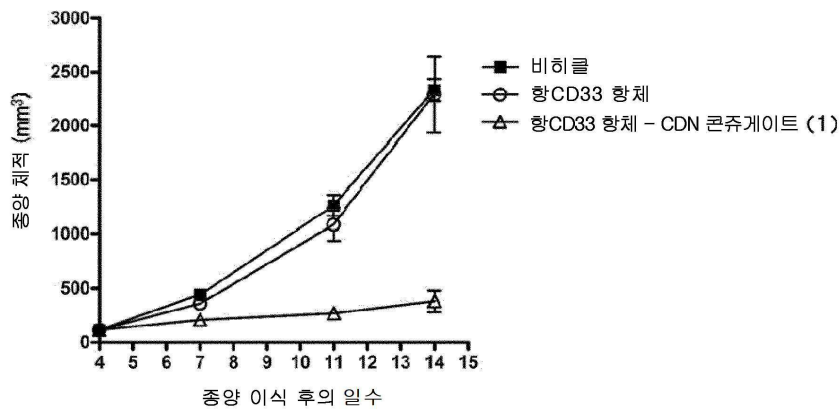
도면14



도면15



도면16



도면17

페르투주맙의 경사슬의 아미노산 서열 (서열 번호 28)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPS
 RFGSGSGSGDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP
 SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLT
 LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

페르투주맙의 중사슬의 아미노산 서열 (서열 번호 29)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMWDWRQAPGKLEWVADVNPNSGGSIY
 NQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGGTLVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
 LYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP
 SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQNS
 TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM
 TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
 QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

도면18

개변 항HER2 항체 2 의 경사슬의 아미노산 서열 (서열 번호 28)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVP
 RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP
 SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLT
 LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

개변 항HER2 항체 2 의 중사슬의 아미노산 서열 (서열 번호 30)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTEMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIY
 NQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGGGTLTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
 LYSLSVVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGG
 PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
 STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE
 MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
 QQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

(밑줄은, K214R 변이 및 LALA 변이 부분을 나타낸다.)

도면19

항CD33 항체의 경사슬의 아미노산 서열 (서열 번호 31)

DIQLTQSPSTLSASVGDRVTITCRASELDNYGIRFLTWQQKPGKAPKLLMYAASNQGS
 GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDFATYYCQQTKEVPWSFGGGTKVEVKRTVAAPSVF
 IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLS
 STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

항CD33 항체의 중사슬의 아미노산 서열 (서열 번호 32)

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGYTITDSNIHWVRQAPGQSLEWIGYIYPYNGGTDY
 NQKFKNRATLTVDNPTNTAYMELSSLRSEDTAFYYCVNGNPWLAYWGGGTLTVSSASTK
 GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
 LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVF
 LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
 VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN
 QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
 VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

도면20

항EphA2 항체의 경사슬의 아미노산 서열 (서열 번호 33)

DIVMTQSPLSLPVTGPGEASISCRSSQSIHSSGITYLEWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRF
SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHVPTFTGGGTKVEIKRTVAAPSV
FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL
SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

항EphA2 항체의 중사슬의 아미노산 서열 (서열 번호 34)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFIDYSMHWRQAPGGGLEWMGWINTYTGEPTY
SDDFKGRVTITADTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCATYYRYERDFDYWGQGLTVTVSSA
STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP
SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

도면21

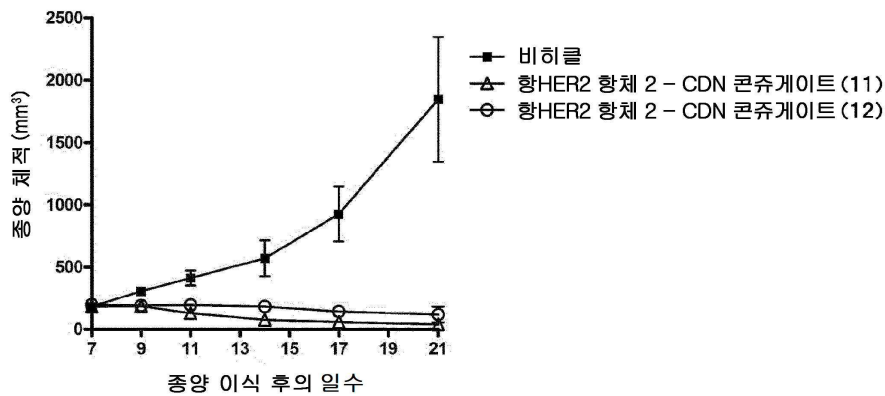
항CDH6 항체의 경사슬의 아미노산 서열 (서열 번호 35)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNIYKNLAWYQQKPGKAPKLLIYDANTLQTGVPS
RFSGSGSGSGDFTLTISSLQPEDFATYFCQQYYSGWAFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

항CDH6 항체의 중사슬의 아미노산 서열 (서열 번호 36)

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRNFMHWVRQAPGGGLEWMGWIYPGDGETEY
AQKFQGRVTITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGVYGGFAGGYFDWGQGLTVTV
SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR
EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

도면22



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> DAIICHI SANKYO COMPANY, LIMITED

<120> Novel Cyclic Dinucleotide Derivatives and Antibody-Drug Conjugate thereof

<130> SAP-855-PCT

<141> 2019-09-06

<150> JP 2018167369

<151> 2018-09-06

<160> 36

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Trastuzumab Light Chain

<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> Artificial Sequence

<220><223> Trastuzumab Heavy Chain

<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
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
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
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> Artificial Sequence

<220><223> Modified HER2 antibody Heavy Chain

<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> 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> Homo sapiens
<400> 5

atgccccact ccagcctgca tccatccatc ccgtgtccca ggggtcacgg gccccagaag 60
gcagccttgg ttctgtgag tgctgctg gtgaccttt gggggctagg agagccacca 120

gagcacactc tccggtacct ggtgtccac ctgacctccc tgcagctggg actgctgtta 180
aacggggtct gcagcctggc tgaggagctg cgccacatcc actccagta ccggggcagc 240

tactggagga ctgtgcgggc ctgctgggc tgccccctcc gccgtggggc cctgttgctg 300
ctgtccatct atttctacta ctccctccca aatgcggtcg gcccgccctt cacttgatg 360

cttgcctcc tgggctctc gcaggcactg aacatcctcc tgggctcaa gggcctggcc 420
ccagctgaga tcctgcagt gtgtgaaaaa gggaatttca acgtggccca tgggctggca 480

tggatcatatt acatcggata tctgcggctg atcctgccag agctccaggc ccggattcga 540

acttacaatc agcattacaa caacctgcta cggggtgcag tgagccagcg gctgtatatt 600
ctcctcccat tggactgtgg ggtgctgat aacctgagta tggctgacct caacattcgc 660

ttcctggata aactgcccc gcagaccggt gaccatgctg gcatcaagga tcgggtttac 720
 agcaacagca tctatgagct tctggagaac gggcagcggg cgggcacctg tgcctggag 780
 tacgccacc ccttgacagc tttgtttgcc atgtcacaat acagtcaagc tggttttagc 840
 cgggaggata ggcttgagca ggccaaactc tttgcccga cacttgagga catcctggca 900
 gatgcccctg agtctcagaa caactgccgc ctcattgcct accaggaacc tgcagatgac 960

agcagcttct cgtgtccca ggagttctc cggcacctgc ggcaggagga aaaggaagag 1020
 gttactgtgg gcagcttgaa gacctcagcg gtgccagta cctccacgat gtcccaagag 1080
 cctgagctcc tcatcagtg aatggaaaag cccctccctc tccgcacgga tttctcttag 1140

<210> 6

<211> 379

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<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 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> Homo sapiens

<400> 7

atgccccact ccagcctgca tccatccatc ccgtgtccca ggggtcacgg ggcccagaag	60
gcagccttgg ttctgctgag tgccctgctg gtgacccttt gggggctagg agagccacca	120
gagcacactc tccggtacct ggtgtctccac ctagecctccc tgcagctggg actgctgtta	180
aacgggggtct gcagcctggc tgaggagctg cgccacatcc actccaggta ccggggcagc	240
tactggagga ctgtgcgggc ctgcttgggc tgccccctcc gccgtggggc cctgttctg	300
ctgtccatct atttctacta ctccctccca aatgcggctg gccgcctt cacttggatg	360
cttgcctcc tgggcctctc gcaggcactg aacatcctcc tgggcctcaa gggcctggcc	420
ccagctgaga tctctgcagt gtgtgaaaaa gggaatttca acgtggccca tgggctggca	480
tggatcatatt acatcgata tctgcggctg atcctgccag agctccaggc ccggattcga	540
acttacaatc agcattacaa caacctgcta cggggtgcag tgagccagcg gctgtatatt	600
ctctcccat tggactgtgg ggtgcctgat aacctgagta tggtgaccc caacattcgc	660
ttcctggata aactgcccc gcagaccggt gaccgtgctg gcatcaagga tcgggtttac	720
agcaacagca tctatgagct tctggagaac gggcagcggg cgggcacctg tgtcctggag	780
tacgccacc ccttgcagac tttgtttgcc atgtcacaat acagtcaagc tggctttagc	840
cgggaggata ggcttgagca ggccaaactc ttctgccgga cacttgagga catcctggca	900
gatgccctg agtctcagaa caactgccgc ctattgcct accaggaacc tgcagatgac	960
agcagcttct cgctgtccca ggaggttctc cggcacctgc ggcaggagga aaaggaagag	1020
gttactgtgg gcagcttgaa gacctcagcg gtgccagta cctccacgat gtcccaagag	1080
cctgagctcc tcatcagtg aatgaaaaag cccctccctc tccgcacgga tttctcttag	1140

<210> 8

<211> 379

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<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>	Homo sapiens		
<400>	9		
atgccccact ccagcctgca tccatccatc ccgtgtccca ggggtcacgg ggcccagaag	60		
gcagccttgg ttctgtctgag tgcctgcctg gtgaccttt gggggctagg agagccacca	120		
gagcacactc tccggtacct ggtgtccac ctgacctcc tgcagctggg actgtgtta	180		
aacggggtct gcagcctggc tgaggagctg caccacatcc actccagta ccggggcagc	240		
tactggagga ctgtgcgggc ctgcctgggc tgccccctcc gccgtggggc cctgttgctg	300		
ctgtccatct atttctacta ctccctccca aatgcggtcg gcccgccctt cacttgatg	360		
cttgcctcc tgggcctctc gcaggcactg aacatctcc tgggcctcaa gggcctggcc	420		
ccagctgaga tctctgcagt gtgtgaaaaa gggaatttca acgtggccca tgggctggca	480		
tggatcatatt acatcgata tctgcggtg atcctgccag agctccagc ccggttcga	540		
acttacaatc agcattacaa caacctgcta cggggtgcag tgagccagc gctgtatatt	600		
ctctcccat tggactgtgg ggtgcctgat aacctgagta tggctgacct caacattcgc	660		
ttcttgata aactgcccc gcagaccgt gacctgctg gcatcaagga tcgggtttac	720		
agcaacagca tctatgagct tctggagaac gggcagcggg cgggcacctg tgtcctggag	780		

tacgccaccc ccttcagac tttgtttgcc atgtcacaat acagtcaagc tggcttttagc 840
 cgggaggata ggcttgagca ggccaaactc ttctgccaga cacttgagga catcctggca 900
 gatgcccctg agtctcagaa caactgccgc ctcatgtcct accaggaacc tgcagatgac 960
 agcagcttct cgctgtccca ggaggttctc cggcacctgc ggcaggagga aaaggaagag 1020
 gttactgtgg gcagcttgaa gacctcagcg gtgccagta cctccacgat gtccaagag 1080

cctgagctcc tcattcagtg aatggaaaag cccctccctc tccgcacgga tttctcttag 1140

<210> 10

<211> 378

<212> PRT

<213> Mus musculus

<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> Mus musculus

<400> 11

atgccatact ccaacctgca tccagccatc ccacggccca gaggtcacgc ctccaaatat	60
gtagccctca tctttctggt ggccagcctg atgatccttt ggggtggcaaa ggatccacca	120
aatcacactc tgaagtacct agcacttcac ctagcctcgc acgaacttgg actactgttg	180
aaaaacctct gctgtctggc tgaagagctg tgccatgtcc agtccaggta ccagggcagc	240
tactggaagg ctgtgcgcgc ctgcctggga tgcccatcc actgtatggc tatgattcta	300
ctatcgtctt atttctattt cctccaaaac actgctgaca tatacctcag ttggatgttt	360
ggccttctgg tctctataa gtcctaagc atgctcctgg gccttcagag ctgactcca	420
gcggaagtct ctgcagctcg tgaagaaaag aagttaaagt ttgccacagg gctggcctgg	480
tcatactaca ttgggtactt gcggttgatc ttaccagggc tccaggcccg gatccgaatg	540
ttcaatcagc tacatacaa catgctcagt ggtgcaggga gccgaagact gtacatctc	600
tttccattgg actgtgggtt gcctgacaac ctgagtgtag ttgacccaa cattcgattc	660
cgagatatgc tgccccagca aaacatcgac cgtgctggca tcaagaatcg ggtttattcc	720
aacacgctct acgagattct ggagaacgga cagccagcag gcgtctgtat cctggagtac	780
gccacccctt tgcagacctt gtttgccatg tcacaggatg ccaaagctgg cttcagtcgg	840
gaggatcggc ttgagcagc taaactcttc tgccggacac ttgaggaaat cctggaagat	900
gtccccgagt ctcgaaataa ctgccgcctc attgtctacc aagaaccac agacggaaac	960
agttttctac tgtctcagga ggtgtctcgg cacattcgtc aggaagaaaa ggaggaggtt	1020
accatgaatg ccccatgac ctcatgtgca cctctcct ccttactgtc ccaagagcca	1080
agactctca tcagtggat ggatcagcct ctccactcc gactgacct catctga	1137

<210> 12

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 12

cgtgctggca tcaaggatcg gggtttac	27

<210> 13

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 13	
gtcacccggtc tgctggggca gtttatac	27
<210> 14	
<211> 33	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> primer	
<400> 14	
gctgaccgtg ctggcatcaa ggatcgggtt tac	33
<210> 15	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> primer	
<400> 15	
ggtctgctgg ggcagtttat ccagg	25
<210> 16	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> primer	
<400> 16	
caccacatcc actccaggta ccgg	24
<210> 17	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> primer	
<400> 17	
cagtcctca gccaggctgc agac	24
<210> 18	
<211> 25	
<212> DNA	

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 18

cagacacttg aggacatcct ggcag 25

<210> 19

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 19

gcagaagagt ttggcctgct caa 23

<210> 20

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 20

acctgtatatt tcagggcctg gccccagctg agatctctg 39

<210> 21

<211> 44

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 21

cagaattcgc aagcttttaa gtaacctctt ccttttcctc ctgc 44

<210> 22

<211> 243

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HisAviTEV-hSTING (139-342) human WT

<400> 22

Met Gly Ser Ser 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> Artificial Sequence

<220><223> HisAviTEV-hSTING (139-342) human REF mutant

<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 Ser Ser Phe

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> Artificial Sequence

<220><223> HisAviTEV-hSTING (139-342) mouse 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> Artificial Sequence

<220><223> Modified LPS Antibody Light Chain

<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> Artificial Sequence

<220><223> Modified LPS Antibody Heavy Chain

<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> Artificial Sequence
 <220><223> Pertuzumab Light Chain
 <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> Artificial Sequence

<220><223> Pertuzumab Heavy Chain

<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> Artificial Sequence

<220><223> Modified HER2 Antibody2 Heavy Chain

<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> Artificial Sequence

<220><223> Anti-CD33 Antibody Light Chain

<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> Artificial Sequence

<220><223> Anti-CD33 Antibody Heavy Chain

<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> Artificial Sequence

<220><223> Anti-EphA2 Antibody Light Chain

<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> Artificial Sequence
 <220><223> Anti-EphA2 Antibody Heavy Chain
 <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> Artificial Sequence

<220><223> Anti-CDH6 Antibody Light Chain

<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> Artificial Sequence

<220><223> Anti-CDH6 Antibody Heavy Chain

<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