(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2020년09월16일
(11) 등록번호 10-2156819
(24) 등록일자 2020년09월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 487/04 (2006.01) *A61K 31/4745* (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01) *A61P 31/14* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2014-7032192
(22) 출원일자(국제) 2013년04월17일
심사청구일자 2018년04월03일
(85) 번역문제출일자 2014년11월17일
(65) 공개번호 10-2015-0002844
(43) 공개일자 2015년01월07일
(86) 국제출원번호 PCT/US2013/036945
(87) 국제공개번호 WO 2013/158746
국제공개일자 2013년10월24일
(30) 우선권주장
61/625,994 2012년04월18일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
WO2006002231 A1*
(뒷면에 계속)

(73) 특허권자
바이오크리스트파마슈티컬즈,인코포레이티드
미국 27703 노스캐롤라이나주 더럼 에스티. 200 엠퍼러 블러바드 4505
(72) 발명자
코티안, 프라빈, 엘.
미국 35226 앨라배마 버밍햄 앳킨스 트림 블러바드 1313
바부, 야라가다, 에스.
미국 35244 앨라배마 버밍햄 사우스레이크 파크웨이 4836
(74) 대리인
특허법인 남앤남

전체 청구항 수 : 총 22 항 심사관 : 강태현

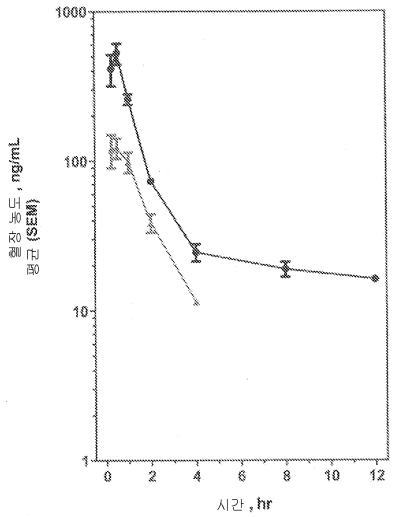
(54) 발명의 명칭 **바이러스 폴리머라아제를 억제하기 위한 조성물 및 방법**

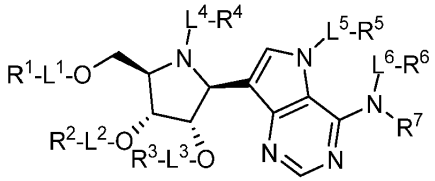
(57) 요 약

본 발명은 본원에 기술된 바와 같은 하기 화학식 (I)의 화합물이 제공된다:

(뒷면에 계속)

대 표 도 - 도1





(I)

화학식 (I)의 화합물은 바이러스 RNA 폴리머라제 활성 및 바이러스 복제를 억제하는 방법에 유용하다. 또한, 화학식 (I)의 화합물을 포함하는 약제 조성물 및 화학식 (I)의 화합물을 사용하여 바이러스 감염을 치료하는 방법이 제공된다.

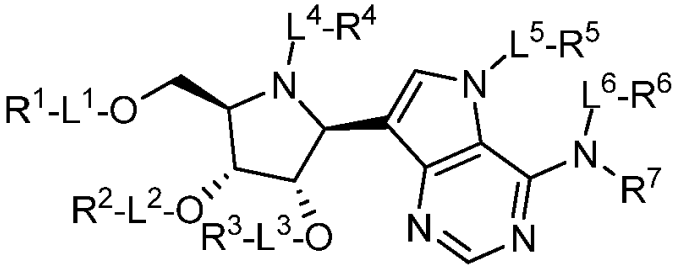
(56) 선행기술조사문헌
JP2009513564 A
KR101850925 B1
KR1020060096415 A
WO2007112348 A2
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

명 세 서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 (I)로 나타낸 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염:



(I)

상기 식에서,

L^1, L^2, 및 L^3은 각각 결합이며;

L^4, L^5 및 L^6은 각각 결합이고;

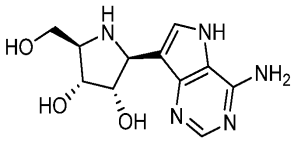
R^0은 독립적으로 각각의 경우에 있어서, H 또는 (C_1-C_6)알킬이며;

R^1, R^2, 및 R^3은 각각 독립적으로, H 및 아미노아실로 구성된 군으로부터 선택되고;

각각의 경우에서 독립적으로, 아미노아실이 $-C(=O)CH(NH_2)(CH_2)_nCHR^{30}R^{31}$이며, 여기서, n은 0 또는 1이고; R^{30} 및 R^{31}은 각각 독립적으로, H, (C_1-C_6)알킬, 아릴, 헤테로아릴, 아르알킬, 및 헤테로아르알킬로 구성된 군으로부터 선택되며;

R^4, R^5, 및 R^6은 각각 H이며;

R^7은 H이고;

단, 화학식 (I)로 나타낸 화합물은  이 아니다.

청구항 2

제 1항에 있어서, L^1-R^1과 L^2-R^2이 동일하거나, L^2-R^2와 L^3-R^3이 동일하거나, L^1-R^1과 L^3-R^3이 동일한, 화합물.

청구항 3

제 2항에 있어서, L^3-R^3이 H인, 화합물.

청구항 4

제 2항에 있어서, L^1-R^1이 H인, 화합물.

청구항 5

제 2항에 있어서, L^2-R^2이 H인, 화합물.

청구항 6

제 1항에 있어서, L^1-R^1, L^2-R^2, 및 L^3-R^3이 동일한, 화합물.

청구항 7

삭제

청구항 8

제 1항에 있어서, R^{30} 및 R^{31}이 각각 독립적으로, H 및 (C_1-C_6)알킬로 구성된 군으로부터 선택되는, 화합물.

청구항 9

제 1항에 있어서, n이 0이고; R^{30} 및 R^{31}이 각각 독립적으로, 메틸인, 화합물.

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

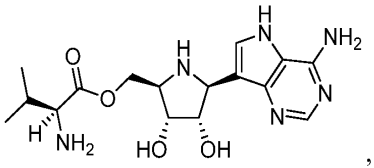
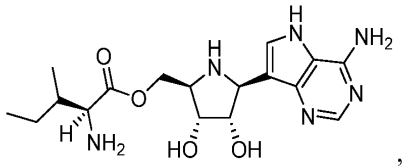
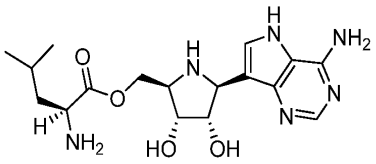
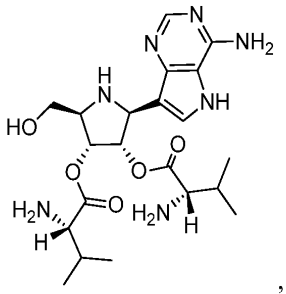
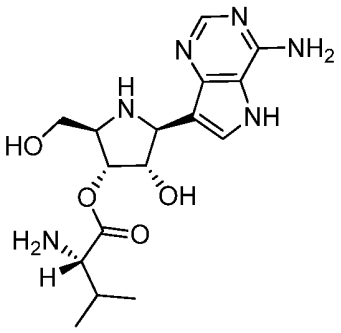
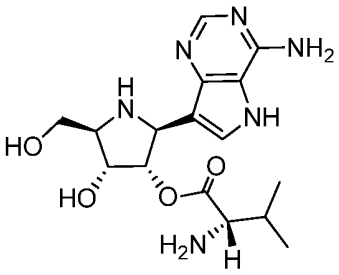
삭제

청구항 21

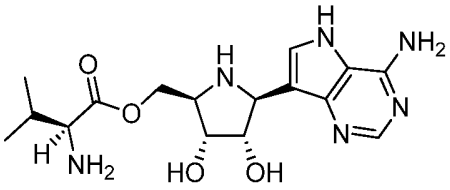
삭제

청구항 22

제 1항에 있어서, 하기 화합물 및 이의 약제학적으로 허용되는 염으로 구성된 군으로부터 선택되는 화합물:


,

,

,

,

, 및

.

청구항 23

제 1항에 있어서,  또는 이의 약제학적으로 허용되는 염으로 나타내는, 화합물.

청구항 24

삭제

청구항 25

제 1항 내지 제 6항, 제 22항 및 제 23항 중의 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는, 바이러스 복제를 억제하기 위한 약제 조성물.

청구항 26

제 1항 내지 제 6항, 제 22항 및 제 23항 중의 어느 한 항에 따른 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는, 대상체에서 바이러스 감염을 치료하기 위한 약제 조성물.

청구항 27

제 25항에 있어서, 바이러스가 RNA 바이러스로 구성된 군으로부터 선택되는, 약제 조성물.

청구항 28

제 27항에 있어서, 바이러스가 오르쏘믹소바이러스과, 파라믹소바이러스과, 아레나바이러스과, 분야바이러스과, 플라비바이러스과, 필로바이러스과, 토가바이러스과, 피코르나바이러스과 및 코로나바이러스과로 구성된 군으로부터 선택되는, 약제 조성물.

청구항 29

제 25항에 있어서, 바이러스가 아데노바이러스 (adenovirus), 리노바이러스 (rhinovirus), A형 간염 바이러스 (hepatitis A virus), C형 간염 바이러스 (hepatitis C virus), 폴리오 바이러스 (polio virus), 홍역 바이러스 (measles virus), 에볼라 바이러스 (Ebola virus), 콕사키 바이러스 (Coxsackie virus), 서부 나일강 바이러스 (West Nile virus), 두창바이러스 (smallpox virus), 황열 바이러스 (yellow fever virus), 뎅기열 바이러스 (Dengue Fever virus), 인플루엔자 A 바이러스 (influenza A virus), 인플루엔자 B 바이러스 (influenza B virus), 라사 바이러스 (lassa virus), 림프구성 맥락수막염 바이러스 (lymphocytic choriomeningitis virus), 쥬닌 바이러스 (Junin virus), 마추포 바이러스 (machuppo virus), 구아나리토 바이러스 (guanarito virus), 한타바이러스 (hantavirus), 리프트 계곡열 바이러스 (Rift Valley Fever virus), 라 크로세 바이러스 (La Crosse virus), 캘리포니아 뇌염 바이러스 (California encephalitis virus), 크리미아-콩고 바이러스 (Crimean-Congo virus), 마르부르크 바이러스 (Marburg virus), 일본 뇌염 바이러스 (Japanese encephalitis virus), 키아사누르 삼림 바이러스 (Kyasanur Forest virus), 베네주엘라 말 뇌염 바이러스 (Venezuelan equine encephalitis virus), 동부형 말 뇌염 바이러스 (Eastern equine encephalitis virus), 서부형 말 뇌염 바이러스 (Western equine encephalitis virus), 중증 급성 호흡 증후군 (SARS) 바이러스 (severe acute respiratory syndrome virus), 파라인플루엔자 바이러스 (parainfluenza virus), 호흡기 세포융합 바이러스 (respiratory syncytial virus), 푼타 토로 바이러스 (Punta Toro virus), 타카라이브 바이러스(Tacaribe virus), 및 피키니드 바이러스 (Pichinde virus)로 구성된 군으로부터 선택되는, 약제 조성물.

청구항 30

제 29항에 있어서, 바이러스가 아데노바이러스, 뎅기열 바이러스, 마르부르크 바이러스, 인플루엔자 A 바이러스, 인플루엔자 B 바이러스, 쥬닌 바이러스, 홍역 바이러스, 파라인플루엔자 바이러스, 피키니드 바이러스, 푼타 토로 바이러스, 호흡기 세포융합 바이러스, 리노바이러스, 리프트 계곡열 바이러스, SARS 바이러스, 타카라이브 바이러스, 베네주엘라 말 뇌염 바이러스, 서부 나일강 바이러스 및 황열 바이러스로 구성된 군으로부터 선택되는, 약제 조성물.

청구항 31

제 29항에 있어서, 바이러스가 에볼라 바이러스, 황열 바이러스, 마르부르크 바이러스, 인플루엔자 A 바이러스 및 인플루엔자 B 바이러스로 구성된 군으로부터 선택되는, 약제 조성물.

청구항 32

제 26항에 있어서, 바이러스가 RNA 바이러스로 구성된 군으로부터 선택되는, 약제 조성물.

청구항 33

제 32항에 있어서, 바이러스가 오르쏘믹소바이러스과, 파라믹소바이러스과, 아레나바이러스과, 분야바이러스과, 플라비바이러스과, 필로바이러스과, 토가바이러스과, 피코르나바이러스과 및 코로나바이러스과로 구성된 군으로부터 선택되는, 약제 조성물.

청구항 34

제 26항에 있어서, 바이러스가 아데노바이러스 (adenovirus), 리노바이러스 (rhinovirus), A형 간염 바이러스 (hepatitis A virus), C형 간염 바이러스 (hepatitis C virus), 폴리오 바이러스 (polio virus), 홍역 바이러스 (measles virus), 에볼라 바이러스 (Ebola virus), 콕사키 바이러스 (Coxsackie virus), 서부 나일강 바이러스 (West Nile virus), 두창바이러스 (smallpox virus), 황열 바이러스 (yellow fever virus), 뎅기열 바이러스 (Dengue Fever virus), 인플루엔자 A 바이러스 (influenza A virus), 인플루엔자 B 바이러스 (influenza B virus), 라사 바이러스 (lassa virus), 림프구성 맥락수막염 바이러스 (lymphocytic choriomeningitis virus), 쥬닌 바이러스 (Junin virus), 마추포 바이러스 (machuppo virus), 구아나리토 바이러스 (guanarito virus), 한타바이러스 (hantavirus), 리프트 계곡열 바이러스 (Rift Valley Fever virus), 라 크로세 바이러스 (La Crosse virus), 캘리포니아 뇌염 바이러스 (California encephalitis virus), 크리미아-콩고 바이러스 (Crimean-Congo virus), 마르부르크 바이러스 (Marburg virus), 일본 뇌염 바이러스 (Japanese encephalitis virus), 키아사누르 삼림 바이러스 (Kyasanur Forest virus), 베네주엘라 말 뇌염 바이러스 (Venezuelan equine encephalitis virus), 동부형 말 뇌염 바이러스 (Eastern equine encephalitis virus), 서부형 말 뇌염 바이러스 (Western equine encephalitis virus), 중증 급성 호흡 증후군 (SARS) 바이러스 (severe acute respiratory syndrome virus), 파라인플루엔자 바이러스 (parainfluenza virus), 호흡기 세포융합 바이러스 (respiratory syncytial virus), 푼타 토로 바이러스 (Punta Toro virus), 타카라이브 바이러스(Tacaribe virus), 및 피키니드 바이러스 (Pichinde virus)로 구성된 군으로부터 선택되는, 약제 조성물.

청구항 35

제 34항에 있어서, 바이러스가 아데노바이러스, 뎅기열 바이러스, 마르부르크 바이러스, 인플루엔자 A 바이러스, 인플루엔자 B 바이러스, 쥬닌 바이러스, 홍역 바이러스, 파라인플루엔자 바이러스, 피키니드 바이러스, 푼타 토로 바이러스, 호흡기 세포융합 바이러스, 리노바이러스, 리프트 계곡열 바이러스, SARS 바이러스, 타카라이브 바이러스, 베네주엘라 말 뇌염 바이러스, 서부 나일강 바이러스 및 황열 바이러스로 구성된 군으로부터 선택되는, 약제 조성물.

청구항 36

제 34항에 있어서, 바이러스가 에볼라 바이러스, 황열 바이러스, 마르부르크 바이러스, 인플루엔자 A 바이러스 및 인플루엔자 B 바이러스로 구성된 군으로부터 선택되는, 약제 조성물.

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

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 관련 출원

[0002] 본 출원은 2012년 4월 18일 출원된 미국 가출원 특허 번호 61/625,994에 대한 우선권의 이익을 주장한다.

배 경 기 술

[0003] 바이러스는 포유동물 및 특히 인간을 포함하는 동물에서 많은 감염성 질환의 원인이다. 박테리아로의 감염과 달리, 바이러스 감염의 예방 및 치료에는 상대적으로 소수의 작용제가 효과적이다. 바이러스 게놈 전사, 번역 및 복제를 포함하는 바이러스 질환의 생명 작용은 이제 널리 공지되어 있다. RNA-함유 바이러스에서, 중요한 효소는 RNA-의존성 RNA 폴리머라제이며, 이는 바이러스 게놈 복제의 원인이다. RNA-의존성 RNA 폴리머라제는 음성-센스 RNA를 갖는, DNA 스테이지가 없는 모든 RNA-함유 바이러스의 게놈에서 엔코딩된 필수 단백질이다. 효소는 해당 RNA 주형에 상보적인 RNA 가닥의 합성에 촉매 작용을 한다. 바이러스의 복제는 RNA 폴리머라제에 의존적이기 때문에, 이러한 효소는 새로운 항-바이러스 화합물 개발에서 유망한 타겟이다.

발명의 내용

[0004] 본 발명은 바이러스 RNA 폴리머라제 활성 또는 바이러스 복제를 억제하고 바이러스 감염을 치료하는데 사용하기

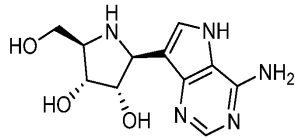
위한 화학식 I의 화합물 (이의 약제학적으로 허용되는 염 포함)을 제공한다. 화합물은 특별히, 특히 경구 투여를 포함하는 체외 투여와 함께 약제학적 활성 성분에 대한 유리한 약동학을 어느 정도 특징으로 한다. 본 발명은 또한, 하나 이상의 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 약제 조성물 및 이를 제조하는 방법을 제공한다. 또한, 바이러스 RNA 폴리머라제 활성, 바이러스 복제를 억제하고 바이러스 감염을 치료하는 방법을 제공한다.

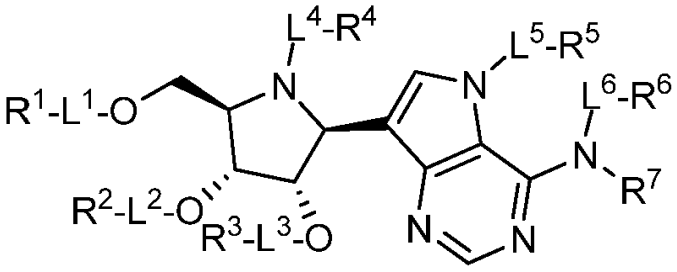
도면의 간단한 설명

[0005] **도 1**은 화합물 **12i** (삼각형, 대조군) 및 화합물 **30f** (원형, 실험군)의 쥐로의 단일-용량 경구 투여 후 화합물 **12i**의 혈장내 약동학을 묘사한 그래프이다. N = 군당 4.

도 2는 황열 바이러스로 감염된 햄스터의 생존에 대한 화합물 **12i** (CMPD 1)의 효과를 묘사한 그래프이다. **, 플라세보 대비 P<0.01. ***, 플라세보 대비 P<0.001. dpi, 감염 후 일.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0006] 본 발명의 양태는 하기 화학식 I로 나타내는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이며, 단 화학식 I로 나타내는 화합물은  가 아니다:



(I)

[0007]

[0008] 상기 식에서,

[0009] L^1, L^2, L^3, L^4, L^5, 및 L^6은 각각 독립적으로, 결합 또는 $-C(R^0)_2-O-$ 링커이며;

[0010] R^0은 독립적으로 각각의 경우에 있어서, H 또는 (C_1-C_6)알킬이며;

[0011] R^1, R^2, 및 R^3은 각각 독립적으로, H, 아미노아실, 아미노티오닐, 아실, $R^{10}OC(O)-$, 포스포릴, 및 아미노포스포릴로 구성된 군으로부터 선택되거나; 함께 취해진 R^1과 R^2 또는 함께 취해진 R^2와 R^3는 카르보닐, 티오카르보닐, 포스포릴, 및 (C_1-C_6)알킬포스포릴로 구성된 군으로부터 선택되며;

[0012] R^4, R^5, 및 R^6은 각각 독립적으로, H, 아실, 포스포릴, 알킬티오, $R^{10}OC(O)-$, 및 아미노알킬로 구성된 군으로부터 선택되며;

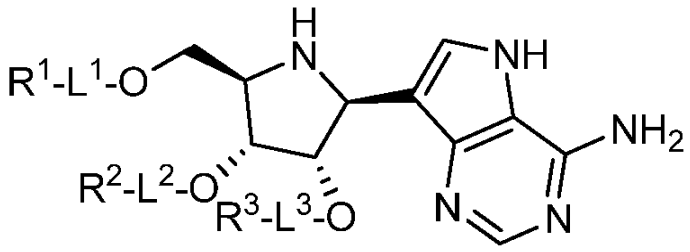
[0013] R^7은 H이거나; 함께 취해진 R^6, R^7, 및 이들이 결합되는 질소는 $-N=CR^{20}R^{21}$를 나타내며;

[0014] R^{10}은 독립적으로 각각의 경우에 있어서, H, (C_1-C_6)알킬, 아릴, 헤테로아릴, 아르알킬, 및 헤테로아르알킬로 구성된 군으로부터 선택되며;

[0015] R^{20} 및 R^{21}은 각각 독립적으로, H, 알킬, 아미노, 아릴, 헤테로아릴, 아르알킬, 및 헤테로아르알킬로 구성된 군

으로부터 선택된다.

[0016] 특정 구체예에서, 화학식 I의 화합물은 하기 화학식 IA로 나타내는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다:



(IA).

[0017]

[0018] 상기 중 어느 하나에 따른 특정 구체예에서, L^1-R^1은 H이다.

[0019] 상기 중 어느 하나에 따른 특정 구체예에서, L^2-R^2은 H이다.

[0020] 상기 중 어느 하나에 따른 특정 구체예에서, L^3-R^3은 H이다.

[0021] 대안적으로, 상기 중 어느 하나에 따른 특정 구체예에서, L^2-R^2와 L^3-R^3은 동일하다.

[0022] 상기 중 어느 하나에 따른 특정 구체예에서, L^2-R^2 및 L^3-R^3 각각은 H이다.

[0023] 대안적으로, 상기 중 어느 하나에 따른 특정 구체예에서, L^1-R^1 및 L^3-R^3은 동일하다.

[0024] 상기 중 어느 하나에 따른 특정 구체예에서, L^1-R^1 및 L^2-R^2는 동일하다.

[0025] 상기 중 어느 하나에 따른 특정 구체예에서, L^1-R^1 및 L^2-R^2 각각은 H이다.

[0026] 상기 중 어느 하나에 따른 특정 구체예에서, L^1-R^1 및 L^3-R^3 각각은 H이다.

[0027] 대안적으로, 상기 중 어느 하나에 따른 특정 구체예에서, L^1-R^1, L^2-R^2, 및 L^3-R^3은 동일하며; L^1-R^1, L^2-R^2, 및 L^3-R^3중 어느 것도 H가 아니다.

[0028] 상기 중 어느 하나에 따른 특정 구체예에서, 독립적으로 각각의 경우에 있어서, 아미노아실은 $-C(=O)CH(NH_2)(CH_2)_nCHR^{30}R^{31}$이며, 상기 식에서, n은 0 또는 1이며; R^{30} 및 R^{31}은 각각 독립적으로 H, (C_1-C_6)알킬, 아릴, 헤테로아릴, 아르알킬, 및 헤테로아르알킬로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0029] 특정 구체예에서, R^{30} 및 R^{31}은 각각 독립적으로 H 및 (C_1-C_6)알킬로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0030] 특정 구체예에서, R^{30} 및 R^{31}은 각각 독립적으로 (C_1-C_6)알킬이다.

[0031] 특정 구체예에서, n은 0이며; R^{30} 및 R^{31}은 각각 독립적으로 메틸이다.

[0032] 상기 중 어느 하나에 따른 특정 구체예에서, 독립적으로 각각의 경우에 있어서, 아미노티오닐은 $-C(=S)CH(NH_2)(CH_2)_nCHR^{30}R^{31}$이며, 여기서, n은 0 또는 1이며; R^{30} 및 R^{31}은 각각 독립적으로 H, (C_1-C_6)알킬, 아릴, 헤테로아릴, 아르알킬, 및 헤테로아르알킬로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0033] 특정 구체예에서, R^{30} 및 R^{31}은 각각 독립적으로 H 및 (C_1-C_6)알킬로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0034] 특정 구체예에서, R^{30} 및 R^{31}은 각각 독립적으로 (C_1-C_6)알킬이다.

[0035] 특정 구체예에서, n은 0이며; R^{30} 및 R^{31} 각각 독립적으로 메틸이다.

[0036] 상기 중 어느 하나에 따른 특정 구체예에서, 독립적으로 각각의 경우에 있어서 아실은 $-C(=O)R^{40}$이며, 상기 식에서, R^{40}은 H, (C_1-C_6)알킬, 아릴, 헤테로아릴, 아르알킬, 및 헤테로아르알킬로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0037] 특정 구체예에서, R^{40}은 H이다.

[0038] 특정 구체예에서, R^{40}은 (C_1-C_6)알킬이다.

[0039] 상기 중 어느 하나에 따른 특정 구체예에서, 독립적으로 각각의 경우에 있어서 R^{10}은 H이다.

[0040] 대안적으로, 상기 중 어느 하나에 따른 특정 구체예에서, 독립적으로 각각의 경우에 있어서, R^{10}은 (C_1-C_6)알킬이다.

[0041] 상기 중 어느 하나에 따른 특정 구체예에서, 독립적으로 각각의 경우에 있어서 아미노포스포릴은 $-P(=O)(OR^{50})NR^{51}R^{52}$이며, 여기서, R^{50}은 H, (C_1-C_6)알킬, 아릴, 아릴알킬, 헤테로아릴, 헤테로아르알킬, 및 $-(CH_2)_mSC(=O)C(CH_3)_2CH_2OH$로 구성된 군으로부터 선택되며;

[0042] m은 1 또는 2이며;

[0043] R^{51}은 H 또는 (C_1-C_6)알킬이며;

[0044] R^{52}는 H, (C_1-C_6)알킬, 아릴, 아르알킬, 헤테로아릴, 헤테로아르알킬, 및 $-CR^{60}R^{61}C(=O)OR^{62}$로 구성된 군으로부터 선택되며,

[0045] 여기에서,R^{60} 및 R^{61}은 각각 독립적으로 H 또는 (C_1-C_6)알킬이며;

[0046] R^{62}는 H, (C_1-C_6)알킬, 아릴, 아르알킬, 헤테로아릴, 헤테로아르알킬로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0047] 상기 중 어느 하나에 따른 특정 구체예에서, R^{50}은 H이다.

[0048] 상기 중 어느 하나에 따른 특정 구체예에서, R^{50}은 아릴이다.

[0049] 상기 중 어느 하나에 따른 특정 구체예에서, R^{50}은 $-(CH_2)_mSC(=O)C(CH_3)_2CH_2OH$이다.

[0050] 상기 중 어느 하나에 따른 특정 구체예에서, m은 2이다.

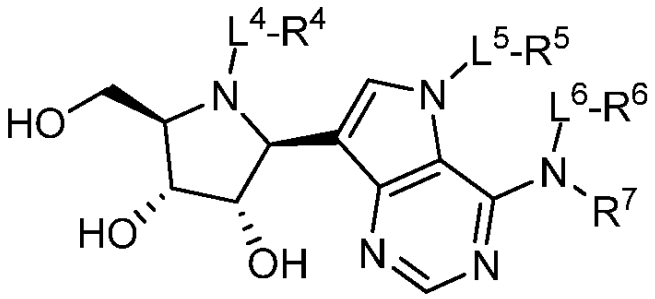
[0051] 상기 중 어느 하나에 따른 특정 구체예에서, R^{51}은 H이다.

[0052] 상기 중 어느 하나에 따른 특정 구체예에서, R^{52}는 아르알킬이다.

[0053] 대안적으로, 상기 중 어느 하나에 따른 특정 구체예에서, R^{52}는 $-CR^{60}R^{61}C(=O)OR^{62}$이다.

[0054] 상기 중 어느 하나에 따른 특정 구체예에서, R^{60}은 H이며; R^{61}은 (C_1-C_6)알킬이며; R^{62}는 (C_1-C_6)알킬이다.

[0055] 특정 구체예에서, 화학식 I의 화합물은 하기 화학식 IB로 나타내는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다:



(IB).

[0056]

[0057] 상기 중 어느 하나에 따른 특정 구체예에서, R^7은 H이며; L^4, L^5, 및 L^6 각각은 결합이며; R^4, R^5, 및 R^6 중 임의의 2개 각각은 H이다.

[0058] 상기 중 어느 하나에 따른 특정 구체예에서, R^4 및 R^5 각각은 H이다.

[0059] 대안적으로, 상기 중 어느 하나에 따른 특정 구체예에서, R^5 및 R^6 각각은 H이다.

[0060] 대안적으로, 상기 중 어느 하나에 따른 특정 구체예에서, R^4 및 R^6 각각은 H이다.

[0061] 상기 중 어느 하나에 따른 특정 구체예에서, R^4, R^5, 및 R^6의 임의의 $R^{10}OC(O)$-의 R^{10}은 H 또는 (C_1-C_6)알킬이다.

[0062] 상기 중 어느 하나에 따른 특정 구체예에서, R^4, R^5, 및 R^6의 임의의 아미노알킬은 $-CH_2N(CH_3)_2$이다.

[0063] 특정 구체예에서, L^4, L^5, 및 L^6 각각은 결합이며; 함께 취해진 R^6, R^7, 및 이들이 결합되는 질소는 $-N=CR^{20}R^{21}$를 나타낸다.

[0064] 상기 중 어느 하나에 따른 특정 구체예에서, R^{20}은 H이며, R^{21}은 아미노이다.

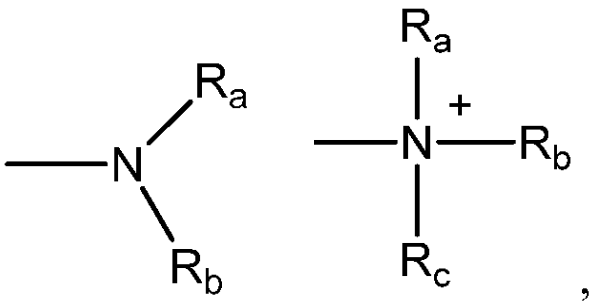
[0065] 상기 중 어느 하나에 따른 특정 구체예에서, R^4 및 R^5 각각은 H이다.

[0066] 대안적으로, 특정 구체예에서, R^7은 H이며; L^4, L^5, 및 L^6중 적어도 하나는 $-C(R^0)_2-O-$ 링커이며; 적어도 하나의 $-C(R^0)_2-O-$에 결합된 임의의 R^4, R^5, 또는 R^6은 포스포릴이다.

[0067] *정의*

[0068] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "알킬"은 본 기술분야의 용어이며, 직쇄 알킬 기, 분지쇄 알킬 기, 시클로알킬 (지환족) 기, 알킬 치환된 시클로알킬 기, 및 시클로알킬 치환된 알킬 기를 포함하는 포화된 지방족 기를 지칭한다. 특정 구체예에서, 직쇄 또는 분지쇄 알킬은 이의 주쇄에 약 30개 또는 이보다 적은 탄소 원자 (예를 들어, 직쇄에 있어서, C_1-C_{30}, 분지쇄에 있어서 C_3-C_{30}), 및 대안적으로, 약 20개 또는 이보다 적은 탄소 원자를 갖는다. 마찬가지로, 시클로알킬은 이의 고리 구조에서 약 3 내지 약 10 개 탄소 원자, 및 대안적으로, 고리 구조에서 약 5, 6 또는 7 개 탄소를 갖는다.

[0069] 용어 "아미노"는 본 기술분야의 용어이며, 본원에 사용된 바와 같이, 비치환된 아민 및 치환된 아민 둘 모두, 예를 들어, 하기 일반 화학식으로 나타낼 수 있는 모이어티를 지칭한다:



[0070] 및

[0071] 상기 식에서,

[0072] R_a, R_b, 및 R_c는 각각 독립적으로 수소, 알킬, 알케닐, $-(CH_2)_x-R_d$을 나타내거나, R_a 및 R_b는 이들이 부착되는 N 원자와 함께 취해져서 고리 구조에서 4 내지 8 개 원자를 갖는 헤테로사이클을 완성하며; R_d는 아릴, 시클로알킬, 시클로알케닐, 헤테로시클릴 또는 폴리시클릴을 나타내며; x는 0 또는 1 내지 8 범위의 정수이다. 특정 구체예에서, R_a 또는 R_b 중 단지 하나만 카르보닐일 수 있으며, 예를 들어, R_a, R_b, 및 질소 원자는 함께 이미드를 형성하지 않는다. 또 다른 구체예에서, R_a 및 R_b (및 선택적으로, R_c) 각각은 독립적으로 수소, 알킬, 알케닐, 또는 $-(CH_2)_x-R_d$를 나타낸다.

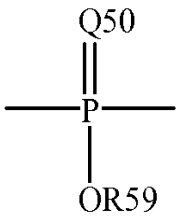
[0073] 용어 "아실"은 본 기술분야의 용어이며, 본원에 사용된 바와 같이 RCO- 형의 임의의 기 또는 라디칼을 지칭하며, 여기서 R은 임의의 유기 기 예를 들어, 알킬, 아릴, 헤테로아릴, 아르알킬, 및 헤테로아르알킬이다. 대표적인 아실 기는 아세틸, 벤조일, 및 말로닐을 포함한다.

[0074] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "아미노알킬"은 하나 이상의 아미노 기로 치환된 알킬 기를 지칭한다.

[0075] 용어 "아미노아실"은 본 기술분야의 용어이며, 본원에 사용된 바와 같이, 하나 이상의 아미노 기로 치환된 아실 기를 지칭한다.

[0076] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "아미노티오닐"은 아미노아실의 유사체를 지칭하는 것으로서, RC(O)- 의 O가 황으로 대체되어 따라서 RC(S)- 형이다.

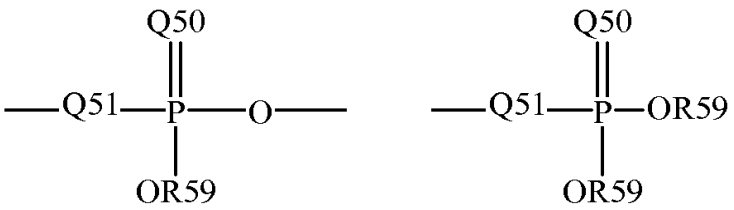
[0077] 용어 "포스포릴"은 본 기술분야의 용어이며, 본원에 사용된 바와 같이, 일반적으로 하기 화학식으로 나타낼 수 있다:



[0078]

[0079] 상기 식에서,

[0080] Q50은 S 또는 O를 나타내며, R59는 수소, 저급 알킬 또는 아릴; 예를 들어, $-P(O)(OMe)-$ 또는 $-P(O)(OH)_2$을 나타낸다. 예를 들어, 알킬을 치환하는데 사용되는 경우, 포스포릴알킬의 포스포릴 기는 하기 일반 화학식으로 나타낼 수 있다:



[0081]

[0082] 상기 식에서,

[0083] Q50 및 R59은 각각 독립적으로, 상기 정의되어 있으며, Q51은 O, S 또는 N; 예를 들어, -O-P(O)(OH)OMe 또는 -NH-P(O)$(OH)_2$을 나타낸다. Q50이 S인 경우, 포스포릴 모이어티는 "포스포로티오에이트"이다.

[0084] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "아미노포스포릴"은 본원에 정의된 바와 같이 적어도 하나의 아미노 기로 치환된 포스포릴 기를 지칭한다; 예를 들어, -P(O)(OH)NMe_2.

[0085] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "카르보닐"은 -C(O)-를 지칭한다.

[0086] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "티오카르보닐"은 -C(S)-를 지칭한다.

[0087] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "알킬포스포릴"은 본원에 정의된 바와 같은 적어도 하나의 알킬 기로 치환된 포스포릴 기를 지칭한다; 예를 들어, -P(O)(OH)Me.

[0088] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "알킬티오"는 알킬-S-를 지칭한다.

[0089] 용어 "아릴"은 본 기술분야의 용어이며, 본원에 사용된 바와 같이, 모노시클릭, 바이시클릭 및 폴리시클릭 방향족 탄화수소 기, 예를 들어, 벤젠, 나프탈렌, 안트라센, 및 피렌을 포함하는 것으로서 지칭된다. 방향족 고리는 하나 이상의 고리 위치에서 하나 이상의 치환기, 예컨대, 할로겐, 아지드, 알킬, 아르알킬, 알케닐, 알키닐, 시클로알킬, 히드록실, 알콕실, 아미노, 니트로, 설프히드릴, 이미노, 아미도, 포스포네이트, 포스피네이트, 카르보닐, 카르복실, 실릴, 에테르, 알킬티오, 설포닐, 설폰아미도, 케톤, 알데히드, 에스테르, 헤테로시클릴, 방향족 또는 헤테로방향족 모이어티, 플루오로알킬 (예컨대, 트리플루오로메틸), 시아노, 또는 기타 등등으로 치환될 수 있다. 용어 "아릴"은 또한, 2개 이상의 탄소가 2개의 인접한 고리 (고리는 "융합된 고리"임)에서 공유되는 2개 이상의 시클릭 고리를 갖는 폴리시클릭 고리 시스템을 포함하며, 여기서, 고리중 적어도 하나는 방향족 탄화수소이며, 예를 들어, 나머지 시클릭 고리는 시클로알킬, 시클로알케닐, 시클로알키닐, 아릴, 헤테로아릴, 및/또는 헤테로시클릴일 수 있다.

[0090] 용어 "헤테로원자"는 당해 공지되어 있으며, 탄소 또는 수소 이외의 임의의 원소의 원자를 포함한다. 예시적인 헤테로원자는 붕소, 질소, 산소, 인, 황 및 셀레늄, 및 대안적으로, 산소, 질소 또는 황을 포함한다.

[0091] 용어 "헤테로아릴"은 본 기술분야의 용어이며, 본원에 사용된 바와 같이, 고리 구조에서 하나 이상의 헤테로원자를 갖는 모노시클릭, 바이시클릭 및 폴리시클릭 방향족 기 예를 들어, 피롤, 푸란, 티오펜, 이미다졸, 옥사졸, 티아졸, 트리아졸, 피라졸, 피리딘, 피라진, 피리다진 및 피리미딘, 및 기타 등등을 지칭한다. "헤테로아릴"은 하나 이상의 고리 위치에서 하나 이상의 치환기 예컨대, 할로겐, 아지드, 알킬, 아르알킬, 알케닐, 알키닐, 시클로알킬, 히드록실, 알콕실, 아미노, 니트로, 설프히드릴, 이미노, 아미도, 포스포네이트, 포스피네이트, 카르보닐, 카르복실, 실릴, 에테르, 알킬티오, 설포닐, 설폰아미도, 케톤, 알데히드, 에스테르, 헤테로시클릴, 방향족 또는 헤테로방향족 모이어티, 플루오로알킬 (예컨대, 트리플루오로메틸), 시아노, 또는 기타 등등으로 치환될 수 있다. 용어 "헤테로아릴"은 또한, 2개 이상의 탄소가 2개의 인접한 고리 (고리는 "융합된 고리"임)에서 공유되는 2개 이상의 시클릭 고리를 갖는 폴리시클릭 고리 시스템을 포함하며, 여기에서 고리중 적어도 하나는 고리 구조에서 하나 이상의 헤테로원자를 갖는 방향족 기이며, 예를 들어, 다른 시클릭 고리는 시클로알킬, 시클로알케닐, 시클로알키닐, 아릴, 헤테로아릴, 및/또는 헤테로시클릴일 수 있다.

[0092] 용어 "아르알킬"은 본 기술분야의 용어이며, 본원에 사용된 바와 같이, 아릴 기로 치환된 알킬 기를 지칭한다.

[0093] 용어 "헤테로아르알킬"은 본 기술분야의 용어이며, 본원에 사용된 바와 같이, 헤테로아릴 기로 치환된 알킬 기를 지칭한다.

[0094] 본 발명의 조성물중에 함유된 특정 화합물은 특히, 기하학 형태 또는 입체이성질체 형태로 존재할 수 있다. 게다가, 본 발명의 화합물은 또한, 광학적으로 활성일 수 있다. 본 발명은 본 발명의 범위내에 속하는 것으로서 시스- 및 트랜스-이성질체, (*R*)- 및 (*S*)-거울상이성질체, 부분입체이성질체, (D)-이성질체, (L)-이성질체, 이들의 라세미 혼합물, 및 이들의 그 밖의 혼합물을 포함하는 모든 이러한 화합물을 고려한다. 추가적인 비대칭 탄소 원자는 치환기 예컨대, 알킬 기에 존재할 수 있다. 모든 이러한 이성질체 및 이들의 혼합물은 본 발명에 포함되는 것으로 의도된다.

[0095] 예를 들어, 본 발명의 화합물의 특정한 거울상이성질체가 요망되는 경우, 비대칭 합성에 의해 또는 키랄 보조제로의 유도체화에 의해 제조될 수 있으며, 여기서 생성된 부분입체이성질체 혼합물은 분리되고 보조 기가 절단되어 순수한 요망되는 거울상이성질체가 제공된다. 대안적으로, 분자가 염기성 작용기 예컨대, 아미노 또는 산성

작용기 예컨대, 카르복실을 함유하는 경우, 부분입체이성질체 염은 적합한 광학적으로-활성인 산 또는 염기로 형성되고, 이어서 이렇게 형성된 부분입체이성질체가 본 기술분야에 널리 공지된 분별 결정화 또는 크로마토그래피 수단에 의해 분해되고 순수한 거울상이성질체가 후속 회수된다.

[0096] "치환" 또는 "로 치환된"은 이러한 치환이 치환된 원자 및 치환기의 허용된 원자가에 따르며, 치환이 안정한 화합물 예를 들어, 예컨대, 재배열, 고리화, 제거 또는 그 밖의 반응에 의해 자연히 변환되지 않는 화합물을 유도한다는 암시적 단서를 포함하는 것으로 이해될 것이다.

[0097] 용어 "치환된"은 또한, 유기 화합물의 모든 허용되는 치환기를 포함하는 것으로 고려된다. 광범위한 양태에서, 허용되는 치환기는 유기 화합물의 지환족 및 시클릭, 분지된 및 비분지된, 카르보시클릭 및 헤테로시클릭, 방향족 및 비방향족 치환기를 포함한다. 예시적인 치환기는 예를 들어, 상기 본원에 기술된 것들을 포함한다. 적합한 유기 화합물에 있어서, 허용되는 치환기는 하나 이상일 수 있으며, 동일하거나 상이할 수 있다. 본 발명의 목적에 있어서, 헤테로원자 예컨대, 질소는 수소 치환기 및/또는 헤테로원자의 원자가를 만족시키는 본원에 기술된 유기 화합물의 임의의 허용되는 치환기를 가질 수 있다. 본 발명은 유기 화합물의 허용되는 치환기에 의해 임의의 방식으로 제한되는 것으로 의도되지 않는다.

[0098] 본 발명의 목적에 있어서, 화학적 원소는 원소 주기율표에 따라 식별된다 (CAS version, Handbook of Chemistry and Physics, 67th Ed., 1986-87, 안쪽 커버)

[0099] 본원의 그 밖의 화학 용어는 본원에 참조로서 통합된 문헌 [The McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (ed. Parker, S., 1985), McGraw-Hill, San Francisco]에 예시된 바와 같이 본 기술분야의 통상적인 용법에 따라 사용된다. 다르게 명시되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 속하는 본 기술분야의 당업자에 의해 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다.

[0100] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "보호기"는 원치않는 화학적 변형으로부터 잠재적으로 반응성인 작용기를 보호하는 일시적 치환기이다. 이러한 보호기의 예로는 카르복실산 및 보론산의 에스테르, 알콜의 에테르, 및 알데히드 및 케톤의 아세탈 및 케탈을 포함한다. 예를 들어, 본원에 사용된 바와 같은 문구 "N-말단 보호기" 또는 "아미노-보호기"는 합성 절차 동안 바람직하지 않은 반응에 대하여 아미노산 또는 펩티드의 N-말단을 보호하는데 사용될 수 있는 다양한 아미노-보호기를 지칭한다. 적합한 기의 예로는 아실 보호기 예컨대, 예로서 포르밀, 단실, 아세틸, 벤조일, 트리플루오로아세틸, 숙시닐, 및 메톡시숙시닐; 예를 들어, 벤질옥시카르보닐 (Cbz)로서의 방향족 우레탄 보호기; 및 지방족 우레탄 보호기 예컨대, t-부톡시카르보닐 (Boc) 또는 9-플루오레닐메톡시카르보닐 (Fmoc)을 포함한다.

[0101] 용어 "아미노-보호기" 또는 "N-말단 보호기"는 아미노산 또는 펩티드의 α-N-말단을 보호하고자 하는 또는 다르게는, 합성 절차 동안 바람직하지 않은 반응에 대하여 아미노산 또는 펩티드의 아미노 기를 보호하고자 하는 그러한 기를 지칭한다. 보통 사용된 N-보호기는 본원에 참조로 통합된 문헌 [Greene, *Protective Groups In Organic Synthesis*, (John Wiley & Sons, New York (1981))]에 기재되어 있다. 추가적으로, 보호기는 생체내에서 예를 들어, 효소 가수분해에 의해 용이하게 절단되어 생물학적 활성 어미(parent)를 방출하는 전구-약물로서 사용될 수 있다. α-N-보호기는 저급 알카노일 기 예컨대, 포르밀, 아세틸 ("Ac"), 프로피오닐, 피발로일, t-부틸아세틸 및 기타 등등; 2-클로로아세틸, 2-브로모아세틸, 트리플루오로아세틸, 트리클로로아세틸, 프탈릴, o-니트로페녹시아세틸, -클로로부티릴, 벤조일, 4-클로로벤조일, 4-브로모벤조일, 4-니트로벤조일 및 기타 등등을 포함하는 그 밖의 아실 기; 설포닐 기 예컨대, 벤젠설포닐, p-톨루엔설포닐 및 기타 등등; 카르바메이트 형성 기 예컨대, 벤질옥시카르보닐, p-클로로벤질옥시카르보닐, p-메톡시벤질옥시카르보닐, p-니트로벤질옥시카르보닐, 2-니트로벤질옥시카르보닐, p-브로모벤질옥시카르보닐, 3,4-디메톡시벤질옥시카르보닐, 3,5-디메톡시벤질옥시카르보닐, 2,4-디메톡시벤질옥시카르보닐, 4-에톡시벤질옥시카르보닐, 2-니트로-4,5-디메톡시벤질옥시카르보닐, 3,4,5-트리메톡시벤질옥시카르보닐, 1-(p-바이페닐일)-1-메틸에톡시카르보닐, α,α-디메틸-3,5-디메톡시벤질옥시카르보닐, 벤즈히드릴옥시카르보닐, t-부톡시카르보닐, 디이소프로필메톡시카르보닐, 이소프로필옥시카르보닐, 에톡시카르보닐, 메톡시카르보닐, 알릴옥시카르보닐, 2,2,2,-트리클로로에톡시카르보닐, 페녹시카르보닐, 4-니트로페녹시카르보닐, 플루오레닐-9-메톡시카르보닐, 시클로펜틸옥시카르보닐, 아다만틸옥시카르보닐, 시클로헥실옥시카르보닐, 페닐티오카르보닐 및 기타 등등; 아릴알킬 기 예컨대, 벤질, 트리페닐메틸, 벤질옥시메틸, 9-플루오레닐메틸옥시카르보닐 (Fmoc) 및 기타 등등 및 실릴 기 예컨대, 트리메틸실릴 및 기타 등등을 포함한다. 추가의 그 밖의 예는 테일, 숙시닐, 메톡시숙시닐, 수베리, 아디필, 아젤아일, 단실, 벤질옥시카르보닐, 메톡시아젤아일, 메톡시아디필, 메톡시수베릴, 및 2,4-디니트로페닐을 포함한다.

[0102] 용어 "카르복시 보호기" 또는 "C-말단 보호기"는 화합물의 다른 작용 부위를 포함하는 반응이 수행되면서 카르

복실산 작용기를 차단하거나 보호하는데 사용된 카르복실산 보호 에스테르 또는 아미드 기를 지칭한다. 카르복시 보호기는 본원에 참조로서 통합된 문헌 [Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis* pp. 152-186 (1981)]에 기술되어 있다. 추가적으로, 카르복시 보호기는 전구-약물로서 사용될 수 있으며, 이에 의해 카르복시 보호기는 생체내에서 예를 들어, 효소적 가수분해에 의해 용이하게 절단되어 생물학적으로 활성인 어미를 방출할 수 있다. 이러한 카르복시 보호기는 당업자에게 널리 공지되어 있으며, 그 기재내용이 본원에 참조로서 통합된 미국 특허 번호 3,840,556 및 3,719,667에 기술된 바와 같은 페니실린 및 세팔로스포린 분야에서 카르복실 기의 보호에 광범위하게 사용되었다. 대표적인 카르복시 보호기는 C_1-C_8 저급알킬 (예를 들어, 메틸, 에틸 또는 t-부틸 및 기타 등등); 아릴알킬 예컨대, 펜에틸 또는 벤질 및 이의 치환된 유도체 예컨대, 알콕시벤질 또는 니트로벤질 기 및 기타 등등; 아릴알케닐 예컨대, 페닐에테닐 및 기타 등등; 아릴 및 이의 치환된 유도체 예컨대, 5-인다닐 및 기타 등등; 디알킬아미노알킬 예컨대, 디메틸아미노에틸 및 기타 등등); 알카노일옥시알킬 기 예컨대, 아세톡시메틸, 부티릴옥시메틸, 발레릴옥시메틸, 이소부티릴옥시메틸, 이소발레릴옥시메틸, 1-(프로피오닐옥시)-1-에틸, 1-(피발로일옥실)-1-에틸, 1-메틸-1-(프로피오닐옥시)-1-에틸, 피발로일옥시메틸, 프로피오닐옥시메틸 및 기타 등등; 시클로알카노일옥시알킬 기 예컨대, 시클로프로필카르보닐옥시메틸, 시클로부틸카르보닐옥시메틸, 시클로펜틸카르보닐옥시메틸, 시클로헥실카르보닐옥시메틸 및 기타 등등; 아로일옥시알킬 예컨대, 벤조일옥시메틸, 벤조일옥시에틸 및 기타 등등; 아릴알킬카르보닐옥시알킬 예컨대, 벤질카르보닐옥시메틸, 2-벤질카르보닐옥시에틸 및 기타 등등; 알콕시카르보닐알킬 또는 시클로알킬옥시카르보닐알킬 예컨대, 메톡시카르보닐메틸, 시클로헥실옥시카르보닐메틸, 1-메톡시카르보닐-1-에틸 및 기타 등등; 알콕시카르보닐옥시알킬 또는 시클로알킬옥시카르보닐옥시알킬 예컨대, 메톡시카르보닐옥시메틸, t-부틸옥시카르보닐옥시메틸, 1-에톡시카르보닐옥시-1-에틸, 1-시클로헥실옥시카르보닐옥시-1-에틸 및 기타 등등; 아릴옥시카르보닐옥시알킬 예컨대, 2-(페녹시카르보닐옥시)에틸, 2-(5-인다닐옥시카르보닐옥시)에틸 및 기타 등등; 알콕시알킬카르보닐옥시알킬 예컨대, 2-(1-메톡시-2-메틸프로판-2-오일옥시)에틸 및 기타 등등; 아릴알킬옥시카르보닐옥시알킬 예컨대, 2-(벤질옥시카르보닐옥시)에틸 및 기타 등등; 아릴알케닐옥시카르보닐옥시알킬 예컨대, 2-(3-페닐프로펜-2-일옥시카르보닐옥시)에틸 및 기타 등등; 알콕시카르보닐아미노알킬 예컨대, t-부틸옥시카르보닐아미노메틸 및 기타 등등; 알킬아미노카르보닐아미노알킬 예컨대, 메틸아미노카르보닐아미노메틸 및 기타 등등; 알카노일아미노알킬 예컨대, 아세틸아미노메틸 및 기타 등등; 헤테로시클릭카르보닐옥시알킬 예컨대, 4-메틸피페라지닐카르보닐옥시메틸 및 기타 등등; 디알킬아미노카르보닐알킬 예컨대, 디메틸아미노카르보닐메틸, 디에틸아미노카르보닐메틸 및 기타 등등; (5-(저급알킬)-2-옥소-1,3-디옥솔렌-4-일)알킬 예컨대, (5-t-부틸-2-옥소-1,3-디옥솔렌-4-일)메틸 및 기타 등등; 및 (5-페닐-2-옥소-1,3-디옥솔렌-4-일)알킬 예컨대, (5-페닐-2-옥소-1,3-디옥솔렌-4-일)메틸 및 기타 등등이다. 대표적인 아미드 카르복시 보호기는 아미노카르보닐 및 저급알킬아미노카르보닐 기이다. 예를 들어, 아스파르트산은 산 불안정 기 (예를 들어, t-부틸)에 의해 α-*C*-말단에서 보호될 수 있고, 수소화 불안정 기 (예를 들어, 벤질)에 의해 β-*C*-말단에서 보호될 수 있으며, 그 후 합성 동안 선택적으로 탈보호될 수 있다. 상기 언급된 바와 같이, 보호된 카르복시 기는 또한, 저급알킬, 시클로알킬 또는 아릴알킬 에스테르, 예를 들어, 메틸 에스테르, 에틸 에스테르, 프로필 에스테르, 이소프로필 에스테르, 부틸 에스테르, 2차-부틸 에스테르, 이소부틸 에스테르, 아밀 에스테르, 이소아밀 에스테르, 옥틸 에스테르, 시클로헥실 에스테르, 페닐에틸 에스테르 및 기타 등등 또는 알카노일옥시알킬, 시클로알카노일옥시알킬, 아로일옥시알킬 또는 아릴알킬카르보닐옥시알킬 에스테르일 수 있다.

[0103] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "아미노산"은 본 기술분야의 용어이며, 소위 자연 발생적 알파-아미노산 및 비-자연 발생적 아미노산을 포함하는 알파- 및 베타-아미노카르복실산을 지칭한다. 자연 발생적 알파-아미노산은 구체적으로, 알라닌 (Ala), 아르기닌 (Arg), 아스파라긴 (Asn), 아스파르트산 (Asp), 시스테인 (Cys), 글루탐산 (Glu), 글루타민 (Gln), 글리신 (Gly), 히스티딘 (His), 이소류신 (Ile), 류신 (Leu), 리신 (Lys), 메티오닌 (Met), 오르니틴 (Orn), 페닐알라닌 (Phe), 프롤린 (Pro), 셀레노시스테인, 세린 (Ser), 타우린, 트레오닌 (Thr), 트립토판 (Trp), 티로신 (Tyr), 및 발린 (Val)을 포함한다. 극성의 자연 발생적 알파-아미노산은 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루탐산, 글루타민, 히스티딘, 리신, 오르니틴, 세린, 트레오닌, 및 티로신을 포함한다. 비극성의 자연 발생적 알파-아미노산은 알라닌, 글리신, 이소류신, 류신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 트립토판, 및 발린을 포함한다.

[0104] 비-자연 발생적 아미노산은 비제한적으로, D-아미노산 (즉, 자연 발생적 형태에 대해 반대 키랄성의 아미노산), *N*-α-메틸 아미노산, *C*-α-메틸 아미노산, β-메틸 아미노산, β-알라닌 (β-Ala), 노르발린 (Nva), 노르류신 (Nle), 4-아미노부티르산 (γ-Abu), 2-아미노이소부티르산 (Aib), 6-아미노헥사노산 (ε-Ahx), 오르니틴 (orn), 히드록시프롤린 (Hyp), 사르코신, 시트룰린, 시스테산, 시클로헥실알라닌, α-아미노 이소부티르산, t-부틸글리신, t-부틸알라닌, 3-아미노프로피온산, 2,3-디아미노프로피온산 (2,3-diaP), D- 또는 L-페닐글리신,

D- 또는 L-2-나프틸알라닌 (2-Nal), 1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린-3-카르복실산 (Tic), D- 또는 L-2-티에닐알라닌 (Thi), D- 또는 L-3-티에닐알라닌, D- 또는 L-1-, 2-, 3- 또는 4-피레닐알라닌, D- 또는 L-(2-피리디닐)-알라닌, D- 또는 L-(3-피리디닐)-알라닌, D- 또는 L-(2-피라지닐)-알라닌, D- 또는 L-(4-이소프로필)-페닐글리신, D-(트리플루오로메틸)-페닐글리신, D-(트리플루오로메틸)-페닐알라닌, D-p-플루오로페닐알라닌, D- 또는 L-p-바이페닐알라닌, D- 또는 L-p-메톡시바이페닐알라닌, 메티오닌 설폭시드 (MSO) 및 호모아르기닌 (Har)을 포함한다. 그 밖의 예는 D- 또는 L-2-인돌(알킬)알라닌 및 D- 또는 L-알킬알라닌을 포함하며, 여기서 알킬은 치환된 또는 비치환된 메틸, 에틸, 프로필, 헥실, 부틸, 펜틸, 이소프로필, 이소-부틸, 또는 이소-펜틸, 및 포스포노- 또는 설페이트화된 (예를 들어, -SO_3H) 비-카르복실레이트 아미노산이다.

[0105] 비-자연 발생적 아미노산의 그 밖의 예로는 3-(2-클로로페닐)-알라닌, 3-클로로-페닐알라닌, 4-클로로-페닐알라닌, 2-플루오로-페닐알라닌, 3-플루오로-페닐알라닌, 4-플루오로-페닐알라닌, 2-브로모-페닐알라닌, 3-브로모-페닐알라닌, 4-브로모-페닐알라닌, 호모페닐알라닌, 2-메틸-페닐알라닌, 3-메틸-페닐알라닌, 4-메틸-페닐알라닌, 2,4-디메틸-페닐알라닌, 2-니트로-페닐알라닌, 3-니트로-페닐알라닌, 4-니트로-페닐알라닌, 2,4-디니트로-페닐알라닌, 1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린-3-카르복실산, 1,2,3,4-테트라히드로노르하르만-3-카르복실산, 1-나프틸알라닌, 2-나프틸알라닌, 펜타플루오로페닐알라닌, 2,4-디클로로-페닐알라닌, 3,4-디클로로-페닐알라닌, 3,4-디플루오로-페닐알라닌, 3,5-디플루오로-페닐알라닌, 2,4,5-트리플루오로-페닐알라닌, 2-트리플루오로메틸-페닐알라닌, 3-트리플루오로메틸-페닐알라닌, 4-트리플루오로메틸-페닐알라닌, 2-시아노-페닐알라닌, 3-시아노-페닐알라닌, 4-시아노-페닐알라닌, 2-아이오도-페닐알라닌, 3-아이오도-페닐알라닌, 4-아이오도-페닐알라닌, 4-메톡시페닐알라닌, 2-아미노메틸-페닐알라닌, 3-아미노메틸-페닐알라닌, 4-아미노메틸-페닐알라닌, 2-카르바모일-페닐알라닌, 3-카르바모일-페닐알라닌, 4-카르바모일-페닐알라닌, m-티로신, 4-아미노-페닐알라닌, 스티릴알라닌, 2-아미노-5-페닐-펜타노산, 9-안트릴알라닌, 4-3차-부틸-페닐알라닌, 3,3-디페닐알라닌, 4,4'-디페닐알라닌, 벤조일페닐알라닌, α-메틸-페닐알라닌, α-메틸-4-플루오로-페닐알라닌, 4-티아졸릴알라닌, 3-벤조티에닐알라닌, 2-티에닐알라닌, 2-(5-브로모티에닐)-알라닌, 3-티에닐알라닌, 2-푸릴알라닌, 2-피리딜알라닌, 3-피리딜알라닌, 4-피리딜알라닌, 2,3-디아미노프로피온산, 2,4-디아미노부티르산, 알릴글리신, 2-아미노-4-브로모-4-펜테노산, 프로파르길글리신, 4-아미노시클로펜트-2-엔카르복실산, 3-아미노시클로펜탄카르복실산, 7-아미노-헵타노산, 디프로필글리신, 피페콜산, 아제티딘-3-카르복실산, 시클로프로필글리신, 시클로프로필알라닌, 2-메톡시-페닐글리신, 2-티에닐글리신, 3-티에닐글리신, α-벤질-프롤린, α-(2-플루오로-벤질)-프롤린, α-(3-플루오로-벤질)-프롤린, α-(4-플루오로-벤질)-프롤린, α-(2-클로로-벤질)-프롤린, α-(3-클로로-벤질)-프롤린, α-(4-클로로-벤질)-프롤린, α-(2-브로모-벤질)-프롤린, α-(3-브로모-벤질)-프롤린, α-(4-브로모-벤질)-프롤린, α-펜에틸-프롤린, α-(2-메틸-벤질)-프롤린, α-(3-메틸-벤질)-프롤린, α-(4-메틸-벤질)-프롤린, α-(2-니트로-벤질)-프롤린, α-(3-니트로-벤질)-프롤린, α-(4-니트로-벤질)-프롤린, α-(1-나프탈레닐메틸)-프롤린, α-(2-나프탈레닐메틸)-프롤린, α-(2,4-디클로로-벤질)-프롤린, α-(3,4-디클로로-벤질)-프롤린, α-(3,4-디플루오로-벤질)-프롤린, α-(2-트리플루오로메틸-벤질)-프롤린, α-(3-트리플루오로메틸-벤질)-프롤린, α-(4-트리플루오로메틸-벤질)-프롤린, α-(2-시아노-벤질)-프롤린, α-(3-시아노-벤질)-프롤린, α-(4-시아노-벤질)-프롤린, α-(2-아이오도-벤질)-프롤린, α-(3-아이오도-벤질)-프롤린, α-(4-아이오도-벤질)-프롤린, α-(3-페닐-알릴)-프롤린, α-(3-페닐-프로필)-프롤린, α-(4-3차-부틸-벤질)-프롤린, α-벤즈히드릴-프롤린, α-(4-바이페닐메틸)-프롤린, α-(4-티아졸릴메틸)-프롤린, α-(3-벤조[b]티오페닐메틸)-프롤린, α-(2-티오페닐메틸)-프롤린, α-(5-브로모-2-티오페닐메틸)-프롤린, α-(3-티오페닐메틸)-프롤린, α-(2-푸라닐메틸)-프롤린, α-(2-피리디닐메틸)-프롤린, α-(3-피리디닐메틸)-프롤린, α-(4-피리디닐메틸)-프롤린, α-알릴-프롤린, α-프로피닐-프롤린, γ-벤질-프롤린, γ-(2-플루오로-벤질)-프롤린, γ-(3-플루오로-벤질)-프롤린, γ-(4-플루오로-벤질)-프롤린, γ-(2-클로로-벤질)-프롤린, γ-(3-클로로-벤질)-프롤린, γ-(4-클로로-벤질)-프롤린, γ-(2-브로모-벤질)-프롤린, γ-(3-브로모-벤질)-프롤린, γ-(4-브로모-벤질)-프롤린, γ-(2-메틸-벤질)-프롤린, γ-(3-메틸-벤질)-프롤린, γ-(4-메틸-벤질)-프롤린, γ-(2-니트로-벤질)-프롤린, γ-(3-니트로-벤질)-프롤린, γ-(4-니트로-벤질)-프롤린, γ-(1-나프탈레닐메틸)-프롤린, γ-(2-나프탈레닐메틸)-프롤린, γ-(2,4-디클로로-벤질)-프롤린, γ-(3,4-디클로로-벤질)-프롤린, γ-(3,4-디플루오로-벤질)-프롤린, γ-(2-트리플루오로메틸-벤질)-프롤린, γ-(3-트리플루오로메틸-벤질)-프롤린, γ-(4-트리플루오로메틸-벤질)-프롤린, γ-(2-시아노-벤질)-프롤린, γ-(3-시아노-벤질)-프롤린, γ-(4-시아노-벤질)-프롤린, γ-(2-아이오도-벤질)-프롤린, γ-(3-아이오도-벤질)-프롤린, γ-(4-아이오도-벤질)-프롤린, γ-(3-페닐-알릴-벤질)-프롤린, γ-(3-페닐-프로필-벤질)-프롤린, γ-(4-3차-부틸-벤질)-프롤린, γ-벤즈히드릴-프롤린, γ-(4-바이페닐메틸)-프롤린, γ-(4-티아졸릴메틸)-프롤린, γ-(3-벤조티오이에닐메틸)-프롤린, γ-(2-티에닐메틸)-프롤린, γ-(3-티에닐메틸)-프롤린, γ-(2-푸라닐메틸)-프롤린, γ-(2-피리디닐메틸)-프롤린, γ-(3-

피리디닐메틸)-프롤린, ɣ-(4-피리디닐메틸)-프롤린, ɣ-알릴-프롤린, ɣ-프로피닐-프롤린, 트랜스-4-페닐-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(2-플루오로-페닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(3-플루오로-페닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(4-플루오로-페닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(2-클로로-페닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(3-클로로-페닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(4-클로로-페닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(2-브로모-페닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(3-브로모-페닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(4-브로모-페닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(2-메틸-페닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(3-메틸-페닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(4-메틸-페닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(2-니트로-페닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(3-니트로-페닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(4-니트로-페닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(1-나프틸)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(2-나프틸)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(2,5-디클로로-페닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(2,3-디클로로-페닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(2-트리플루오로메틸-페닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(3-트리플루오로메틸-페닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(4-트리플루오로메틸-페닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(2-시아노-페닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(3-시아노-페닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(4-시아노-페닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(2-메톡시-페닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(3-메톡시-페닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(4-메톡시-페닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(2-히드록시-페닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(3-히드록시-페닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(4-히드록시-페닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(2,3-디메톡시-페닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(3,4-디메톡시-페닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(3,5-디메톡시-페닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(2-피리디닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(3-피리디닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(6-메톡시-3-피리디닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(4-피리디닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(2-티에닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(3-티에닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-(2-푸라닐)-피롤리딘-3-카르복실산, 트랜스-4-이소프로필-피롤리딘-3-카르복실산, 4-포스포노메틸-페닐알라닌, 벤질-포스포트레오닌, (1'-아미노-2-페닐-에틸)옥시란, (1'-아미노-2-시클로헥실-에틸)옥시란, (1'-아미노-2-[3-브로모-페닐]에틸)옥시란, (1'-아미노-2-[4-(벤질옥시)페닐]에틸)옥시란, (1'-아미노-2-[3,5-디플루오로-페닐]에틸)옥시란, (1'-아미노-2-[4-카르바모일-페닐]에틸)옥시란, (1'-아미노-2-[벤질옥시-에틸])옥시란, (1'-아미노-2-[4-니트로-페닐]에틸)옥시란, (1'-아미노-3-페닐-프로필)옥시란, (1'-아미노-3-페닐-프로필)옥시란, 및/또는 이의 염 및/또는 보호기 변형체를 포함한다.

[0106] 베타-아미노산은 비제한적으로, 베타-알라닌 (3-아미노프로파노산)을 포함한다.

[0107] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "본 발명의 화합물"은 화학식 I의 화합물 및 이의 약제학적으로 허용되는 염을 의미한다.

[0108] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "약제학적으로 허용되는 염"은 예를 들어, 염산, 브롬화수소산, 황산, 질산, 과염소산, 인산, 포름산, 아세트산, 락트산, 말레산, 푸마르산, 숙신산, 타르타르산, 글리콜산, 살리실릭산, 시트르산, 메탄설폰산, 벤젠설폰산, 벤조산, 말론산, 트리플루오로아세트산, 트리클로로아세트산, 나프탈렌-2-설폰산 및 그 밖의 산을 포함하는 무기산 또는 유기산으로부터 유래된 염을 포함한다. 약제학적으로 허용되는 염 형태는 염을 포함하는 분자들의 비가 1:1이 아닌 형태를 포함할 수 있다. 예를 들어, 염은 염기 분자당 하나 초과의 무기 또는 유기 산 분자를 포함할 수 있으며, 예컨대, 화학식 I의 화합물의 분자 당 2개의 염산 분자를 포함할 수 있다. 또 다른 예로서, 염은 염기 분자당 하나 미만의 무기 또는 유기 산을 포함할 수 있으며, 예컨대, 타르타르산 분자 당 화학식 I의 화합물의 2개 분자를 포함할 수 있다.

[0109] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "담체" 및 "약제학적으로 허용되는 담체"는 화합물과 같이 투여되거나 투여를 위해 함께 제형화되는 희석제, 보조제, 부형제 또는 비히클을 지칭한다. 이러한 약제학적으로 허용되는 담체의 비제한적 예는 액체 예컨대, 물, 염수 및 오일; 및 고체 예컨대, 아카시아검, 젤라틴, 전분 페이스트, 탈크, 케라틴, 콜로이드 실리카, 우레아 및 기타 등등을 포함한다. 또한, 보조제, 안정화제, 증점제, 윤활제, 향미제 및 착색제가 사용될 수 있다. 적합한 약제학적 담체의 그 밖의 예는 그 전체가 본원에 참조로서 통합된 문헌 [*Remington's Pharmaceutical Sciences* by E.W. Martin]에 기술되어 있다.

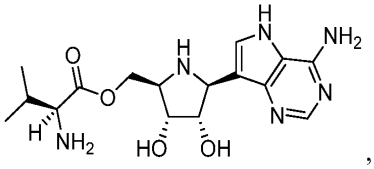
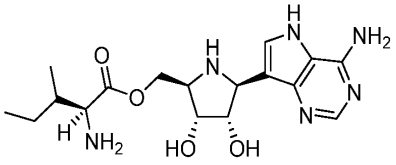
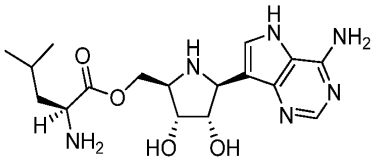
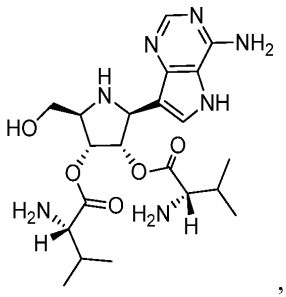
[0110] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "치료"는 대상체의 질환 또는 장애를 예방하거나, 이의 진행을 중단 또는 감속시키거나, 제거함을 의미한다. 일 구체예에서, "치료"는 대상체의 질환 또는 장애의 진행의 중단 또는 감속, 및 이의 제거를 의미한다. 일 구체예에서, "치료"는 질환 또는 장애의 하나 이상의 객관적인 징후의 감소를 의미한다.

[0111] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "유효량"은 요망되는 생물학적 효과를 유도하기에 충분한 양을 지칭한다.

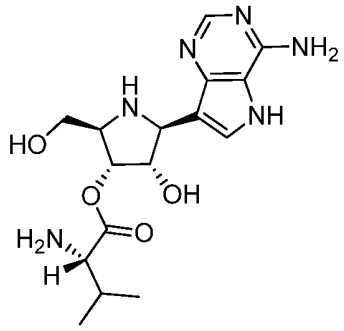
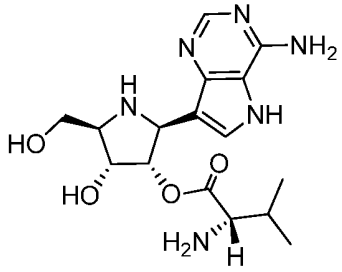
[0112] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "억제"는 객관적으로 측정가능한 양 또는 정도만큼의 감소를 의미한다. 다양한 구체예에서, "억제"는 관련 대조군과 비교하여 적어도 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 또는 95% 만큼의 감소를 의미한다. 일 구체예에서, "억제"는 100% 감소 즉, 중단 또는 제거를 의미한다.

[0113] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "대상체"는 포유동물을 지칭한다. 다양한 구체예에서, 대상체는 마우스, 쥐, 토끼, 고양이, 개, 돼지, 양, 말, 소 또는 인간외 영장류이다. 일 구체예에서, 대상체는 인간이다.

[0114] 특정 구체예에서, 화학식 I로 나타낸 화합물은 하기 및 이의 약제학적으로 허용되는 염으로 구성된 군으로부터 선택된다:


,

,

,

,

[0115]


, 및


[0116] .

[0117] 특정 구체예에서, 화학식 I로 나타낸 화합물은

[0118] (S)-((2R,3R,4S,5S)-5-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3,4-디히드록시피롤리딘-2-일)메틸 2-아미노-3-메틸부타노에이트;

[0119] (2S,3S)-((2R,3R,4S,5S)-5-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3,4-디히드록시피롤리딘-2-일)메틸 2-아미노-3-메틸펜타노에이트;

[0120] (S)-((2R,3R,4S,5S)-5-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3,4-디히드록시피롤리딘-2-일)메틸 2-아미노-4-메틸펜타노에이트;

[0121] (2S,2'S)-(2S,3S,4R,5R)-2-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-5-(히드록시메틸)피롤리딘-3,4-디일 비스(2-아미노-3-메틸부타노에이트);

[0122] (S)-(2R,3R,4S,5S)-5-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-4-히드록시-2-(히드록시메틸)피롤리딘-3-일 2-아미노-3-메틸부타노에이트;

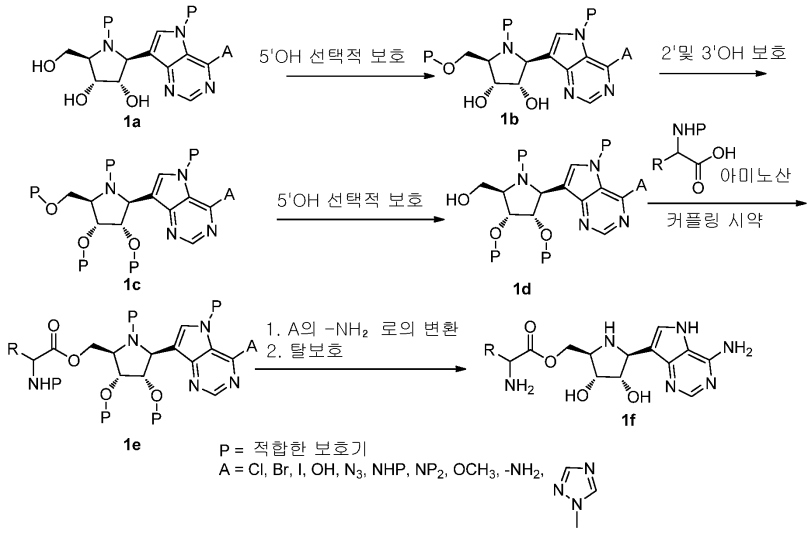
[0123] (S)-(2S,3S,4R,5R)-2-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-4-히드록시-5-(히드록시메틸)피롤리딘-3-일 2-아미노-3-메틸부타노에이트; 및 이의 약제학적으로 허용되는 염으로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0124] *본 발명의 화합물의 일반적 제조 방법:*

[0125] 헤테로사이클 및 헤테로아릴은 문헌에 보고된 바와 같은 공지된 방법으로부터 제조될 수 있다 (**a**. 문헌 [Ring system handbook, published by American Chemical Society edition 1993] 및 후속 보충물. **b**. 문헌 [*The Chemistry of Heterocyclic Compounds*; Weissberger, A., Ed.; Wiley: New York, 1962]. **c**. 문헌 [Nesynov, E. P.; Grekov, A. P. The chemistry of 1,3,4-oxadiazole derivatives. *Russ. Chem. Rev.* **1964**, *33*, 508-515]. **d**. 문헌 *[Advances in Heterocyclic Chemistry*; Katritzky, A. R., Boulton, A. J., Eds.; Academic Press: New York, 1966]. **e**. 문헌 [In *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*; Potts, K. T., Ed.; Pergamon Press: Oxford, 1984]. **f**. 문헌 [Eloy, F. A review of the chemistry of 1,2,4-oxadiazoles. *Fortschr. Chem. Forsch.* **1965**, *4*, pp 807-876]. **g**. 문헌 [*Adv. Heterocycl. Chem.* **1976**.] **h**. 문헌 [*Comprehensive Heterocyclic Chemistry*; Potts, K. T., Ed.; Pergamon Press: Oxford, 1984.] **i**. 문헌 [*Chem. Rev.* **1961** *61*, 87-127]. **j**. 문헌 [*1,2,4-Triazole*; John Wiley & Sons: New York, 1981; Vol 37]). 합성 동안 작용기는 보호될 수 있으며 후에 탈보호될 수 있다. 적합한 보호기의 예는 문헌 [*Protective Groups in Organic Synthesis*, fourth edition, edited by Greene and Wuts]에서 찾아볼 수 있다.

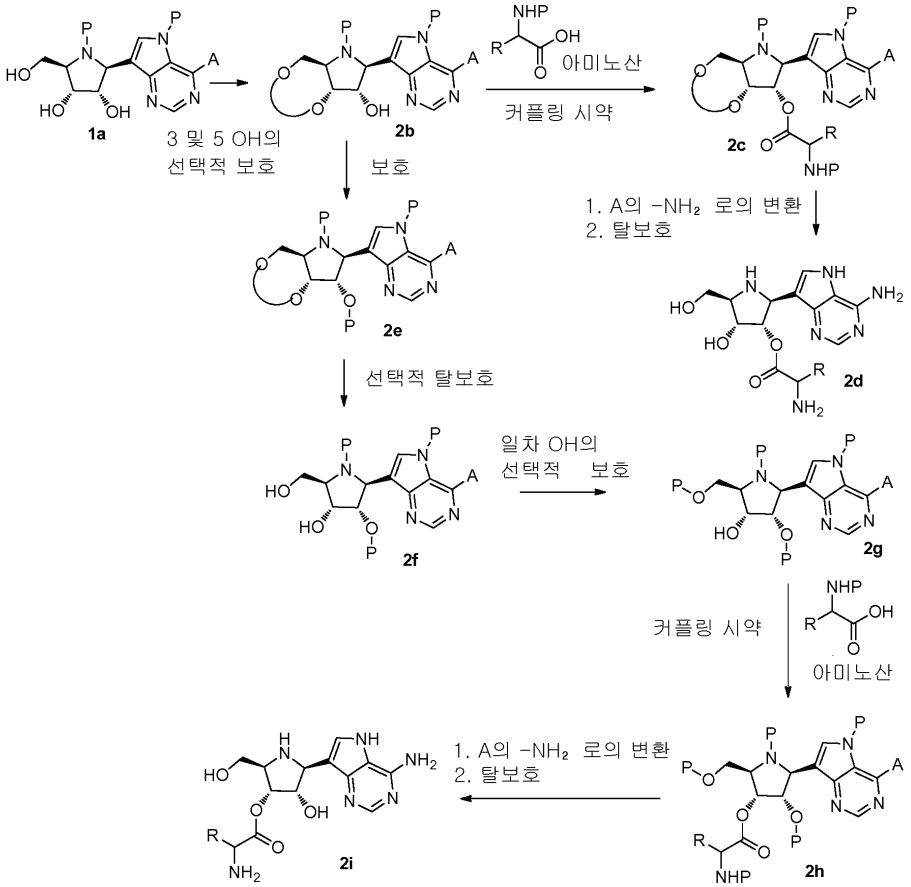
[0126] 본 발명의 화합물 및 이를 제조하는데 유용한 중간체를 제조하는데 이용될 수 있는 대표적인 공정은 하기 반응식에 도시되어 있다:

[0127] 반응식 1



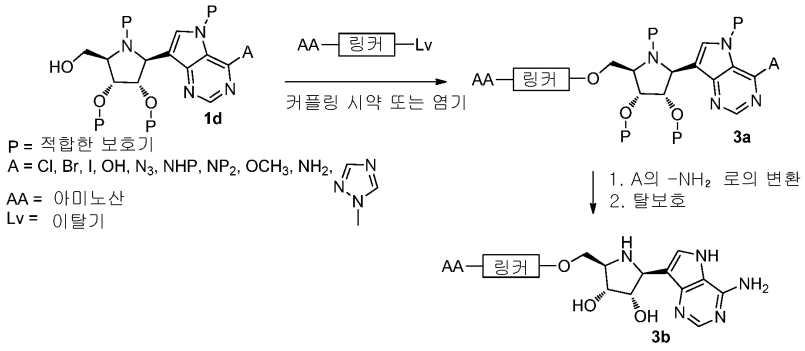
[0128]

[0129] 반응식 2



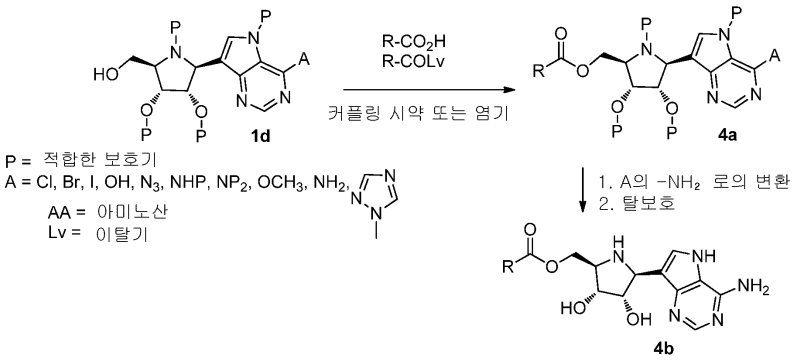
[0130]

[0131] 반응식 3



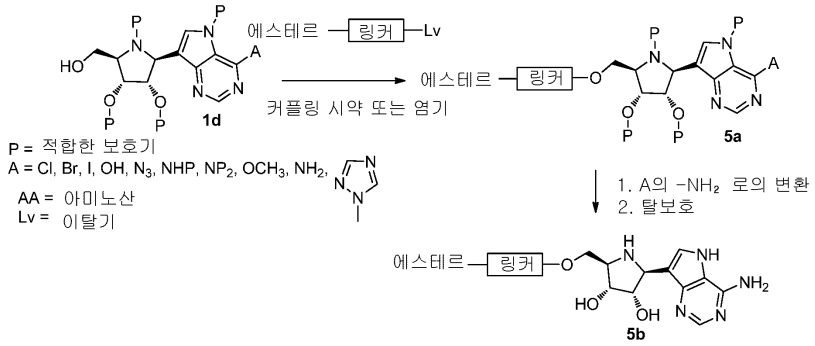
[0132]

[0133] 반응식 4



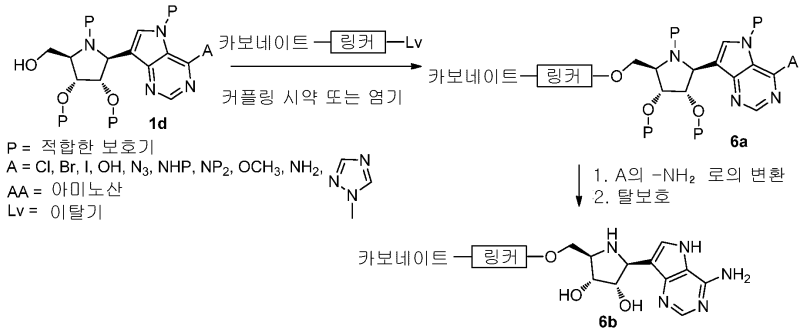
[0134]

[0135] 반응식 5



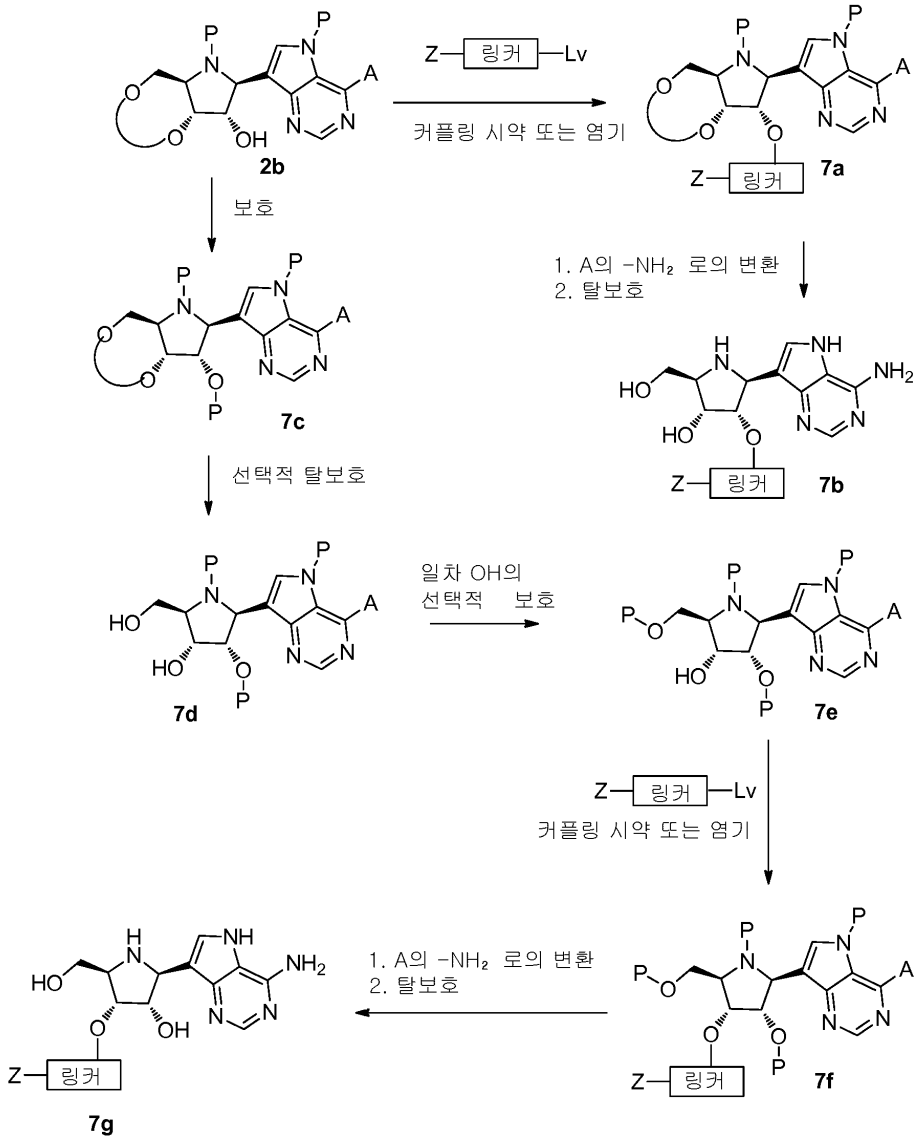
[0136]

[0137] 반응식 6



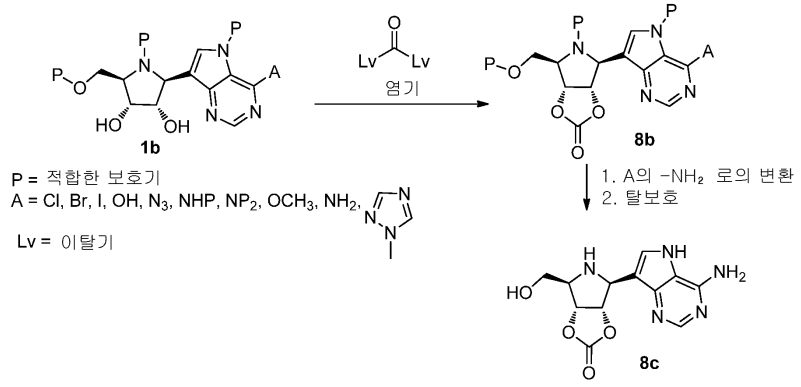
[0138]

[0139] 반응식 7



[0140]

[0141] 반응식 8



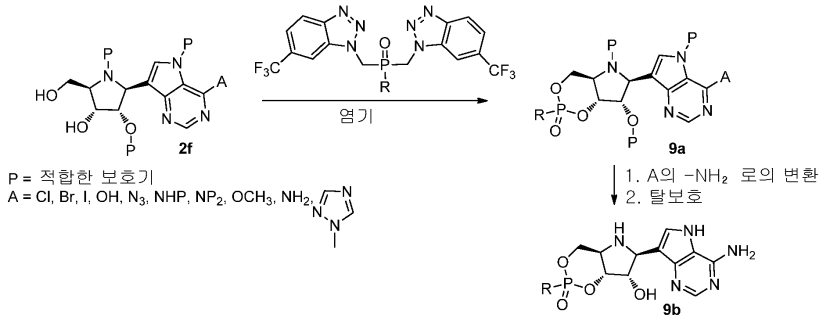
[0142]

[0143] 반응식 8에 대한 참조:

1. WO 2011/123586 A1 (참조로서 통합).
2. WO 2010/135520 A1 (참조로서 통합).
3. WO 2009/069095 A2 (참조로서 통합).
4. WO 2009/029729 A1 (참조로서 통합).
5. WO 2008/082601 A2 (참조로서 통합).
6. WO 2007/022073 A2 (참조로서 통합).
7. Hecker, Scott J.; Reddy, K. Raja; van Poelje, Paul D.; Sun, Zhili; Huang, Wenjian; Varkhedkar, Vaibhav; Reddy, M. Venkat; Fujitaki, James M.; Olsen, David B.; Koeplinger, Kenneth A.; Boyer, Serge H.; Linemeyer, David L.; MacCoss, Malcolm; Erion, Mark D; Journal of Medicinal Chemistry (2007), 50(16), 3891-3896.
8. Yadava, Virendra Singh; Asian Journal of Chemistry (2005), 17(4), 2857-2859.
9. U.S. Pat. Appl. Publ. 2005/0182252 A1 (참조로서 통합).
10. U.S. Pat. Appl. Publ. 2005/0070556 A1 (참조로서 통합).
11. Reitz, Allen B.; Goodman, Michael G.; Pope, Barbara L.; Argentieri, Dennis C.; Bell, Stanley C.; Burr, Levelle E.; Chourmouzis, Erika; Come, Jon; Goodman, Jacquelyn H.; Klaubert, Dieter H.; Maryanoff, Bruce E.; McDonnell, Mark E.; Rampulla, Marianne S.; Schott, Mary R.; Chen, Robert; Journal of Medicinal Chemistry (1994), 37(21), 3561-78.

[0144]

[0145] 반응식 9



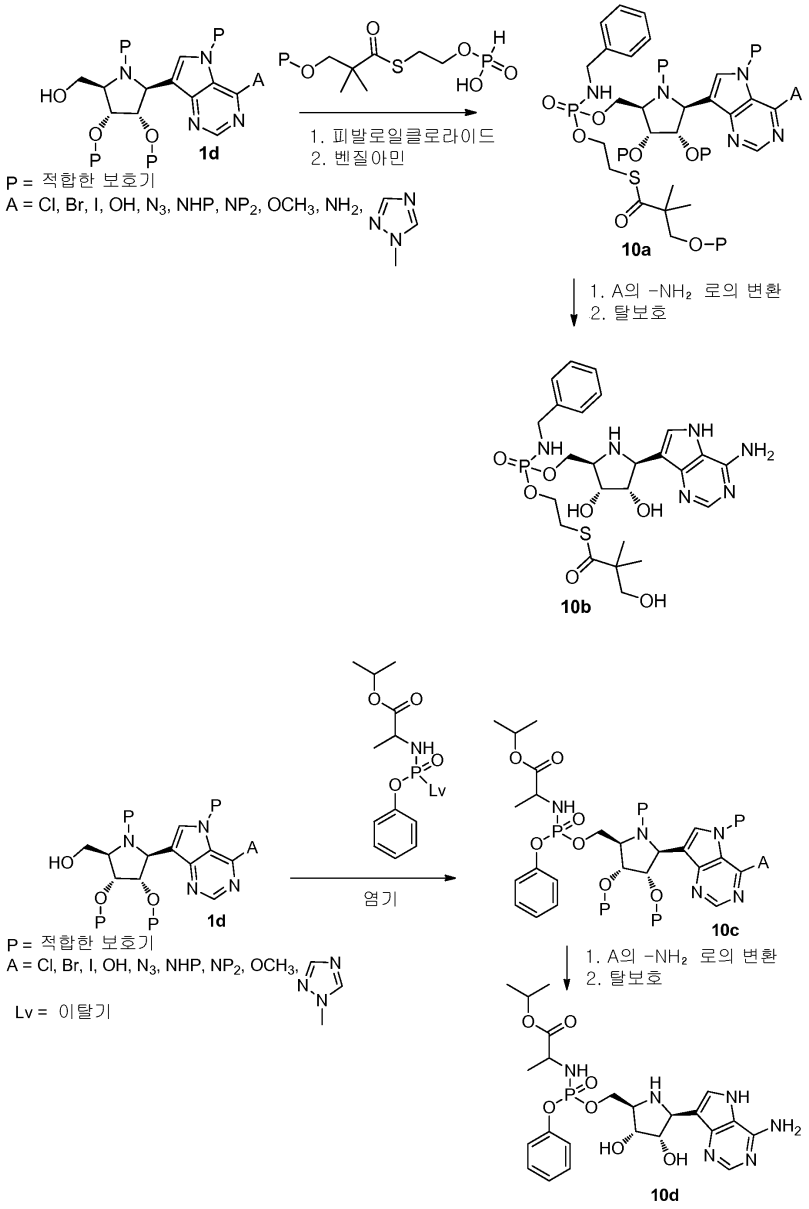
[0146]

[0147] 반응식 9에 대한 참조:

1. Roelen, H. C. P. F.; De Vroom, E.; Wang, A. H. J.; Van der Marel, G. A.; Van Boom, J. H; Nucleosides & Nucleotides (1992), 11(1), 141-56.
2. Kaji, Akira. (Japan) (1988), 5 pp. CODEN: JKXXAF JP 63135399 A 19880607 Patent written in Japanese. Application: JP 1986-282021 19861128.

[0148]

[0149] 반응식 10



[0150]

[0151] 반응식 10에 대한 참조:

1. U.S. Pat. Appl. Publ. 2010/0203015 A1 (참조로서 통합).
2. WO 2009/132123 A1 (참조로서 통합).
3. Hatton, Wilfried; Hunault, Julie; Egorov, Maxim; Len, Christophe; Pipelier, Muriel; Blot, Virginie; Silvestre, Virginie; Fargeas, Valerie; Ane, Adjou; McBrayer, Tami; Detorio, Mervi; Cho, Jong-Hyun; Bourgougnon, Nathalie; Dubreuil, Didier; Schinazi, Raymond F.; Lebreton, Jacques; European Journal of Organic Chemistry (2011), 2011(36), 7390-7399.
4. Zhang, Hong-wang; Zhou, Longhu; Coats, Steven J.; McBrayer, Tamara R.; Tharnish, Phillip M.; Bondada, Lavanya; Detorio, Mervi; Amichai, Sarah A.; Johns, Melissa D.; Whitaker, Tony; Schinazi, Raymond F; Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters (2011), 21(22), 6788-6792.
5. Ross, Bruce S.; Ganapati Reddy, P.; Zhang, Hai-Ren; Rachakonda, Suguna; Sofia, Michael J; Journal of Organic Chemistry (2011), 76(20), 8311-8319.
6. McGuigan, Christopher; Madela, Karolina; Aljarah, Mohamed; Gilles, Arnaud; Battina, Srinivas K.; Ramamurty, Changalvala V. S.; Srinivas Rao, C.; Vernachio, John; Hutchins, Jeff; Hall, Andrea; Kolykhalov, Alexander; Henson, Geoffrey; Chamberlain, Stanley; Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters (2011), 21(19), 6007-6012.
7. Cho, Jong Hyun; Amblard, Franck; Coats, Steven J.; Schinazi, Raymond F; Tetrahedron (2011), 67(30), 5487-5493.
8. WO 2010/135520 A1 (참조로서 통합).
9. Perlikova, Pavla; Pohl, Radek; Votruba, Ivan; Shih, Robert; Birkus, Gabriel; Cihlar, Tomas; Hocek, Michal; Bioorganic & Medicinal Chemistry (2011), 19(1), 229-242.
10. WO 2010/108135 A1 (참조로서 통합).
11. WO 2010/130726 A1 (참조로서 통합).
12. WO 2010/030858 A1 (참조로서 통합).
13. WO 2010/108140 A1 (참조로서 통합).
14. WO 2010/026153 A1 (참조로서 통합).
15. WO 2010/081082 A2 (참조로서 통합).
16. McGuigan, Christopher; Madela, Karolina; Aljarah, Mohamed; Gilles, Arnaud; Brancale, Andrea; Zonta, Nicola; Chamberlain, Stanley; Vernachio, John;

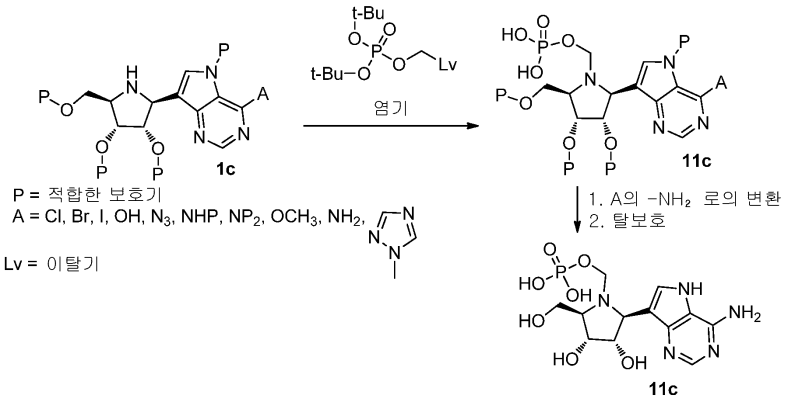
[0152]

Hutchins, Jeff; Hall, Andrea; Ames, Brenda; Gorovits, Elena; Ganguly, Babita; Kolykhalov, Alexander; Wang, Jin; Muhammad, Jerry; Patti, Joseph M.; Henson, Geoffrey; Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters (2010), 20(16), 4850-4854.

17. Derudas, Marco; Brancale, Andrea; Naesens, Lieve; Neyts, Johan; Balzarini, Jan; McGuigan, Christopher; Bioorganic & Medicinal Chemistry (2010), 18(7), 2748-2755.
18. Mehellou, Youcef; Valente, Rocco; Mottram, Huw; Walsby, Elisabeth; Mills, Kenneth I.; Balzarini, Jan; McGuigan, Christopher; Bioorganic & Medicinal Chemistry (2010), 18(7), 2439-2446.
19. McGuigan, Christopher; Gilles, Arnaud; Madela, Karolina; Aljarah, Mohamed; Holl, Sabrina; Jones, Sarah; Vernachio, John; Hutchins, Jeff; Ames, Brenda; Bryant, K. Dawn; Gorovits, Elena; Ganguly, Babita; Hunley, Damound; Hall, Andrea; Kolykhalov, Alexander; Liu, Yule; Muhammad, Jerry; Raja, Nicholas; Walters, Robin; Wang, Jin; Chamberlain, Stanley; Henson, Geoffrey; Journal of Medicinal Chemistry (2010), 53(13), 4949-4957.
20. Leisvuori, Anna; Aiba, Yuichiro; Loennberg, Tuomas; Poijaervi-Virta, Paeivi; Blatt, Laurence; Beigelman, Leo; Loennberg, Harri; Organic & Biomolecular Chemistry (2010), 8(9), 2131-2141.
21. Mehellou, Youcef; Balzarini, Jan; McGuigan, Christopher; Antiviral Chemistry & Chemotherapy (2010), 20(4), 153-160.
22. Rondla, Ramu; Coats, Steven J.; McBrayer, Tamara R.; Grier, Jason; Johns, Melissa; Tharnish, Phillip M.; Whitaker, Tony; Zhou, Longhu; Schinazi, Raymond F; Antiviral Chemistry & Chemotherapy (2009), 20(2), 99-106.
23. WO 2008/121941 A1 (참조로서 통합).
24. WO 2009/086192 A1 (참조로서 통합).
25. McGuigan, Christopher; Kelleher, Mary Rose; Perrone, Plinio; Mulready, Sinead; Luoni, Giovanna; Daverio, Felice; Rajyaguru, Sonal; Le Pogam, Sophie; Najera, Isabel; Martin, Joseph A.; Klumpp, Klaus; Smith, David B; Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters (2009), 19(15), 4250-4254.
26. McGuigan, Christopher; Perrone, Plinio; Madela, Karolina; Neyts, Johan; Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters (2009), 19(15), 4316-4320.

[0153]

[0154] 반응식 11



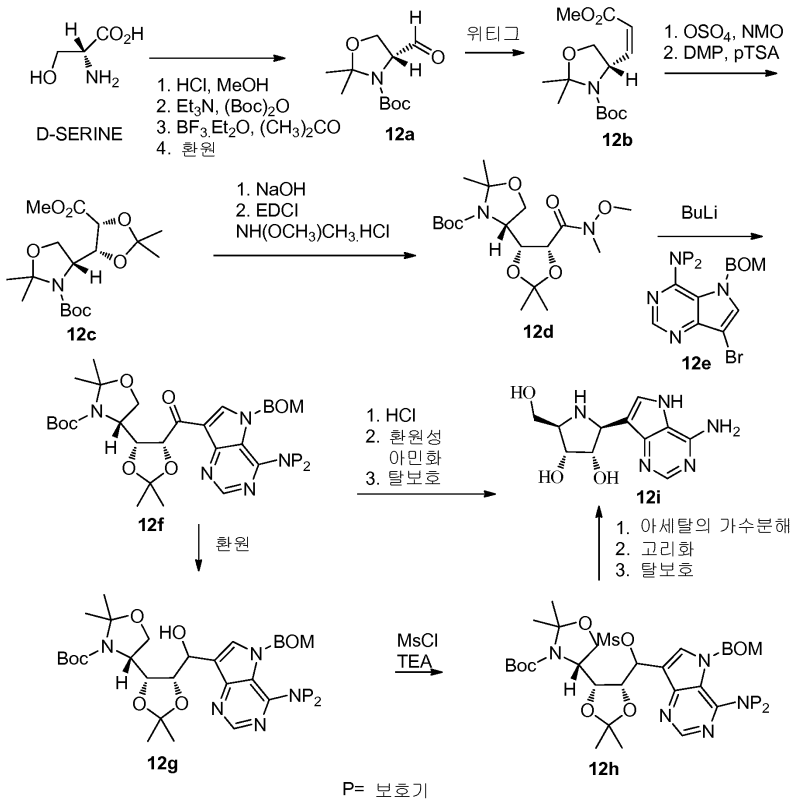
[0155]

[0156] 반응식 11에 대한 참조:

1. WO 2011/150016 A1 (참조로서 통합).
2. WO 2010/150761 A1 (참조로서 통합).
3. WO 2011/068899 A1 (참조로서 통합).
4. WO 2011/084849 A1 (참조로서 통합).
5. U.S. Pat. Appl. Publ. 2011/0166128 A1 (참조로서 통합).
6. WO 2011/084846 A1 (참조로서 통합).
7. CN 102060874 A.
8. WO 2011/031979 A1 (참조로서 통합).
9. WO 2011/002999 A1 (참조로서 통합).
10. WO 2010/064735 A1 (참조로서 통합).
11. WO 2010/036638 A2 (참조로서 통합).
12. WO 2010/079443 A1 (참조로서 통합).
13. WO 2010/010017 A1 (참조로서 통합).
14. WO 2010/093789 A2 (참조로서 통합).

[0157]

[0158] 반응식 12



[0159]

[0160] 가너의 알데히드 화합물 12a에 대한 참조:

1. Upadhyay, Puspesh K.; Kumar, Pradeep; Synthesis (2010), (18), 3063-3066.
2. U.S. Pat. Appl. Publ. 2010/0152098 A1 (참조로서 통합).
3. Badarau, Eduard; Suzenet, Franck; Finaru, Adriana-Luminita; Guillaumet, Gerald; European Journal of Organic Chemistry (2009), (21), 3619-3627.
4. Belanger, Dominique; Tong, Xia; Soumare, Sadia; Dory, Yves L.; Zhao, Yue; Chemistry-A European Journal (2009), 15(17), 4428-4436.
5. Osada, Satoshi; Ishimaru, Takako; Kawasaki, Hiroshi; Kodama, Hiroaki; Heterocycles (2006), 67(1), 421-431.
6. Xin, Cong; Liao, Qing-Jiang; Yao, Zhu-Jun; Journal of Organic Chemistry (2004), 69(16), 5314-5321.
7. Dondoni, Alessandro; Perrone, Daniela; Organic Syntheses (2000), 77 64-77.
8. Campbell, Andrew D.; Raynham, Tony M.; Taylor, Richard J. K; Synthesis (1998), (12), 1707-1709.

[0161]

[0162] 화합물 12b에 관련된 위티그 반응에 대한 참조:

1. Ma, Zhiqiang; Lu, Jianming; Wang, Xiao; Chen, Chuo; Chemical Communications (Cambridge, United Kingdom) (2011), 47(1), 427-429.
2. Spangenberg, Thomas; Schoenfelder, Angele; Breit, Bernhard; Mann, Andre; European Journal of Organic Chemistry (2010), (31), 6005-6018.
3. Osman, Sami; Albert, Brian J.; Wang, Yanping; Li, Miaosheng; Czaicki, Nancy L.; Koide, Kazunori; Chemistry--A European Journal (2011), 17(3), 895-904,
4. Passiniemi, Mikko; Koskinen, Ari M. P; Synthesis (2010), (16), 2816-2822.
5. Thander, Latibuddin; Sarkar, Kaushik; Chattopadhyay, Shital K; Tetrahedron: Asymmetry (2009), 20(11), 1213-1216.
6. Chiou, Wen-Hua; Schoenfelder, Angele; Mann, Andre; Ojima, Iwao; Pure and Applied Chemistry (2008), 80(5), 1019-1024.
7. Ribes, Celia; Falomir, Eva; Carda, Miguel; Marco, J. Alberto; Journal of Organic Chemistry (2008), 73(19), 7779-7782.
8. Mochizuki, Akiyoshi; Naito, Hiroyuki; Nakamoto, Yumi; Uoto, Kouichi; Ohta, Toshiharu; Heterocycles (2008), 75(7), 1659-1671.
9. Spangenberg, Thomas; Schoenfelder, Angele; Breit, Bernhard; Mann, Andre; Organic Letters (2007), 9(20), 3881-3884.
10. Lebel, Helene; Ladjel, Chehla; Organometallics (2008), 27(11), 2676-2678.
11. Liu, Fa; Hu, Tai-Shan; Yao, Zhu-Jun; Tetrahedron (2005), 61(21), 4971-4981.
12. Shigeki Sano, Tomoka Takehisa, Shiho Ogawa, Kenji yokoyama and Yoshimitsu Nagao Chem. Pharm. Bull. 50 (9) 1300-1302 (2002).
13. Raghavan, Sadagopan; Rajender, A.; Joseph, Suju C.; Rasheed, M. Abdul; Ravi Kumar, K; Tetrahedron: Asymmetry (2004), 15(2), 365-379.

[0163]

[0164] 12c와 관련된 화합물에 대한 디히드록실화에 대한 참조:

1. Dondoni, Alessandro; Merino, Pedro; Perrone, Daniela; Tetrahedron (1993), 49(14), 2939-56.
2. Ribes, Celia; Falomir, Eva; Carda, Miguel; Marco, J. Alberto; Journal of Organic Chemistry (2008), 73(19), 7779-7782.
3. Upadhyay, Puspesh K.; Kumar, Pradeep; Synthesis (2010), (18), 3063-3066.

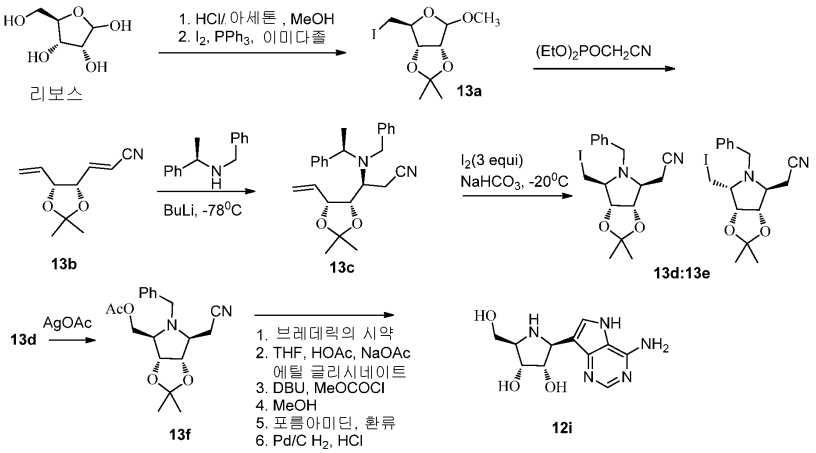
[0165]

[0166] 염기 12e의 합성에 관한 참조:

Bambuch, Vitezslav; Otmar, Miroslav; Pohl, Radek; Masojidkova, Milena; Holy, Antonin; Tetrahedron (2007), 63(7), 1589-1601.

[0167]

[0168] 반응식 13



[0169]

[0170] 화합물 13a의 제조에 대한 참조:

1. Mishra, Girija Prasad; Rao, Batchu Venkateswara; Tetrahedron: Asymmetry (2011), 22(7), 812-817.
2. Brock, E. Anne; Davies, Stephen G.; Lee, James A.; Roberts, Paul M.; Thomson, James E; Organic Letters (2011), 13(7), 1594-1597.
3. WO 2010/085377 A2 (참조로서 통합).
4. Yadav, J. S.; Reddy, P. Narayana; Reddy, B. V. Subba; Synlett (2010), (3), 457-461.
5. Song, Kai; Zheng, Guo-jun; Huaxue Shiji (2010), 32(2), 171-172.

[0171]

6. Prabhakar, Peddikotla; Rajaram, Singanaboina; Reddy, Dorigondla Kumar; Shekar, Vanam; Venkateswarlu, Yenamandra; Tetrahedron: Asymmetry (2010), 21(2), 216-221.
7. CN 101182342 A.
8. Baird, Lynton J.; Timmer, Mattie S. M.; Teesdale-Spittle, Paul H.; Harvey, Joanne E; Journal of Organic Chemistry (2009), 74(6), 2271-2277.
9. Wang, Xiang-cheng; Wang, Gang; Qu, Gang-lian; Huaxue Shijie (2008), 49(4), 226-228.
10. Ivanova, N. A.; Valiullina, Z. R.; Shitikova, O. V.; Miftakhov, M. S; Russian Journal of Organic Chemistry (2007), 43(5), 742-746.
11. Braga, Fernanda Gambogi; Coimbra, Elaine Soares; Matos, Magnum de Oliveira; Lino Carmo, Arturene Maria; Cancio, Marisa Damato; da Silva, Adilson David; European Journal of Medicinal Chemistry (2007), 42(4), 530-537.
12. Wender, Paul A.; Bi, F. Christopher; Buschmann, Nicole; Gosselin, Francis; Kan, Cindy; Kee, Jung-Min; Ohmura, Hirofumi; Organic Letters (2006), 8(23), 5373-5376.
13. Fei, Xiangshu; Wang, Ji-Quan; Miller, Kathy D.; Sledge, George W.; Hutchins, Gary D.; Zheng, Qi-Huang; Nuclear Medicine and Biology (2004), 31(8), 1033-1041.
14. Abdel-Rahman, Adel A.-H.; Abdel-Megied, Ahmed E.-S.; Goda, Adel E.-S.; Zeid, Ibrahim F.; El Ashry, El Sayed H; Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids (2003), 22(11), 2027-2038.
15. Palmer, Andreas M.; Jager, Volker; European Journal of Organic Chemistry (2001), (7), 1293-1308.
16. Paquette, Leo A.; Bailey, Simon; Journal of Organic Chemistry (1995), 60(24), 7849-56.
17. Classon, Bjoern; Liu, Zhengchun; Samuelsson, Bertil; Journal of Organic Chemistry (1988), 53(26), 6126-30.
18. Kissman, Henry M.; Baker, B. R; Journal of the American Chemical Society (1957), 79 5534-40.

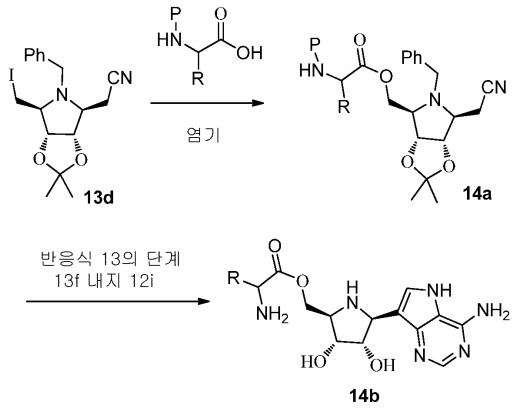
[0172]

[0173] 타입 **13d**의 화합물 제조에 관련된 고리화에 대한 참조:

1. Davies, Stephen G.; Durbin, Matthew J.; Goddard, Euan C.; Kelly, Peter M.; Kurosawa, Wataru; Lee, James A.; Nicholson, Rebecca L.; Price, Paul D.; Roberts, Paul M.; Russell, Angela J.; Scott, Philip M.; Smith, Andrew D; Organic & Biomolecular Chemistry (2009), 7(4), 761-776.
2. Davies, Stephen G.; Nicholson, Rebecca L.; Price, Paul D.; Roberts, Paul M.; Russell, Angela J.; Savory, Edward D.; Smith, Andrew D.; Thomson, James E; Tetrahedron: Asymmetry (2009), 20(6-8), 758-772.
3. Davies, Stephen G.; Nicholson, Rebecca L.; Price, Paul D.; Roberts, Paul. M.; Smith, Andrew D; Synlett (2004), (5), 901-903.
4. Brock, E. Anne; Davies, Stephen G.; Lee, James A.; Roberts, Paul M.; Thomson, James E; Organic Letters (2011), 13(7), 1594-1597.
5. Gary B. Evans, Richard H. Furneaux, Andrzej Lewandowicz, Vern L. Schramm, and Peter C. Tyler, Journal of Medicinal Chemistry (2003), 46, 3412-3423.

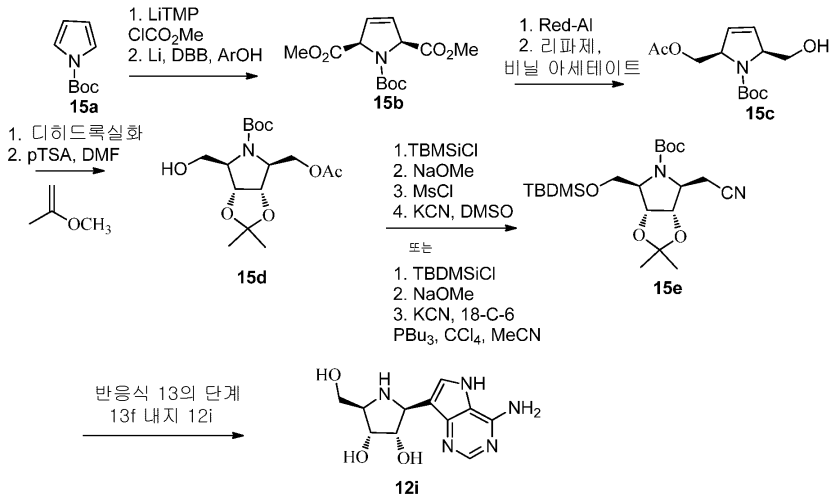
[0174]

[0175] 반응식 14



[0176]

[0177] 반응식 15



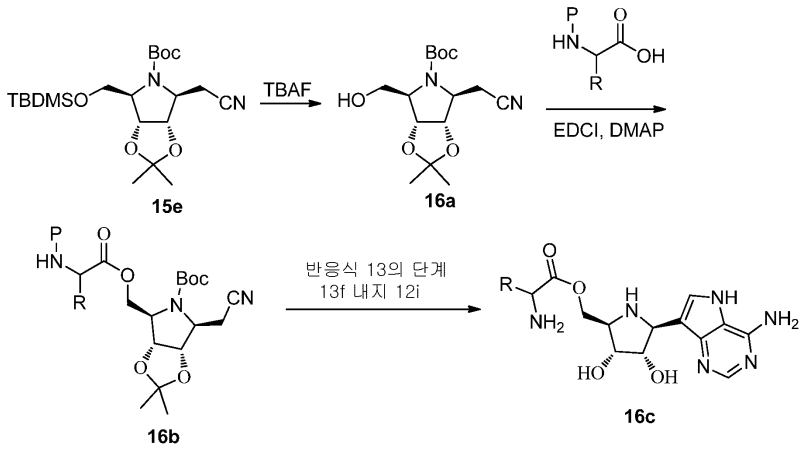
[0178]

[0179] 반응식 15에 대한 참조:

1. Chenevert, Robert; Jacques, Frederic; Giguere, Pascall; Dasser, Mohammed; Tetrahedron: Asymmetry (2008), 19(11), 1333-1338.
2. Donohoe, Timothy J.; Thomas, Rhian E.; Cheeseman, Matthew D.; Rigby, Caroline L.; Bhalay, Gurdip; Linney, Ian D; Organic Letters (2008), 10(16), 3615-3618.
3. Hanessian, Stephen; Therrien, Eric; Warrier, Jayakumar S.; Charron, Guillaume; Heterocycles (2006), 70 461-476.
4. Hamada, Yasumasa; Kawai, Akiyoshi; Kohno, Yasushi; Hara, Osamu; Shioiri, Takayuki; Journal of the American Chemical Society (1989), 111(4), 1524-5. (for Alcohol to Cyano).

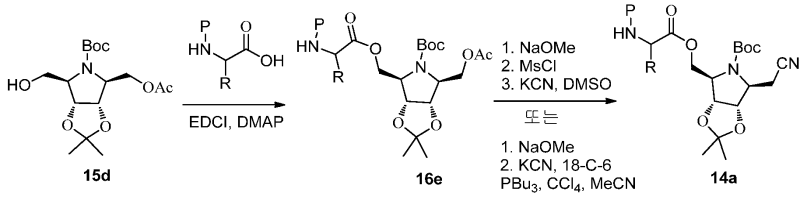
[0180]

[0181] 반응식 16A



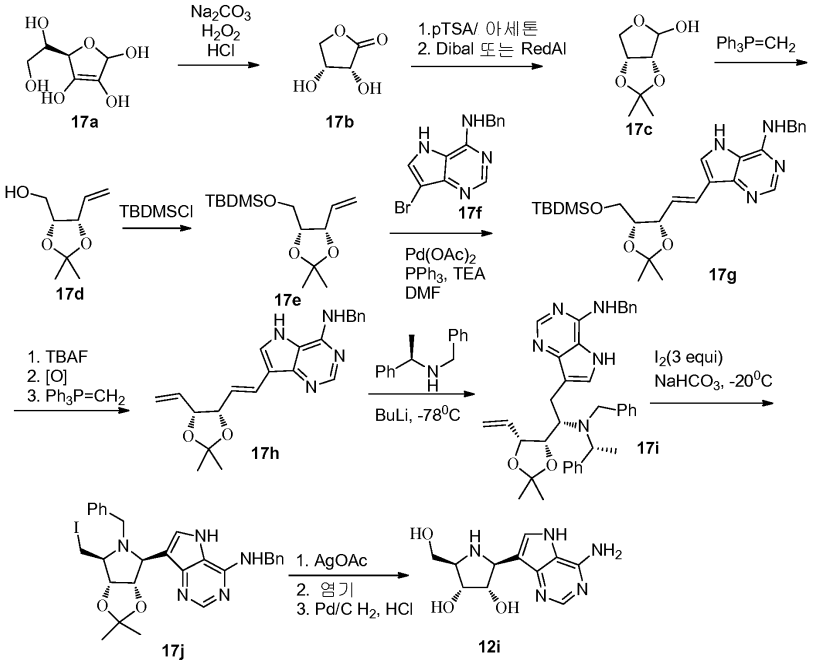
[0182]

[0183] 반응식 16B



[0184]

[0185] 반응식 17



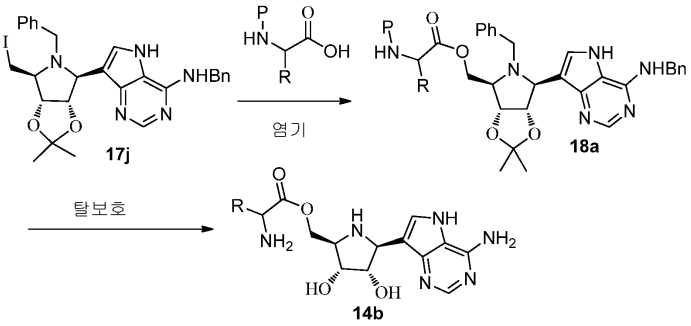
[0186]

[0187] 반응식 17에 대한 참조:

1. Nikolaos G. Argyropoulos and Vassiliki C. Sarli; Tetrahedron Letters 45 (2004) 4237–4240.
2. Yuji Matsuya, Sho-ichi Takayanagi, and Hideo Nemoto; Chemistry A European Journal 2008, 14, 5275-5281.
3. Hyo-Joong; Ricardo, Alonso; Illangkoon, Heshan I.; Kim, Myong Jung; Carrigan, Matthew A.; Frye, Fabianne; Benner, Steven A; Journal of the American Chemical Society (2011), 133(24), 9457-9468.
4. Paudyal, Mahesh P.; Rath, Nigam P.; Spilling, Christopher D; Organic Letters (2010), 12(13), 2954-2957.
5. Scarpi, Dina; Occhiato, Ernesto G.; Guarna, Antonio. Dipartimento di Chimica Organica 'U. Schiff; Tetrahedron: Asymmetry (2009), 20(3), 340-350.
6. WO 2008/108508 A1 (참조로서 통합).
7. WO 2008/010776 A1 (참조로서 통합).
8. U.S. Pat. Appl. Publ. 2007/0265333 A1 (참조로서 통합).
9. Vu, Nguyen Quang; Chai, Christina L. L.; Lim, Kok Peng; Chia, Sze Chen; Chen, Anqi; Tetrahedron (2007), 63(30), 7053-7058.
10. WO 99/21858 A1 (참조로서 통합).
11. Bambuch, Vitezslav; Otmar, Miroslav; Pohl, Radek; Masojidkova, Milena; Holy, Antonin; Tetrahedron (2007), 63(7), 1589-1601.

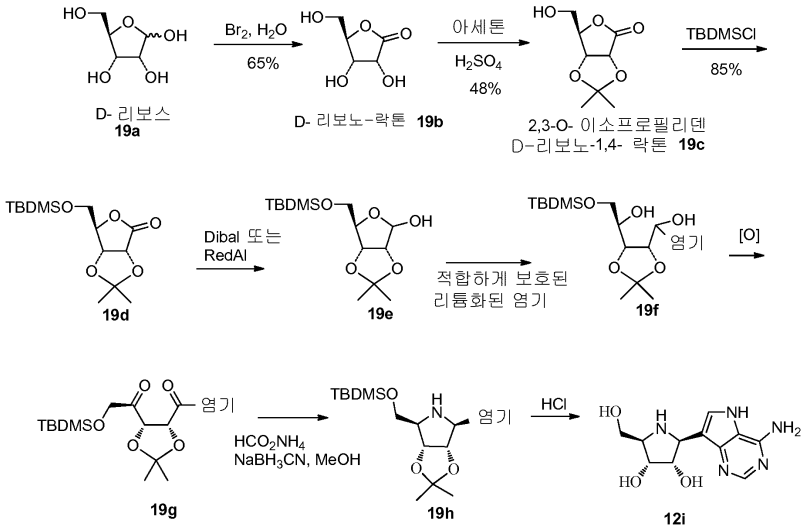
[0188]

[0189] 반응식 18



[0190]

[0191] 반응식 19



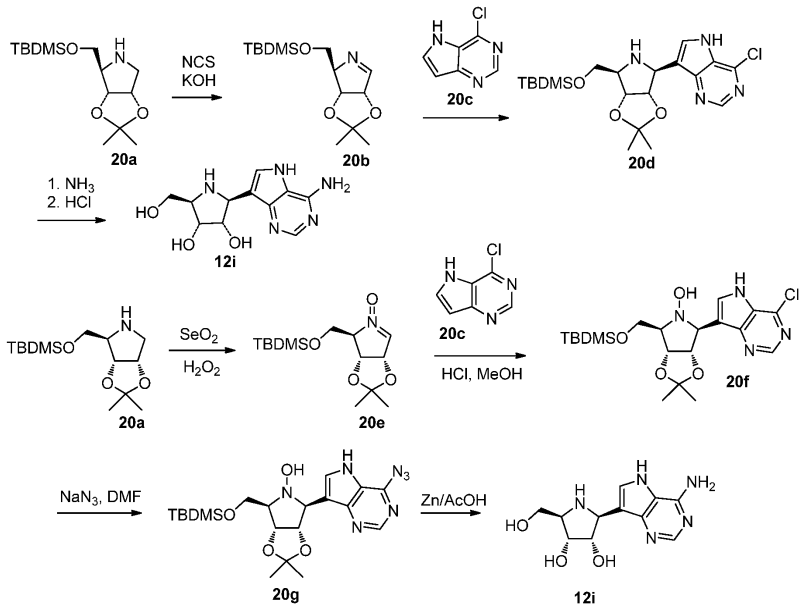
[0192]

[0193] 반응식 19에 대한 참조:

Yokoyama, Masataka; Akiba, Takahiro; Ochiai, Yoshie; Momotake, Atsuya; Togo, Hideo; Journal of Organic Chemistry (1996), 61(17), 6079-6082.

[0194]

[0195] 반응식 20



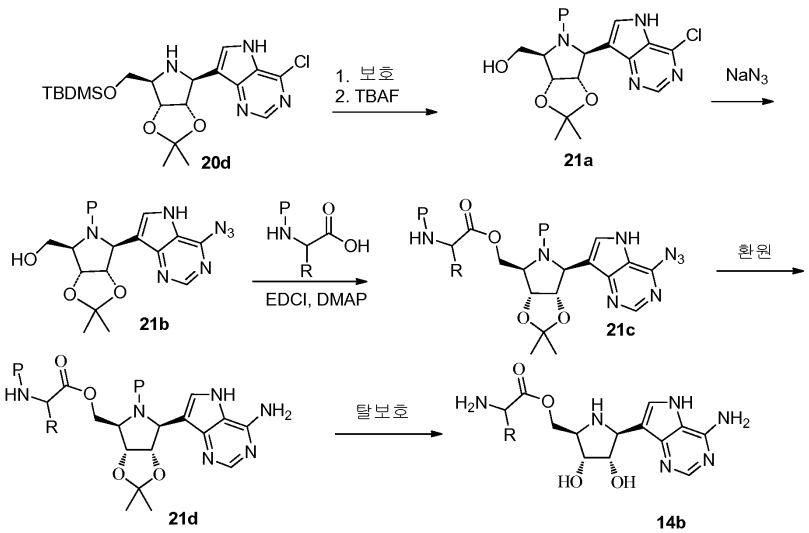
[0196]

[0197] 반응식 20에 대한 참조:

1. Su, Jia-Kun; Jia, Yue-Mei; He, Ruirui; Rui, Pei-Xin; Han, Nanyin; He, Xihui; Xiang, Junfeng; Chen, Xin; Zhu, Jinghua; Yu, Chu-Yi; Synlett (2010), (11), 1609-1616.
2. Li, Xiao-Liu; Qin, Zhan-Bin; Wang, Rui; Chen, Hua; Zhang, Ping-Zhu; Tetrahedron (2011), 67(10), 1792-1798.

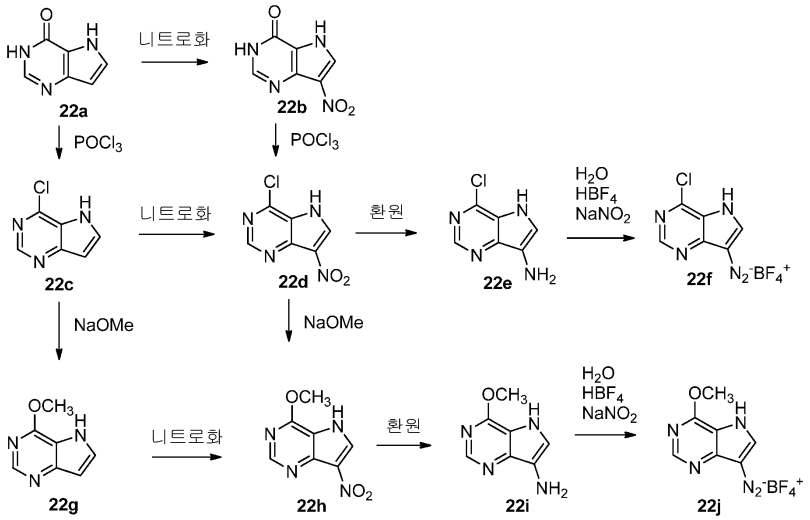
[0198]

[0199] 반응식 21



[0200]

[0201] 반응식 22



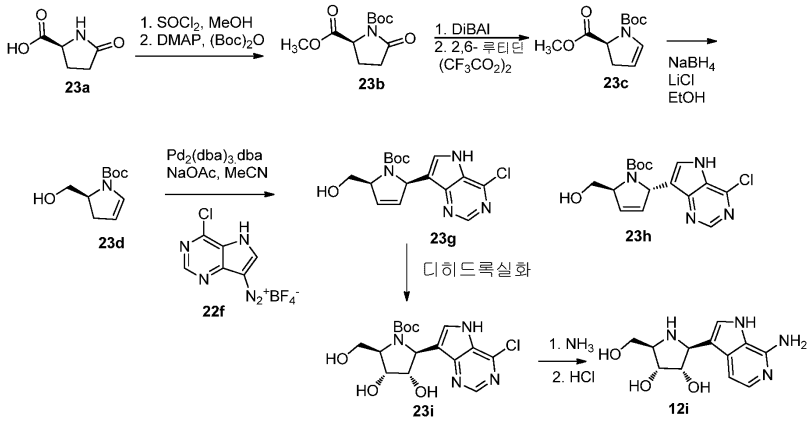
[0202]

[0203] 7-니트로-3H-피롤[3,2-d]피리미딘-4(5H)-온에 대한 참조:

1. WO 2008/063669 A1 (참조로서 통합).
2. U.S. Pat. Appl. Publ. 2007/0155738 A1 (참조로서 통합).

[0204]

[0205] 반응식 23



[0206]

[0207] (S)-1-3차-부틸 2-메틸 5-옥소피롤리딘-1,2-디카르복실레이트 (**23c**) 제조를 위한 참조:

1. U.S. Pat. Appl. Publ. 2011/0237636 A1 (참조로서 통합).
2. WO 2011/015537 A1 (참조로서 통합).

[0208]

[0209] (S)-3차-부틸 2-(히드록시메틸)-2,3-디히드로-1H-피롤-1-카르복실레이트 (**23d**) 제조를 위한 참조:

1. Oliveira, Denilson F.; Miranda, Paulo C. M. L.; Correia, Carlos R. D; Journal of Organic Chemistry (1999), 64(18), 6646-6652.
2. Schumacher, Kelly K.; Jiang, Jianjun; Joullie, Madeleine M; Tetrahedron: Asymmetry (1998), 9(1), 47-53.
3. Dormoy, Jean Robert; Castro, Bertrand; Chappuis, Georges; Fritschi, Ulrich Stefan; Grogg, Peter; Angewandte Chemie (1980), 92(9), 761.
4. Woo, Grace H. C.; Kim, Se-Ho; Wipf, Peter; Tetrahedron (2006), 62(45), 10507-10517.
5. Moro, Angelica Venturini; Rodrigues dos Santos, Marcelo; Correia, Carlos Roque D; European Journal of Organic Chemistry (2011), 2011(36), 7259-7270.

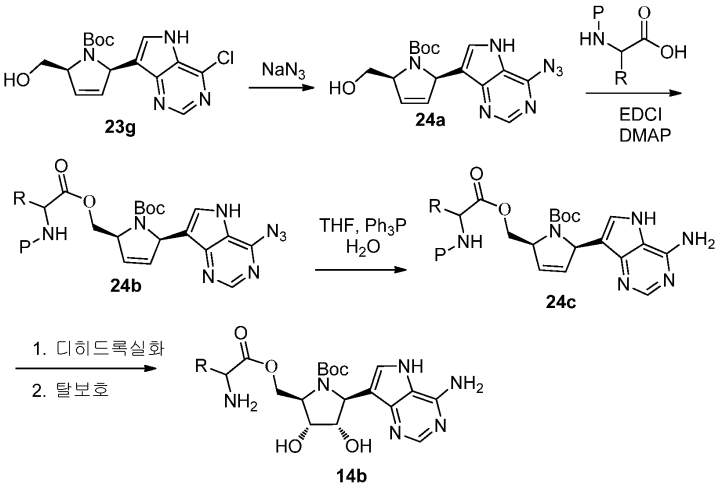
[0210]

[0211] 화합물 **23g** 및 **23h**의 제조에 관련된 Heck 커플링에 대한 참조:

Severino, Elias A.; Costenaro, Edson R.; Garcia, Ariel L. L.; Correia, Carlos Roque D; Organic Letters (2003), 5(3), 305-308.

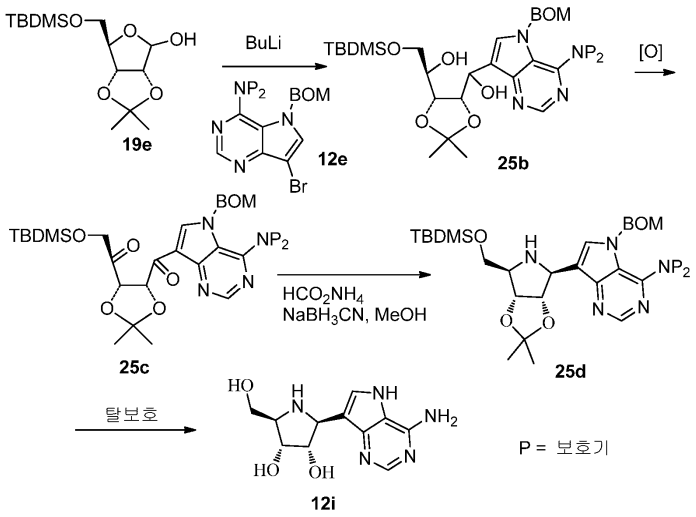
[0212]

[0213] 반응식 24



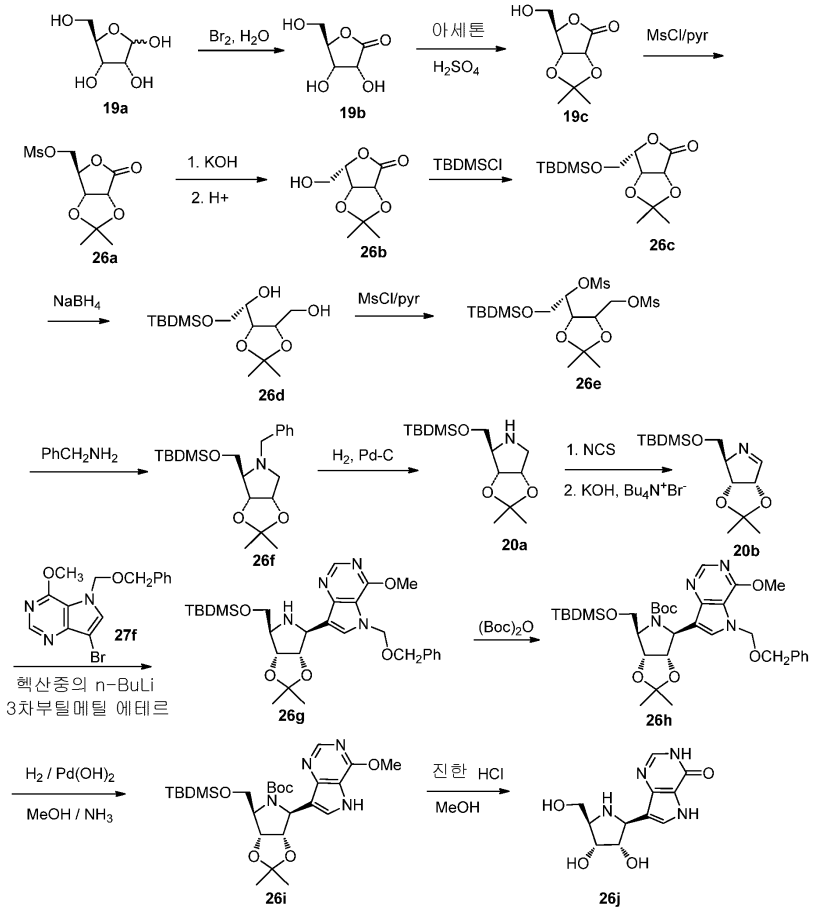
[0214]

[0215] 반응식 25



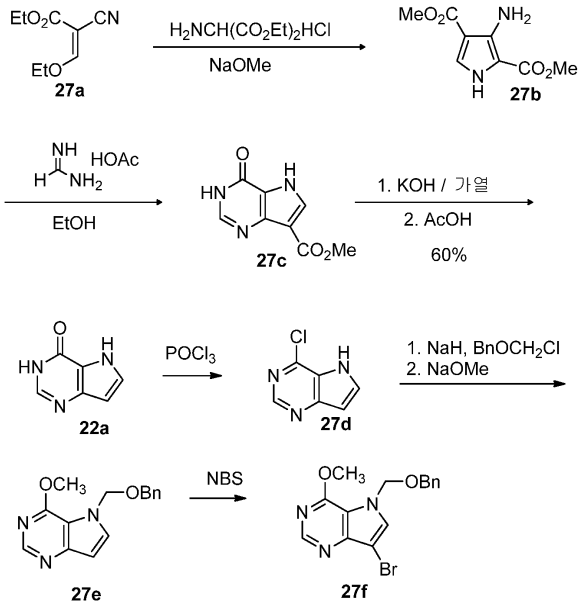
[0216]

[0217] 반응식 26



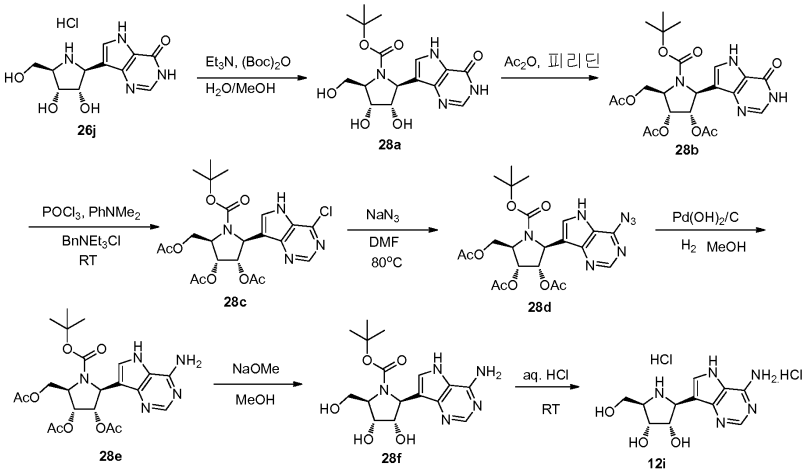
[0218]

[0219] 반응식 27



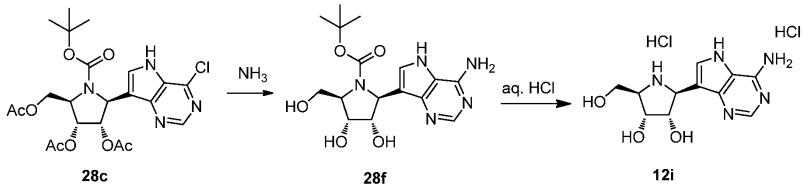
[0220]

[0221] 반응식 28



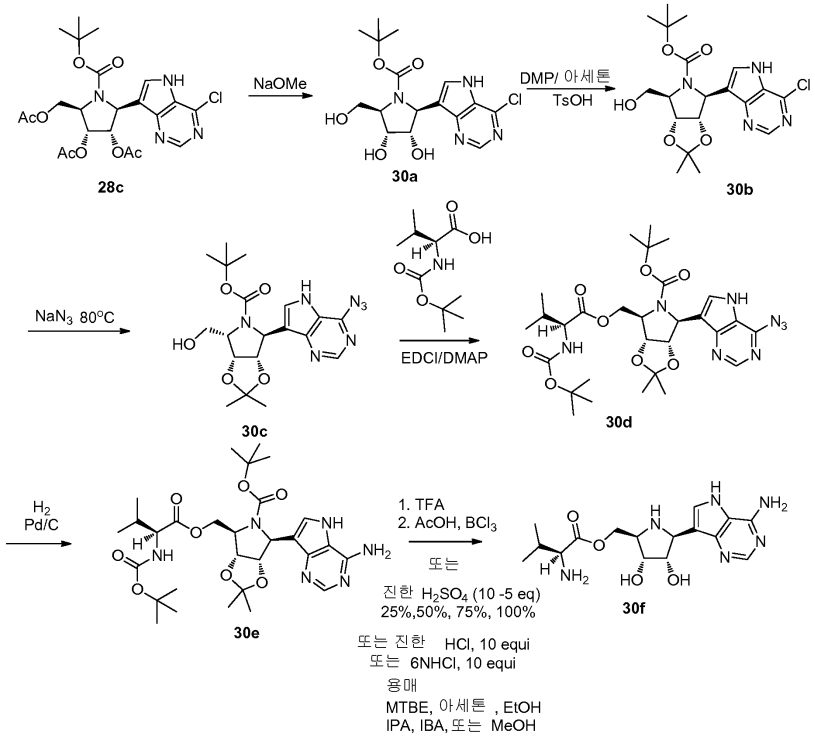
[0222]

[0223] 반응식 29



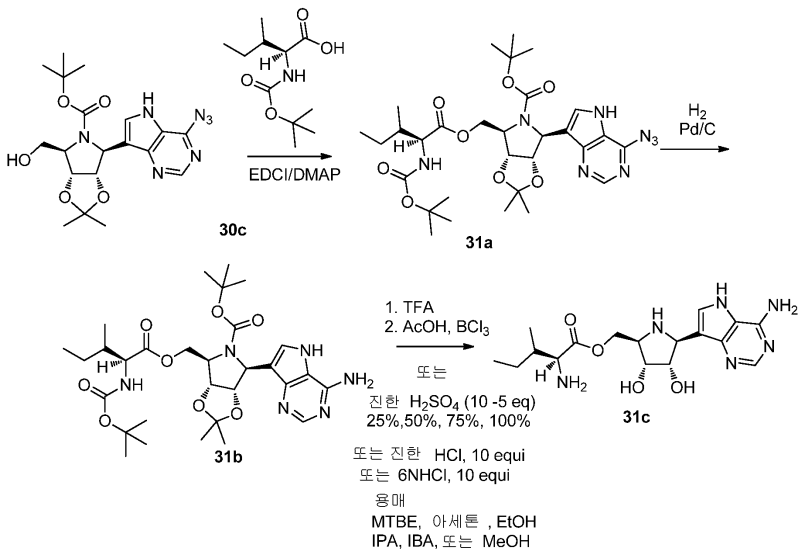
[0224]

[0225] 반응식 30



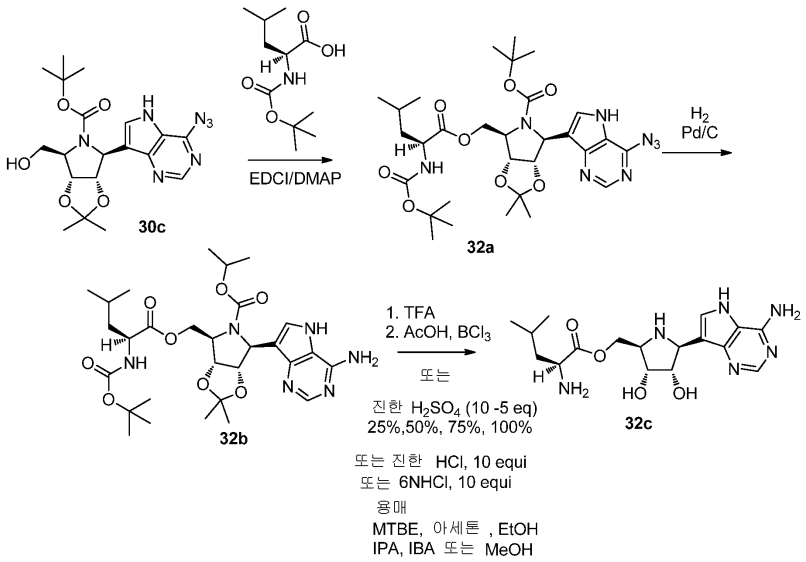
[0226]

[0227] 반응식 31



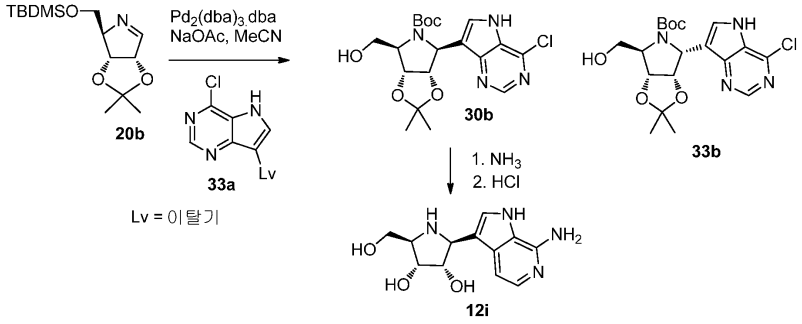
[0228]

[0229] 반응식 32



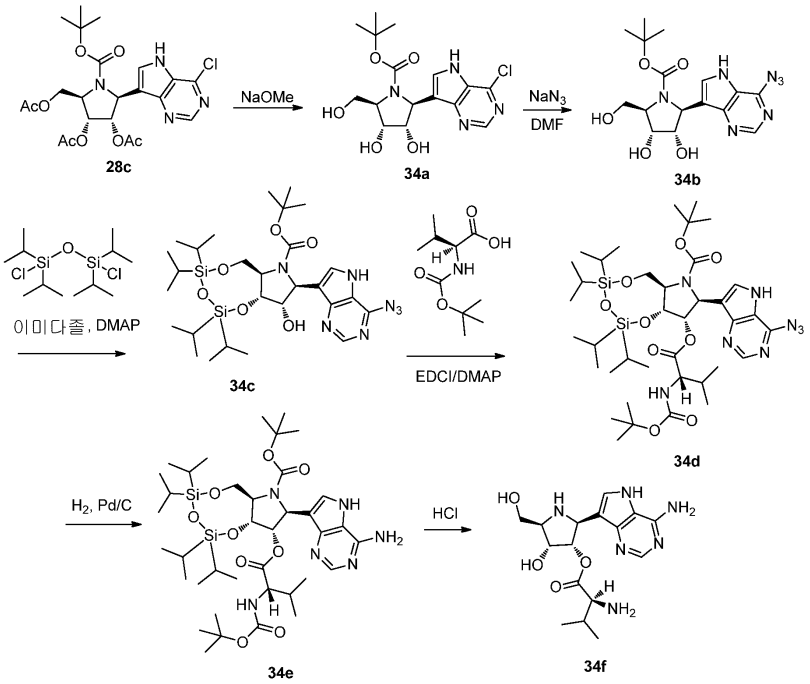
[0230]

[0231] 반응식 33



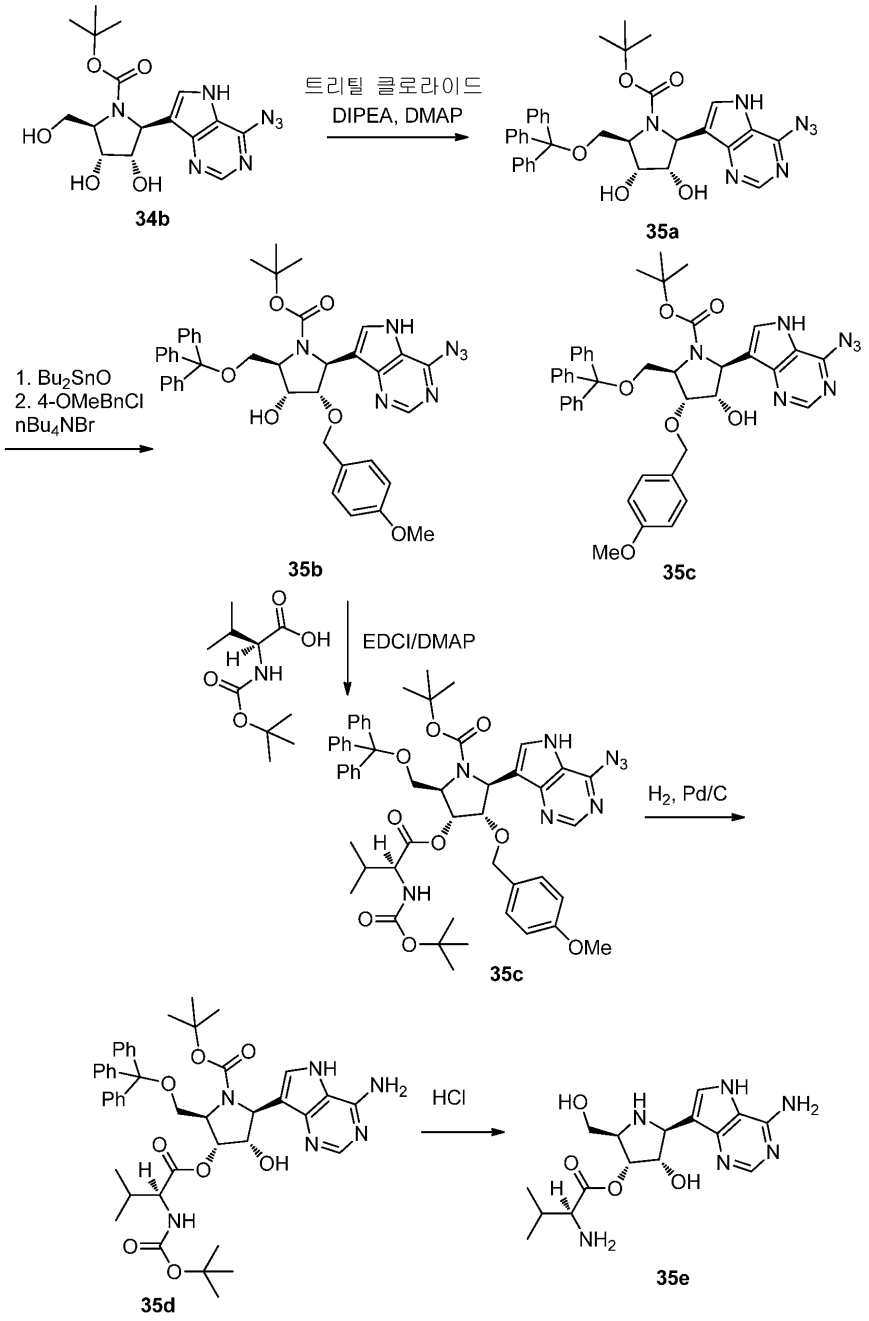
[0232]

[0233] 반응식 34



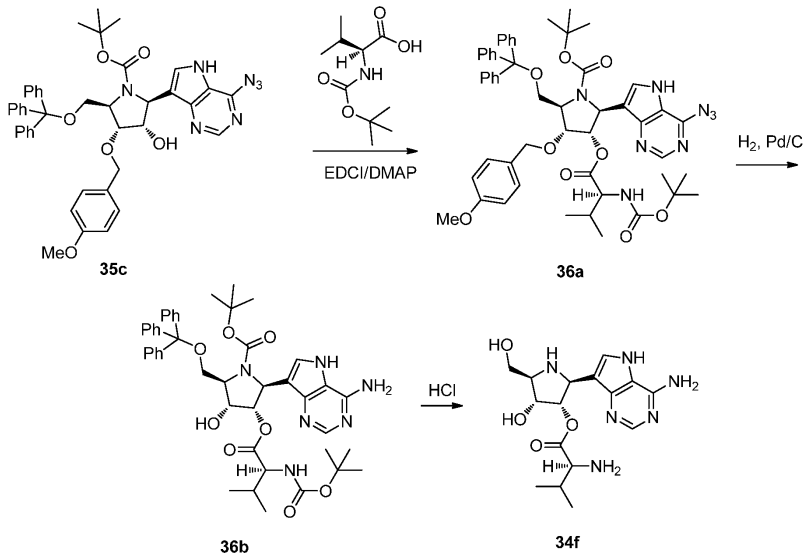
[0234]

[0235] 반응식 35



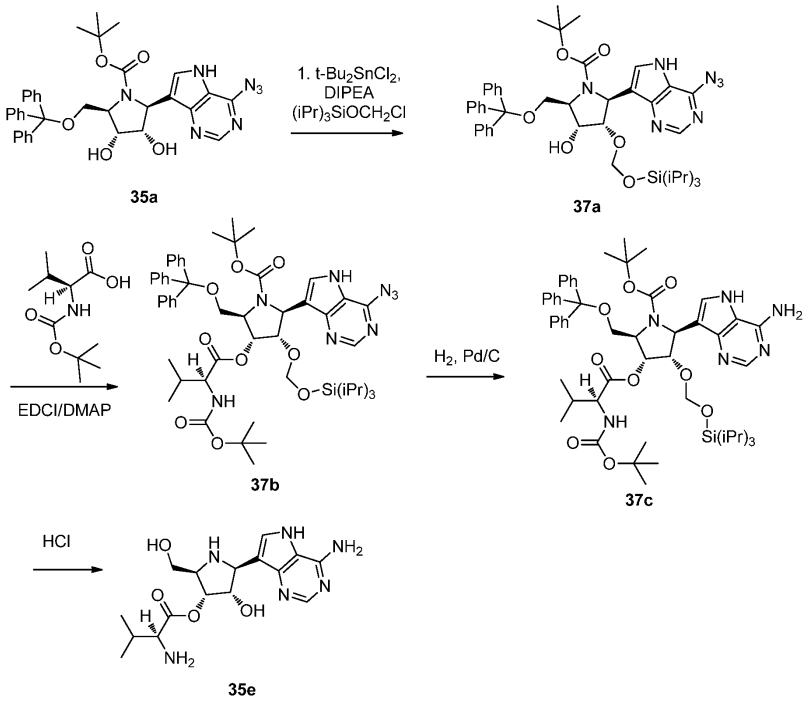
[0236]

[0237] 반응식 36



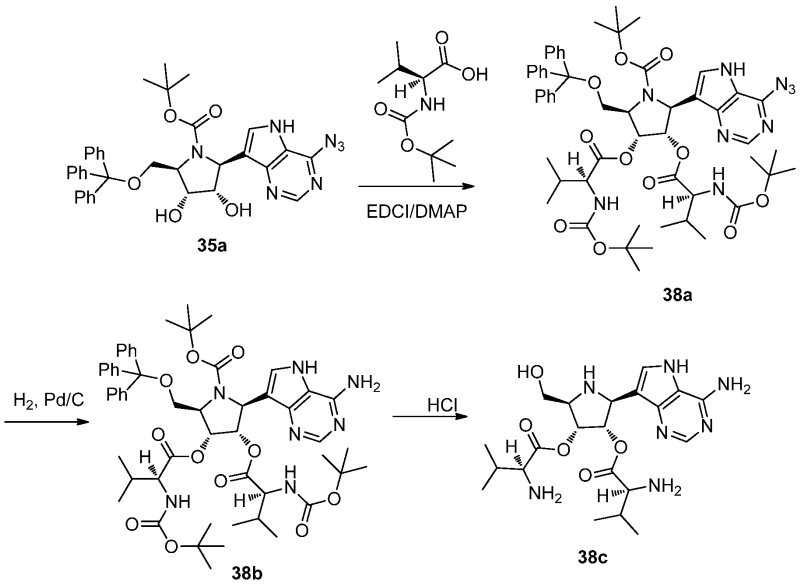
[0238]

[0239] 반응식 37



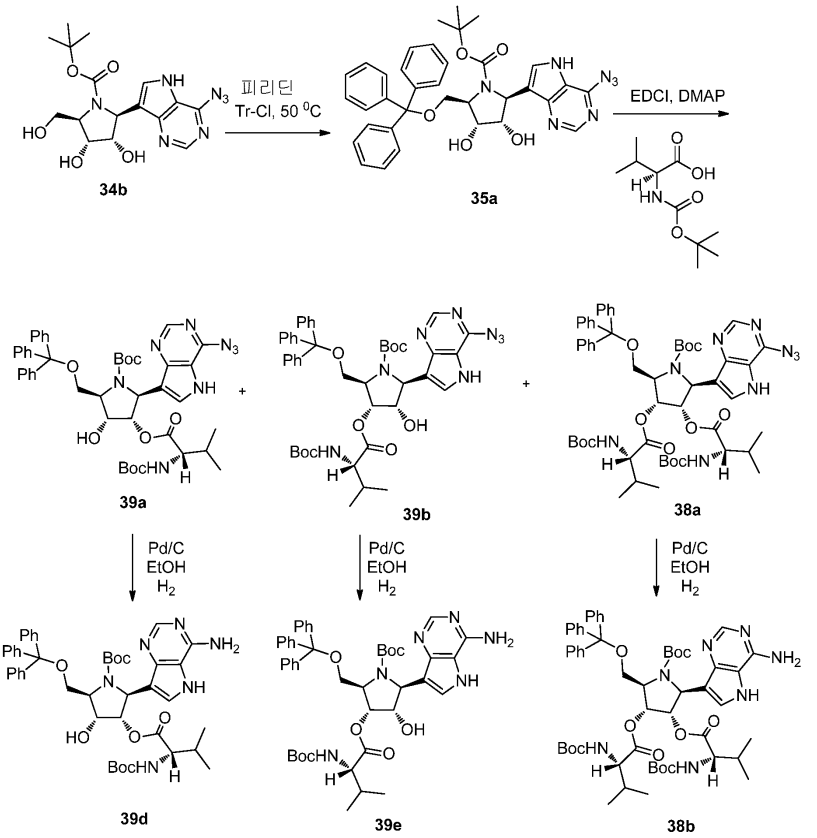
[0240]

[0241] 반응식 38



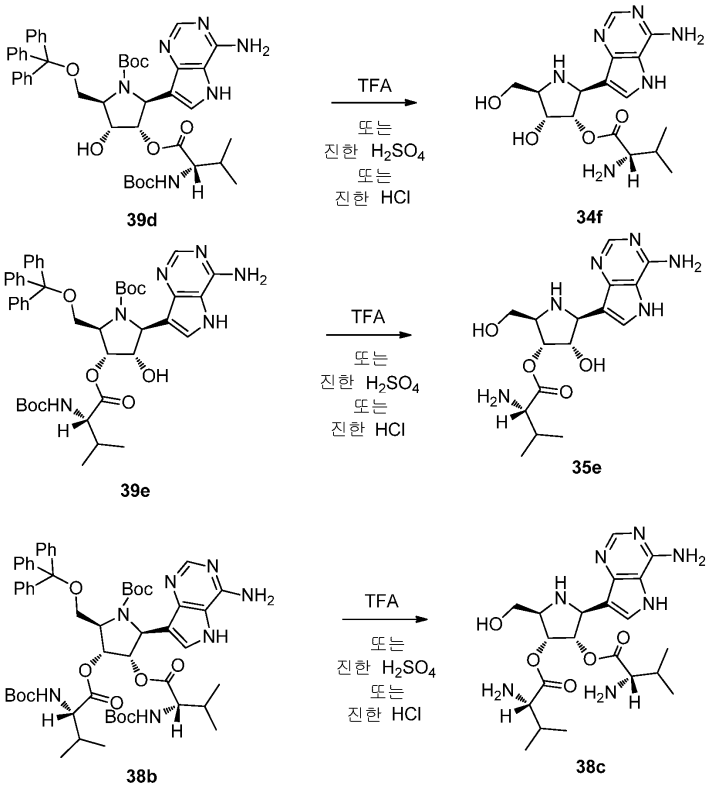
[0242]

[0243] 반응식 39A



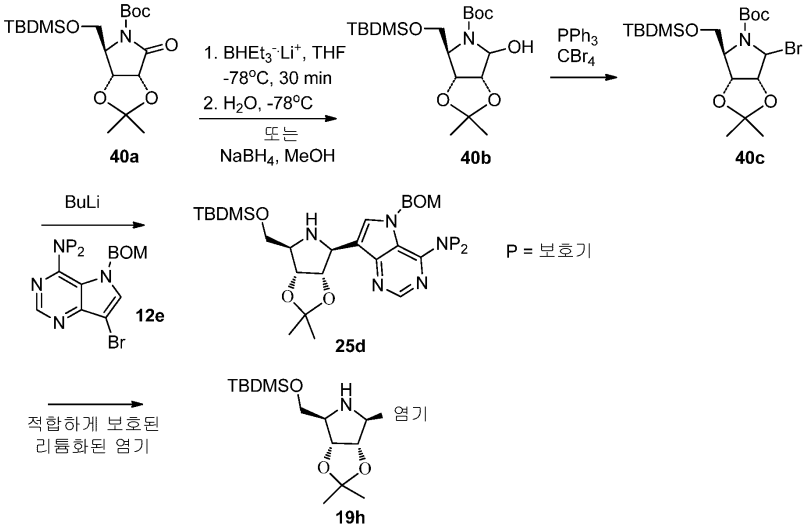
[0244]

[0245] 반응식 39B



[0246]

[0247] 반응식 40



[0248]

[0249] (3aR,4R,6aR)-3차-부틸 4-(((3차-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)-2,2-디메틸-6-옥소디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤-5(4H)-카르복실레이트 (**40a**) 제조를 위한 참조:

1. Malladi, Venkata L. A.; Sobczak, Adam J.; Meyer, Tiffany M.; Pei, Dehua; Wnuk, Stanislaw F; Bioorganic & Medicinal Chemistry (2011), 19(18), 5507-5519.
2. Fiaux, Helene; Kuntz, Douglas A.; Hoffman, Daniela; Janzer, Robert C.; Gerber-Lemaire, Sandrine; Rose, David R.; Juillerat-Jeanneret; Bioorganic & Medicinal Chemistry (2008), 16(15), 7337-7346.
3. Yokoyama, Masataka; Ikenogami, Taku; Togo, Hideo. Inage-ku, Yayoi-cho; Perkin 1 (2000), (13), 2067-2071.
4. Zanardi, Franca; Battistini, Lucia; Nespi, Marika; Rassu, Gloria; Spanu, Pietro; Cornia, Mara; Casiraghi, Giovanni; Tetrahedron: Asymmetry (1996), 7(4), 1167-1180.

[0250]

[0251] 락톤 (40a)에서 락톨 (40b)로의 환원을 위한 참조:

1. Malladi, Venkata L. A.; Sobczak, Adam J.; Meyer, Tiffany M.; Pei, Dehua; Wnuk, Stanislaw F; Bioorganic & Medicinal Chemistry (2011), 19(18), 5507-5519.
2. Wang, Xiao-Ling; Huang, Wen-Feng; Lei, Xin-Sheng; Wei, Bang-Guo; Lin, Guo-Qiang; Tetrahedron (2011), 67(26), 4919-4923
3. Liu, Xue-Kui; Qiu, Shi; Xiang, Yong-Gang; Ruan, Yuan-Ping; Zheng, Xiao; Huang, Pei-Qiang; Journal of Organic Chemistry (2011), 76(12), 4952-4963.
4. Hulme, Alison N.; Montgomery, Charles H; Tetrahedron Letters (2003), 44(41), 7649-7653.

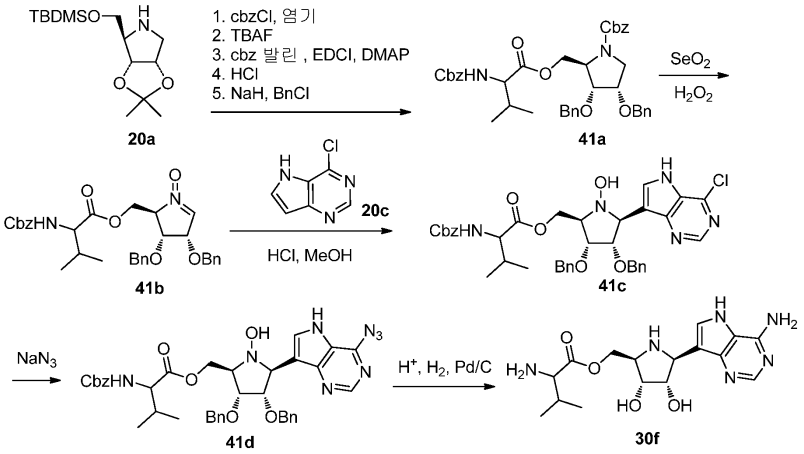
[0252]

[0253] 락톨에서 브로모 화합물 (40c)로의 참조:

1. Reddy, P. Ganapati; Chun, Byoung-Kwon; Zhang, Hai-Ren; Rachakonda, Suguna; Ross, Bruce S.; Sofia, Michael J; Journal of Organic Chemistry (2011), 76(10), 3782-3790.
2. Chatterjee, Abhishek; Hazra, Amrita B.; Abdelwahed, Sameh; Hilmey, David G.; Begley, Tadhg P; Angewandte Chemie, International Edition (2010), 49(46), 8653-8656.
3. WO 2010075549 A2 (참조로서 통합).
4. WO 2010075517 A2 (참조로서 통합).
5. WO 2009152095 A2 (참조로서 통합).
6. Castro, Bertrand R. Ecole Nationale Superieure de Chimie de Montpellier, Montpellier, Fr. Organic Reactions (Hoboken, NJ, United States) (1983), 29 Publisher: John Wiley & Sons, Inc.

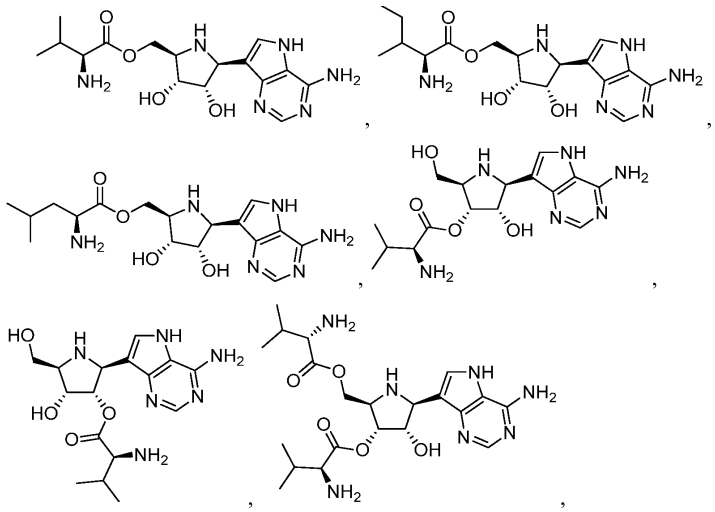
[0254]

[0255] 반응식 41

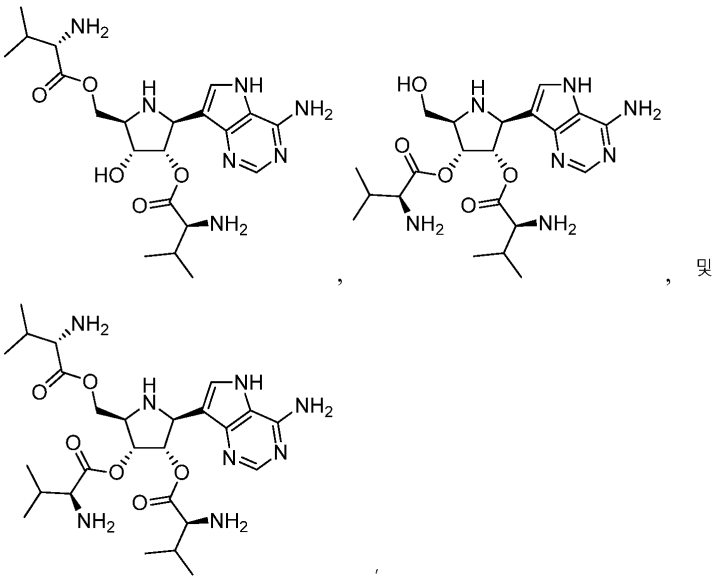


[0256]

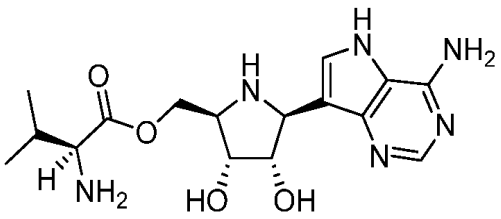
[0257] 구체예에서, 화학식 I의 화합물은 하기 및 이의 약제학적으로 허용되는 염으로 구성된 군으로부터 선택된다.



[0258]

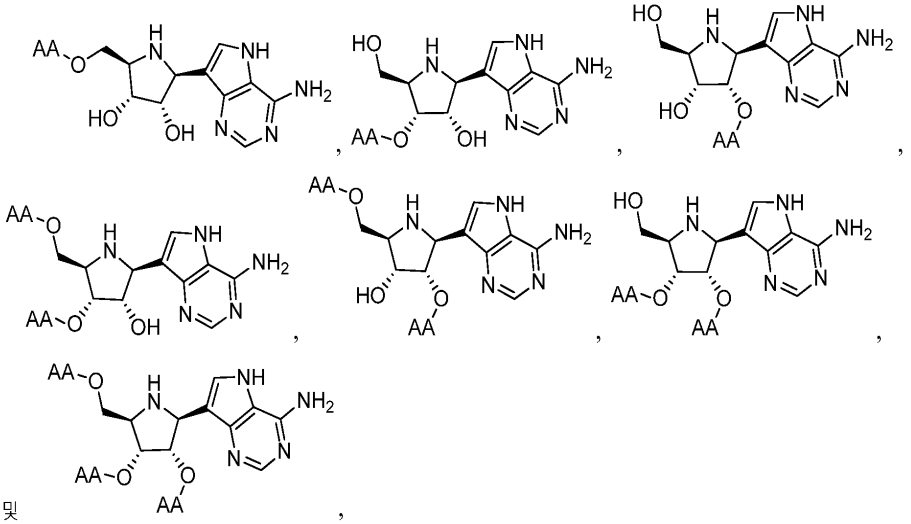


[0259]



[0260] 구체예에서, 화학식 I의 화합물은 , 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다.

[0261] 구체예에서, 화학식 I의 화합물은 하기 및 이의 약제학적으로 허용되는 염으로 구성된 군으로부터 선택된다:

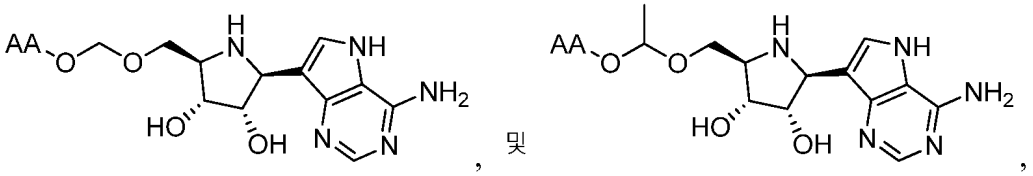


[0262] 및 ,

[0263] 상기 식에서,

[0264] "AA"는 각각의 경우에서, 아미노산의 아미노아실 기 예를 들어, 알라닐, 류실, 메티오닐 또는 발리닐을 나타낸다.

[0265] 구체예에서, 화학식 I의 화합물은 하기 및 이의 약제학적으로 허용되는 염으로 구성된 군으로부터 선택된다:

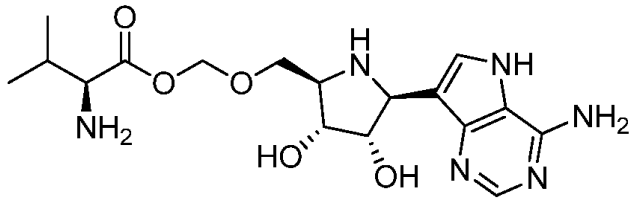


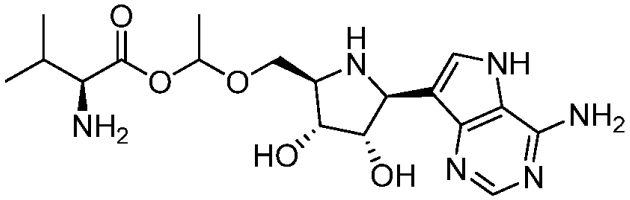
[0266]

[0267] 상기 식에서,

[0268] "AA"는 각각의 경우에서 아미노산의 아미노아실 기 예를 들어, 알라닐, 류실, 메티오닐 또는 발리닐을 나타낸다.

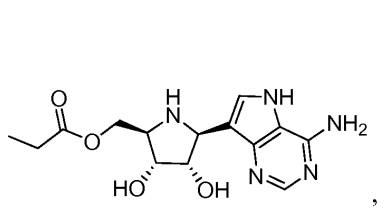
[0269] 구체예에서, 화학식 I의 화합물은 하기 및 이의 약제학적으로 허용되는 염으로 구성된 군으로부터 선택된다:

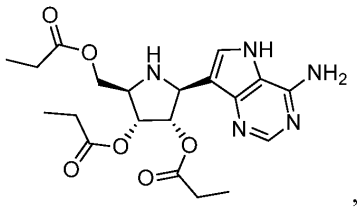

, 및

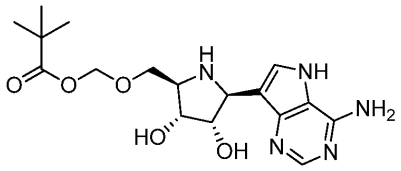


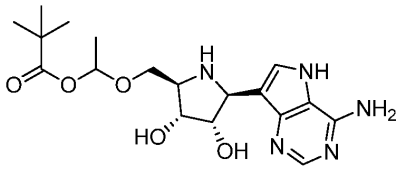
[0270] .

[0271] 구체예에서, 화학식 I의 화합물은 하기 및 이의 약제학적으로 허용되는 염으로 구성된 군으로부터 선택된다:


,

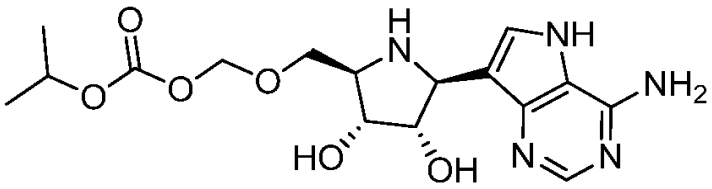

,

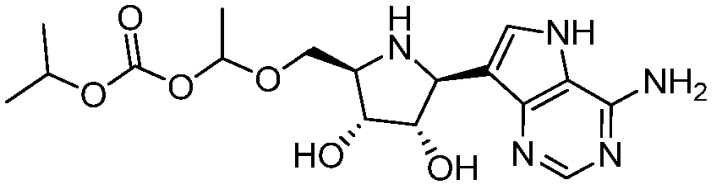

,


, 및

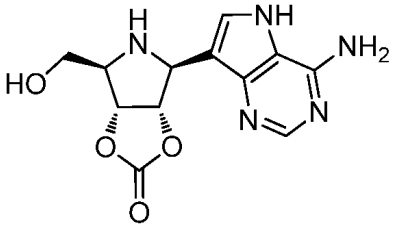
[0272] .

[0273] 구체예에서, 화학식 I의 화합물은 하기 및 이의 약제학적으로 허용되는 염으로 구성된 군으로부터 선택된다:

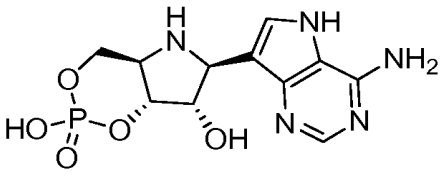

, 및



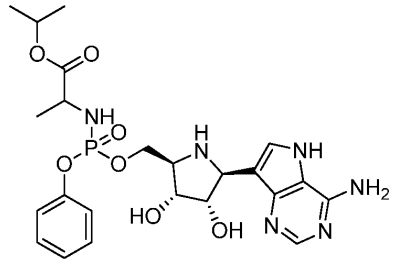
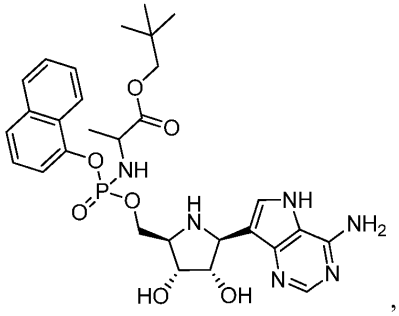
[0274] .

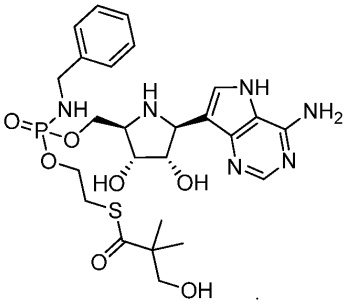


[0275] 구체예에서, 화학식 I의 화합물은 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다.

[0276] 구체예에서, 화학식 I의 화합물은  또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다.

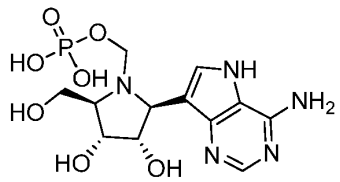
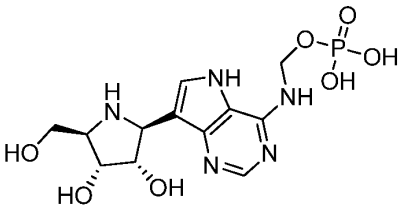
[0277] 구체예에서, 화학식 I의 화합물은 하기 및 이의 약제학적으로 허용되는 염으로 구성된 군으로부터 선택된다:

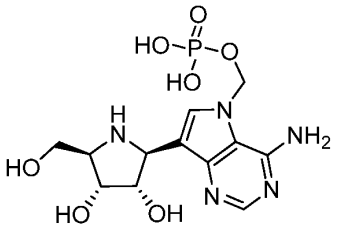
, , 및

.

[0278]

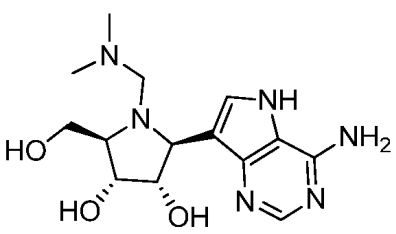
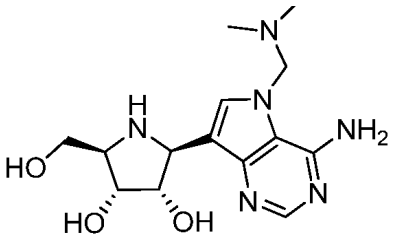
[0279] 구체예에서, 화학식 I의 화합물은 하기 및 이의 약제학적으로 허용되는 염으로 구성된 군으로부터 선택된다:

, , 및

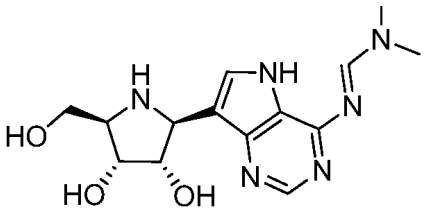
.

[0280]

[0281] 구체예에서, 화학식 I의 화합물은 하기 및 이의 약제학적으로 허용되는 염으로 구성된 군으로부터 선택된다:

, 및 .

[0282]

[0283] 구체예에서, 화학식 I의 화합물은  또는 이의 약제학적으로 허용되는 염이다.

[0284] 본 발명의 양태는 본 발명의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약제 조성물이다.

[0285] 본 발명의 양태는 약제 조성물 제조 방법이다. 본 방법은 본 발명의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 약제학적으로 허용되는 담체와 조합하는 단계를 포함한다.

[0286] 본 발명의 화합물은 특정 바이러스의 핵산 폴리머라제 활성을 억제하는데 유용하다. 본 발명의 화합물은 또한, 바이러스 감염 치료 또는 바이러스 복제 억제에 유용하다.

[0287] 동물 RNA 바이러스는 이들의 게놈 및 복제 방식에 근거하여 3개의 구별되는 군 (및 더 오래된 볼티모어 분류(Baltimore classification)에 근거하여 숫자 군 (the numerical group))으로 분류된다:

[0288] 이중-가닥 (ds) RNA 바이러스 (볼티모어 분류 군 III)은 1 내지 12개의 상이한 RNA 분자를 함유하며, 이들 각각은 하나 이상의 바이러스 단백질을 코딩한다. dsRNA 바이러스의 예로는 레오바이러스 과를 포함한다.

[0289] 양성-센스 단일-가닥 (ss) RNA 바이러스 (볼티모어 분류 군 IV)은 마치 mRNA인 양 직접 사용되는 이들의 게놈을 가져 단일 단백질을 생성하며, 이는 숙주 및 바이러스 단백질에 의해 변형되어 복제에 필요한 다양한 단백질을 형성한다. 이들중 하나는 RNA-의존적 RNA 폴리머라제를 포함하며, 이는 바이러스 RNA를 복사하여 이중-가닥 복제 형태를 형성하며, 이는 이어서 새로운 비리온 형성을 유도한다. 양성-센스 ssRNA 바이러스의 예는 토가바이러스과, 플라비바이러스과, 칼시바이러스과, 코로나바이러스과, 피코르나바이러스과 및 토가바이러스과를 포함한다.

[0290] 음성-센스 ssRNA 바이러스 (볼트모어 분류 군 V)는 RNA 폴리머라제에 의해 복사된 이들의 게놈을 가져 양성-센스 RNA를 형성해야 한다. 이는 바이러스가 바이러스와 함께 RNA-의존성 RNA 폴리머라제 효소를 수반해야 함을 의미한다. 그 후, 양성-센스 RNA 분자는 바이러스 mRNA로서 작용하며, 이는 숙주 리보좀에 의해 단백질로 번역된다. 생성된 단백질은 새로운 비리온 예컨대, 캡시드 단백질 및 RNA 레플리카제의 합성을 유도하도록 진행되며, 이는 새로운 음성-센스 RNA 분자를 생성하는데 사용된다. 음성-센스 ssRNA 바이러스는 보르나바이러스과, 필로바이러스과, 오르토믹소바이러스과, 파라믹소바이러스과, 랍도바이러스과, 아레나바이러스과 및 분야바이러스과를 포함한다.

[0291] 레트로바이러스 (볼트모어 분류 군 VI)는 단일-가닥 RNA 게놈을 가지나, 일반적으로 RNA 바이러스로 간주되지 않는데, 그 이유는 이들이 복제에 DNA 중간체를 사용하기 때문이다. 비코팅된 후 바이러스 자체로부터 유도된 바이러스 효소인 역 전사효소는 바이러스 RNA를 상보적 가닥의 DNA로 변환시키며, 이는 복사되어 바이러스 DNA의 이중 가닥 분자를 생성한다. 이러한 DNA가 통합된 후, 엔코딩된 유전자의 발현은 새로운 비리온의 형성을 유도할 수 있다. 레트로바이러스는 비제한적으로, HIV-1 및 HIV-2를 포함한다.

[0292] 본 발명의 양태는 바이러스의 바이러스 핵산 폴리머라제 활성을 억제하는 방법이다. 본 방법은 바이러스의 바이러스 핵산 폴리머라제를 유효량의 본 발명의 화합물 또는 이이 약제학적으로 허용되는 염과 접촉시키는 단계를 포함한다.

[0293] 일 구체예에서, 바이러스 핵산 폴리머라제는 DNA 폴리머라제이다.

[0294] 일 구체예에서, 바이러스 핵산 폴리머라제는 RNA 폴리머라제이다.

[0295] 일 구체예에서, 바이러스는 RNA 바이러스로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0296] 일 구체예에서, 바이러스는 오르토믹소바이러스과, 파라믹소바이러스과, 아레나바이러스과, 분야바이러스과, 플라비바이러스과, 필로바이러스과, 토가바이러스과, 피코르나바이러스과 및 코로나바이러스과로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0297] 일 구체예에서, 바이러스는 아데노바이러스, 리노바이러스, A형 간염 바이러스, C형 간염 바이러스, 폴리오 바

이러스, 홍역 바이러스, 에볼라 바이러스, 콕사키 바이러스, 서부 나일강 바이러스 (West Nile virus), 두창바이러스, 황열 바이러스, 뎅기열 바이러스, 인플루엔자 A 바이러스, 인플루엔자 B 바이러스, 라사 바이러스, 림프구성 맥락수막염 바이러스, 쥬닌 바이러스, 마추포 바이러스 (machuppo virus), 구아나리토 바이러스 (guanarito virus), 한타바이러스, 리프트 계곡열 바이러스, 라 크로세 바이러스 (La Crosse virus), 캘리포니아 뇌염 바이러스 (California encephalitis virus), 크리미아-콩고 바이러스 (Crimean-Congo virus), 마르부르크 바이러스, 일본 뇌염 바이러스, 키아사누르 삼림 바이러스, 베네주엘라 말 뇌염 바이러스, 동부형 말 뇌염 바이러스, 서부형 말 뇌염 바이러스, 중증 급성 호흡 증후군 (SARS) 바이러스, 파라인플루엔자 바이러스, 호흡기 세포융합 바이러스, 푼타 토로 바이러스 (Punta Toro virus), 타카라이브 바이러스, 및 피키니드 바이러스 (Pichinde virus)로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0298] 일 구체예에서, 바이러스는 아데노바이러스, 뎅기열 바이러스, 에볼라 바이러스, 마르부르크 바이러스, 인플루엔자 A 바이러스, 인플루엔자 B 바이러스, 쥬닌 바이러스, 홍역 바이러스, 파라인플루엔자 바이러스, 피키니드 바이러스, 푼타 토로 바이러스, 호흡기 세포융합 바이러스, 리노바이러스, 리프트 계곡열 바이러스, SARS 바이러스, 타카라이브 바이러스, 베네주엘라 말 뇌염 바이러스, 서부 나일강 바이러스 및 황열 바이러스로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0299] 일 구체예에서, 바이러스는 에볼라 바이러스, 황열 바이러스, 마르부르크 바이러스, 인플루엔자 A 바이러스 및 인플루엔자 B 바이러스로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0300] 본 발명의 양태는 바이러스의 복제를 억제하는 방법이다. 본 방법은 바이러스를 유효량의 본 발명의 화합물 또는 이이 약제학적으로 허용되는 염과 접촉시켜 바이러스의 복제를 억제시키는 단계를 포함한다.

[0301] 일 구체예에서, 바이러스는 RNA 바이러스로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0302] 일 구체예에서, 바이러스는 오르토믹소바이러스과, 파라믹소바이러스과, 아레나바이러스과, 분야바이러스과, 플라비바이러스과, 필로바이러스과, 토가바이러스과, 피코르나바이러스과 및 코로나바이러스과로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0303] 일 구체예에서, 바이러스는 아데노바이러스, 리노바이러스, A형 간염 바이러스, C형 간염 바이러스, 폴리오 바이러스, 홍역 바이러스, 에볼라 바이러스, 콕사키 바이러스, 서부 나일강 바이러스, 두창바이러스, 황열 바이러스, 뎅기열 바이러스, 인플루엔자 A 바이러스, 인플루엔자 B 바이러스, 라사 바이러스, 림프구성 맥락수막염 바이러스, 쥬닌 바이러스, 마추포 바이러스, 구아나리토 바이러스, 한타바이러스, 리프트 계곡열 바이러스, 라 크로세 바이러스, 캘리포니아 뇌염 바이러스, 크리미아-콩고 바이러스, 마르부르크 바이러스, 일본 뇌염 바이러스, 키아사누르 삼림 바이러스, 베네주엘라 말 뇌염 바이러스, 동부형 말 뇌염 바이러스, 서부형 말 뇌염 바이러스, 중증 급성 호흡 증후군 (SARS) 바이러스, 파라인플루엔자 바이러스, 호흡기 세포융합 바이러스, 푼타 토로 바이러스, 타카라이브 바이러스, 및 피키니드 바이러스로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0304] 일 구체예에서, 바이러스는 아데노바이러스, 뎅기열 바이러스, 에볼라 바이러스, 마르부르크 바이러스, 인플루엔자 A 바이러스, 인플루엔자 B 바이러스, 쥬닌 바이러스, 홍역 바이러스, 파라인플루엔자 바이러스, 피키니드 바이러스, 푼타 토로 바이러스, 호흡기 세포융합 바이러스, 리노바이러스, 리프트 계곡열 바이러스, SARS 바이러스, 타카라이브 바이러스, 베네주엘라 말 뇌염 바이러스, 서부 나일강 바이러스 및 황열 바이러스로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0305] 일 구체예에서, 바이러스는 에볼라 바이러스, 황열 바이러스, 마르부르크 바이러스, 인플루엔자 A 바이러스 및 인플루엔자 B 바이러스로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0306] 본 발명의 양태는 대상체에서 바이러스 감염을 치료하는 방법이다. 본 방법은 유효량의 본 발명의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 이를 필요로 하는 대상체에 투여하는 단계를 포함한다.

[0307] 일 구체예에서, 바이러스는 RNA 바이러스로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0308] 일 구체예에서, 바이러스는 오르토믹소바이러스과, 파라믹소바이러스과, 아레나바이러스과, 분야바이러스과, 플라비바이러스과, 필로바이러스과, 토가바이러스과, 피코르나바이러스과 및 코로나바이러스과로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0309] 일 구체예에서, 바이러스는 아데노바이러스, 리노바이러스, A형 간염 바이러스, C형 간염 바이러스, 폴리오 바이러스, 홍역 바이러스, 에볼라 바이러스, 콕사키 바이러스, 서부 나일강 바이러스, 두창바이러스, 황열 바이러스, 뎅기열 바이러스, 인플루엔자 A 바이러스, 인플루엔자 B 바이러스, 라사 바이러스, 림프구성 맥락수막염 바

이러스, 쥬닌 바이러스, 마추포 바이러스, 구아나리토 바이러스, 한타바이러스, 리프트 계곡열 바이러스, 라 크로세 바이러스, 캘리포니아 뇌염 바이러스, 크리미아-콩고 바이러스, 마르부르크 바이러스, 일본 뇌염 바이러스, 키아사누르 삼림 바이러스, 베네주엘라 말 뇌염 바이러스, 동부형 말 뇌염 바이러스, 서부형 말 뇌염 바이러스, 중증 급성 호흡 증후군 (SARS) 바이러스, 파라인플루엔자 바이러스, 호흡기 세포융합 바이러스, 푼타 토로 바이러스, 타카라이브 바이러스, 및 피키니드 바이러스로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0310] 일 구체예에서, 바이러스는 아데노바이러스, 뎅기열 바이러스, 에볼라 바이러스, 마르부르크 바이러스, 인플루엔자 A 바이러스, 인플루엔자 B 바이러스, 쥬닌 바이러스, 홍역 바이러스, 파라인플루엔자 바이러스, 피키니드 바이러스, 푼타 토로 바이러스, 호흡기 세포융합 바이러스, 리노바이러스, 리프트 계곡열 바이러스, SARS 바이러스, 타카라이브 바이러스, 베네주엘라 말 뇌염 바이러스, 서부 나일강 바이러스 및 황열 바이러스로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0311] 일 구체예에서, 바이러스는 에볼라 바이러스, 황열 바이러스, 마르부르크 바이러스, 인플루엔자 A 바이러스 및 인플루엔자 B 바이러스로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0312] 본 발명의 화합물은 약제 조성물로서 제형화되어, 선택된 투여 경로 예를 들어, 경구 또는 비경구, 정맥내, 복강내, 근내, 국소 또는 피하 경로에 적합한 다양한 형태로 포유동물 숙주 예컨대, 인간 환자에 투여될 수 있다.

[0313] 따라서, 본 화합물은 예를 들어, 경구에 의해 약제학적으로 허용되는 비히클 예컨대, 불활성 희석제 또는 융합성의 식용 담체와 조합되어 전신 투여될 수 있다. 이들은 경질 또는 연질 쉘 젤라틴 캡슐내에 밀봉될 수 있거나, 정제로 압착될 수 있거나, 환자 식사의 음식물에 직접 포함될 수 있다. 경구 치료 투여에 있어서, 활성 화합물은 하나 이상의 부형제와 조합될 수 있으며, 섭취가능한 정제, 버컬정, 트로키, 캡슐, 엘릭시르, 현탁액, 시럽, 웨이퍼 및 기타 등등의 형태로 사용될 수 있다. 이러한 조성물 및 제조물은 적어도 0.1%의 활성 화합물을 함유해야 한다. 조성물 및 제조물의 백분율은 물론 변화될 수 있으며, 편리하게는 해당 단위 투약 형태의 중량의 약 2 내지 약 60 %일 수 있다. 이러한 치료학적으로 유용한 조성물중의 활성 화합물의 양은 유효한 투약 수준이 달성될 그러한 양이다.

[0314] 정제, 트로키, 필, 및 캡슐 등은 또한 하기 희석제 및 담체를 함유할 수 있다: 결합제 예컨대, 트래거캔스 검, 아카시아, 옥수수 전분 또는 젤라틴; 부형제 예컨대, 디칼슘 포스페이트; 붕해제 예컨대, 옥수수 전분, 감자 전분, 알긴산 및 기타 등등; 윤활제 예컨대, 마그네슘 스테아레이트; 및 감미제 예컨대, 수크로스, 프룩토스, 락토스 또는 아스파르탐 또는 향미제 예컨대, 페퍼민트, 윈터그린 오일 또는 체리 향이 첨가될 수 있다. 단위 투약 형태가 캡슐인 경우, 이는 상기 유형의 물질 이외에, 액체 담체 예컨대, 식물성 오일 또는 폴리에틸렌 글리콜을 함유할 수 있다. 그 밖의 다양한 물질들이 코팅으로서 존재할 수 있거나 고체 단위 투약 형태의 물리적 형태를 다르게 변형시키기 위해 존재할 수 있다. 예를 들어, 정제, 필 또는 캡슐은 젤라틴, 왁스, 쉘락 또는 당 및 기타 등등으로 코팅될 수 있다. 시럽 또는 엘릭시르는 활성 화합물, 감미제로서 수크로스 또는 프룩토스, 보존제로서 메틸 및 프로필파라벤, 염료 및 향미제 예컨대, 체리 또는 오렌지 향을 함유할 수 있다. 물론, 임의의 단위 투약 형태를 제조하는데 사용된 임의의 물질은 약제학적으로 허용가능해야 하며, 사용된 양에서 실질적으로 비독성이어야 한다. 또한, 활성 화합물은 서방형 제조물 및 장치에 포함될 수 있다.

[0315] 활성 화합물은 또한, 주입 또는 주사에 의해 정맥내 또는 복강내로 투여될 수 있다. 활성 화합물 또는 이의 염의 용액은 비독성 계면활성제와 선택적으로 혼합된 물 또는 생리학적으로 허용되는 수용액중에 제조될 수 있다. 분산액이 또한, 글리세롤, 액체 폴리에틸렌 글리콜, 트리아세틴 및 이들의 혼합물중에서 및 오일중에서 제조될 수 있다. 보통의 저장 및 사용 조건하에서, 이러한 제조물은 미생물 성장을 방지하기 위해 보존제를 함유한다.

[0316] 주사 또는 주입에 적합한 약제 투약 형태는 선택적으로, 리포좀내에 캡슐화된 활성 성분을 포함하는, 멸균 수용액 또는 분산액, 또는 멸균의 주사가능하거나 주입가능한 용액 또는 분산액의 즉석 제조에 적합한 멸균 분말을 포함할 수 있다. 모든 경우에, 궁극적인 투약 형태는 멸균, 유체 및 제작 및 저장 조건하에 안정적이어야 한다. 액체 담체 또는 비히클은 예를 들어, 물, 에탄올, 폴리올 (예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 액체 폴리에틸렌 글리콜 및 기타 등등), 식물성 오일, 비독성 글리세릴 에스테르 및 이들의 적합한 혼합물을 포함하는 용매 또는 액체 분산 매질일 수 있다. 적당한 유동성이 예를 들어, 리포좀의 형성, 분산액의 경우 요구되는 입자 크기의 유지 또는 계면활성제의 사용에 의해 유지될 수 있다. 미생물 작용의 방지는 다양한 항세균제 및 항진균제 예를 들어, 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 소르빈산, 티메로살 및 기타 등등에 의해 유도될 수 있다. 많은 경우에, 등장성 제제 예를 들어, 당, 완충제 또는 소듐 클로라이드를 포함하는 바람직할 것이다. 주사용 조성물의 연장된 흡수는 흡수를 지연하는 제제 예를 들어, 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴을 조성물중에 사용함으로써 유도될 수 있다.

[0317] 멸균의 주사 용액은 적합한 용매중에서 요구량의 활성 화합물을 필요에 따라, 상기 열거된 다양한 나머지 성분들과 혼합한 후, 여과 살균함으로써 제조된다. 멸균의 주사 용액의 제조를 위한 멸균 분말의 경우, 제조 방법은 진공 건조 및 동결 건조 기법을 포함할 수 있으며, 이는 미리 살균-여과된 용액중에 존재하는 임의의 추가적인 요망되는 성분들과 활성 성분의 분말을 생성시킨다.

[0318] 국소 투여에 있어서, 본 화합물은 순수한 형태 즉, 이들이 액체인 경우 적용될 수 있다. 그러나, 일반적으로, 이들을 고체 또는 액체일 수 있는, 피부에 허용가능한 담체와 함께 조성물 또는 제형으로서 피부에 투여하는 것이 바람직할 것이다.

[0319] 유용한 고체 담체는 미세하게 분할된 고형물 예컨대, 탈크, 클레이, 미세결정질 셀룰로스, 실리카, 알루미나 및 기타 등등을 포함한다. 유용한 액체 담체는 물, 알콜 또는 글리콜 또는 물-알콜/글리콜 블렌드를 포함하며, 여기에 유효 수준의 본 화합물이 선택적으로, 비-독성 계면활성제의 도움으로 용해되거나 분산될 수 있다. 보조제 예컨대, 착향제 및 추가적인 항균제가 해당 용도를 위한 특성을 최적화시키기 위해 첨가될 수 있다. 생성된 액체 조성물은 흡수 패드로부터 적용되거나, 패드 및 그 밖의 드레싱에 스며드는데 사용되거나, 펌프-형 또는 에어로졸 분무기를 사용하여 환부 영역에 분무 될 수 있다.

[0320] 증점제 예컨대, 합성 폴리머, 지방산, 지방산 염 및 에스테르, 지방 알콜, 개질된 셀룰로스 또는 개질된 미네랄 물질이 또한 액체 담체와 함께 사용되어 사용자의 피부에 직접 도포하기 위한 스프레딩 가능한 페이스트, 겔, 연고, 비누 및 기타 등등을 형성할 수 있다.

[0321] 화학식 I의 화합물을 피부에 전달하는데 사용될 수 있는 유용한 피부용 조성물의 예는 본 기술분야에 공지되어 있다; 예를 들어, 자케 (Jacquet) 등 (미국 특허 번호 4,608,392; 참조로서 통합), 게리아 (Geria) (미국 특허 번호 4,992,478; 참조로서 통합), 스미쓰 (Smith) 등 (미국 특허 번호 4,559,157; 참조로서 통합), 및 워트잠 (Wortzman) (미국 특허 번호 4,820,508; 참조로서 통합) 참조.

[0322] 본 발명의 화합물의 유용한 투여량은 동물 모델에서 이들의 시험관내 활성 및 생체내 활성을 비교함으로써 결정될 수 있다. 마우스 및 그 밖의 동물 내지 인간에서 유효한 투여량의 추정 방법은 본 기술분야에 공지되어 있다; 예를 들어, 미국 특허 번호 4,938,949 참조.

[0323] 치료에 사용하는데 요구되는 화합물 또는 이의 활성 염 또는 유도체의 양은 선택된 특정 화합물 또는 염뿐만 아니라 투여 경로, 치료될 장애의 특성 및 환자의 연령 및 상태에 따라 변화될 것이며, 궁극적으로는 담당 의사 또는 임상의의 판단에 따를 것이다.

[0324] 그러나, 일반적으로, 적합한 용량은 1일당 약 0.5 내지 약 100 mg/수용자의 체중 kg, 예를 들어, 1일당 약 3 내지 약 90 mg/수용자의 체중 kg, 1일당 약 6 내지 약 75 mg/체중 킬로그램, 약 10 내지 약 60 mg/kg/day, 또는 약 15 내지 약 50 mg/kg/day의 범위 내에 있을 것이다.

[0325] 본 발명의 화합물은 편리하게는, 단위 투여 형태로 제형화될 수 있다; 예를 들어, 단위 투여 형태당 5 내지 1000 mg, 10 내지 750 mg, 또는 50 내지 500 mg의 활성 성분 함유. 일 구체예에서, 본 발명은 이러한 단위 투여 형태로 제형화된 본 발명의 화합물을 포함하는 조성물을 제공한다. 요망되는 용량은 편리하게는, 단일 용량 또는 적당한 간격으로 투여되는 분할된 용량, 예를 들어, 1일당 2회, 3회, 4회 또는 그 초과의 서브 용량으로 존재할 수 있다. 서브-용량 자체는 예를 들어, 취입기로부터의 복수의 취입 또는 안구로의 복수의 소적 적용과 같이 불연속적으로 여유있게 간격을 둔 많은 투여 (a number of discrete loosely spaced administration)로 추가로 분할될 수 있다.

[0326] 본 발명의 화합물은 또한, 그 밖의 치료제 예를 들어, 바이러스 감염의 치료에 유용한 그 밖의 제제와 함께 투여될 수 있다.

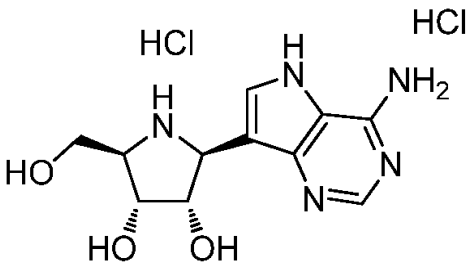
[0327] 본 발명은 또한, 본 발명의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염:, 적어도 하나의 그 밖의 치료제, 포장재, 및 본 발명의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 및 그 밖의 치료제 또는 치료제들을 포유동물에서 바이러스 감염을 치료하기 위해 포유동물에 투여하기 위한 설명서를 포함하는 키트를 제공한다. 일 구체예에서, 포유동물은 인간이다.

[0328] 본 발명은 이제 하기 비제한적 실시예에 의해 설명될 것이다.

[0329] 실시예

[0330] 실시예 1: (2S,3S,4R,5R)-2-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-5-(히드록시메틸)피롤리딘-3,4-디올 디

히드로클로라이드 (12i)



12i

[0331]

[0332] (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸 2-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3,4-디히드록시-5-(히드록시메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (28f)를 3개의 배치에서 하기와 같이 처리하였다.

[0333] 배치 1. (28f)를 수성 HCl (1658.8 mmol, 118 mL의 진한 HCl 및 293 mL의 물)에 용해시켰다.

[0334] 배치 2. (28f)를 수성 HCl (239.6 mmol, 169 mL의 진한 HCl 및 421 mL의 물)에 용해시켰다.

[0335] 배치 3. (28f)를 수성 HCl (263.5 mmol, 186 mL의 진한 HCl 및 468 mL의 물)에 용해시켰다.

[0336] 반응 혼합물을 실온에서 30 min 동안 교반하고 (CO_2 가스의 강력한 진화), 이어서 각 배치를 진공하에 농축하여 건조시켰다 (80-90 ℃). 배치 2 및 3을 풀링시켜 226 g의 눅눅하고 투명한 황색 생성물을 제공하였다. 배치 1은 91.4 g의 암회색 생성물을 제공하였다. 결정화를 하기와 같이 수행하였다: 배치 2 및 3 습식 생성물에 있어서: 226 mL의 물을 생성물에 첨가하고, 이어서 50 ℃로 가열하고, 이 지점에서 결정화가 시작될 때까지 고온의 에탄올을 서서히 첨가하였다. 혼합물을 50 ℃에서 10 분 동안 유지시키고, 이어서 강한 교반하에 25 ℃에 도달하게 한 후, 여과하여 연황색 분말의 (2S,3S,4R,5R)-2-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-5-(히드록시메틸)피롤리딘-3,4-디올 (12i) (88 g, 52 %)을 제공하였다. 배치 1을 동일한 방식으로 정제하여 33.0 g (59 %)의 연회색 생성물을 제공하였다. 고 진공하에 55 ℃에서 건조 후 총 수득량은 121.0 g (53.5 %)이었다. 배치 1 및 2의 재결정화로부터의 모액을 재처리하여 15.0 g의 연황색 분말 생성물 (12i)을 제공하였다; MP: 238 ℃. ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 14.60 (s, 1H), 13.25 (s, 1H), 10.23 (s, 1H), 9.13 (s, 2H), 8.84 (s, 1H), 8.63 (s, 1H), 8.11 (d, J = 3.1 Hz, 1H), 5.55 (s, 2H), 4.78 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 4.44 (dd, J = 8.8, 5.0 Hz, 1H), 4.14 - 4.02 (m, 1H), 3.73 (d, J = 5.1 Hz, 2H), 3.52 (s, 1H); ^{1}H NMR (300 MHz, D_2O) δ 8.33 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 4.90 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 4.65 (s, 1H), 4.37 (dd, J = 4.8, 3.4 Hz, 1H), 3.89 (s, 1H), 3.88 (s, 1H), 3.81 (dd, J = 8.1, 4.5 Hz, 1H); MS (ES+) 266.3 (M+1); 광 회전 -52.69; (H_2O,C=1.15); 분석: $C_{11}H_{15}N_5O_3 \cdot 2HCl.0.25H_2O$에 대한 계산치: C, 38.55; H, 5.15; Cl, 20.44; N, 20.69; 실측치: C, 38.67; H, 5.05; Cl, 20.45; N, 20.42.

[0337] (2R,3R,4S,5S)-2-(아세톡시메틸)-1-(3차-부톡시카르보닐)-5-(4-클로로-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)피롤리딘-3,4-디일 디아세테이트 (28c)로부터 (2S,3S,4R,5R)-2-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-5-(히드록시메틸)피롤리딘-3,4-디올 디히드로클로라이드 (12i)를 제조하기 위한 대안적 방법.

[0338] 에탄올 (400 mL)중의 (2R,3R,4S,5S)-2-(아세톡시메틸)-1-(3차부톡시 카르보닐)-5-(4-클로로-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-피롤리딘-3,4-디일 디아세테이트 (28c) (40 g, 78.29 mmol)의 투명한 용액에 암모니아 (에탄올에 대하여 35 부피%)를 -50 ℃에서 퍼징시켰다. 이러한 냉각된 용액을 오토클레이브에 조심스럽게 붓고 16 h 동안 100-105 ℃에서 가열하였다. TLC를 체크하여 반응 완료를 확실히 하였다. 혼합물이 실온으로 냉각되게 하였다. 용매를 증류시켜 (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸 2-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3,4-디히드록시-5-(히드록시메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (28f) 38 g을 암갈색의 끈적이는 덩어리로서 제공하였다.

[0339] 탈이온수 (584 mL)중의 3차-부틸 (2S,3R,4S,5S)-5-(히드록시메틸)-2-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-피롤리딘-3,4-디히드록시 카르복실레이트 (28f) (292 g, 799.16 mmol)의 교반된 용액에 진한 HCl (423 mL)을 첨가하였다. 생성된 투명한 용

액을 30 min 동안 실온에서 교반하였다. 이어서 이를 농축하여 건조시켜 (수조 80-90 ℃) 눅눅한 황색 고형물을 얻었다. 이어서, 습식 케이크를 탈이온수 (475 mL)로 희석하고 70 ℃에서 가열되게 하여 투명한 용액을 얻고 50 ℃로 냉각시켰다. 고온의 에탄올 (1.6 L)을 서서히 첨가하여 부분적 침전이 발생하게 하였다. 혼합물을 10 min 동안 60 ℃에서 교반하였다. 혼합물이 실온으로 냉각되게 하고 10 ℃로 냉각시키고 동일한 온도에서 1 h 동안 교반하였다. 얻은 고형물을 여과에 의해 수집하고, 일정한 중량이 수득될 때까지 55-60 ℃에서 건조시켜 (2S,3S,4R,5R)-2-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-5-(히드록시메틸)피롤리딘-3,4-디올 디히드로클로라이드 (**12i**) (65 g)를 연황색 내지 회백색 고형물로서 제공하였다; MP: 255.5 ℃. ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 14.64 (s, 1H), 13.19 (s, 1H), 10.20 (s, 1H), 9.11 (s, 2H), 8.83 (s, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.11 (d, J = 3.1 Hz, 1H), 5.99 - 5.20 (bs, 2H), 4.78 (s, 1H), 4.43 (dd, J = 8.9, 4.9 Hz, 1H), 4.11 (t, J = 4.2 Hz, 1H), 3.73 (d, J = 5.1 Hz, 2H), 3.51 (s, 2H); MS (ES+) 266.1 (M+1); 광 회전 -51.74 (H_2O,C=0.545); 분석: $C_{11}H_{15}N_5O_3 \cdot 2HCl \cdot 0.25H_2O$에 대한 계산치: C, 38.55; H, 5.15; Cl, 20.69; N, 20.44; 실측치: C, 38.51; H, 5.11; Cl, 20.57; N, 20.31.

[0340] (2R,3R,4S,5S)-2-(아세톡시메틸)-1-(3차-부톡시카르보닐)-5-(4-클로로-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)피롤리딘-3,4-디일 디아세테이트 (**28c**) 및 3차-부틸 (2S,3R,4S,5S)-5-(히드록시메틸)-2-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-피롤리딘-3,4-디히드록시 카르복실레이트 (**28f**)의 제조

[0341] 단계 1: D-리보노 락톤 (19b)의 제조

[0342] 기계적 교반기, 1L 압력-평형 (pressure-equalizing) 첨가 깔때기 및 유효 응축기가 구비된 22-L 삼-구 플라스크를 D-리보스 (**19a**) (2.0 kg, 13.33 mol) 고체 소듐 바이카보네이트 (2.24 kg, 26.66 mole) 및 물 (12 L)로 충전시켰다. 반응 혼합물을 실온에서 1 h 동안 교반하였으며, 이 시점에서 대부분의 고형물이 사라졌다. 반응 용기를 5 ±1 ℃의 내부 온도를 유지하면서 얼음 배쓰에 넣었다. 첨가 깔때기를 브로민 (710 mL, 13.86 mol)으로 채우고, 브로민을 상기 격렬하게 교반된 수용액에 온도가 5-10 ℃로 유지되도록 약 5 mL/min의 속도로 첨가하였다. 첨가가 완료되면 (약 2.5 h), 생성된 주황색 용액을 추가의 3 h 동안 교반하였다. 반응 혼합물에 주황색이 완전히 사라질 때까지 고체 소듐 히드로겐 설파이트 (~ 75 g)를 적은 로트 (lot)로 첨가하였다. 투명한 수용액을 20-L 증발 플라스크로 옮기고, 회전 증발기 (80 ℃, 10 mm Hg)에서 4 h의 기간에 걸쳐 증발하여 건조시켜 반-고체 잔류물이 남게 하였다. 잔류물에 에틸 알코올 (~ 4 L)을 첨가하고, 40 ℃에서 1 h 동안 교반하였다. 혼합물을 냉각시키고, 깔때기 상에서 여과하여 대부분의 불용성 무기 염을 제거하였다. 고체 잔류물을 에틸 알콜 (1 L)로 세척하였다. 여과물을 20-L 증발 플라스크로 옮기고, 회전 증발기 (50 ℃, 10 mm Hg) 상에서 농축하여 건조시켜 고체 잔류물을 제공하였다. 이러한 잔류물에 에틸 알콜 (~ 3 L)을 첨가하고, 슬러리를 실온에서 12 h 동안 교반하였다. 고형물을 여과에 의해 수집하고, 에틸 알콜 (750 mL)로 세척하였다. 생성물 D-리보노 락톤 (**19b**)을 진공 오븐에서 40 ℃ (0.1 mmHg)하에 건조하였다. 수율 1.28 kg (65 %); M.P. 77 - 80 ℃; ^{1}H NMR (D_2O) δ 4.72 (d, 1 H), 4.57 (t, 1 H), 4.42 (d, 1 H), 3.80 (m, 2 H).

[0343] 단계 2: 2,3-O-이소프로필리덴 D-리보노-1,4-락톤 (19c)의 제조

[0344] 50-L 피복된 반응 용기를 D-리보노-1,4-락톤 (**19b**) (3.0 kg, 20.27 mol), 및 30 L의 ACS 등급 아세톤으로 충전시켰다. 반응 혼합물을 실온에서 1 h 동안 교반하였다. 반응 용기의 내부 온도를 10 ℃로 저하시키고, 진한 황산 (49 mL)을 반응 혼합물에 서서히 첨가하였다. 황산의 첨가시, 내부 반응 온도가 서서히 가온되게 하였다. 반응 혼합물을 이 온도에서 2.5 - 3 h 동안 교반하였다. 반응을 TLC (TLC; 9:1, 메틸렌클로라이드:메틸 알콜, R_f = 0.75)로 모니터링하였다. 반응 혼합물을 pH가 중성화될 때까지 고체 소듐 바이카보네이트 (~500 g)를 첨가하여 중성화시켰다. 반응 혼합물을 깔때기 상에서 여과하였다. 무기 염을 함유하는 고체 잔류물을 아세톤 (3 L)으로 세척하였다. 여과물을 20-L 증발 플라스크에 옮기고, 증발하여 건조시켜 (50 ℃, 10 mmHg) 반-고체 화합물을 제공하였다. 잔류물을 에틸 아세테이트 (3 L)중에 취하고, 회전 증발기상에서 실온에서 4 h 동안 교반하였다. 고체 2,3-O-이소프로필리덴 D-리보노-1,4-락톤 (**19c**)을 여과에 의해 수집하고 진공 오븐에서 16 h 동안 40 ℃ (0.1 mm Hg)에서 건조하였다. 수율: 1.819 kg (48 %); MP 136 - 140 ℃; ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 4.8 (dd, 2 H), 4.6 (s, 1 H), 3.85 (dd, 2 H), 1.5 (s, 3 H), 1.4 (s, 3 H).

[0345] 단계 3: 2,3-O-이소프로필리덴 5-O-메탄설포닐 D 리보노-1,4-락톤 (**26a**)의 제조

[0346] ACS 등급 피리딘 (20 L)중의 2,3-O-이소프로필리덴 D-리보노-1,4-락톤 (**19c**) (4.3 kg, 22.96 mol) 용액을 50 L

반응 용기에서 실온하에 15 min 동안 완전히 용해될 때까지 교반하였다. 반응 용기의 내부 온도를 -15 ℃로 저하시킨 후 메탄 설포닐클로라이드 (1.96 L, 25.26 mol)를 2 h의 기간에 걸쳐 서서히 첨가하였다. 내부 온도를 0 - 5 ℃에서 유지하였다. 반응 TLC에 의해 SM이 나타나지 않을 때까지 (TLC; 7:3 에틸 아세테이트:헥산, R_f = 0.85) 반응물을 0 ℃에서 ~ 2 h 동안 불활성 대기하에 교반하였다. 반응 완료 시, DCM (10 L)을 첨가하고 3N HCl (4 배, pH = 3)로 추출하고, [수성층을 매번 DCM (5L)으로 다시 추출하였음] 이어서 포화된 $NaHCO_3$로 신속하에 세척하였다. 유기 분획물을 소듐 설페이트 상에서 건조시키고, 여과하고, 시럽으로 증발시켰다. 수득량: 4.89 kg (80 %). 생성물 2,3-O-이소프로필리덴 5-O-메탄설포닐 D 리보노-1,4-락톤 **(26a)**을 임의의 추가의 정제 없이 다음 단계에 취하였다; ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 4.8 (m, 3H), 4.5 (m, 2H), 3.08 (s, 3H), 1.5 (s, 3H), 1.4 (s, 3H).

[0347] 단계 4: 2,3-O-이소프로필리덴 L 릭소노-1,4-락톤 **(26b)**의 제조

[0348] 2,3-O-이소프로필리덴 5-O-메탄설포닐 D 리보노-1,4-락톤 **(26a)** (3.04 kg, 11.37 mol)에 물 (10 L)을 첨가하고 이어서, 고체 KOH (1.83 kg, 32.77 mol)를 서서히 첨가하였다. (주의: 고체 KOH의 첨가시 화합물이 화합물이 용액으로 되었다. KOH 첨가 동안 반응은 발열성이어서 반응 용기를 얼음 배쓰에 넣어야 한다.) KOH의 첨가가 완료된 때에 반응 온도는 45 ℃에 도달하였다. 반응 혼합물을 ~ 실온 (RT)에서 3 h 동안 교반하였다. 용액을 얼음 배쓰에서 다시 냉각시키고, 이어서 진한 HCl 용액을 사용하여 pH=3 (정확히)으로 산성화시켰다. 반응 혼합물을 증발시켜 고체의 갈색 잔류물을 제공하였다. 잔류물을 1 h 동안 비등 아세톤 (~ 5 L)과 2회 교반하고, 유기물을 따라냈다. 이어서 잔류하는 염을 최소량의 물에 용해시키고, pH를 진한 HCl (~ 200 mL)을 사용하여 3으로 조정하였다. 수용액을 농축시키고, 고체 잔류물을 아세톤 (~5 L)으로 추출하였다. 유기층을 건조하고, 여과하고 증발시켜 백색 바늘형의 2,3-O-이소프로필리덴 L 릭소노-1,4-락톤 **(26b)**을 제공하였다. 결정화를 고온 아세톤중에서 수행할 수 있다. 수득량: 1.60 kg (75 %); ^{1}H NMR (D_2O) δ 5.00 (m, 2H), 3.8 (m, 3H), 1.5 (s, 3H), 1.4 (s, 3H).

[0349] 단계 5: 2,3-O-이소프로필리덴 5-O-3차부틸디메틸실릴 L 릭소노-1,4-락톤 **(26c)**의 제조

[0350] 기계적 교반기가 구비된 22-L 3-구 플라스크에 2,3-O-이소프로필리덴 L 릭소노-1,4-락톤 **(26b)** (2.0 kg, 10.63 mol), DMAP (~25 g), 이미다졸 (1.60 kg, 23.40 mol, 2.2 당량)를 첨가하고, 1 h 동안 ACS 등급 DMF (8 L)에서 교반하였다. 얼음 배쓰를 이용하여 반응 온도를 0 ℃로 저하시켰다. 반응 혼합물에 TBDMSCl (2.08 kg, 13.81 mol, 1.3 당량)를 2 h의 기간에 걸쳐 서서히 첨가하였다. 반응 혼합물을 불활성 대기하에 14 h 동안 실온에서 교반하였다. TLC (7:3, EtOAc: 헥산, R_f = 0.80)에 의해 나타난 바대로 반응 완료시, 반응 혼합물을 빙수에 붓고 EtOAc (×2)로 추출하였다. 유기층을 분리하고, 건조시키고 여과하여 오일 잔류물을 제공하였다. 생성물을 함유하는 반응 용기를 얼음 배쓰에 넣은 후 헥산 (~3 L)을 첨가하였다. 화합물을 헥산중에서 결정화시켰다. 결정을 여과시키고, 최소량의 헥산으로 결정을 세척하고, 40 ℃의 진공 오븐에 밤새 생성물을 넣어 두어 2,3-O-이소프로필리덴 5-O-3차부틸디메틸실릴 L 릭소노-1,4-락톤 **(26c)** 3.01 kg (93 %)을 제공하였다; ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 4.8 (s, 2H), 4.5 (m, 1H), 3.9 (m, 2H), 1.5 (s, 3H), 1.4 (s, 3H), 0.9 (s, 9H), 0.0 (s, 6H).

[0351] 단계 6: 2-(3차-부틸디메틸실란옥시)-1-(5-히드록시메틸-2,2-디메틸-[1,3]디옥솔라노-4-일)-에탄올 **(26d)**의 제조

[0352] THF:MeOH (9:1 v/v 혼합물, 15 L)중의 2,3-O-이소프로필리덴 5-O-3차부틸디메틸실릴 L 릭소노-1,4-락톤 **(26c)** (3.00 kg, 9.93 mol) 용액을 완전한 용해가 관찰될 때까지 RT에서 0.5 h 동안 교반하였다. 반응 용기의 내부 온도를 - 5 ℃로 저하시켰다. 소듐 보로히드라이드 (751 g, 19.86 mol, 2 eq)를 소량으로 나누어서 첨가하여 온도가 15-17 ℃를 초과하지 않게 하였다. 시약의 첨가는 1 h의 기간에 걸쳐 완료하였다. 반응물이 3 h의 기간에 걸쳐 실온에 이르게 한 후, 이 온도에서 18 h 동안 교반을 계속하였다. 반응 혼합물을 TLC (3:7, 에틸아세테이트:헥산, R_f = 0.15)로 모니터링하였다. 반응 완료 시, 용액을 EtOAc (5 L)로 희석하고, 1 N HCl 용액 (2 배)으로 세척하였다. 유기층을 물로 세척하고, 건조시키고, 증발시켜 오일 잔류물을 제공하였다. 여기에 ~ 3 L의 헥산을 첨가하고, 얼음 배쓰에서 증발 플라스크를 냉각시켰다. 결정이 용액으로부터 분리 (crash out)될 것이다. 결정을 여과하고 ~250 mL의 헥산으로 세척하였다. 40 ℃의 진공 오븐에서 24 h 동안 건조하여 2-(3차-부틸디메틸실란옥시)-1-(5-히드록시메틸-2,2-디메틸-[1,3]디옥솔라노-4-일)-에탄올 **(26d)**을 제공하였다. 수득량: 2.32 kg (77 %); ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 4.2 (m, 2H), 3.7 (m, 5H), 1.5 (s, 3H), 1.4 (s, 3H), 0.9 (s, 9H),

0.0 (s, 6H).

[0353] 단계 7: 메탄설폰산 2-(3차부틸디메틸실라일옥시)-1-1(5-메탄설포닐옥시메틸-2,2-디메틸-[1,3]디옥솔란-4-일)-에틸 에스테르 (26e)의 제조

[0354] 500 mL 3-구 플라스크를 건조 피리딘 (20 mL), 촉매량의 DMAP로 충전시키고, 이어서 메탄 설포닐 클로라이드 (4.98 mL, 64.4 mmol, 4.0 eq)를 0 ℃에서 첨가하였다. 건조 피리딘 (20 mL)중에 용해된 2-(3차-부틸디메틸실란옥시)-1-(5-히드록시메틸-2,2-디메틸-[1,3]디옥솔라노-4-일)-에탄올 (26d) (5.0 g, 16.3 mmol)을 반응 용기에 서서히 첨가하였다. 반응물을 불활성 대기하에 이 온도에서 4h 동안 교반하였다. (TLC; 1:9 에틸아세테이트:헥산, R_f = 0.85). 반응 완료 시, 1ml의 물 및 100 mL EtOAc을 첨가하고 교반하였다. 유기 층을 물로 추출하고, 건조시키고 증발시켜 메탄설폰산 2-(3차부틸디메틸실라일옥시)-1-1(5-메탄설포닐옥시메틸-2,2-디메틸-[1,3]디옥솔란-4-일)-에틸 에스테르 (26e)의 시럽을 제공하였다. 수득량: 8.7 g (90 %). 미정제물을 임의의 추가의 정제 없이 다음 단계에 취하였다.

[0355] 단계 8: 5-O-3차부틸디메틸실릴-1,4-N-벤질이미노-2,3-O-이스프로필리덴-D-리비톨 (26f)의 제조

[0356] 메탄설폰산 2-(3차부틸디메틸실라일옥시)-1-1(5-메탄설포닐옥시메틸-2,2-디메틸-[1,3]디옥솔란-4-일)-에틸 에스테르 (26e) (8.6 g)에 순수한 벤질아민 (10 mL)을 첨가하고, 반응물을 70 ℃로 48 h 동안 가열하였다. TLC (4:1 헥산:EtOAc, R_f = 0.68)은 반응이 완료되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 냉각시키고, 염수를 반응 혼합물에 첨가하였다. 반응 혼합물을 디클로로메탄으로 추출하고, 물로 세척하고, 건조시키고 증발시켜 많은 아민 시약을 함유하는 시럽을 제공하였다. 잔류물을 톨루엔중에 취하고 여기에 드라이 아이스 칩을 첨가하여 염을 침전시켰다. 고형물을 여과하고, 여과물을 증발시켜 요망되는 생성물 5-O-3차부틸디메틸실릴-1,4-N-벤질이미노-2,3-O-이스프로필리덴-D-리비톨 (26f) (5.6 g, 92 %)을 제공하였다. 이를 임의의 추가의 정제 없이 다음 단계에 직접 사용하였다. ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 7.2 - 7.4 (m, 5H), 4.65 (m, 1H), 4.55 (dd, 1H), 4.0 (d, 1H), 3.6 - 3.8 (m, 3H), 3.1 (dd, 1H), 3.0 (m, 1H), 2.75 (dd, 1H), 1.5 (s, 3H), 1.34 (s, 3H), 0.9 (s, 9H), 0.0 (s, 6H).

[0357] 단계 9: 5-O-3차부틸디메틸실릴-1,4-이미노-2,3-O-이스프로필리덴-D-리비톨 (20a)의 제조

[0358] EtOH (15 mL)중의 5-O-3차부틸디메틸실릴-1,4-N-벤질이미노-2,3-O-이스프로필리덴-D-리비톨 (26f) (5.93 g, 15.74 mmol)에 Pd/C (50 mg)를 첨가하고, 반응을 5 h 동안 또는 TLC (3:2, 헥산:EtOAc, R_f = 0.18)가 반응이 완료됨을 나타낼 때까지 80 psi에서 수소화시켰다. 반응 혼합물을 셀라이트 패드 상에서 여과시키고, 셀라이트 패드를 EtOH (25 mL)로 세척하였다. 여과물을 밀리포어 필터 (0.25 μm)를 통해 통과시켜 미량의 촉매를 제거하고 증발시켜 5-O-3차부틸디메틸실릴-1,4-이미노-2,3-O-이스프로필리덴-D-리비톨 (20a)를 시럽으로서 제공하였다. 수득량: 3.5 g (75 % - 단계); ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 4.65 (m, 2H), 3.60 (dd, 2H), 3.24 (t, 1H), 3.00 (d, 2H), 1.5 (s, 3H), 1.34 (s, 3H), 0.9 (s, 9H), 0.0 (s, 6H).

[0359] 단계 10: (3aR,4R,6aS)-4-(((3차-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)-2,2-디메틸-4,6a-디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤 (20b)의 제조

[0360] 톨루엔 (470 mL)중의 5-O-3차부틸디메틸실릴-1,4-이미노-2,3-O-이스프로필리덴-D-리비톨 (20a) (94 g, 327 mmol) 용액을 톨루엔 (470 mL)중의 N-클로로숙신이미드 (54.6 g, 408.8 mmol) 현탁액에 17 내지 23 ℃에서 60 내지 90 분의 기간에 걸쳐 첨가하였다. 반응 혼합물을 17 내지 23 ℃에서 1 시간 동안 교반하고, -3 내지 3 ℃로 냉각시키고, 추가 1 시간 동안 교반하였다. 숙신이미드 부산물을 여과에 의해 제거하고, 여과된 용액을 테트라부틸-암모늄 브로마이드 (10.53 g, 32.7 mmol)를 함유하는 60% 포타슘 히드록시드 용액 (458 g, 305 mL 물중의 8175 mmol)으로 직접 충전시켰다. 반응 혼합물을 17 h 동안 -5 내지 5 ℃에서 교반하였다. 이어서, 물 (700 mL)을 2-상 혼합물에 첨가하여 무기 침전물을 용해시키고, 톨루엔 생성물 용액을 암모늄 아세테이트 완충제 (pH ~4.5)로 세척하고, 염수 (700 mL)로 완충시키고, 트리에틸아민으로 안정화시킨 후, 마그네슘 설페이트를 통한 순환에 의해 건조시키고 이어서 마그네슘 설페이트로 반응기를 충전시켰다. 톨루엔중의 (3aR,4R,6aS)-4-(((3차-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)-2,2-디메틸-4,6a-디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤 (20b)을 함유하는 건조된 용액을 다음 단계에 즉시 그대로 사용하였다.

[0361] 단계 11: 1S-5-*O*-3차-부틸디메틸실릴-1,4-디데옥시-1-*C*-[(4-메틸옥시피롤로[3,2-*d*]피리미딘-9-*N*-(벤질옥소메틸)-7-일)]-1,4-이미노-2,3-*O*-이소프로필리딘-D-리비톨 (26g)의 제조

[0362] 6-메톡시-*N*-(벤질옥시메틸)-9-데아자하이포잔틴 (**27f**) (271.0 g, 0.775 mole)을 N_2 대기하에서 무수성 아니솔 (1.7 L)을 함유하는 22 L 3-구 둥근 바닥 플라스크에 첨가하였다. 이러한 혼합물이 균질하게 될 때까지 (≈45 ℃) 혼합물을 완만하게 가열하였다. 혼합물을 주위 온도로 냉각시키고, 무수성 에테르 (2.9 L)를 첨가하였다. 반응 플라스크를 냉각 배쓰에 넣고, 드라이 아이스/아세톤을 사용하여 -70 ℃로 냉각시켰다. ≈- 20℃에서, 브로마이드가 미세한 백색 고형물로서 침전되기 시작하였다. 이러한 현탁액에 적하 깔때기를 통해 1.2 h 기간에 걸쳐 nBuLi (1.6 *N*, 486 mL, 0.778 mol)를 첨가하여 내부 온도가 < -50 ℃로 유지되게 하였다. 마지막 첨가 후, TLC (30 % EtOAc/헥산) 분석은 브로마이드가 <2%로 잔존함을 나타내었다. 톨루엔중의 (3aR,4R,6aS)-4-(((3차-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)-2,2-디메틸-4,6a-디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤 (**20b**) (183 g, 0.642 mole)을 내부 온도를 -50 ℃ 미만으로 유지하면서 첨가 깔때기를 통해 15분 기간에 걸쳐 첨가하였다. 반응 혼합물은 연한 호박색이었다. 반응 플라스크를 냉각 배쓰로부터 제거하고 가온되게 하였다. 반응 혼합물을 -2 ℃로 가온되게 하였으며, TLC (40% EtOAc/헥산, 엘리히 시약으로 가시화)는 (3aR,4R,6aS)-4-(((3차-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)-2,2-디메틸-4,6a-디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤 (**20b**)이 남아있지 않음을 나타냈다. 반응물을 H_2O (2 L)로 켄칭시키고, 에테르 (2 x 2 L)로 추출하였다. 합친 유기 층을 건조시키고 ($MgSO_4$) 진공하에 농축시켜 (60 ℃에서의 고 진공을 이용하여 아니솔을 제거하였음) 1S-5-*O*-3차-부틸디메틸실릴-1,4-디데옥시-1-*C*-[(4-메티옥시피롤로[3,2-*d*]피리미딘-9-*N*-(벤질옥소메틸)-7-일)]-1,4-이미노-2,3-*O*-이소프로필리딘-D-리비톨 (26g)의 미정제 어두운 오일을 제공하고, 이는 다음 단계에 사용하기에 적합하다. 수득량 284 g (79 %). 소량 (5 g)의 미정제 혼합물을 플래쉬 컬럼 크로마토그래피 (실리카 겔, 헥산중의 0-40 % 에틸아세테이트로 용리)에 의해 정제하여 1S-5-*O*-3차-부틸디메틸실릴-1,4-디데옥시-1-*C*-[(4-메티옥시피롤로[3,2-*d*]피리미딘-9-*N*-(벤질옥소메틸)-7-일)]-1,4-이미노-2,3-*O*-이소프로필리딘-D-리비톨 (26g)을 주황색 시럽 (3.4 g)으로서 제공하였다; ^{1}H NMR (DMSO-d_6) δ 0.02 (s, 3 H), 0.03 (s, 3 H), 0.8 (s, 9 H), 1.25 (s, 3 H), 1.48 (s, 3 H), 3.11-3.20 (m, 1 H), 3.60-3.71 (m, 2 H), 4.05 (s, 3 H), 4.26 (d, 1 H, J = 4.7 Hz), 4.49 (s, 2 H), 4.52-4.56 (m, 1 H), 4.81-4.85 (m, 1 H), 5.71 (s, 2 H), 7.21-7.32 (m, 5 H), 7.80 (s, 1 H), 8.40 (s, 1 H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ -5.46, -5.43, 18.30, 25.53, 25.88, 27.63, 53.43, 61.59, 62.54, 66.14, 70.14, 76.93, 82.32, 86.40, 114.43, 116.22, 116.56, 127.67, 127.93, 128.43, 130.55, 136.93, 149.61, 149.82, 156.16; IR 3420, 1610 cm^{-1}; MS (ES+) m/z 555.3; 분석: $C_{29}H_{42}N_4O_5Si$에 대한 계산치: C, 62.79; H, 7.63; N, 10.10; 실측치: C, 62.95; H, 7.59; N, 9.95.

[0363] 단계 12: 1S-N-3차-부톡시카르보닐-5-O-3차-부틸디메틸실릴-1,4-디데옥시-1-C-[(4-메티옥시피롤로[3,2-d]피리미딘-9-N-(벤질옥소메틸)-7-일)]-1,4-이미노-2,3-O-이소프로필리딘-D-리비톨 (**26h**)의 제조

[0364] 미정제 1S-5-*O*-3차-부틸디메틸실릴-1,4-디데옥시-1-*C*-[(4-메티옥시피롤로[3,2-*d*]피리미딘-9-*N*-(벤질옥소메틸)-7-일)]-1,4-이미노-2,3-*O*-이소프로필리딘-D-리비톨 (**26g**) (275 g, 0.496 mole)을 CH_2Cl_2 (1.4 L) 중에 취하고, 아이스/물 배쓰에서 5 ℃로 냉각시켰다. 이러한 냉각된 혼합물에 Boc_2O (168.5 g, 0.772 mole)를 4번에 나누어서 첨가하여 반응 혼합물 온도가 < 10 ℃로 유지되게 하였다. 30 min 후, TLC (40 % 에틸아세테이트/헥산)는 출발 물질이 남아있지 않음을 나타냈다. 미정제 생성물을 SiO_2 (700 g) 상에 흡수시키고, 플래쉬 크로마토그래피 (실리카 겔 1.5 kg, 헥산중의 10% 에틸아세테이트로 용리)로 정제하였다. 적합한 분획물을 풀링시키고, 진공하에 농축하여 1S-N-3차-부톡시카르보닐-5-O-3차-부틸디메틸실릴-1,4-디데옥시-1-C-[(4-메티옥시피롤로[3,2-d]피리미딘-9-N-(벤질옥소메틸)-7-일)]-1,4-이미노-2,3-O-이소프로필리딘-D-리비톨 (**26h**) (272 g, 84 %)을 황색 시럽으로서 제공하였다; ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 0.02 (s, 3 H), 0.03 (s, 3 H), 0.82 (s, 9 H), 1.31-1.58 (m, 15 H) 2.05-2.09 (m, 1 H); 3.58-3.80 (m, 2 H), 4.08 (s, 3 H), 4.17-4.32 (m, 1 H), 4.44 (s, 2 H), 4.84-5.71 (m, 4 H), 7.19-7.33 (m, 5 H), 7.46 (s, 1 H), 8.51 (s, 1 H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ -5.31, -5.20, 14.10, 14.20, 18.32, 21.01, 22.64, 25.56, 25.93, 27.46, 28.46, 31.58, 53.44, 60.34, 62.48, 70.08, 76.96, 79.84, 111.69, 115.89, 127.67, 127.93, 128.43, 136.90, 148.62, 149.90, 154.38, 156.19; IR 1692, 1608 cm^{-1}; MS (ES+) m/z 655.3; 분석: $C_{34}H_{50}N_4O_7Si$에 대한 계산치: C, 62.43; H, 7.65; N, 8.56; 실측치: C, 62.79; H, 7.89; N, 8.47.

[0365] 단계 13: (3aR,4R,6S,6aS)-3차-부틸 4-(((3차-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)-6-(4-메톡시-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-2,2-디메틸디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤-5(4H)-카르복실레이트 **(26i)**의 제조

[0366] 목탄상 팔라듐 히드록시드 (120 g, 50 % 습식 형)로 2 L 원뿔형 플라스크를 충전시켰다. 메탄올 (7.60 kg)을 칭량하여 20 L 폴리드럼에 넣었다. 0.80 kg의 이러한 메탄올을 사용하여 팔라듐 히드록시드 촉매를 함유하는 원뿔형 플라스크에 옮기고 원뿔형 플라스크를 휘저어 균질한 혼합물을 제조하였다. 이어서 이러한 현탁액을 20 L 수소화 용기에 붓고, 이를 질소로 퍼징하였다. 목탄상의 잔여 팔라듐 히드록시드를 메탄올 (25 mL)로 원뿔형 플라스크로부터 수소화 용기로 린싱하였다. 1S-N-3차-부톡시카르보닐-5-O-3차-부틸디메틸실릴-1,4-디데옥시-1-C-[(4-메티옥시피롤로[3,2-d]피리미딘-9-N-(벤질옥소메틸)-7-일)]-1,4-이미노-2,3-O-이소프로필리딘-D-리비톨 (**26h**) (380 g)로 10 L 폴리드럼을 충전시킨 후, 20 L 폴리드럼으로부터의 1.32 kg의 메탄올로 충전시켰다. 1S-N-3차-부톡시카르보닐-5-O-3차-부틸디메틸실릴-1,4-디데옥시-1-C-[(4-메티옥시피롤로[3,2-d]피리미딘-9-N-(벤질옥소메틸)-7-일)]-1,4-이미노-2,3-O-이소프로필리딘-D-리비톨 (**26h**)의 이러한 메탄올 용액으로 20 L 수소화 용기를 충전시켰다. 20 L 폴리드럼중의 나머지 메탄올을 린스로서 사용하여 10 L 폴리드럼을 경유해서 용기를 충전시켰다. 메탄올중 암모니아 용액 (7.0 M, 0.68 kg)을 측량하여 10 L 폴리드럼에 넣고, 수소화 용기로 옮겼다. 용기를 수소 가스로 5 bar로 가압시키고, 내용물을 진탕하에 35 ℃로 가열하였다. 이러한 반응 조건을 20 h 동안 유지하면서 필요에 따라 수소로 가득채웠다. 이러한 시간 후, HPLC 분석은 대략 2 % 출발 물질이 잔존함을 나타냈으며, 이는 반응이 충분히 완료되었음을 시사한다. 용기의 내용물을 20 L 폴리드럼으로 옮기고, 이어서 셀라이트의 베드를 통해 여과하였다. 이러한 작업 동안 필터 깔때기 상으로 질소를 퍼징시키고, 메탄올 (1.50 kg)을 사용하여 필터 케이크를 세척하였다. 여과물 및 세척물을 회전 증발기로 옮기고 감압하에 0.48 kg의 중량으로 농축시켰다. 메탄올 (2.50 kg)을 회전 증발기 플라스크에 첨가하고, 용액을 일정한 질량 (0.340 kg, 대략적으로 정량적인 수율)으로 농축시켰다. 추가적인 메탄올 (1.0 kg)을 생성물 (3aR,4R,6S,6aS)-3차-부틸 4-(((3차-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)-6-(4-메톡시-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-2,2-디메틸디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤-5(4H)-카르복실레이트 **(26i)**에 첨가하여 다음 단계에 사용하기 위한 용액을 제조하였다.

[0367] 단계 14: 7-((2S,3S,4R,5R)-3,4-디히드록시-5-(히드록시메틸)피롤리딘-2-일)-3H-피롤로[3,2-d]피리미딘-4(5H)-온 히드로클로라이드 **(26j)**의 제조

[0368] (3aR,4R,6S,6aS)-3차-부틸 4-(((3차-부틸디메틸실릴)옥시)메틸)-6-(4-메톡시-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-2,2-디메틸디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤-5(4H)-카르복실레이트 **(26i)**의 용액을 메탄올로 희석하여 총 용적 2.5 L를 생성시키고, 기계적 교반기, 환류 응축기 및 내부 온도계가 구비된 5 L 다중구 둥근 바닥 플라스크에 충전시켰다. 오일 배쓰를 사용하여 용액을 가열하고, 동시에 진한 염산 (37 %, 2.18 L 또는 2.62 kg)으로 40분에 걸쳐 충전시켰다 (이러한 시간 동안 내부 온도는 43 ℃로부터 58 ℃로 상승하였다). 추가의 6 h 동안 가열을 계속하여 내부 온도가 68 ℃에 도달하게 하고, 이 지점에서 용액을 실온으로 냉각되게 하고 추가의 15 h 동안 교반하였다. 갈색 용액을 회전 증발기 상에서 1.5 - 2.0 L의 용적으로 농축시킨 후, 물 (0.5 L)을 첨가하였다. 현탁액을 다시 5 L 플라스크로 옮기고, 가열하여 고형물을 재-용해시켰다. 추가적인 물 (0.50 L)을 첨가한 후, 이를 50 ℃에서 달성하였다. 목탄 (95 g)을 첨가하고, 현탁액을 50 ℃에서 1 h 동안 교반하였다. 목탄을 셀라이트 패드를 통해 여과에 의해 제거하고, 물 (대략적으로 1.0 L)로 세척하였다. 이제 부분적으로 탈색된 여과물 및 세척물을 회전 증발기상에서 0.95 L의 용적으로 농축하였다. 주위 온도 용액을 10 L 플라스크로 옮기고, 진탕하에 아이스 배쓰에서 냉각시켰다. 에탄올 (7.90 L)을 이러한 용액으로 나누어서 첨가하고, 생성물이 결정화되게 하였다. 추가의 2 h에 걸쳐 교반하고, 내부 온도가 5 ℃로 저하하였다. 고형 생성물을 질소의 블랭켓하에 여과에 의해 수집하고, 사전-냉각된 에탄올 (3 x 250 mL)로 세척하였다. 생성물을 30 분 동안 필터 깔때기 상에서 빼내 건조시킨 후, 건조 트레이로 옮겼다. 생성물을 밤새 70 ℃에서 오븐 건조하여 7-((2S,3S,4R,5R)-3,4-디히드록시-5-(히드록시메틸)피롤리딘-2-일)-3H-피롤로[3,2-d]피리미딘-4(5H)-온 히드로클로라이드 **(26j)**를 회백색 고형물 (101.2 g, 58 %)로서 제공하였다. 7-((2S,3S,4R,5R)-3,4-디히드록시-5-(히드록시메틸)피롤리딘-2-일)-3H-피롤로[3,2-d]피리미딘-4(5H)-온 히드로클로라이드 **(26j)** (101.2 g)로 20 L 피복 용기를 충전시켰다. 물 (1.52 L)을 첨가하고, 고형물이 용해될 때까지 현탁액을 진탕시켰다. 진한 염산 (37 %, 63.6 mL)을 충전시키고, 용액을 25 ℃에서 교반하였다. 균질해지면, 용액을 폴리드럼으로 따르고, 용기를 물 (506 mL)로 린스 세척하였다. 정화 단계 후, 7-((2S,3S,4R,5R)-3,4-디히드록시-5-(히드록시메틸)피롤리딘-2-일)-3H-피롤로[3,2-d]피리미딘-4(5H)-온 히드로클로라이드 **(26j)**의 용액을 폴리프로필렌 필터 깔때기상의 여과지를 통해 여과한 후, 용기에 다시 충전시켰다. 또한, 이러한 방식으로 세척물을 여과한 후, 용기로 다시 충전시켰다. 용액을 대략 15 ℃에서 45 분 동안 교반하였다. 에탄올 (1.0 L)을 교반된 용액에 15 분에 걸쳐 첨

가하였다. 7-((2S,3S,4R,5R)-3,4-디히드록시-5-(히드록시메틸)피롤리딘-2-일)-3H-피롤로[3,2-d]피리미딘-4(5H)-온 히드로클로라이드 (**26j**) 시드 결정 (2.0 g)을 첨가하여 결정화를 유도하였다. 70 분 후, 에탄올 (1.0 L)을 첨가하고, 현탁액을 15 ℃에서 추가의 19.5 h 동안 교반하였다. 추가의 에탄올 (8.0 L)을 현탁액에 첨가하고, 15 ℃에서의 교반을 추가의 5 h 동안 계속하였다. 자켓 온도를 0 ℃로 설정하고, 추가로 2 h 동안 교반을 계속하였다. 이 시점에서, 현탁액을 폴리드럼에 따르고, 폴리프로필렌 필터 깔때기에서의 여과지를 통해 여과하였다. 필터 케이크를 냉각된 에탄올 (1.0 L 이어서, 0.5 L)로 세척하고, 필터 깔때기상에서 30 분 동안 빼내 건조하였다. 이어서, 고형물을 건조 트레이에 옮기고, 70 ℃에서 밤새 오븐 건조시켜 7-((2S,3S,4R,5R)-3,4-디히드록시-5-(히드록시메틸)피롤리딘-2-일)-3H-피롤로[3,2-d]피리미딘-4(5H)-온 히드로클로라이드 (**26j**)를 회백색 고형물 (176.9 g, 87 % 회수율)로서 제공하였다.

[0369] 단계 15: (2R,3R,4S,5S)-3차-부틸 3,4-디히드록시-2-(히드록시메틸)-5-(4-옥소-4,5-디히드로-3H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**28a**)의 제조

[0370] 물 : 메탄올 혼합물 (1:1, 10.4 L) 중의 7-((2S,3S,4R,5R)-3,4-디히드록시-5-(히드록시메틸)피롤리딘-2-일)-3H-피롤로[3,2-d]피리미딘-4(5H)-온 (**26j**) (446.19 gm, 1.47 mol) 현탁액에 트리에틸아민 (621 mL, 4.42 mol, 3.0 eq)을 실온에서 첨가한 후, $(Boc)_2O$ (987 g, 4.53 mol, 3.1 eq)를 첨가하였다. $(Boc)_2O$의 첨가 후 반응 혼합물이 투명한 색의 용액이 되었으며, 내부 온도는 28 ℃로부터 33 ℃로 약간 상승하였다. 1시간 교반 후 용액이 약간 탁해지기 시작했다. 용액을 실온에서 밤새 교반하였다. 고형 생성물을 여과에 의해 수집하고, 물 (5.0 L)로 세척하고, 고진공하에 50 ℃에서 건조하여 (2R,3R,4S,5S)-3차-부틸 3,4-디히드록시-2-(히드록시메틸)-5-(4-옥소-4,5-디히드로-3H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**28a**) (482 g, 89 %)를 회백색 고형물을 제공하였다; ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 11.92 (s, 2H), 7.81 (s, 1H), 7.32 (d, J = 22.7 Hz, 1H), 5.73 - 5.20 (m, 1H), 5.05 - 4.91 (m, 1H), 4.87 - 4.76 (m, 1H), 4.74 - 4.49 (m, 1H), 4.33 - 4.17 (m, 1H), 4.09 - 3.86 (m, 2H), 3.64 - 3.48 (m, 2H), 1.39 - 1.00 (m, 9H); MS (ES+) 755.1 (2M+Na), (ES-) 731.7 (2M-1); 분석: $C_{16}H_{22}N_4O_6$에 대한 계산치: C, 52.45; H, 6.05; N, 15.29; 실측치: C, 52.24; H, 6.02; N, 15.05.

[0371] 단계 16: (2R,3R,4S,5S)-2-(아세톡시메틸)-1-(3차-부톡시카르보닐)-5-(4-옥소-4,5-디히드로-3H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)피롤리딘-3,4-디일 디아세테이트 (**28b**)의 제조

[0372] 피리딘 (740 mL, 9.21 mole, 7 당량)중의 (2R,3R,4S,5S)-3차-부틸 3,4-디히드록시-2-(히드록시메틸)-5-(4-옥소-4,5-디히드로-3H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**28a**) (482 g, 1.32 mole, 1.0 당량)의 현탁액에 DMAP (3.22 g, 26.32 mmol, 0.02 당량) 및 아세트산 무수물 (435 mL, 4.61 mmol, 3.5 eq)을 실온에서 첨가하였다. 아세트산 무수물의 첨가시 내부 온도가 증가하기 시작하였으며, 따라서 빙수 배쓰 냉각이 요구되었다. 무수물의 전체 첨가시, 온도는 67 ℃로 상승된 후 실온으로 저하되었다. 반응물이 25 ℃에 도달한 후 빙수 배쓰를 제거하였다. 현탁액은 투명한 용액을 제공하지 않았으나 더 밝은 현탁액이 관찰되었다. 반응 혼합물을 실온에서 14 h 동안 교반하여 불투명 용액을 수득하였다. 처리된 분취물은 TLC (9:1 클로로포름: 메탄올)에 의해 출발 물질이 더 이상 남아있지 않으며, 단지 2개의 주요 스팟이 존재함을 보여주며, MS는 생성물에 있어서는 (493.0, M+1) 및 테트라아세틸화된 생성물에 있어서는 (M+1= 535)에서의 2개의 주요 피크를 나타낸다. 반응 혼합물을 3.0 L의 클로로포름으로 희석하고, 10 분 동안 교반한 후, 2.0 L의 탈이온수를 첨가하였다. 왁스같은 백색의 비공지 생성물이 수성 유기상 계면에 형성되었다. 이러한 비공지의 생성물은 분할이 이루어진 후 수성상에 남아있었다. 유기상을 분리하고, 2.0 L의 물로 다시 세척하였다. 합친 물 층을 다시 1.0 L의 클로로포름으로 추출하였다. 합친 유기상을 수성 2.0 N HCl (2 x 1.0 L), 물 (2 x 1.0 L), 포화된 소듐 바이카보네이트 (2 x 1.0 L) 및 염수 (2 x 1.0 L)로 세척하였다. 유기층을 $MgSO_4$ 상에서 건조시키고, 여과하고 진공 및 50-55 ℃ 수조하에 농축하여 건조시켰다. 증류물이 더 이상 관찰되지 않을 때까지 진공을 고 진공 오일 펌프로 바꿔 조밀한 시럽 생성물을 제공하였다. 둥근 바닥 플라스크를 고 진공 오일 펌프에서 14 h 동안 방치하여 잔여 피리딘을 최소화시켰다. (2R,3R,4S,5S)-2-(아세톡시메틸)-1-(3차-부톡시카르보닐)-5-(4-옥소-4,5-디히드로-3H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)피롤리딘-3,4-디일 디아세테이트 (**28b**)의 조밀한 잔류물과 고은 백색 고형물로 변하는 고체 포말의 조합물을 수득하였다 (715, 110 % 수율). 이러한 백분율은 테트라아세틸화된 화합물의 양을 반영한다. 생성물은 다음 단계에 그대로 사용되기에 충분히 순수하였다. 혼합물을 플래쉬 컬럼 크로마토그래피 (실리카 겔, 헥산중의 0-100 % (9:1) 에틸 아세테이트/메탄올로 용리)를 사용하여 정제하여 (2R,3R,4S,5S)-2-(아세톡시메틸)-1-(3차-부톡시카르보닐)-5-(4-옥소-4,5-디히드로-3H-피롤로

[3,2-d]피리미딘-7-일)피롤리딘-3,4-디일 디아세테이트 (**28b**)를 백색 고형물로서 제공함으로써 분석 샘플을 제조하였다; ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 12.13 (s, 1H, D_2O 교환가능), 11.98 (s, 1H, D_2O 교환가능), 7.82 (s, 1H), 7.29 (s, 1H), 5.76 (s, 1H), 5.37 (t, J = 4.5 Hz, 1H), 4.99 (s, 1H), 4.55 (dd, J = 11.3, 6.6 Hz, 1H), 4.34 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 4.03 (q, J = 7.1 Hz, 1H), 2.01 (d, J = 12.6 Hz, 9H), 1.23 (dd, J = 39.9, 32.8 Hz, 9H); MS (ES+) 493.0 (M+1); (ES-) 526.7 (M+Cl); 분석: $C_{22}H_{28}N_4O_9$에 대한 계산치: C, 53.65; H, 5.73; N, 11.38; 실측치: C, 53.18; H, 5.89; N, 11.10.

[0373] 단계 17: (2R,3R,4S,5S)-2-(아세톡시메틸)-1-(3차-부톡시카르보닐)-5-(4-클로로-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)피롤리딘-3,4-디일 디아세테이트 (**28c**)의 제조

[0374] 아세토니트릴 (2.75 L)중의 (2R,3R,4S,5S)-2-(아세톡시메틸)-1-(3차-부톡시카르보닐)-5-(4-옥소-4,5-디히드로-3H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)피롤리딘-3,4-디일 디아세테이트 (**28b**) (622 g, 1.26 mol, 1.0 eq) 용액에 벤질트리에틸암모늄 클로라이드 (575 g, 2.5 mol, 2.0 eq), 디메틸아닐린 (240 mL, 1.9 mol, 1.5 eq), 이어서 $POCl_3$ (706 mL, 7.58 mol, 6.0 eq)를 실온에서 첨가하였다. 투명한 연황색 용액을 수득하였다. 반응 혼합물을 80 ℃로 서서히 가열하고, 이 온도에서 10 분 동안 유지하였다. 9:1 클로로포름:메탄올중의 TLC는 반응이 >98%로 완료됨을 보여주었다. 검정색 균질 용액을 50.0 ℃로 냉각시키고, 진공하에 농축하여 (수조 70-73 ℃) $POCl_3$를 제거하였다; 더 이상 증류물이 보이지 않을 때까지 잔류물을 오일 펌프 고 진공하에 두었다. 잔류물을 3.0 L의 클로로포름 중에 용해시키고, 중성 pH가 수득될 때까지 수성의 포화된 소듐 바이카보네이트로 신속하고 조심스럽게 세척하였다. 유기 층을 분리하고, 물 (2 L), 염수 (2 L)로 세척하고, $MgSO_4$ 상에서 건조시키고, 여과하고 진공하에 농축하여 건조시켰다 (50-53 ℃의 수조). (2R,3R,4S,5S)-2-(아세톡시메틸)-1-(3차-부톡시카르보닐)-5-(4-클로로-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)피롤리딘-3,4-디일 디아세테이트 (**28c**)의 검정색 생성물을 정제 없이 다음 단계에 사용하였다. 0.5 g을 플래쉬 컬럼 크로마토그래피 (실리카 겔 12 g, 헥산중의 0 내지 50 % 에틸 아세테이트/메탄올 (9:1)로 용리)를 사용하여 정제하고 수득된 관련 생성물을 헤테르/헥산중에 용해시키고, 밤새 방치하고, 형성된 결정 (301 mg)을 여과에 의해 수집하여 (2R,3R,4S,5S)-2-(아세톡시메틸)-1-(3차-부톡시카르보닐)-5-(4-클로로-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)피롤리딘-3,4-디일 디아세테이트 (**28c**)를 백색 고형물로서 제공함으로써 분석용 샘플을 제조하였다; ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 12.55 (s, 1H, D_2O 교환가능), 8.65 (s, 1H), 7.87 (bs, 1H), 5.79 (bs, 1H), 5.44 (t, *J* = 4.0 Hz, 1H), 5.10 (bs, 1H), 4.56 (dd, *J* = 11.5, 6.8 Hz, 1H), 4.38 (dd, *J* = 11.4, 4.1 Hz, 1H), 4.08 (bs, 1H), 2.07 (s, 3H), 2.00 (s, 6H), 1.38 (s, 4H), 1.13 (s, 5H); MS (ES+) 510.865 (M+1), (ES-) 508.717 (M-1); 분석: $C_{22}H_{27}ClN_4O_8$에 대한 계산치: C, 51.72; H, 5.33; Cl, 6.94; N, 10.97; 실측치: C, 51.91; H, 5.32; Cl, 6.76; N, 10.90.

[0375] 단계 18: (2R,3R,4S,5S)-2-(아세톡시메틸)-5-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-1-(3차-부톡시카르보닐)피롤리딘-3,4-디일 디아세테이트 (**28d**)의 제조

[0376] DMF (1.5 L)중의 (2R,3R,4S,5S)-2-(아세톡시메틸)-1-(3차-부톡시카르보닐)-5-(4-클로로-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)피롤리딘-3,4-디일 디아세테이트 (**28c**) (622 g, 1.26 mol, 1 eq) 용액에 소듐 아지드 (411 g, 6.32 mol, 5 eq.)를 첨가하고, 60 ℃에서 10 h 동안 교반하면서 가열하고, 이 시점에 반응이 완료되었다 (9:1 클로로포름 메탄올 및 1:1 헥산: 에틸 아세테이트에서의 TLC). 반응물을 25 ℃로 냉각시키고, 얼음 (2 L)에 붓고 클로로포름 (2 x 1 L)으로 추출하였다. 클로로포름 층을 조합하고, 물 (2 x 2 L), 염수 (2 L)로 세척하고, 건조하고, 여과시키고, 진공 (수조 70-80 ℃) 하에 농축하여 검정색 슬러지를 수득하였다. 컬럼 크로마토그래피에 의해 슬러지 정제를 달성하였다 (987 g의 검정색 슬러지, 8x30 인치 컬럼, 1/2 전체 실리카 겔, 용리 프로파일 헥산:에틸아세테이트; 9:1 (40.0L); 7:3 (20.0L); 6:4 (20.0L); 1:1 (20L); 4:6 (20.0L) 및 2:8 (20.0L)). 적합한 분획물을 풀링시키고, 진공하에 농축하여 (수조 50.0 ℃) (2R,3R,4S,5S)-2-(아세톡시메틸)-5-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-1-(3차-부톡시카르보닐)피롤리딘-3,4-디일 디아세테이트 (**28d**) (2 단계에 있어서 407.05 g, 62.3 % 수율)를 진한 붉은색의 꿀 같은 생성물로서 제공하였다. 혼합물을 플래시 컬럼 크로마토그래피 (헥산중 0-100 % 에틸 아세테이트)로 정제하여 (2R,3R,4S,5S)-2-(아세톡시메틸)-5-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-1-(3차-부톡시카르보닐)피롤리딘-3,4-디일 디아세테이트 (**28d**)를 주황색 고형물로서 제공함으로써 분석 샘플을 제조하였다. ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 13.08 (d, J = 155.6 Hz, 1H, D_2O 교환가능), 9.86 (s, 1H), 7.61 (d, J = 76.8 Hz, 1H), 5.78 (t, J = 4.5 Hz, 1H), 5.41 (t, J = 4.3 Hz, 1H), 5.21 (s, 1H), 4.55 (dd, J = 11.4, 6.4 Hz, 1H), 4.41 (dd, J = 11.4, 3.9 Hz, 1H), 4.07 (d, J = 16.5

Hz, 1H), 2.06 (s, 3H), 2.01 (d, J = 9.9 Hz, 6H), 1.23 (dd, J = 39.8, 32.7 Hz, 9H); MS (ES+) 518.0 (M+1), 540 (M+23); (ES-) 516.4 (M-1); 분석: $C_{22}H_{27}N_7O_8$에 대한 계산치: C, 51.06; H, 5.26; N, 18.95; 실측치: C, 50.97; H, 5.30; N, 18.62.

[0377] 단계 19: (2R, 3R, 4S, 5S)-2-(아세톡시메틸)-5-(4-아미노-5H-피롤로 [3, 2-d]피리미딘-7-일)-1-(3차-부톡시카르보닐) 피롤리딘-3, 4-디일 디아세테이트 (**28e**)의 제조

[0378] (2R,3R,4S,5S)-2-(아세톡시메틸)-5-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-1-(3차-부톡시카르보닐)피롤리딘-3,4-디일 디아세테이트 (**28d**)를 하기와 같이 3개의 상이한 배치에서 환원시켰다.

[0379] 배치 1: 2.0 L Parr 테플론 (Teflon) 삽입 수소화기에 (2R,3R,4S,5S)-2-(아세톡시메틸)-5-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-1-(3차-부톡시카르보닐)피롤리딘-3,4-디일 디아세테이트 (**28d**) (108.01 g, 메탄올중 300 mmol, 800 mL), $Pd(OH)_2$ (21.6 g, 20 % w/w)을 첨가하였다.

[0380] 배치 2: 2.0 L Parr 테플론 삽입 수소화기에 (2R,3R,4S,5S)-2-(아세톡시메틸)-5-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-1-(3차-부톡시카르보닐)피롤리딘-3,4-디일 디아세테이트 (**28d**) (140.70 g, 메탄올중 271.9 mmol, 1.0 L), $Pd(OH)_2$ (28.14 g, 20 % w/w)를 첨가하였다.

[0381] 배치 3: 2.0 L Parr 테플론 삽입 수소화기에 (2R,3R,4S,5S)-2-(아세톡시메틸)-5-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-1-(3차-부톡시카르보닐)피롤리딘-3,4-디일 디아세테이트 (**28d**) (140.7 g, 메탄올중 271.9 mmol, 1.0 L), $Pd(OH)_2$ (28.14 g, 20 % w/w)를 첨가하였다.

[0382] 반응 혼합물을 150 psi에서 15-18 h 동안 수소화시켰다. 반응 혼합물을 셀라이트를 통해 여과하여 촉매를 제거하였다. 일정 중량이 될 때까지 여과물을 진공 (수조 60-70 ℃)하에 농축하여 어두운 색의 생성물 (2R, 3R, 4S, 5S)-2-(아세톡시메틸)-5-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-1-(3차-부톡시카르보닐) 피롤리딘-3,4-디일 디아세테이트 (**28e**) (328.8 g, 89 %)을 제공하였다. 생성물을 다음 단계에 그대로 사용하기에 충분히 순수하였다. 플래쉬 컬럼 크로마토그래피 (클로로포름중 0-10 % 메탄올)를 사용하여 혼합물을 정제함으로써 분석 샘플을 제조하였다. ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 11.06 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 6.94 (s, 2H), 5.86 (s, 1H), 5.44 (t, J = 4.2 Hz, 1H), 5.02 (s, 1H), 4.56 (dd, J = 11.3, 6.9 Hz, 1H), 4.40 (dd, J = 11.3, 4.2 Hz, 1H), 4.16 - 3.98 (m, 1H), 2.09 - 1.94 (m, 9H), 1.48 - 1.14 (m, 9H); MS (ES+) 492.1 (M+1); (ES-) 526.4 (M+Cl); 분석: $C_{22}H_{29}N_5O_8.1.25H_2O$에 대한 계산치: C, 51.41; H, 6.18; N, 13.62; 실측치: C, 51.24; H, 5.92; N, 13.33.

[0383] 단계 20: (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸 2-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3,4-디히드록시-5-(히드록시메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**28f**)의 제조

[0384] 배치 1. 실온에서 (2R,3R,4S,5S)-2-(아세톡시메틸)-5-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-1-(3차-부톡시카르보닐)피롤리딘-3,4-디일 디아세테이트 (**28e**) (81.5 g, 165.8 mmol)에 무수성 메탄올 (370 mL)을 첨가하고, 이어서 NaOMe (소듐 메톡시드, 메탄올중 25 wt. % 용액, 4.49 g, 20.76 mmol)을 첨가하였다. TLC (클로로포름:메탄올 9:1)가 모든 출발 물질이 반응하였음을 나타낼 때까지 반응 혼합물을 실온에서 교반하였다.

[0385] 배치 2. 실온에서 (2R,3R,4S,5S)-2-(아세톡시메틸)-5-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-1-(3차-부톡시카르보닐)피롤리딘-3,4-디일 디아세테이트 (**28e**) (117.8 g, 239.6 mmol)에 무수성 메탄올 (530 mL)을 첨가하고, 이어서 NaOMe (소듐 메톡시드, 메탄올중 25 wt. % 용액, 6.58 g, 30.45 mmol)를 첨가하였다. TLC (클로로포름:메탄올 9:1)가 모든 출발 물질이 반응하였음을 나타낼 때까지 반응 혼합물을 실온에서 교반하였다.

[0386] 배치 3. 실온에서 (2R,3R,4S,5S)-2-(아세톡시메틸)-5-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-1-(3차-부톡시카르보닐)피롤리딘-3,4-디일 디아세테이트 (**28e**) (129.5 g, 263.5 mmol)에 무수성 메탄올 (584 mL)을 첨가하고, 이어서 NaOMe (소듐 메톡시드, 메탄올중 25 wt. % 용액, 6.99g, 32.35 mmol)을 첨가하였다. TLC (클로로포름:메탄올 9:1)가 모든 출발 물질이 반응하였음을 나타낼 때까지 반응 혼합물을 실온에서 교반하였다(7-8 h).

[0387] 상기 용액을 농축시켜 (수조 65-75 ℃) (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸 2-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3,4-디히드록시-5-(히드록시메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**28f**)를 제공하였으며, 이는 다음 단계에 그대로 사용되기에 충분히 순수하였다. 플래쉬 컬럼 크로마토그래피 (클로로포름중 0-10 % 메탄올)를 사용하여 혼합물을 정제함으로써 분석 샘플을 제조하였다. ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 10.77 (s, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.40

(s, 1H), 6.82 (s, 3H), 5.04 - 4.91 (m, 1H), 4.87 - 4.74 (m, 1H), 4.56 - 4.35 (m, 2H), 4.04 - 3.90 (m, 2H), 3.72 - 3.63 (m, 1H), 3.59 - 3.41 (m, 1H), 1.15 (2s, 9H); MS (ES+) 366.1 (M+1); (ES-) 400.3 (M+Cl); 분석: $C_{16}H_{23}N_5O_5.0.25H_2O$에 대한 계산치: C, 51.33; H , 6.46; N, 18.71; 실측치: C, 51.04; H, 6.43; N, 18.48.

[0388] 메톡시-N-(벤질옥시메틸)-9-브로모-9-데아자하이포잔틴 (**27f**)의 제조

[0389] 단계 1: 디메틸 3-아미노-1*H*-피롤-2,4-디카르복실레이트 (**27b**)의 제조

[0390] 메탄올 (3.6 L)중의 디에틸 아미노말로네이트 (370.4 g, 1.75 mol) 용액에 NaOMe (975 mL, 5.25 mol)의 5.4M 용액을 실온에서 한번에 첨가하였다 (반응 혼합물은 연갈색이다). 반응 혼합물에 에틸 (에톡시메틸렌)시아노아세테이트 (**27a**) (296 g, 1.75 mol)를 세 부분으로 나누어서 첨가하였다 (첨가 동안 큰 온도 변화는 관찰되지 않았음, ~1 ℃ 변화, 반응 색상은 연갈색에서 암갈색으로 변화됨). 반응 혼합물을 48 h 동안 환류하에 가열시켰다 (TLC 분석 (헥산중 50 % 에틸아세테이트)을 수행하여 출발 물질의 소멸을 체크하였다). 반응 혼합물을 AcOH (210 mL, 3.5 mole)를 첨가함으로써 pH 6으로 중성화시켰다. 반응 혼합물을 진공하에 농축시켜 갈색 잔류물을 제공하였다. 잔류물을 물 (3 L)과 분쇄하고, 여과하고, 물 (500 mL) 및 헥산으로 세척하였다. 48 h 동안 60 ℃의 진공 오븐에서 공기 건조시켜 디메틸 3-아미노-1*H*-피롤-2,4-디카르복실레이트 (**27b**) 287 g (83 %)를 갈색 고형물로서 제공하였다. 이를 다음 단계에 그대로 사용하였다.

[0391] 단계 2: 3H,5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-4-온 (**27c**)의 제조

[0392] 에탄올 (2.8 L, 2 mL/mmole)중의 디메틸 3-아미노-1*H*-피롤-2,4-디카르복실레이트 (**27b**) (286 g, 1.44 mole)와 포름아미딘 아세테이트 (451g, 4.33 mole)의 혼합물을 환류하에 밤새 가열하였다. 반응 혼합물은 초기에는 불균질하였으나, 2h 가량 환류시킨 후, 균질한 암갈색으로 보였다 (고형물이 용액으로부터 침전되기 시작했기 때문에 교반은 어려웠다). 분취물의 TLC 분석 (헥산중의 50 % 에틸 아세테이트)은 여전히 일부 비반응된 출발 물질이 존재함을 나타냈다. 반응 혼합물을 추가로 24 h 동안 환류하에 계속 가열하고 실온으로 냉각시켰다. 수득된 고형물을 여과에 의해 수집하고, 물 및 헥산으로 세척하고 진공하에 건조시켜 3H,5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-4-온 (**27c**) (223 g, 80 %)을 연갈색 고형물로서 제공하였다. 물질을 정제 없이 그대로 사용하였다.

[0393] 단계 3: 3H,5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-4-온 (**22a**)의 제조

[0394] 2 N KOH (1.35 L, 2.7 mole)중의 3H,5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-4-온 (**27c**) (130.4 g, 0.675 mole)의 혼합물을 완만한 환류하에 40 h 동안 가열하였다. 반응 혼합물을 60 ℃로 냉각시키고, 빙초산 (162 mL, 2.7 mole)으로 조심스럽게 pH 6으로 중성화시켰다 (탈카르복실화로 인한 포말이 관찰되었으며, 반응 혼합물의 색상은 검정색이었다). 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 수득된 고형물을 여과에 의해 수집하고, 물 (2 x 250 mL)로 세척하고, 공기 건조시키고, 고 진공하에 P_2O_5 상에서 건조시켜 생성물을 거무스름한 회색 고형물 (145 g, 159 %)로서 제공하였다. 생성물의 NMR은 많은 아세트산 또는 이의 염을 나타냈으며, 따라서, 수율이 더 높았다 (TLC는 용매 시스템으로서 CMA-80을 사용하여, 기준치의 깨끗한 생성물과 일부 생성물을 나타냈다). 생성물을 물 (400 mL)과 분쇄하고, 비등 (effervescence)이 나타나지 않을 때까지 포화된 수성 NaHCO3로 중성화시켰으며, pH는 약 7-8이다). 거무스름한 회색 고형물을 여과에 의해 수집하고, 물로 세척하고 48 h 동안 공기 건조하여 67.62 g (74 %)의 생성물을 제공하였다. 생성물을 에탄올 환류 온도하에 진공에서 추가로 건조시켜 3H,5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-4-온 (**22a**)을 거무스름한 회색 분말로서 제공하였다; 분석적으로 순수한 샘플의 MP > 250℃; ^{1}H NMR (360 MHz, DMSO-d_6) δ 12.05 (s, D_2O 교환가능, 1H), 11.82 (s, D_2O 교환가능, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.36 (s, 1H), 6.35 (s, 1H). ^{13}C-NMR (DMSO-d_6) 153.88, 144.80, 141.66, 127.51, 117.92, 103.10; IR (KBr) 3107, 3030 및 1674 cm^{-1}; MS (ES+) 136.2 (M+1); 분석: $C_6H_5N_3O$에 대한 계산치: C, 53.33; H, 3.73; N, 31.10; 실측치: C, 53.38; H, 3.77; N, 31.11.

[0395] 단계 4: 4-클로로피롤로[3,2-*d*]피리미딘 (**27d**)의 제조

[0396] N_2 하의 3H,5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-4-온 (**22a**) (31.08 g, 230 mmol)의 샘플에 포스포러스 옥시클로라이드 (60 mL, 644 mol, 2.8 eq)를 첨가하였다. 혼합물을 1h 동안 환류하에 가열시키고, 이 시간 동안 반응은 검정색을 띠며 균질하게 되었다. 반응을 빙-수 조에서 냉각시킨 후, 교반하면서 깨진 얼음 (775 mL)에 부었다. 수용액의 pH를 진한 NH_4OH (225 mL)로 ~ pH 8로 서서히 조절하면서 혼합물을 계속 냉각시켰다. 생성된 침전물을 진

공 여과에 의해 수집하고 물로 세척하였다. 고형물을 건조 트레이로 옮기고, 110 ℃에서 진공하에 건조시켜 4-클로로피롤로[3,2-*d*]피리미딘 (**27d**) (31.48 g, 89 %)을 암회색 고형물로서 제공하였다. 분석 샘플을 컬럼 크로마토그래피 (실리카 겔, EtOAc-헥산, 35:65) 이어서, 관련 분획물의 증발에 의해 수득하였다. 고형물을 EtOAc-MeOH와 분쇄하여 4-클로로피롤로[3,2-*d*]피리미딘 (**27d**)을 회백색 고형물로서 제공하였다. MP >150 ℃ (dec); ^{1}H NMR (DMSO-d_6) δ 12.43 (s, D_2O 교환가능, 1H), 8.61 (s, 1H), 7.97 (dd, *J* = 2.8, 2.8 Hz; D_2O는 d로 교환 붕괴, 1H), 6.72 (dd, *J* = 1.7, 3.5 Hz; D_2O는 d로 교환 붕괴, 1H). ^{13}C-NMR (DMSO-d_6) 151.30, 149.58, 142.12, 134.83, 124.32, 102.70; IR (순수) 3128, 3078, 2979, 1621 cm^{-1}; MS (ES+) 154.01 (100 %, M+1) 및 156.01 (33 %); 분석: $C_6H_4N_3Cl$에 대한 계산치: C, 46.93; H, 2.63; N, 27.36; Cl, 23.09; 실측치: C, 47.10; H, 2.79; N, 27.15; Cl, 22.93.

[0397] 단계 5: 6-메톡시-*N*-(벤질옥시메틸)-9-데아자하이포잔틴 (**27e**)의 제조

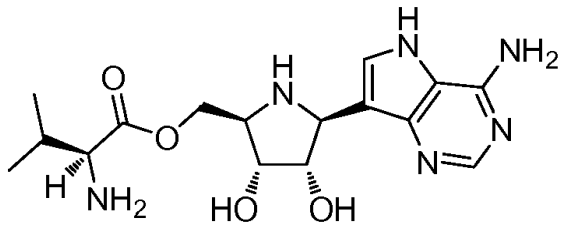
[0398] 4 ℃로 냉각된 무수성 THF (1.0 L)중의 사전 세척된 NaH (20 g, 500 mmol, 1.25 eq, 60 % 오일 분산, 헥산으로 2회 세척)의 현탁액에 고체 4-클로로피롤로[3,2-*d*]피리미딘 (**27d**) (61.4 g, 400 mmol)을 N_2 하에 교반하면서 10-15 min에 걸쳐 나누어서 부분적으로 조심스럽게 첨가하여 H_2 기체 발생을 제어하였다. 약 한 시간 후, 기체 발생이 중단하였으며, 벤질 클로로메틸 에테르 (61 mL, 440 mmol, 1.1 eq)를 45 min에 걸쳐 4 ℃에서 적가하였다 (추가적인 기체 발생이 관찰되었다). 생성 혼합물을 주위 온도로 가온되게 하고 1 h 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 4 ℃로 냉각시키고, 소듐 메톡시드 (93 mL, 메탄올중 5.4 M 용액, 500 mmol)로 조심스럽게 켄칭시켰다. 혼합물을 실온으로 밤새 가온되게 하고, 빙초산 (30 mL, 500 mmol)으로 pH 6으로 중성화시켰다. 혼합물을 농축하고, 잔류물을 물 (2 x 400 mL)과 분쇄하였다. 수성층을 따라내고, 잔류물을 진공하에 건조하였다. 잔류물을 에틸 아세테이트 (250 mL)중에 취하고, 비등하여 환류시키고, 플루티드 여과지를 통해 여과시켰다. 잔류물을 에틸 아세테이트 (2 x 100 mL)와 비등시키고, 여과하였다 (뒤에 남은 잔류물은 원하지 않는 화합물이며, TLC 분석 (헥산중의 50% 에틸 아세테이트)에서 이동하지 않음). 여과물을 합치고, 진공하에 250 mL로 농축시키고, 냉장고에서 밤새 보관하였다. 수득된 갈색 결정을 여과에 의해 수집하고, 아이스 콜드 에틸아세테이트/헥산 (2 x 100 mL)으로 세척하고, 진공하에 건조하여 6-메톡시-*N*-(벤질옥시메틸)-9-데아자하이포잔틴 (**27e**) (46.64 g, 43 %)을 주황색 갈색 고형물로서 제공하였다. 분석 샘플을 에틸 아세테이트로부터의 재결정화에 의해 제조하였다; MP 123 - 127 ℃; ^{1}H NMR (DMSO-d_6) δ 8.44 (s, 1H), 7.86 (d, *J* = 3.1 Hz, 1 H), 7.31 - 7.22 (m, 5 H), 6.62 (d, *J* = 3.6 Hz, 1 H), 5.75 (s, 2 H), 4.49 (s, 2 H), 4.05 (s, 3 H); ^{13}C-NMR (DMSO-d_6) 156.11, 151.59, 150.09, 137.82, 134.80, 128.53, 127.87, 127.77, 114.99, 103.08, 77.55, 69.95, 53.73; IR (KBr) 1602 cm^{-1}; MS (ES+) 269.97 (M+1); 분석: $C_{15}H_{15}N_3O_2$에 대한 계산치: C, 66.90; H, 5.61; N, 15.60; 실측치: C, 67.09; H, 5.60; N, 15.60.

[0399] 단계 6: 6-메톡시-N-(벤질옥시메틸)-9-브로모-9-데아자하이포잔틴 (**27f**)의 제조

[0400] N_2 하에 4 ℃로 냉각된 디클로로메탄 (225 mL) 중의 6-메톡시-*N*-(벤질옥시메틸)-9-데아자하이포잔틴 (**27e**) (59.81 g, 222 mmol) 용액 (균질성 반응 혼합물)에 NBS (40.3 g, 224 mol, 1.01 eq)를 30 min에 걸쳐 나누어서 첨가하여, 반응 온도를 15℃ 미만으로 유지시켰다. 혼합물을 0 ℃에서 15 min 동안 교반하고, 15 min에 걸쳐 실온으로 가온되게 하였다 (TLC 분석 헥산중의 50 % 에틸 아세테이트). 반응 혼합물을 진공 여과하여 불용성 숙신이미드를 제거하였다. 여과물을 물 (2 x 250 mL) 및 염수 (200 mL)로 세척하고, 건조시키고 (Na_2SO_4), 여과하고 진공하에 농축하여 생성물을 연갈색 고형물로서 제공하였다. 고형물을 에틸 아세테이트 (200 mL) 중에 비등시켜 용해시키고, 헥산 (200 mL)으로 희석하였다. 용액을 비등하여 환류시키고, 매우 신속하게 고온 여과하였다 (고형물 결정화를 회피하기 위해). 그 후, 여과물을 비등시키고, 200 mL 증분씩 헥산을 첨가하였다 (헥산 1600 mL의 총 용적). 필요에 따라 고온 용액을 따라내어 불용성 잔류물을 제거하였다 (생성물은 헥산중의 고온 10 % 에틸 아세테이트에서 가용성임). 고온 여과물을 실온으로 가온되게 한 후, 냉동기에서 밤새 보관하였다. 수득된 고형물을 여과에 의해 수집하고, 헥산으로 세척하고 진공하에 실온에서 건조시켜 6-메톡시-N-(벤질옥시메틸)-9-브로모-9-데아자하이포잔틴 (**27f**) (59.6 g, 77 %)을 연황색 고형물을 제공하였다: MP 103 - 108 ℃; ^{1}H NMR (DMSO-d_6) δ 8.51 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.31 - 7.22 (m, 5H), 5.74 (s, 2H), 4.52 (s, 2H),

4.07 (s, 3H). ^{13}C-NMR (DMSO-d_6) 156.19, 150.66, 148.14, 137.59, 133.45, 128.38, 127.80, 127.67, 115.02, 90.90, 77.79, 70.25, 54.07; IR (KBr) 3078, 1602, 1542 cm^{-1}; MS (ES+) 348.27 (100 %), 350.28 (98 %); 분석: $C_{15}H_{14}N_3O_2Br$에 대한 계산치: C, 51.74; H, 4.05; N, 12.07; 실측치: C, 51.72; H, 4.04; N, 12.06.

[0401] 실시예 2: (S)-((2R,3R,4S,5S)-5-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3,4-디히드록시피롤리딘-2-일)메틸 2-아미노-3-메틸부타노에이트 히드로클로라이드 (**30f**)



30f

[0402]

[0403] 방법 A:

[0404] TFA (10 mL)중의 (3aS,4S,6R,6aR)-3차-부틸 4-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-6-(((2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)메틸)-2,2-디메틸디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤-5(4H)-카르복실레이트 (**30e**) (600 mg, 1 mmol)의 용액에 실온하에 1h 동안 교반한 후, 진공하에 농축하여 건조시켰다. 잔류물을 10 mL의 AcOH중에 용해시키고, BCl_3의 용액 (3.6 mL, 3.6 mmol, 디클로로메탄중 1 M)을 첨가하고, 실온에서 4 min 동안 교반하고, 물 (5 mL)로 켄칭하였다. 반응 혼합물을 농축하여 건조시켰다. 잔류물을 동결-건조시켜 (S)-((2R,3R,4S,5S)-5-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3,4-디히드록시피롤리딘-2-일)메틸 2-아미노-3-메틸부타노에이트 히드로클로라이드 (**30f**) (400 mg, 76 %)를 백색 고형물로서 제공하였다; ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6/D_2O) δ 8.64 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 4.83 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 4.63 - 4.49 (m, 3H), 4.27 - 4.19 (m, 1H), 3.94 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 3.82 - 3.70 (m, 1H), 2.33 - 2.18 (m, 1H), 0.99 (d, J = 6.9 Hz, 6H); MS (ES+) 365.1 (M+1); 분석: $C_{16}H_{27}Cl_3N_6O_4.3HCl.2.5H_2O$에 대한 계산치: C, 37.17; H, 6.07; Cl, 20.16; N, 16.09; 실측치: C, 37.04; H, 6.22; Cl, 20.50; N, 16.20.

[0405] 방법 B:

[0406] 아세톤 (2 mL)중의 (3aS,4S,6R,6aR)-3차-부틸 4-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-6-(((2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)메틸)-2,2-디메틸디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤-5(4H)-카르복실레이트 (**30e**) (0.151 g, 0.25 mmol) 용액에 진한 황산 (18 N, 0.139 mL, 2.5 mmol)을 첨가하고, 실온하에 밤새 교반하였다. 반응 혼합물을 따라내고, 잔류물에 아세톤 (10 mL)을 첨가하고, 비등시키고 실온으로 냉각시켰다. 수득된 고형물을 여과에 의해 수집하여 ((2R,3R,4S,5S)-5-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3,4-디히드록시피롤리딘-2-일)메틸 2-아미노-3-메틸부타노에이트 설페이트 (**30f**)를 백색 고형물로서 제공하였다; ^{1}H NMR (300 MHz, D_2O) δ8.42 (s, 1H), 8.04 (s, 1H), 5.05 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 4.79 (d, *J* = 4.9 Hz, 1H), 4.62 (dd, *J* = 12.6, 7.5 Hz, 1H), 4.55 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.20 - 4.08 (m, 3H), 2.45 - 2.28 (m, 1H), 1.06 (t, *J* = 7.3 Hz, 6H).

[0407] 방법 C:

[0408] MTBE (2.5 mL)중의 (3aS,4S,6R,6aR)-3차-부틸 4-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-6-(((2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)메틸)-2,2-디메틸디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤-5(4H)-카르복실레이트 (**30e**) (0.302 g, 0.5 mmol) 용액에 물 (0.046 mL) 및 진한 황산 (0.138 mL, 5.00 mmol)을 첨가하고, 이어서 15 min 후에 MTBE (2.5 mL)를 첨가하고, 실온에서 4 h 동안 교반하였다. TBDME를 따라내고, 물 (0.5 mL)을 첨가하고, 교반하여 고형물을 용해시킨 후, 에탄올 (9.5 mL)을 첨가하고, 2 h 동안 강하게 교반하였다. 수득된 미세 고형물을 여과에 의해 수집하고, 에탄올로 세척하여 ((2R,3R,4S,5S)-5-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3,4-디히드록시피롤리딘-2-일)메틸 2-아미노-3-메틸부타노에이트 설페이트 (**30f**) (0.288 g, 103 % 수율)을 백색 고형물로서 제공하였다; ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6/D_2O) δ 8.26 (s, 1H), 7.81

(s, 1H), 4.67 (d, J = 6.7 Hz, 1H), 4.59 - 4.41 (m, 3H), 4.27 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 3.91 (d, J = 4.6 Hz, 1H), 3.81 - 3.69 (m, 1H), 2.28 - 2.10 (m, 1H), 0.97 (d, J = 6.9 Hz, 6H).

[0409] 방법 D:

[0410] MTBE (2.5 mL)중의 (3aS,4S,6R,6aR)-3차-부틸 4-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-6-(((2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)메틸)-2,2-디메틸디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤-5(4H)-카르복실레이트 (**30e**) (0.302 g, 0.5 mmol) 용액에 물 (0.138 mL) 및 진한 황산 (0.138 mL, 5.00 mmol)을 첨가하고, 15 min 후 MTBE (2.5 mL)를 첨가하고, 실온에서 4 h 동안 교반하였다. TBDME를 따라내고, 에탄올 (9.5 mL)을 첨가하고, 2 h 동안 교반하고 여과에 의해 고형물을 수집하고, 진공하에 건조하여 ((2R,3R,4S,5S)-5-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3,4-디히드록시피롤리딘-2-일)메틸 2-아미노-3-메틸부타노에이트 설페이트 (**30f**) (0.160 g, 0.285 mmol, 57.1 % 수율)의 백색 고형물을 제공하였다.

[0411] (3aS,4S,6R,6aR)-3차-부틸 4-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-6-(((2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)메틸)-2,2-디메틸디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤-5(4H)-카르복실레이트 (**30e**)의 제조

[0412] 단계 1: (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸 2-(4-클로로-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3,4-디히드록시-5-(히드록시메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**30a**)의 제조

[0413] 메탄올 (200 mL)중에 용해된 (2R,3R,4S,5S)-2-(아세톡시메틸)-1-(3차-부톡시카르보닐)-5-(4-클로로-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)피롤리딘-3,4-디일 디아세테이트 (**28c**) (25.8 g, 50.5 mmol) 용액에 메탄올 (3.6 mL, 16.66 mmol)중의 소듐 메톡시드 25 % wt를 실온에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 반응 혼합물을 농축하여 건조시키고 600 g 컬럼으로 정제하여, (2S,3S,4R,5S)-3차-부틸 2-(4-클로로-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3,4-디히드록시-5-(히드록시메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**30a**) (17.7 g, 46 mmol, 91 % 수율)를 무색 포말로서 제공하였다; ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 12.34 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 5.40 - 5.02 (m, 2H), 4.96 - 4.70 (m, 2H), 4.41 - 4.25 (m, 1H), 4.13 - 3.93 (m, 2H), 3.69 - 3.51 (m, 2H), 1.35 (s, 3H), 1.01 (s, 6H); MS (ES+) 384.9 (M+1), 792.6 (2M+Na); (ES-) 382.6 (M-1).

[0414] 단계 2: (3aS,4S,6R,6aR)-3차-부틸 4-(4-클로로-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-6-(히드록시메틸)-2,2-디메틸디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤-5(4H)-카르복실레이트 (**30b**)의 제조

[0415] 아세톤 (400 mL)중의 (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸 2-(4-클로로-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3,4-디히드록시-5-(히드록시메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**30a**) (16.3 g, 42.4 mmol) 용액에 2,2-디메톡시프로판 (11.17 mL, 89 mmol) 및 4-메틸벤젠설폰산 수화물 (0.41 g, 2.12 mmol)을 첨가하였다. 반응물을 실온에서 밤새 교반하였다. 반응 혼합물을 TEA (590 μL, 4.24 mmol)로 켄칭시키고 농축하여 건조하였다. 잔류물을 플래쉬 컬럼 크로마토그래피 (실리카 겔 500 g)에 의해 정제하여 (3aS,4S,6R,6aR)-3차-부틸 4-(4-클로로-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-6-(히드록시메틸)-2,2-디메틸디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤-5(4H)-카르복실레이트 (**30b**) (10.7 g, 25.2 mmol, 59.5 % 수율)을 무색 포말로서 제공하였다; ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 12.45 (s, 1H), 8.67 (s, 1H), 7.81 (s, 1H), 5.09 (d, J = 36.7 Hz, 3H), 4.82 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 4.00 (s, 1H), 3.53 (s, 1H), 3.34 (s, 1H), 1.47 (s, 3H), 1.40 (bs, 4H), 1.29 (bs, 4H), 1.20 (bs, 4H); MS (ES+) 426.9 (M+1); 422.6 (M-1).

[0416] 단계 3: (3aS,4S,6S,6aR)-3차-부틸 4-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-6-(히드록시메틸)-2,2-디메틸디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤-5(4H)-카르복실레이트 (**30c**)의 제조

[0417] DMF (30 mL)중의 (3aS,4S,6R,6aR)-3차-부틸 4-(4-클로로-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-6-(히드록시메틸)-2,2-디메틸디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤-5(4H)-카르복실레이트 (**30b**) (5.1 g, 12 mmol) 용액에 소듐 아지드 (3.9 g, 60 mmol)를 첨가하고, 생성 용액을 80 ℃에서 4 h 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 진공하에 농축하여 대부분의 DMF를 제거하고, 수득된 잔류물을 클로로포름중에 용해시켰다. 유기층을 물로 세척하고, $MgSO_4$로 건조시키고 진공하에 농축하여 (3aS,4S,6R,6aR)-3차-부틸 4-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-6-(히드록시메틸)-2,2-디메틸디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤-5(4H)-카르복실레이트 (**30c**) (5 g, 97 %)를 제공하였다; ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 13.22 (bs, 1H), 9.87 (s, 1H), 7.69 - 7.47 (m, 1H), 5.28 (m, 1H), 5.05 (m, 2H), 4.81 (d, J = 5.9, 1H), 4.06 - 3.91 (m, 1H), 3.57 (m, 1H), 3.51 - 3.38 (m,

1H), 1.48 (s, 3H), 1.41-1.23 (bs, 9H), 1.30 (s, 3H); MS (ES+) 454 (M+Na), 863.1 (2M+1), 885.2 (2M+Na); (ES-) 429.7 (M-1).

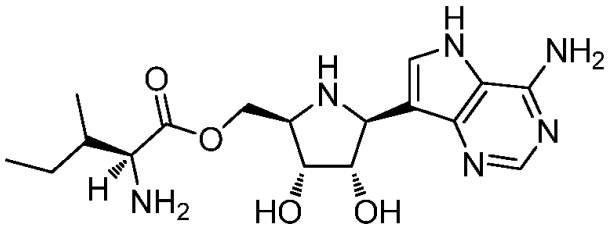
[0418] 단계 4: (3aS,4S,6R,6aR)-3차-부틸 4-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-6-((((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)메틸)-2,2-디메틸디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤-5(4H)-카르복실레이트 (**30d**)의 제조

[0419] DMF (20 mL)중의 (3aS,4S,6R,6aR)-3차-부틸 4-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-6-(히드록시메틸)-2,2-디메틸디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤-5(4H)-카르복실레이트 (**30c**) (1.088 g, 2.5 mmol) 및 (S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부탄산 (L-Boc 발린, 0.543 g, 2.5 mmol)의 용액에 EDCI (1.198 g, 6.25 mmol) 및 DMAP (92 mg, 0.75 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 10일 동안 교반하고, 물 (60 mL)로 켄칭시키고, 에틸 아세테이트 (3 x 50 mL)로 추출하였다. 유기층을 합치고, 물 (2 x 50 mL) 및 염수로 세척하고, 건조시키고 진공하에 농축하였다. 수득된 잔류물을 플래쉬 컬럼 크로마토그래피에 의해 2회 정제하여 (3aS,4S,6R,6aR)-3차-부틸 4-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-6-((((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)메틸)-2,2-디메틸디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤-5(4H)-카르복실레이트 (**30d**) (0.75 g, 47 %)을 백색 고형물로서 제공하였다; ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 13.30 (s, 1H), 9.88 (s, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.10 (s, 1H), 5.34 (s, 1H), 5.20 (dd, J = 5.7, 1.5 Hz, 1H), 4.82 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 4.34 - 4.14 (m, 2H), 3.80 (dd, J = 8.0, 5.9 Hz, 1H), 3.34 (s, 1H), 1.97 - 1.84 (m, 1H), 1.47 (s, 3H), 1.43-1.31(m, 21H), 0.80 (dd, J = 6.9, 5.2 Hz, 6H); MS (ES-) 629.1 (M-1); IR (KBr) 2315 cm^{-1}.

[0420] 단계 5: (3aS,4S,6R,6aR)-3차-부틸 4-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-6-((((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)메틸)-2,2-디메틸디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤-5(4H)-카르복실레이트 (**30e**)의 제조

[0421] 메탄올 (20 mL)중의 (3aS,4S,6R,6aR)-3차-부틸 4-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-6-((((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)메틸)-2,2-디메틸디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤-5(4H)-카르복실레이트 (**30d**) (0.72 g, 1.19 mmol) 용액에 Pd/C (200 mg, C 상의 5 % wt)을 첨가하고, 수소 대기하에 2 h 동안 수소화시켰다. 촉매를 셀라이트를 통한 여과에 의해 제거하고, 여과물을 진공하에 농축하였다. 수득된 잔류물을 컬럼으로 정제하여 (3aS,4S,6R,6aR)-3차-부틸 4-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-6-((((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)메틸)-2,2-디메틸디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤-5(4H)-카르복실레이트 (**30e**) (600 mg, 83 %)를 백색 고형물로서 제공하였다. ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 11.97 (s, 1H), 10.87 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 7.36 (s, 1H), 6.78 (s, 2H), 5.30 - 5.22 (m, 1H), 5.19 - 5.07 (m, 1H), 4.88 (d, J = 5.9 Hz, 1H), 4.18 - 4.07 (m, 2H), 3.87 - 3.79 (m, 1H), 3.44 (qd, J = 7.0, 5.1 Hz, 1H), 2.01 - 1.92 (m, 1H), 1.44 - 1.32 (m, 21H), 1.28 (s, 3H), 0.82 (d, J = 6.7 Hz, 6H); MS (ES+) 605.1 (M+1).

[0422] 실시예 3: (2S,3S)-((2R,3R,4S,5S)-5-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3,4-디히드록시피롤리딘-2-일)메틸 2-아미노-3-메틸펜타노에이트 히드로클로라이드 (**31c**)



31c

[0423]

[0424] 트리플루오로아세트산 (10 mL)중의 (3aS,4S,6R,6aR)-3차-부틸 4-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-6-((((2S,3S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸펜탄오일)옥시)메틸)-2,2-디메틸디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤-5(4H)-카르복실레이트 (**31b**) (0.398 g, 0.643 mmol) 용액에 실온에서 1 h 동안 교반하고, 진공하

에 농축하여 건조시켰다. 잔류물을 톨루엔 (20 mL)과 분쇄하고 진공하에 농축하여 건조하였다. 수득된 잔류물을 AcOH (10 mL)에 용해시키고, 여기에 트리클로로보란 (2.32 mL, 2.32 mmol) 용액을 첨가하고, 실온에서 4 min 동안 교반하고, 물 (5 mL)로 켄칭하였다. 반응 혼합물을 진공하에 농축하여 건조시켰다. 수득된 점착성의 고형물을 물 (5 mL)에 용해시키고 여과하였다. 여과물을 동결-건조하여 (2S,3S)-((2R,3R,4S,5S)-5-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3,4-디히드록시피롤리딘-2-일)메틸 2-아미노-3-메틸펜타노에이트 (**31c**) (0.275 g, 88 % 수율)를 백색 고형물로서 제공하였다.

[0425] ^{1}H NMR (300 MHz, D_2O) δ 8.24 (s, 1H), 7.87 (s, 1H), 4.89 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 4.61 - 4.43 (m, 3H), 4.41 (t, J = 5.0 Hz, 1H), 4.04 (d, J = 3.9 Hz, 1H), 3.98 (dt, J = 6.7, 4.2 Hz, 1H), 2.00 - 1.88 (m, 1H), 1.41 - 1.10 (m, 2H), 0.88 (d, J = 7.0 Hz, 3H), 0.79 (t, J = 7.4 Hz, 3H); ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6/D_2O) δ 8.61 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 4.85 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 4.62 (dd, J = 12.2, 4.2 Hz, 1H), 4.57 - 4.46 (m, 2H), 4.24 (t, J = 5.0 Hz, 1H), 4.01 (d, J = 4.1 Hz, 1H), 2.01 - 1.94 (m, 1H), 1.56 - 1.39 (m, 1H), 1.36 - 1.22 (m, 1H), 0.96 (d, J = 6.9 Hz, 3H), 0.90 (t, J = 7.3 Hz, 3H); MS (ES+) 379.1 (M+1), (ES-) 412.5 (M+Cl); HPLC [Restek Pinnacle DB C18, 150 x 4.6 mm, 5 ㎛, 유속: 40 ℃에서 분당 1.0mL. "A" 완충제 = 900 mL의 HPLC 등급 물에 4.3 g의 소듐 1-옥탄 설폰산 일수화물 용해. 10 mL의 아세트산 및 100 mL 아세토니트릴 첨가. "B" 완충제 = 600 mL의 HPLC 등급 물에 4.3 g의 소듐 1-옥탄 설폰산 일수화물 용해. 10 mL의 아세트산 및 400 mL의 아세토니트릴 첨가, UV 흡광도 = 260 nM; (A:B, 85/15 (0 min) 내지 A:B 0/100 (25 min) 내지 A:B 0/100 (40 min) 내지 A:B 85/15 (50 min)) Rt = 22.79 (97.26 %)]; 분석: $C_{17}H_{26}N_6O_4 \cdot 3HCl \cdot 2.25H_2O \cdot 2B(OH)_3$에 대한 계산치: C, 31.84; H, 6.21; Cl, 16.59; N, 13.11; 실측치: C, 31.99; H, 6.13; Cl, 16.33; N, 12.80.

[0426] (3aS,4S,6R,6aR)-3차-부틸 4-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-6-((((2S,3S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸펜탄오일)옥시)메틸)-2,2-디메틸디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤-5(4H)-카르복실레이트 (**31b**)의 제조

[0427] 단계 1: (3aS,4S,6R,6aR)-3차-부틸 4-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-6-((((2S,3S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸펜탄오일)옥시)메틸)-2,2-디메틸디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤-5(4H)-카르복실레이트 (**31a**)의 제조

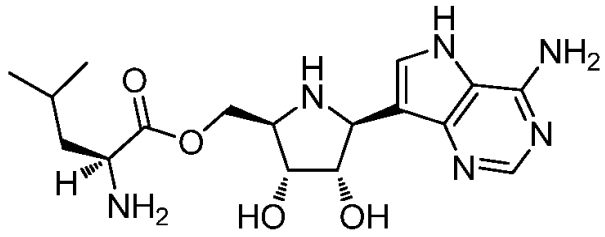
[0428] DMF (20 mL)중의 (3aS,4S,6R,6aR)-3차-부틸 4-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-6-(히드록시메틸)-2,2-디메틸디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤-5(4H)-카르복실레이트 (**30c**) (1.079 g, 2.5 mmol), (2S,3S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸펜타노산 (Boc-L-이소류신) (0.578 g, 2.5 mmol) 용액에 N1-((에틸이미노)메틸렌)-N3,N3-디메틸프로판-1,3-디아민 히드로클로라이드 (EDCI, 1.20 g, 6.25 mmol) 및 N,N-디메틸피리딘-4-아민 (DMAP, 0.092 g, 0.75 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 5일 동안 교반하고, 1 N aq. HCl (5.00 mL) 및 물 (60 mL)로 켄칭시켰다. 반응 혼합물을 에틸 아세테이트 (3 x 50 mL)로 추출하였다. 유기층을 합치고, 물 (2 x 25 mL), 염수로 세척하고, 건조시키고 진공하에 농축하였다. 수득된 잔류물을 플래쉬 컬럼 크로마토그래피 (실리카 겔, 25 g, 0-100%의 헥산중의 에틸 아세테이트로 용리)로 정제하여 (3aS,4S,6R,6aR)-3차-부틸 4-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-6-((((2S,3S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸펜탄오일)옥시)메틸)-2,2-디메틸디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤-5(4H)-카르복실레이트 (**31a**) (0.683 g, 42 % 수율)를 백색 고형물로서 제공하였다; ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-*d6*) δ 13.29 (s, 1H, D_2O 교환가능), 9.86 (s, 1H), 7.59 (s, 1H), 7.11 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 5.32 (s, 1H), 5.20 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H), 4.81 (d, *J* = 5.7 Hz, 1H), 4.28 (bs, 2H), 4.08 - 3.93 (m, 1H), 3.90 - 3.77 (m, 1H), 1.62 (s, 1H), 1.52 - 1.21 (m, 26H), 0.84 - 0.66 (m, 6H); MS (ES+) 645.2 (M+1), 667.2 (M+Na), (ES-) 643.1 (M-1).

[0429] 단계 2: (3aS,4S,6R,6aR)-3차-부틸 4-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-6-((((2S,3S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸펜탄오일)옥시)메틸)-2,2-디메틸디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤-5(4H)-카르복실레이트 (**31b**)의 제조

[0430] 메탄올 (20 mL)중의 (3aS,4S,6R,6aR)-3차-부틸 4-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-6-((((2S,3S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸펜탄오일)옥시)메틸)-2,2-디메틸디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤-5(4H)-카르복실레이트 (**31a**) (0.625 g, 0.969 mmol) 용액에 (10%) 탄소상 팔라듐 (206 mg)을 첨가하고, 60 psi에서 3.5 h 동안 수소화시켰다. TLC 분석 (1:1 헥산중 에틸아세테이트/메탄올 (9:1))은 반응이 완료되었음을

나타냈다. 촉매를 셀라이트를 통한 여과에 의해 제거하고, 여과물을 진공하에 농축하였다. 수득된 잔류물을 플래쉬 컬럼 크로마토그래피 (실리카 겔 12 g, 0-100 %의 헥산중의 에틸 아세테이트/메탄올 (9:1)로 용이)로 정제하여 (3aS,4S,6R,6aR)-3차-부틸 4-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-6-((((2S,3S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸펜탄오일)옥시)메틸)-2,2-디메틸디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤-5(4H)-카르복실레이트 (**31b**) (0.418 g, 70 % 수율)를 백색 고형물로서 제공하였다; ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-*d*6) δ 10.86 (bs, 1H, D_2O 교환가능), 8.09 (s, 1H), 7.36 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H), 7.14 (s, 1H), 6.77 (s, 2H), 5.25 (s, 1H), 5.14 (bs, 1H), 4.88 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 4.18 (s, 1H), 4.05 (s, 3H), 3.90 (s, 1H), 1.68 (bs, 1H), 1.42 (s, 3H), 1.38 (s, 18H), 1.28 (s, 3H), 1.17 (s, 1H), 0.78 (m, 6H); MS (ES+) 619.2 (M+1), (ES-) 653.2 (M+Cl); 분석: $C_{30}H_{46}N_6O_8 \cdot 0.25H_2O$에 대한 계산치: C, 57.82; H, 7.52; N, 13.48, 실측치: C, 57.56; H, 7.42; N, 13.40.

[0431] 실시예 4: (S)-((2R,3R,4S,5S)-5-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3,4-디히드록시피롤리딘-2-일)메틸 2-아미노-4-메틸펜타노에이트 히드로클로라이드 (**32c**)



32c

[0432]

[0433] 트리플루오로아세트산 (10 mL) 중의 (3aS,4S,6R,6aR)-3차-부틸 4-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-6-((((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-4-메틸펜탄오일)옥시)메틸)-2,2-디메틸디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤-5(4H)-카르복실레이트 (**32b**) (0.243 g, 0.393 mmol) 용액을 실온에서 1 h 동안 교반하고, 진공하에 농축하여 건조시켰다. 잔류물을 톨루엔 (20 mL)과 분쇄하고 진공하에 농축하여 건조시켰다. 잔류물을 AcOH (10 mL) 중에 용해시키고, 트리클로로보란 용액 (1.4 mL, 1.4 mmol)을 첨가하고, 실온에서 4 min 동안 교반하고, 물 (5 mL)로 켄칭하였다. 반응 혼합물을 농축하여 건조시켰다. 점착성 고형물을 물 (5 mL)로 용해시키고 여과하였다. 여과물을 동결 건조하여 고형물 (201 mg)을 수득하였다. 고형물을 0.37 mL의 물에 용해시키고, 투명한 용액이 형성될 때까지 완만하게 가열시키고, 다시 0.13 mL의 물을 첨가한 후, 9.0 mL의 2-프로판올 (IPA)로 희석한 후, 0.25 mL의 물 (이제 총 0.75 mL임)을 첨가하고, 용액을 따라내서 불용성 덩어리를 제거하였다. 이 단계에서, 용액은 투명하였으며, 이를 가열하고, 5.5 mL의 IPA를 첨가하고, 용액은 혼탁해졌으며, 1 h 동안 방치되게 하였다. 수득된 고형물을 여과에 의해 수집하여 (S)-((2R,3R,4S,5S)-5-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3,4-디히드록시피롤리딘-2-일)메틸 2-아미노-4-메틸펜타노에이트 히드로클로라이드 (**32c**) (73 mg, 49 % 수율)를 백색 고형물로서 제공하였다; ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-*d*6) δ 8.47 (s, 1H), 8.03 (s, 1H), 4.77 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 4.60 - 4.45 (m, 3H), 4.29 (t, J = 5.0 Hz, 1H), 4.03 (t, J = 6.4 Hz, 1H), 3.80 - 3.71 (m, 1H), 1.83 - 1.58 (m, 3H), 0.90 (d, J = 5.2 Hz, 6H); MS (ES+) 379.1 (M+1), (ES-) 412.7 (M+Cl); HPLC [Restek Pinnacle DB C18, 150 x 4.6 mm, 5 ㎛ 컬럼, 유속: 40 ℃에서 분당 1.0 mL. "A" 완충제 = 900 mL의 HPLC 등급 물중에 4.3 g의 소듐 1-옥탄 설폰산 일수화물 용해. 10 mL의 아세트산 및 100 mL 아세토니트릴 첨가. "B" 완충제 = 600 mL의 HPLC 등급 물에 4.3 g의 소듐 1-옥탄 설폰산 일수화물 용해. 10 mL의 아세트산 및 400 mL의 아세토니트릴 첨가, UV 흡광도 = 260 nM; (A:B, 85/15 (0 min) 내지 A:B 0/100 (25 min) 내지 A:B 0/100 (40 min) 내지 A:B 85/15 (50 min)) Rt = 22.79 (96.3027 %)]; 분석: $C_{17}H_{26}N_6O_4$ 2.75 H_2O 2.5HCl에 대한 계산치: C, 39.33; H, 6.60; Cl, 17.07; N, 16.19; 실측치: C, 39.04; H, 6.32; Cl, 17.46; N, 15.96.

[0434] (3aS,4S,6R,6aR)-3차-부틸 4-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-6-((((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-4-메틸펜탄오일)옥시)메틸)-2,2-디메틸디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤-5(4H)-카르복실레이트 (**32b**)의 제조

[0435] 단계 1: (3aS,4S,6R,6aR)-3차-부틸 4-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-6-((((S)-2-((3차-부톡시카르

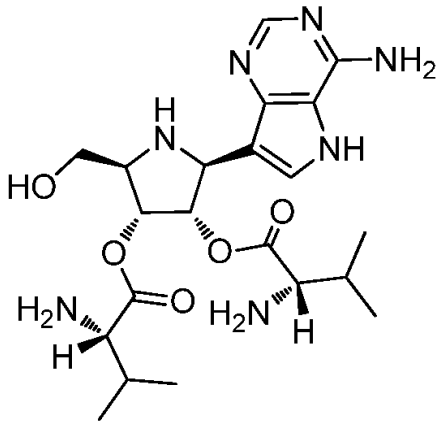
보닐)아미노)-4-메틸펜탄오일)옥시)메틸)-2,2-디메틸디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤-5(4H)-카르복실레이트 (**32a**)의 제조

[0436] DMF (20 mL)중의 (3aS,4S,6R,6aR)-3차-부틸 4-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-6-(히드록시메틸)-2,2-디메틸디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤-5(4H)-카르복실레이트 (**30c**) (1.088 g, 2.52 mmol) 및 (S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-4-메틸펜타노산 (Boc-L-류신) (0.583 g, 2.52 mmol) 용액에 N1-((에틸이미노)메틸렌)-N3,N3-디메틸프로판-1,3-디아민 히드로클로라이드 (EDCI, 1.21 g, 6.30 mmol) 및 N,N-디메틸피리딘-4-아민 (DMAP, 0.092 g, 0.757 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 96 h 동안 교반하고, 물 (60 mL)로 켄칭시키고, EtOAc (3 x 50 mL)로 추출하였다. 합친 유기층을 물 (2 x 50 mL), 염수 (50 mL)로 세척하고, $MgSO_4$ 상에서 건조시키고, 진공하에 농축하여 건조시켰다. 수득된 잔류물을 플래쉬 컬럼 크로마토그래피 (실리카 겔 25 g)로 정제하여 (3aS,4S,6R,6aR)-3차-부틸 4-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-6-((((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-4-메틸펜탄오일)옥시)메틸)-2,2-디메틸디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤-5(4H)-카르복실레이트 (**32a**) (633 mg, 39 % 수율)를 백색 포말로서 제공하였다; ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-*d*6) δ 13.28 (s, 1H), 9.86 (s, 1H), 7.56 (s, 1H), 7.19 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 5.31 (s, 1H), 5.16 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 4.80 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 4.23 (s, 2H), 3.86 (t, J = 11.4 Hz, 1H), 1.39 (m, 27H), 0.86 (dd, J = 11.7, 6.0 Hz, 1H), 0.75 (dd, J = 13.6, 6.5 Hz, 6H); MS (ES+) 645.19(M+1), 667.17 (M+Na); (ES-) 643.20(M-1), 679.18 (M+Cl).

[0437] 단계 2: (3aS,4S,6R,6aR)-3차-부틸 4-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-6-((((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-4-메틸펜탄오일)옥시)메틸)-2,2-디메틸디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤-5(4H)-카르복실레이트 (**32b**)

[0438] 메탄올 (20 mL)중의 (3aS,4S,6R,6aR)-3차-부틸 4-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-6-((((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-4-메틸펜탄오일)옥시)메틸)-2,2-디메틸디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤-5(4H)-카르복실레이트 (**32a**) (584 mg, 0.91 mmol) 용액에 10 % 탄소상 팔라듐 (193 mg)을 첨가하고, 50 psi에서 2 h 동안 수소화시켰다. 촉매를 셀라이트 패드를 통해 여과하고, 여과물을 진공하에 농축하였다. 수득된 잔류물을 플래쉬 컬럼 크로마토그래피 (실리카 겔, 4 g)로 정제하여 (3aS,4S,6R,6aR)-3차-부틸 4-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-6-((((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-4-메틸펜탄오일)옥시)메틸)-2,2-디메틸디히드로-3aH-[1,3]디옥솔로[4,5-c]피롤-5(4H)-카르복실레이트 (**32b**) (300 mg, 53.5 % 수율)를 백색 고형물로서 제공하였다; ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-*d*6) δ 10.86 (s, 1H, 교환가능), 8.09 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 7.34 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 7.22 (s, 1H), 6.78 (s, 2H, 교환가능), 5.23 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 5.14 (s, 1H), 4.87 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 4.22-4.05 (m, 3H), 3.99-3.86 (m, 1H), 3.17 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 1.55 (dd, J = 12.5, 6.0 Hz, 1H), 1.46-1.34 (m, 22H), 1.28 (s, 3H), 0.81 (dd, J = 9.1, 6.7 Hz, 6H); MS (ES+) 619.13(M+1), 642.15 (M+Na); (ES-) 617.18(M-1), 653.27 (M+Cl); 분석: $C_{30}H_{44}N_8O_8 \cdot 0.5H_2O$에 대한 계산치: C, 57.40; H, 7.55; N, 13.39; 실측치: C, 57.46; H, 7.53; N, 13.13.

[0439] 실시예 5: (2S,2'S)-(2S,3S,4R,5R)-2-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-5-(히드록시메틸)피롤리딘-3,4-디일 비스(2-아미노-3-메틸부타노에이트) (**38c**)



38c

[0440]

[0441] 아세톤 (25 mL)중의 (2S,2'S)-(2S,3S,4R,5R)-2-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-1-(3차-부톡시카르보닐)-5-((트리틸옥시)메틸)피롤리딘-3,4-디일 비스(2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노에이트) (**38b**) (715 mg, 0.711 mmol) 용액에 9 M 황산 (0.395 mL, 3.55 mmol)을 첨가하고, 실온에서 밤새 교반하였다. 아세톤 층을 따라내고, 잔류물을 아세톤으로 처리하고, 따라냈다 (3 회). 수득된 잔류물을 플래쉬 컬럼 크로마토그래피 (실리카 겔 12 g, CMA-80에서 0-100% CMA-50로 용리)로 정제하여 (2S,2'S)-(2S,3S,4R,5R)-2-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-5-(히드록시메틸)피롤리딘-3,4-디일 비스(2-아미노-3-메틸부타노에이트) (**38c**) (188 mg, 57 %)를 백색 고형물로서 제공하였다; ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 10.84 (bs, 1H, D_2O 교환가능), 8.06 (s, 1H), 7.51 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 6.77 (s, 2H, D_2O 교환가능), 5.33 (dd, J = 7.6, 5.6 Hz, 1H), 5.24 (dd, J = 5.7, 3.8 Hz, 1H), 4.39 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 3.64 - 3.51 (m, 2H), 3.17 (dd, J = 4.5, 2.9 Hz, 2H), 3.06 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 2.01 - 1.88 (m, 1H), 1.87 - 1.75 (m, 1H), 0.91 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 0.84 (d, J = 6.7 Hz, 3H), 0.79 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 0.73 (d, J = 6.8 Hz, 3H); MS (ES+) 928.2 (2M+1); (ES-) 462.0 (M-1), 925.1(2M-1).

[0442] (2S,2'S)-(2S,3S,4R,5R)-2-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-1-(3차-부톡시카르보닐)-5-((트리틸옥시)메틸)피롤리딘-3,4-디일 비스(2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노에이트) (**38b**)의 제조

[0443] 단계 1: (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸 2-(4-클로로-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3,4-디히드록시-5-(히드록시메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**34a**)

[0444] 메탄올 (200 mL)중의 (2R,3R,4S,5S)-2-(아세톡시메틸)-1-(3차-부톡시카르보닐)-5-(4-클로로-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)피롤리딘-3,4-디일 디아세테이트 (**28c**) (25.8 g, 50.5 mmol) 용액에 메탄올 (3.6 mL, 16.66 mmol)중의 소듐 메톡시드 25 % wt를 실온에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 반응 혼합물을 진공하에 농축하여 건조시키고, 플래쉬 컬럼 크로마토그래피 (실리카 겔 600 g)로 정제하여 (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸 2-(4-클로로-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3,4-디히드록시-5-(히드록시메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**34a**) (17.7 g, 91 % 수율)를 무색 포말로서 제공하였다; ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 12.34 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 5.40 - 5.02 (m, 2H), 4.96 - 4.70 (m, 2H), 4.41 - 4.25 (m, 1H), 4.13 - 3.93 (m, 2H), 3.69 - 3.51 (m, 2H), 1.35 (s, 3H), 1.01 (s, 6H); MS (ES+) 384.9 (M+1), 792.6 (2M+Na); (ES-) 382.6 (M-1).

[0445] 단계 2: (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸 2-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3,4-디히드록시-5-(히드록시메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**34b**)의 제조

[0446] DMF (80 mL)중의 (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸 2-(4-클로로-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3,4-디히드록시-5-(히드록시메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**34a**) (4 g, 10.39 mmol) 용액에 소듐 아지드 (3.38 g, 52.0 mmol)를 첨가하고 80 ℃에서 10 h 동안 교반하면서 가열하였다. 반응물을 25 ℃로 냉각시키고, 얼음에 붓고, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 에틸 아세테이트 층을 분리하고, 물, 염수로 세척하고, 건조시키고, 여과하고 진공하에 농축하여 건조시켰다 (수조 50 ℃). 수득된 미정제 잔류물을 플래쉬 컬럼 크로마토그래피 (실리카 겔 120 g, 0-100% 클로로포름중의 메탄올로 용리)로 정제하여 (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸 2-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3,4-디히드록시-5-(히드록시메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**34b**) (1.28 g, 31 % 수율)를 백색 고형물로서 제공하였다; ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 13.05 (bs, 1H, D_2O 교환가능), 9.84 (s, 1H), 7.81 (m, 1H), 5.13 (m, 1H), 5.05 - 4.83 (m, 3H, D_2O 교환가능), 4.24 (m, 1H), 4.09 (m, 1H), 4.03 (m, 1H), 3.59 (m, 2H), 1.38 (s, 4H for Boc) and 1.05 (s, 5H for Boc); MS (ES+) 782.8 (2M+1), (ES-) 389.6 (M-1).

[0447] 단계 3: (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸 2-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3,4-디히드록시-5-((트리틸옥시)메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**35a**)의 제조

[0448] 피리딘 (5.0 mL, 62.06 mmol)중의 (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸 2-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3,4-디히드록시-5-(히드록시메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**34b**) (1.0 g, 2.55 mmol) 용액에 클로로트리페닐메탄 (0.85 g, 3.07 mmol)을 첨가하였다. 생성 혼합물을 50 ℃에서 4 h 동안 교반하고, 이 시점에서 반응이 완료되었다 (9:1 클로로포름:메탄올중의 TLC). 반응 혼합물을 25 ℃로 냉각시키고, 얼음 물 (80 mL)에 붓고, 에틸 아세테이트 (100 mL, 2 x 60 mL)로 추출하였다. 유기층을 합치고, 물, 염수로 세척하고, 건조시키고, 여과

하고 진공하에 농축하여 회백색 고형물을 수득하였다. 고형물을 n-헥산중의 5 % EtOAc와 분쇄하고, 여과에 의해 수집하여 (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸 2-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3,4-디히드록시-5-((트리틸옥시)메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**35a**) (1.47 g, 90.74 % 수율)를 흐린 황색 고형물로서 제공하였다; ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6, 370 K) δ 12.82 (s, 1H), 9.48 (s, 1H), 7.44 (s, 1H), 7.36 (d, *J* = 8.0 Hz, 5H), 7.29 - 7.19 (m,9H), 4.96 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H), 4.72 (d, *J* = 5.3 Hz, 1H), 4.59 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H), 4.54 - 4.46 (m, 1H), 4.38 - 4.30 (m, 1H), 4.08 - 3.99 (m, 1H), 3.93 - 3.84 (m, 1H), 3.46 (dd, *J* = 9.1, 6.4 Hz, 1H), 3.37 (dd, *J* = 9.2, 4.2 Hz, 1H), 1.19 (s, 9H); MS (ES+) 655.85 (M+Na), (ES-) 632.55 (M-1). IR (KBr) 2133 cm^{-1}.

[0449] 단계 4: (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸 2-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3-(((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)-4-히드록시-5-((트리틸옥시)메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**39a**); (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸
2-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-4-(((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)-3-히드록시-5-((트리틸옥시)메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**39b**) 및 (2S,2'S)-(2S,3S,4R,5R)-2-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-1-(3차-부톡시카르보닐)-5-((트리틸옥시)메틸)피롤리딘-3,4-디일 비스(2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노에이트) (**38a**)의 제조

[0450] 방법 1:

[0451] DMF (10 mL)중의 (S)-2-(3차-부톡시카르보닐아미노)-3-메틸부탄산 (L-Boc 발린 0.343 g, 1.58 mmol) 및 (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸 2-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3,4-디히드록시-5-((트리틸옥시)메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**35a**) (1 g, 1.578 mmol)의 용액에 N1-((에틸이미노)메틸렌)-N3,N3-디메틸프로판-1,3-디아민 히드로클로라이드 (EDCI, 0.756 g, 3.95 mmol) 및 N,N-디메틸피리딘-4-아민 (DMAP, 0.193 g, 1.578 mmol)을 실온에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. TLC 분석 (메탄올중 10 % 클로로포름)은 일부 비반응된 (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸 2-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3,4-디히드록시-5-((트리틸옥시)메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**35a**)를 나타냈다. 반응물을 물 (50 mL)로 켄칭시키고, 에틸 아세테이트 (3 x 100 mL)로 추출하였다. 유기층을 합치고, 물, 염수 (100 mL)로 세척하고, 건조시키고, 여과하고 진공하에 농축하였다. 수득된 미정제 잔류물을 플래쉬 컬럼 크로마토그래피 (실리카 겔 40 g)로 정제하여 하기를 제공하였다:

[0452] 백색 고형물로서 2-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3,4-디히드록시-5-((트리틸옥시)메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**35a**) (196 mg, 19.6 %);

[0453] 백색 고형물로서 (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸 2-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3-(((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)-4-히드록시-5-((트리틸옥시)메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**39a**) (511 mg, 38.9 %); ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6, 370K) δ 12.86 (s, 1H), 9.39 (s, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.38 (d, *J* = 7.9 Hz, 6H), 7.31 - 7.18 (m, 9H), 6.57 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 5.46 (s, 1H), 5.05 (d, *J* = 6.2 Hz, 1H), 4.94 (d, *J* = 6.3 Hz, 1H), 4.78 - 4.69 (m, 1H),4.13 - 4.05 (m, 2H), 3.53 - 3.36 (m, 2H), 2.19 - 2.04 (m, 1H), 1.42 (s, 9H), 1.17 (s, 9H), 0.92 (t, *J* = 6.7 Hz, 6H); IR (KBr) 2133 cm^{-1}; MS (ES-) 831.1 (M-1);

[0454] 백색 고형물로서 (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸 2-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-4-(((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)-3-히드록시-5-((트리틸옥시)메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**39b**) (250 mg, 19 %); ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6, 370K) δ 12.84 (s, 1H), 9.49 (s, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.36 - 7.28 (m, 6H), 7.25 - 7.17 (m, 9H), 6.48 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 5.81 - 5.71 (m, 1H), 5.22 (d, J = 4.2 Hz, 1H), 5.00 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 4.71 (t, J = 8.1 Hz, 1H), 3.91 (m, 2H), 3.56 - 3.32 (m, 2H), 2.10 - 2.00 (m, 1H),1.32 (s, 9H), 1.22 (s, 9H), 0.88 (dd, J = 6.6, 3.4 Hz, 6H); IR (KBr) 2134 cm^{-1}; MS (ES-) 831.1(M-1); 및

[0455] 백색 고형물로서 (2S,2'S)-(2S,3S,4R,5R)-2-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-1-(3차-부톡시카르보닐)-5-((트리틸옥시)메틸)피롤리딘-3,4-디일 비스(2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노에이트) (**38a**) (18 mg, 1.1 %);

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO, 370K) δ 12.94 (s, 1H, N-H), 9.38 (s, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.38-7.14 (m, 15H), 6.51 (s, 1H, N-H), 6.37 (s, 1H, N-H), 5.97 (d, *J* = 17.2 Hz, 1H), 5.76 (s, 1H), 5.22 (t, *J* = 11.3 Hz, 1H), 4.19 - 3.98 (m, 2H), 3.91 (d, *J* = 5.3 Hz, 1H), 3.55 (d, *J* = 18.8 Hz, 1H), 3.35 (m, 1H), 2.06 (m, 2H), 1.37 (s,, 9H), 1.24 (s, 9H), 1.21 (s, 9H), 0.94 - 0.78 (m, 12H).

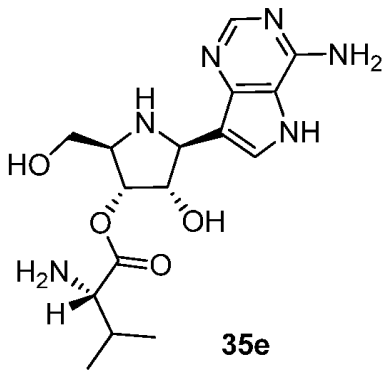
[0456] 방법 2:

[0457] DMF (10 mL)중의 (S)-2-(3차-부톡시카르보닐아미노)-3-메틸부탄산 (L-Boc 발린, 0.720 g, 3.31 mmol) 및 (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸 2-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3,4-디히드록시-5-((트리틸옥시)메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**35a**) (1.0 g, 1.58 mmol)의 용액에 N1-((에틸이미노)메틸렌)-N3,N3-디메틸프로판-1,3-디아민 히드로클로라이드 (EDCI, 0.756 g, 3.95 mmol) 및 N,N-디메틸피리딘-4-아민 (DMAP, 0.193 g, 1.578 mmol)을 실온에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하고, 물 (30 mL)로 켄칭하였다. 반응 혼합물을 에틸 아세테이트 (3 x 60 mL)로 추출하였다. 유기층을 합치고, 물, 염수 (50 mL)로 세척하고, 건조시키고, 여과하고 진공하에 농축하였다. 수득된 미정제 잔류물을 플래쉬 컬럼 크로마토그래피 (실리카 겔 25 g, 0-50 % 헥산중의 에틸 아세테이트로 용리)로 정제하여, 백색 포말로서 (2S,2'S)-(2S,3S,4R,5R)-2-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-1-(3차-부톡시카르보닐)-5-((트리틸옥시)메틸)피롤리딘-3,4-디일 비스(2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노에이트) (**38a**) (670 mg, 41.2 % 수율)와 백색 포말로서 (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸
2-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3-(((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)-4-히드록시-5-((트리틸옥시)메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**39a**)와 (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸 2-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-4-(((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)-3-히드록시-5-((트리틸옥시)메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**39b**)을 함유하는 혼합물 (610 mg, 47.9 %)을 제공하였다; MS (ES-) 831.5 (M-1).

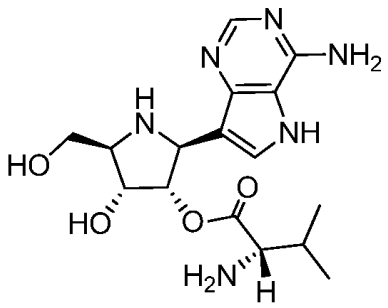
[0458] 단계 5: (2S,2'S)-(2S,3S,4R,5R)-2-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-1-(3차-부톡시카르보닐)-5-((트리틸옥시)메틸)피롤리딘-3,4-디일 비스(2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노에이트) (**38b**)의 제조

[0459] 에탄올 (25 mL)중의 (2S,2'S)-(2S,3S,4R,5R)-2-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-1-(3차-부톡시카르보닐)-5-((트리틸옥시)메틸)피롤리딘-3,4-디일 비스(2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노에이트) (**38a**) (964 mg, 0.934 mmol) 용액에 Pd/C (10 %) (150 mg)를 첨가하고, 50 psi에서 밤새 수소화시켰다. 촉매를 셀라이트 패드를 통한 여과에 의해 제거하고, 여과물을 진공하에 농축하였다. 수득된 잔류물을 플래쉬 컬럼 크로마토그래피 (실리카 겔 4 g, 헥산 0-100%중의 (에틸 아세테이트/메탄올, 9:1)로 용리)로 정제하여 (2S,2'S)-(2S,3S,4R,5R)-2-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-1-(3차-부톡시카르보닐)-5-((트리틸옥시)메틸)피롤리딘-3,4-디일 비스(2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노에이트) (**38b**) (765 mg, 81 % 수율)를 백색 고형물로서 제공하였다; ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6, 370K) δ 10.61 (s, 1H, N-H), 7.86 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 7.37 - 7.17 (m, 16H), 6.38 (m, 2H, N-H), 6.30 (s, 2H, N-H), 6.16 (t, *J* = 5.1 Hz, 1H), 5.87 (t, *J* = 3.8 Hz, 1H), 5.06 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 4.12 - 4.00 (m, 2H), 3.98 - 3.86 (m, 1H), 3.78 (dd, *J* = 9.7, 6.9 Hz, 1H), 3.20 (m, 1H), 2.05 (m, 2H), 1.40 (s, 9H), 1.31 (s, 9H), 1.23 (d, *J* = 2.0 Hz, 9H), 0.90-0.80 (m, 12H); 분석: $C_{55}H_{71}N_7O_{11}.H_2O$에 대한 계산치: C, 64.50; H, 7.18; N, 9.57; 실측치: C, 64.36; H, 7.11; N, 9.38.

[0460] 실시예 6: (S)-(2R,3R,4S,5S)-5-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-4-히드록시-2-(히드록시메틸)피롤리딘-3-일 2-아미노-3-메틸부타노에이트 (**35e**) 및 (S)-(2S,3S,4R,5R)-2-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-4-히드록시-5-(히드록시메틸)피롤리딘-3-일 2-아미노-3-메틸부타노에이트 (**34f**)의 제조



35e



34f

[0461]

[0462] 방법 1:

[0463] (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸 2-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3-(((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)-4-히드록시-5-((트리틸옥시)메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**39d**) 및 (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸 2-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-4-(((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)-3-히드록시-5-((트리틸옥시)메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**39e**)로부터

[0464] 아세톤 (15 mL)중의 (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸 2-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3-(((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)-4-히드록시-5-((트리틸옥시)메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**39d**) 및 (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸 2-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-4-(((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)-3-히드록시-5-((트리틸옥시)메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**39e**)의 용액 (744 mg, 0.922 mmol)에 9 M 황산 (0.512 mL, 4.61 mmol)을 첨가하고, 실온에서 밤새 교반하였다. 용매를 따라내고, 백색 고형물을 아세톤으로 세척하고, 다시 따라내기 전에 30 min 동안 교반하였다. 동일한 절차를 3-4 회 반복하고, 수득된 고형물을 여과에 의해 수집하고, 아세톤으로 세척하고, 진공하에 35℃에서 건조시켜 백색 고형물로서 (S)-(2R,3R,4S,5S)-5-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-4-히드록시-2-(히드록시메틸)피롤리딘-3-일 2-아미노-3-메틸부타노에이트 (**35e**)와 (S)-(2S,3S,4R,5R)-2-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-4-히드록시-5-(히드록시메틸)피롤리딘-3-일 2-아미노-3-메틸부타노에이트 (**34f**)의 혼합물을 설페이트 염 (500 mg, 1.081 mmol, 97 % 수율)으로서 제공하였다. 플래쉬 컬럼 크로마토그래피 (233 mg의 샘플 혼합물, CMA-80에서 0-100 % CMA-50로 용리시킨 실리카 겔)를 사용하여 정제하여 (S)-(2R,3R,4S,5S)-5-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-4-히드록시-2-(히드록시메틸)피롤리딘-3-일 2-아미노-3-메틸부타노에이트 (**35e**)와 (S)-(2S,3S,4R,5R)-2-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-4-히드록시-5-(히드록시메틸)피롤리딘-3-일 2-아미노-3-메틸부타노에이트 (**34f**)의 혼합물 (74 mg, 48 %)을 백색 고형물로서 제공하였다; ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ [8.08 (s, 0.65H), 8.07 (s, 0.35H) 1H], [7.49 (s, 0.35H), 7.48 (s, 0.65H) 1H], [5.09 (t, J = 6.4 Hz, 0.35H), 5.01 (dd, J = 5.7, 3.7 Hz, 0.65H) 1H], [4.35 (d, J = 6.7 Hz, 0.35H), 4.21 (d, J = 5.6 Hz, 0.35H), 4.18 (d, J = 5.7 Hz, 0.65H), 4.14 - 4.09 (m, 1.65H) 3H], [3.63 - 3.48 (m, 1H) 1H], [3.25 (d, J = 5.1 Hz, 0.7H), 3.20 - 3.10 (m, 1.3H) 2H], [2.05 - 1.82 (m, 1H)], [0.93 (d, J = 6.8 Hz, 1.95H), 0.88 (d, J = 6.8 Hz, 1.95H), 0.81 (d, J = 6.9 Hz, 1.05H), 0.77 (d, J = 6.8 Hz, 1.05H) 6H]; MS (ES+) 365.0 (M+1).

[0465] 방법 2:

[0466] (6aR,8S,9S,9aR)-3차-부틸 8-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-9-(((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)-2,2,4,4-테트라이소프로필테트라히드로-[1,3,5,2,4]트리옥사디실로시노[7,6-b]피롤-7(8H)-카르복실레이트 (**34e**)로부터

[0467] 아세톤 (10 mL)중의 (6aR,8S,9S,9aR)-3차-부틸 8-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-9-(((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)-2,2,4,4-테트라이소프로필테트라히드로-[1,3,5,2,4]트리옥사디실로시노[7,6-b]피롤-7(8H)-카르복실레이트 (**34e**) (0.843 g, 1.04 mmol)의 교반된 용액에 진한 황산 (물중의 50 % 용액, 1.16 mL, 10.44 mmol)을 실온에서 첨가하고, 18 h 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 아세톤 (30

mL)으로 희석하고 교반하였다. 아세톤을 따라내고, 이러한 작업을 2회 반복하였다. 분리해낸 고형물을 여과에 의해 수집하고 진공하에 건조시켜 (S)-(2R,3R,4S,5S)-5-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-4-히드록시-2-(히드록시메틸)피롤리딘-3-일 2-아미노-3-메틸부타노에이트 (**35e**)와 (S)-(2S,3S,4R,5R)-2-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-4-히드록시-5-(히드록시메틸)피롤리딘-3-일 2-아미노-3-메틸부타노에이트 설페이트 염 (**34f**)의 혼합물 (0.4 g, 68 %)을 백색 고형물로서 제공하였다. 고형물을 플래쉬 컬럼 크로마토그래피 (CMA-80에서 0-100 % CMA-50로 용리, 실리카 겔 4 g)로 정제하여 (S)-(2R,3R,4S,5S)-5-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-4-히드록시-2-(히드록시메틸)피롤리딘-3-일 2-아미노-3-메틸부타노에이트 (**35e**)와 (S)-(2S,3S,4R,5R)-2-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-4-히드록시-5-(히드록시메틸)피롤리딘-3-일 2-아미노-3-메틸부타노에이트 (**34f**)의 혼합물을 제공하였다; NMR 분석은 화합물 **35e**와 **34f**의 혼합물을 나타낸다; MS (ES+) 365.1 (M+1), (ES-) 362.9 (M-1).

[0468] (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸 2-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3-(((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)-4-히드록시-5-((트리틸옥시)메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**39d**) 및 (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸 2-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-4-(((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)-3-히드록시-5-((트리틸옥시)메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**39e**)의 제조

[0469] 방법 1:

[0470] (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸 2-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3-(((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)-4-히드록시-5-((트리틸옥시)메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**39a**)로부터

[0471] 에탄올 (50 mL)중의 (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸 2-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3-(((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)-4-히드록시-5-((트리틸옥시)메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**39a**) (1.319 g, 1.584 mmol) 용액에 10 % Pd/C (200 mg)을 첨가하고, 50 psi에서 8 h 동안 수소화시켰다. 촉매를 셀라이트의 패드를 통한 반응 혼합물의 여과에 의해 제거하였다. 여과물을 진공하에 농축하고, 수득된 잔류물을 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸 2-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3-(((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)-4-히드록시-5-((트리틸옥시)메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**39d**)와 (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸 2-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-4-(((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)-3-히드록시-5-((트리틸옥시)메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**39e**)의 3:2 혼합물 (NMR에 의해 분석) (945 mg, 1.171 mmol, 74.0 % 수율)을 백색 고형물로서 제공하였다; MS (ES+) 806.9 (M+1); (ES-) 805.0 (M-1), 841.2 (M+Cl).

[0472] 방법 2:

[0473] (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸 2-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-4-(((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)-3-히드록시-5-((트리틸옥시)메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**39b**)로부터

[0474] 에탄올 (25 mL)중의 (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸 2-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-4-(((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)-3-히드록시-5-((트리틸옥시)메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**39b**) (634 mg, 0.761 mmol) 용액에 10 % Pd/C (100 mg)을 첨가하고, 50 psi에서 8 h 동안 수소화시켰다. 촉매를 셀라이트 패드를 통한 반응 혼합물의 여과에 의해 제거하였다. 여과물을 진공하에 농축하여, 수득된 잔류물을 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸 2-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3-(((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)-4-히드록시-5-((트리틸옥시)메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**39d**)와 (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸 2-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-4-(((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)-3-히드록시-5-((트리틸옥시)메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**39e**)의 3:2 혼합물 (474 mg, 0.587 mmol, 77 % 수율)을 백색 고형물로서 제공하였다; NMR 스펙트럼은 화합물 **39a**로부터의 절차를 사용하여 수득된 생성물과 매칭된다; MS (ES+) 806.9 (M+1); (ES-) 805.7 (M-1).

[0475] (6aR,8S,9S,9aR)-3차-부틸 8-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-9-(((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)-2,2,4,4-테트라이소프로필테트라히드로-[1,3,5,2,4]트리옥사디실로시노[7,6-b]피롤-7(8H)-카르복실레이트 (**34e**)의 제조

[0476] 단계 1: (6aR,8S,9S,9aR)-3차-부틸 8-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-9-히드록시-2,2,4,4-테트라이

소프로필테트라히드로-[1,3,5,2,4]트리옥사디실로시노[7,6-b]피롤-7(8H)-카르복실레이트 (**34c**)의 제조

[0477] DMF (25 mL)중의 (2S,3S,4R,5R)-3차-부틸 2-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-3,4-디히드록시-5-(히드록시메틸)피롤리딘-1-카르복실레이트 (**34b**) (5 g, 12.78 mmol)의 교반된 용액에 N,N-디메틸피리딘-4-아민 (DMAP, 0.078 g, 0.639 mmol), 1H-이미다졸 (3.48 g, 51.1 mmol) 및 1,3-디클로로-1,1,3,3-테트라이소프로필디실록산 (4.63 mL, 14.05 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하고, 물 (300 mL)로 희석하였다. 분리된 고형물을 여과에 의해 수집하고, 물로 세척하였다. 고형물을 플래쉬 컬럼 크로마토그래피 (실리카 겔, 헥산 0 내지 35 %중의 에틸 아세테이트로 용리)로 정제하여 (6aR,8S,9S,9aR)-3차-부틸 8-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-9-히드록시-2,2,4,4-테트라이소프로필테트라히드로-[1,3,5,2,4]트리옥사디실로시노[7,6-b]피롤-7(8H)-카르복실레이트 (**34c**) (5.02 g, 62.0 % 수율)를 백색 고형물로서 제공하였다; ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 13.26 (s, 1H, D_2O 교환가능), 9.85 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 5.52 (d, J = 3.2 Hz, 1H, D_2O 교환가능), 5.10 (s, 1H), 4.63 - 4.24 (m, 2H), 4.18 - 3.82 (m, 1H), 3.67 (dt, J = 8.2, 2.9 Hz, 1H), 1.37 (d, J = 45.1 Hz, 10H), 1.08 - 0.99 (m, 14H), 0.86 (m, 14H); MS (ES+) 633.9 (M+1); (ES-) 632.2 (M-1); 분석: $C_{28}H_{47}N_7O_6Si_2$에 대한 계산치: C, 53.05; H, 7.47; N, 15.47; 실측치: C, 53.00; H, 7.55; N, 15.15.

[0478] 단계 2: (6aR,8S,9S,9aR)-3차-부틸 8-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-9-(((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)-2,2,4,4-테트라이소프로필테트라히드로-[1,3,5,2,4]트리옥사디실로시노[7,6-b]피롤-7(8H)-카르복실레이트 (**34d**)의 제조

[0479] DMF (20 mL)중의 (6aR,8S,9S,9aR)-3차-부틸 8-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-9-히드록시-2,2,4,4-테트라이소프로필테트라히드로-[1,3,5,2,4]트리옥사디실로시노[7,6-b]피롤-7(8H)-카르복실레이트 (**34c**) (2 g, 3.16 mmol)의 교반된 용액에 (S)-2-(3차-부톡시카르보닐아미노)-3-메틸부탄산 (L-Boc 발린, 1.03 g, 4.73 mmol)을 첨가하고, 0 ℃로 냉각시켰다. 0 ℃에서 N1-((에틸이미노)메틸렌)-N3,N3-디메틸프로판-1,3-디아민 히드로클로라이드 (EDCI, 1.51 g, 7.89 mmol) 및 N,N-디메틸피리딘-4-아민 (DMAP, 0.385 g, 3.16 mmol)을 첨가하고, 반응물이 밤새 실온이 되게 하였다. 반응물을 물 (100 mL)로 희석하고, 에틸 아세테이트 (2 x 100 mL)로 추출하였다. 에틸 아세테이트 층을 합치고, 물 (2 x 50 mL), 염수 (50 mL)로 세척하고, 건조하고, 여과시키고 진공하에 농축하였다. 수득된 잔류물을 플래쉬 컬럼 크로마토그래피 (실리카 겔 80 g, 헥산 0 내지 35 %중의 에틸 아세테이트로 용리)로 정제하여 (6aR,8S,9S,9aR)-3차-부틸 8-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-9-(((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)-2,2,4,4-테트라이소프로필테트라히드로-[1,3,5,2,4]트리옥사디실로시노[7,6-b]피롤-7(8H)-카르복실레이트 (**34d**) (2.1 g, 80 %)를 백색 고형물로서 제공하였다; ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 13.40 (s, 1H, D_2O 교환가능), 9.85 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 7.57 (s, 1H), 7.23 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 5.84 (d, J = 3.7 Hz, 1H), 5.24 (d, J = 10.7 Hz, 1H), 4.82 - 4.58 (m, 1H), 4.41 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 4.03 - 3.93 (m, 2H), 3.67 (s, 1H), 2.08 (dt, J = 13.5, 6.8 Hz, 1H), 1.49 - 1.33 (m, 18H), 1.15 - 0.67 (m, 35H); MS (ES+) 856.0 (M+Na), 832.4 (M-1). 분석: $C_{38}H_{64}N_8O_9Si_2$에 대한 계산치: C, 54.77; H, 7.74; N, 13.45; 실측치: C, 54.86; H, 7.78; N, 13.13.

[0480] 단계 3: (6aR,8S,9S,9aR)-3차-부틸 8-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-9-(((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)-2,2,4,4-테트라이소프로필테트라히드로-[1,3,5,2,4]트리옥사디실로시노[7,6-b]피롤-7(8H)-카르복실레이트 (**34e**)의 제조

[0481] 에탄올 (50 mL)중의 탄소상 팔라듐 (10 %, 0.262 g) 현탁액에 (6aR,8S,9S,9aR)-3차-부틸 8-(4-아지도-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-9-(((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)-2,2,4,4-테트라이소프로필테트라히드로-[1,3,5,2,4]트리옥사디실로시노[7,6-b]피롤-7(8H)-카르복실레이트 (**34d**) (2.05 g, 2.46 mmol)를 첨가하고, 60 psi에서 12 h 동안 수소화시켰다. 촉매를 셀라이트의 패드를 통한 여과에 의해 제거하고, 여과물을 진공하에 농축하였다. 수득된 잔류물을 플래쉬 컬럼 크로마토그래피 (실리카 겔 25 g, 클로로포름 0 내지 100 %중 CMA 80로 용리)로 정제하여 (6aR,8S,9S,9aR)-3차-부틸 8-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-9-(((S)-2-((3차-부톡시카르보닐)아미노)-3-메틸부타노일)옥시)-2,2,4,4-테트라이소프로필테트라히드로-[1,3,5,2,4]트리옥사디실로시노[7,6-b]피롤-7(8H)-카르복실레이트 (**34e**) (1.9 g, 96 % 수율)를 무색 고형물로서 제공하였다; ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 10.94 (s, 1H, D_2O 교환가능), 8.05 (s, 1H), 7.46 - 7.30 (m, 1H), 7.17 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.82 (s, 2H, D_2O 교환가능), 5.86 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 5.16 (d, J = 25.0 Hz, 1H, D_2O 교환가능), 5.00 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 4.17 (dd, J = 12.2, 5.1 Hz, 1H), 3.98 - 3.88

(m, 1H), 3.61 (s, 1H), 2.16 - 1.92 (m, 1H), 1.41 (bs, 18H), 1.01 - 0.83 (m, 35H); MS (ES+) 806.921 (M+1), 830.1 (M+Na), (ES-) 805.289 (M-1), 842.0 (M+Cl).

[0482] 실시예 7: 쥐에 경구 투여 후 화합물 **30f**의 약동학

[0483] 건강한 8 내지 10 중량 수컷 Sprague-Dawley 쥐를 대조군 및 실험군으로 무작위로 지정하였다 (N = 4/군). 모든 동물을 수용하고 표준 방식으로 먹이를 주었다. 실험일에, 모든 동물을 분리하고, 대사 우리에서 투약 전 약 15시간 절식시켰다. 대조군 또는 실험 제제로 투약 후 2시간째에 음식물을 다시 동물에 섭취시켰다. 물은 임의로 전달하였다. 투여 직전, 대조군 화합물 (2S,3S,4R,5R)-2-(4-아미노-5H-피롤로[3,2-d]피리미딘-7-일)-5-(히드록시메틸)피롤리딘-3,4-디올 디히드로클로라이드 (**12i**)를 물중에 용해시켜 1 mg/mL 농도를 달성하였다. 실험 화합물 **30f**을 물중에 유사하게 용해시켜 등가 농도 (화합물 **12i**에 있어서 1 mg/mL)를 달성하였다. 각 동물의 무게를 측정하고, 모든 대조군 동물에 경구 섭식에 의해 시간 0에 화합물 **12i**를 10 mg/체중 kg으로 투여한 반면, 모든 실험 동물에는 경구 섭식에 의해 시간 0에 화합물 **30f**를 10 mg/체중 kg으로 투여하였다. 일련의 혈액 샘플을 시간 0, 15 min, 30 min, 1 hr, 2 hr, 4 hr, 8 hr, 12 hr, 및 24 hr에 수득하였다. 모든 샘플을 미세원심분리 튜브로 옮기고, 14,000 rpm하에 3 min 동안 원심분리하였다. 각 튜브로부터 혈장을 제거하고, 사전 라벨링된 미세원심분리 튜브로 옮기고, 샘플을 분석 때까지의 저장을 위해 -80 ℃ 냉동고에 옮길 때까지 드라이 아이스 위에 놓았다. 이어서, 화합물 **12i**에 대한 개별 샘플을 분석하였다. 혈장 농도-대-시간 데이타를 WinNonlin 소프트웨어 프로그램을 사용하여 비-구획 방법에 의해 분석하였다. 약동학적 파라미터 T_{max}, C_{max}, $T_{1/2}$ $AUC_{(0-last)}$, $AUC_{(0-inf)}$, $MRT_{(0-inf)}$ 및 혈장과 간 농도 대 시간 프로파일의 그래프를 수득하였다. 결과는 **도 1**에 도시되어 있다.

[0484] 도 1에 묘사된 바와 같이, 실험군 및 대조군은 약동학에서 두드러진 차이를 나타내었다. 두 개의 군 (0.5 h)에 있어서 T_{max}는 동일한 반면, 실험군에 있어서의 C_{max}는 527 ng/mL이지만, 대조군의 C_{max}는 단지 123 ng/mL이며, 실험군의 $AUC_{(0-inf)}$는 1076 ng·h이지만, 대조군의 $AUC_{(0-inf)}$는 단지 219 ng·h이었다. 이러한 결과에 근거하여, 화합물 **30f**의 생물학적 이용도는 화합물 **12i**보다 대략 4배 크며, 혈장 에스테라제는 화합물 **12i**에 비해 화합물 **30f**을 신속하게 가수분해하였다.

[0485] 실시예 8: 아프리카 녹색 원숭이 신장 세포에서 홍역 바이러스의 복제에 대한 바이러스 RNA 폴리머라제 억제제 (화합물 **12i**)의 효과

[0486] *재료 및 방법*: Vero-76 세포 (아프리카 녹색 원숭이 신장 세포)를 아메리칸 타입 컬쳐 콜렉션 (ATCC, Manassas, VA)으로부터 획득하였다. 세포를 5% 소태아혈청 (FBS, Hyclone)이 보충된 최소 필수 배지 (0.15% $NaHCO_3$을 갖는 MEM; Hyclone Laboratories, Logan, UT, USA)에 정례적으로 첨가하였다. 화합물 평가시, 혈청을 2.5%의 최종 농도로 저하시키고, 젠타마이신을 50 μg/mL의 최종 농도가 되도록 시험 배지에 첨가하였다. 홍역 바이러스 (MV), 균주 Chicago를 질환 제어 센터 (Centers for Disease Control) (Atlanta, GA)로부터 획득하였다.

[0487] *항바이러스 시험 절차:*

[0488] 세포병변 효과 억제 검정 (시각적 검정)

[0489] 0.2 mL/웰의 세포를 적당한 세포 농도로 96-웰 평편-바닥 조직 배양 플레이트 (Corning Glass Works, Corning, NY)에 시딩하고, 세포 단일층을 성립시키기 위해 37 ℃에서 밤새 인큐베이션하였다. 단일층이 성립된 경우, 성장 배지를 따라내고, 시험 화합물의 다양한 희석물을 각 웰에 첨가하였다 (3 웰/희석물, 0.1 mL/웰). 화합물 희석 배지를 세포 및 바이러스 대조군 웰에 첨가하였다 (0.1 mL/웰). 시험 배지에서 희석된 바이러스를 화합물 시험 웰 (3 웰/화합물 희석물) 및 바이러스 대조군 웰 (6 웰)에 0.1 mL/웰로 첨가하였다. 바이러스 (바이러스 MOI = 0.001)를 화합물 다음에 대략 5 min째에 첨가하였다. 바이러스 부재의 시험 배지를 모든 독성 대조군 웰 (2 웰/각 시험 화합물의 희석물) 및 세포 대조군 웰 (6 웰)에 0.1 mL/웰로 첨가하였다. 바이러스 대조군 웰에 대해 적당한 세포병변 효과 (CPE) 판독 (80-100% 세포 파괴)이 이루어질 때까지 플레이트를 5% CO_2, 95% 공기 대기를 지닌 습식 인큐베이터에서 37℃에서 인큐베이션하였다. 이는 바이러스를 세포에 노출시킨 후 바이러스에 따라 4-11일에 달성되었다. 그 후, 세포의 CPE에 대해 현미경으로 검사하고, 이를 0 (정상 세포) 내지 4 (최대, 100% CEP)로 스코어를 매겼다. 독성 대조군 웰중의 세포를 세포독성에 기여하는 형태 변화에 대해 현미경으로 관찰하였다. 이러한 세포독성 (세포 파괴 및/또는 형태 변화) 또한 100% 독성, 80% 세포독성, 60 % 세포독성, 40 % 세포독성, 20 % 세포독성, 및 0 (정상 세포)으로 등급을 매겼다. 50% 유효 용량 (EC50) 및 50%

세포독성 용량 (IC50)을 각각 바이러스 CPE 데이타 및 독성 제어 데이타의 회귀분석에 의해 계산하였다. 시험한 각 화합물에 대한 선별 지수 (SI)를 하기 식을 이용하여 계산하였다: SI = CC50/EC50.

[0490] CPE 억제의 뉴트럴 레드 (NR) 흡수 검정

[0491] NR 흡수를 스메 (Smee) 등의 발견에 기초한 항바이러스 약물 평가를 위한 염색 정량법으로서 선택하였다 (*Virol. Methods* 2002, 106: 71-79; 그 전체에 본원에 참조로서 통합된). 이러한 검정은 상기 기술된 동일한 CPE 억제 시험 플레이트에서 수행하여 시각적 관찰에 의해 관찰된 억제 활성 및 세포독성을 입증하였다. 바르나드 (Barnard) 등 (*Antiviral Chem. Chernother.* 2001, 12:220-231; 본원에 그 전체가 참조로서 통합됨)에 의해 기술된 바와 같이 카베너프 (Cavenaugh) 등 (*Invest. New Drugs* 1990, 8:347-354; 본원에 그 전체가 참조로서 통합됨)의 변형된 방법을 이용하여 NR 검정을 수행하였다. 간단하게는, CPE 억제 검정으로부터 CPE에 대해 스코어 매겨진 플레이트의 각 웰로부터 배지를 제거하고, 0.034 % NR을 플레이트의 각 웰에 첨가하고, 플레이트를 어둠하에 37 ℃에서 2 hr 동안 인큐베이션하였다. 이어서, NR 용액을 웰로부터 제거하였다. 린싱 (때때로 세포가 플레이트로부터 벗겨져서 뉴트럴 레드의 잘못된 로우 업 (low up)을 초래함) 및 흡입하여 건조시킨 후, 남아있는 염료를 Sorenson 시트레이트 완충제로 완충된 무수 에탄올을 사용하여 세포로부터 어둠하에 실온에서 30 min 동안 추출하였다. 540 nm/405 nm에서의 흡광도를 마이크로플레이트 리더 (Opsys MR™, Dynex Technologies, Chantilly, VA, USA)로 판독하였다. 흡광도 값을 비처리된 대조군의 퍼센트로서 표현하였으며, EC50, CC50 및 SI 값을 상기 기술된 바와 같이 계산하였다.

[0492] *바이러스 수율 감소 검정:*

[0493] 바이러스 수율 감소 검정을 종래 기술된 바와 같이 본질적으로 세포 배양물 50% 감염 용량 (CCID50) 검정을 이용하여 수행하였다 (*Antimicrob. Agents Chemother.* 1992, 3:1837-1842; 그 전체가 본원에 참조로서 통합됨). 간단하게는, 각 웰로부터의 상청액을 Vero-76 세포를 함유하는 96-웰 플레이트의 삼중 웰에 연속 희석하였다. 플레이트를 6일 동안 인큐베이션한 후, 바이러스-유도된 CPE를 체크하였다. 리드 (Reed) 및 뮌치 (Muench)의 단점법 (endpoint method)에 의해 바이러스 수율 역가를 정량하였다 (Am. J. Hyg. 1938, 27:493-498; 그 전체가 본원에 참조로서 통합됨). EC90 값을 선형 회귀법을 이용하여 계산하여 바이러스 수율을 90% 만큼 억제하거나 바이러스 역가를 1 $\log_{10}$ 감소시키는데 필요한 농도를 추정하였다.

[0494] *결과 및 논의:*

[0495] 홍역 바이러스는 화합물 **12i**에 의해 강력하게 억제되었다 (**표 1**). 홍역 바이러스에 대한 EC50 값은 각각 바이러스 검정 및 NR 검정에 의해 0.6 및 1.4 μg/mL이었다. 화합물은 시각적으로 또는 NR 검정에서 어떠한 세포독성을 갖지 않았다 (IC50>100). 따라서, 둘 모두의 검정에 의한 선별 지수는 화합물 **12i**가 홍역 바이러스 (MV)에 대해 고도로 활성임을 시사한다. MV에 대한 강력한 억제 활성은 바이러스 수율 감소 검정에 의해 EC90 = 0.36 μg/mL인 것으로 확인하였으며, 이는 감염된 세포에서 생성된 바이러스의 1 $\log_{10}$ 하락을 나타낸다.

[0496] *결론:*

[0497] 화합물 **12i**가 강력하고 선택적인 억제 활성을 나타냄이 입증되었다. 바이러스 수율 감소 검정에 의해, 화합물 **12i**은 또한 MV의 강력한 억제제이다 (EC90 = 0.37 μg/mL). 이와 같이, 화합물 **12i**은 많은 RNA 바이러스의 강력한 억제제인 것으로 밝혀졌으며, 화합물 **12i**은 시험관내 및 생체내 평가에서 선택된 RNA 바이러스의 광역 스펙트럼 억제제로서 타당함을 추가로 시사한다.

[0498] 표 1. 다양한 바이러스의 복제에 대한 폴리머라제 억제제 (화합물 12i)의 효과

바이러스	시각적 CPE 검정 (ng/mL)			뉴트럴 레드 흡수 검정(ng/mL)		
	EC50	IC50	SI	EC50	IC50	SI
아데노바이러스 타입 165089/Chicago (A-549 cells)	39	>100	>2.6	43	>100	>2.3
뎅기 2 뉴 기니아 C (Vero 세포)	15	360	25	13	340	26
인플루엔자 A H1N1 CA/04/2009 (범유행성 H1N1)	1.8	210	120	1.8	210	120
인플루엔자 A H3N2 Brisbane/10/2007	1.8	260	140	5.6	440	79
인플루엔자 A H5N1 VN/1203/2004 하이브리드 (H1N1 주쇄)	0.63	>1000	>1600	0.99	130	130
인플루엔자 B Florida	1.8	530	290	1.8	50	38
쥬닌 캔디드 1 (Vero 세포)	29	>520	>17	16	240	14
홍역	0.6	>100	>180	1.4	>100	>71
파라인플루엔자 3 14702 (MA-104 세포)	14	100	7.1	10	52	52
피키니드 (Vero 세포)	61	>500	>8.2	28	190	6.7
푼타 토로 A2 (Vero 76 세포)	310	>500	>1.6	>250	250	0
호흡기 세포융합 A2 (MA-104 세포)	>100	>100	0	>100	>100	0
리노바이러스 2 HGP (HeLa Ohio-1 세포)	57	>100	>1.8	56	>100	> 1.8
리프트 계곡 열 MP-12 (Vero 76 세포)	75	680	9.1	64	420	6.6
SARS-CoV Urbani (Vero 76 세포)	14	>100	>7.1	16	>100	>6.3
타카라이브 TRVL 11573 (Vero 세포)	29	320	4.2	2	200	2
베네주엘라 말 뇌염 TC83 (Vero 76 세포)	280	610	2.2	170	230	1.2
서부 나일강 (Vero 세포)	>100	>100	0	36	>100	2.8
황열 17D (Vero 76 세포)	8.3	360	43	8.3	320	38

[0499]

[0500] 실시예 9: 다양한 RNA 바이러스의 복제에 대한 바이러스 RNA 폴리머라제 억제제 (화합물 **12i**)의 효과

[0501] *재료 및 방법*

[0502] 세포 및 바이러스

[0503] 아프리카 녹색 원숭이 신장 세포 (MA-104)를 Whitaker MA Bioproducts (Walkersville, MD, USA)로부터 수득하였다. 모든 Vero 세포 (아프리카 녹색 원숭이 신장 세포, 인간 암종 후두 세포 (A-549) 및 Madin-Darby 개 신장 세포를 아메리칸 타입 컬쳐 콜렉션 (ATCC, Manassas, VA)으로부터 수득하였다. A-549 세포를 0.15 % $NaHCO_3$ (Hyclone Laboratories, Logan, UT, USA) 및 10 % 소태아혈청 (FBS, Hyclone)이 보충된 둘베코 최소 필수 배지 (DMEM)에서 배양하였다. 남아있는 세포를 5% 소태아혈청 (FBS, Hyclone)이 보충된 최소 필수 배지 (0.15 % $NaHCO_3$을 갖는 MEM ; Hyclone Laboratories, Logan, UT, USA)에 정례적으로 통과시켰다.

[0504] 화합물 평가시, 혈청을 2.5%의 최종 농도로 저하시키고, 젠타마이신을 50 μg/mL의 최종 농도가 되도록 시험 배

지에 첨가하였다. 인플루엔자 검정에 대한 시험 배지는 혈청 부재, 0.18 % $NaHCO_3$, 20 μg 트립신/mL, 2.0 μg EDTA/mL, 및 50 μg 젠타마이신/mL의 MEM으로 구성되었다.

[0505] 활성적으로 성장하는 세포에서 독성 평가를 위해, 여러 농도의 화합물에 3-일 노출시킨 후 NR 흡수 검정에 의해 반영되는 바와 같은 세포의 총 수를 측정함으로써 세포독성을 평가하였다. 약물의 존재 또는 부재하의 72 h째에 세포 성장을 정량하기 위해, 플레이트를 1 x 10^3 MDCK 세포로 시딩하고, 4 h 후 (모든 세포가 플레이트 웰에 부착되게 함) MEM중의 선택된 농도의 약물 또는 MEM에 노출되게 하였다. 72 h 후, 플레이트를 NR 검정에 있어서 상기 기술된 바와 같이 처리하였다. 흡광도를 비처리된 대조군의 퍼센트로서 나타내고, CC50 값을 회귀 분석에 의해 계산하였다.

[0506] 뎅기 바이러스 2 (DV-2), 균주 뉴 기니아 C, 호흡기 세포융합 바이러스 (RSV) A2, 리노바이러스 (RV-2), 균주 HOP, 타카라이브 바이러스 (TCV), 균주 TRVL 11573, 베네주엘라 말 뇌염 바이러스 (VEE), 및 황열 바이러스 (YFV), 균주 17D을 모두 아메리칸 타입 컬쳐 콜렉션 (ATCC; Manassas, VA)으로부터 구입하였다. 모든 인플루엔자 바이러스, 홍역 바이러스 (MV), 균주 Chicago, SARS 코로나 바이러스 (SARS-CoV), 균주 Urbani, 및 서부 나일강 바이러스 (WNV), 균주 996625로 지정된 프로토타입 New York 1999 분리물을 질환 제어 센터 (Atlanta, GA)로부터 획득하였다. 푼타 토로 바이러스 (PTV)인 Adames 균주를 닥터. 도미니크 피팻 (Dr. Dominique Pifat) (the U. S. Army Medical Research Institute for Infectious Diseases, Ft. Detrick (Frederick, MD))으로부터 획득하였다. 리프트 계곡 열 바이러스 (RVFV) 백신 균주인 MP-12, 및 쥬닌 바이러스 (JUNV) 백신 균주인 Candid 1은 친절하게도 닥터. 로버트 테쉬 (Dr. Robert Tesh) (World Reference Center for Emerging and Viruses and Arboviruses, University of Texas Medical Branch, Galveston, TX)가 제공하였다. 피키니드 바이러스 (PICV)인 균주 An 4763는 닥터 데이비드 간게미 (Dr. David Gangemi)가 제공하였다 (Clemson University, Clemson, South Carolina). 파라인플루엔자 바이러스 타입 3 (PIV-3)인 균주 14702/5/95는 재클린 보이빈 (Jacquelin Boivin) (Hospitale St. Justin, Montreal, Canada)로부터 획득하였다. 아데노바이러스 (AV-1) 타입 1인 균주 Chicago/95를 소아과 환자의 기관 세척물로부터 분리하였으며, M.F. 스마론 (M.F. Smaron) (Department of Medicine, University of Chicago, Chicago IL)에 의해 공급되었다.

[0507] *항바이러스 시험 절차:*

[0508] 세포병변 효과 억제 검정 (시각적 검정)

[0509] 0.2 mL/웰의 세포를 적당한 세포 농도로 96-웰 평편-바닥 조직 배양 플레이트 (Corning Glass Works, Corning, NY)에 시딩하고, 세포 단일층을 성립시키기 위해 37 ℃에서 밤새 인큐베이션하였다. 단일층이 성립된 경우, 성장 배지를 따라내고, 시험 화합물의 다양한 희석물을 각 웰에 첨가하였다 (3 웰/희석물, 0.1 mL/웰). 화합물 희석 배지를 세포 및 바이러스 대조군 웰에 첨가하였다 (0.1 mL/웰). 시험 배지에서 희석된 바이러스를 화합물 시험 웰 (3 웰/화합물 희석물) 및 바이러스 대조군 웰 (6 웰)에 0.1 mL/웰로 첨가하였다. 바이러스 (바이러스 MOT = 0.001)를 화합물 다음에 대략 5 min에 첨가하였다. 바이러스 부재의 시험 배지를 모든 독성 대조군 웰 (2 웰/각 시험 화합물의 희석물) 및 세포 대조군 웰 (6 웰)에 0.1 mL/웰로 첨가하였다. 바이러스 대조군 웰에 대해 적당한 세포병변 효과 (CPE) 판독 (80-100% 세포 파괴)이 이루어질 때까지 플레이트를 5% CO_2, 95% 공기 대기를 지닌 습식 인큐베이터에서 37℃에서 인큐베이션하였다. 이는 바이러스를 세포에 노출시킨 후 바이러스에 따라 4-11일에 달성되었다. 그 후, 세포의 CPE에 대해 현미경으로 검사하고, 0 (정상 세포) 내지 4 (최대, 100%) CEP로 스코어를 매겼다. 독성 대조군 웰중의 세포를 세포독성에 기여하는 형태 변화에 대해 현미경으로 관찰하였다. 이러한 세포독성 (세포 파괴 및/또는 형태 변화) 또한 100% 독성, 80% 세포독성, 60 % 세포독성, 40 % 세포독성, 20 % 세포독성, 및 0 (정상 세포)으로 등급을 매겼다. 50% 유효 용량 (EC50) 및 50% 세포독성 용량 (IC50)을 각각 바이러스 CPE 데이타 및 독성 제어 데이타의 회귀분석에 의해 계산하였다. 시험한 각 화합물에 대한 선별 지수 (SI)를 하기 식을 이용하여 계산하였다: SI = CC50/EC50.

[0510] CPE 억제의 뉴트럴 레드 (NR) 흡수 검정 및 화합물 세포독성

[0511] NR 흡수를 스메 (Smee) 등의 발견에 기초한 항바이러스 약물 평가를 위한 염색 정량법으로서 선택하였다 (상기 참조). 이러한 검정은 상기 기술된 동일한 CPE 억제 시험 플레이트에서 수행하여 시각적 관찰에 의해 관찰된 억제 활성 및 세포독성을 입증하였다. 바르나드 (Barnard) 등 (상기 참조)에 의해 기술된 바와 같이 카베너프 (Cavenaugh) 등 (상기 참조)의 변형된 방법을 이용하여 NR 검정을 수행하였다. 간단하게는, CPE 억제 검정으로부터 CPE에 대해 스코어 매겨진 플레이트의 각 웰로부터 배지를 제거하고, 0.034 % NR을 플레이트의 각 웰에 첨가하고, 플레이트를 어둠하에 37 ℃에서 2 hr 동안 인큐베이션하였다. 이어서, NR 용액을 웰로부터

제거하였다. 린싱 (때때로 세포가 플레이트로부터 벗겨져서 뉴트럴 레드의 잘못된 로우 업 (low up)을 초래함) 및 흡입하여 건조시킨 후, 남아있는 염료를 Sorenson 시트레이트 완충제로 완충된 무수 에탄올을 사용하여 세포로부터 어둠하에 실온에서 30 min 동안 추출하였다. 540 nm/405 nm에서의 흡광도를 마이크로플레이트 리더 (Opsys MR™, Dynex Technologies, Chantilly, VA, USA)로 판독하였다. 흡광도 값을 비처리된 대조군의 퍼센트로서 표현하였으며, EC50, CC50 및 SI 값을 상기 기술된 바와 같이 계산하였다.

[0512] 화합물 **12i**에 의해 현저하게 억제되는 것으로 간주된 그 밖의 바이러스 (SI >10)는 DV-2 (EC50 = 15, 13 μg/mL), JUNV (EC50 = 29, 16 μg/mL), YFV (EC50 = 8.3, 8.3 μg/mL) (**표 1**)이었다. 하기 바이러스는 화합물 **12i**에 의해 약간 억제되었다(3<SI<10): PIV-3 (EC50 = 7.1, 10 μg/mL), SARS-CoV (EC50 = 14, 16 μg/mL), PICV (EC50 = 61, 28 μg/mL), 및 RVFV (EC50 = 75, 64 μg/mL). 화합물 **12i** 를 인플루엔자 바이러스 균주의 서브셋에 대해 평가하고 (**표 2**), 다중 균주에 대한 광역 스펙트럼 항-인플루엔자 활성을 나타냈다.

[0513] 표 2. 화합물 **12i**의 광역 스펙트럼 항-인플루엔자 활성

바이러스	EC50 (μg/mL)
A/CA/04/2009 (범유행성 H1N1)	1.8
A/Brisbane/10/2007 (H3N2)	5.6
A/VN/1203/2004 (H5N1)	0.99
B/Florida	1.8
A/CA/27/2007 (H1N1)	0.66
A/NJ/15/2007 (H1N1 - H274Y)	1.39
A/Vic/3/75 (H3N2)	4.0

[0514]

[0515] *결론*

[0516] 화합물 **12i**는 시험한 모든 인플루엔자 바이러스에 대해 강력한 활성을 갖는 것으로 입증되었다. 화합물 **12i**는 인플루엔자 바이러스 복제의 강력한 억제제인 것으로 밝혀졌으며, 화합물 **12i**가 모든 인플루엔자 바이러스를 포함한 선택된 RNA 바이러스의 광역 스펙트럼 억제제로서 효과적임을 시사한다.

[0517] 실시예 10: 화합물 **12i**의 시험관내 항바이러스 활성

[0518] 화합물 **12i**의 항바이러스 활성을 항바이러스 활성에 대해 여러 바이러스에서 시험관내 평가하였다. EC50 값은 마르부르크 (필로바이러스과), 쥬닌 캔디드 1 (아레나바이러스과), 피키니드 (아레나바이러스과), 치쿤군야 181/25 (토가바이러스과) 및 백시니아 NYCBH (폭스바이러스과)에 대해 약 10 μg/mL 내지 약 > 300 mg/mL 범위였다.

[0519] 실시예 11: MDCK 세포에서 뉴라미니다제 억제제와 화합물 **12i**의 상승작용성 항바이러스 활성

[0520] 마딘 다비 개과 신장 (Madin Darby Canine Kidney) (MDCK) 세포를 인플루엔자 바이러스 H3N2 (A/Victoria/3/75) 바이러스로 감염시키고, 다양한 농도의 화합물 **12i** 및 페라미비르로 72h 동안 처리하였다. 세포병변 효과를 뉴트럴 레드 염료 흡수 검정을 이용하여 측정하였다. 데이타는 표 3에 나타냈다.

[0521] **표 3**. 인플루엔자-감염된 세포에서 세포병변 효과의 억제율

화합물 12i	페라미비르		
	0.0 μM	0.0 μM	0.0 μM
0.0 μM	0	3.6 ± 9	10.8 ±11
1.8 μM	1.6 ± 6.1	22.7 ±6.1	21.5 ±4.6
7.8 μM	25.8 ±4.8	50.4 ±7.9	70.3 ±4.9

[0522]

[0523] 실험 데이타를 Mac Synergy II™ 소프트웨어 프로그램을 사용하여 3-차원 분석에 의해 평가하였다 (Prichard and Shipman, 1990; 그 전체가 본원에 참조로서 통합됨). 소프트웨어를 개별 약물의 용량-반응 곡선으로부터 이론적 부가적 상호작용을 계산하였다. 그 후, 예측된 부가적 상호작용을 나타내는 계산된 부가적 표면을 실험 표면으로부터 감하여 예상된 상호작용 보다 더 큰 (상승작용) - 또는 더 작은 (길항작용)- 영역을 나타냈다. 세포 배양 연구에서 페라미비르와 화합물 **12i**의 조합물에 대한 92 μM^2 단위 %와 동일한 상승작용 볼륨을 갖는 상승작용적 항바이러스 효과가 입증되었다.

[0524] 실시예 12: 쥐과동물 인플루엔자 모델에서 화합물 **12i** 근내 (IM) 주사의 효율

[0525] 6-8 주령의 BALB/c 마우스를 H3N2 바이러스 (A/Victoria/3/75)에 적응시켰다. 0, 30, 100, 및 300 mg/kg/d qd의 용량을 감염 전 1h 부터 출발하여 5일 동안 근내 (IM) 주사에 의해 제공하였다. N = 50 마리 동물. 모든 동물이 16일 동안 뒤따르게 하였다. 종점 (endpoint)은 치사율, 치사까지의 평균 일수 및 중량 감소를 포함한다.

[0526] 마우스 인플루엔자 모델 바이러스에서 화합물 **12i** (IM)은 **표 4**에 나타냈다. IM으로 제공된 화합물 **12i**는 인플루엔자 바이러스로 감염된 마우스에서 생존율 및 체중 손실을 개선시켰다.

[0527] **표 4**. 마우스 인플루엔자 모델 바이러스 - H3N2 A/Vic/3/75에서 화합물 **12i** (IM)

처리	투여량 수준 (mg/kg/d)	치사 수	치사까지의 평균 일수 (평균±SEM)	평균 중량 변화 (gram ±SEM) 8일
비감염된 비히클	0	0	>16	0.58 ±0.23
감염된 비히클	0	7/15	10.3 ±0.3	-4.98 ±0.14
화합물 12i	30	10/10*	>16	-3.27 ±0.37**
화합물 12i	100	10/10*	>16	0.78 ±0.17**
화합물 12i	300	10/10*	>16	0.60 ±0.17**

[0528]

[0529] *비히클-감염된 군과 비교하여 P<0.001 (log 랭크 시험)

[0530] **비히클-감염된 군과 비교하여 P<0.001 (t-시험)

[0531] 실시예 13: 쥐과동물 인플루엔자 모델에서 화합물 **12i** 경구 투여의 효율

[0532] 6-8주령 BALB/c 마우스를 H3N2 바이러스 (A/Victoria/3/75)에 적응시켰다. 0, 30, 100, 및 300 mg/kg/d qd 및 100 mg/kg/d bid의 용량을 경구 제공하였다. N = 60 마리 동물. 모든 동물이 16일 동안 뒤따르게 하였다. 종점은 치사율, 치사까지의 평균 일수 및 중량 감소를 포함한다. H3N2 A/Vic/3/75 인플루엔자 바이러스로 감염된 마우스에서 체중 감소에 대한 경구 투여된 화합물 **12i**의 효과는 **표 5**에 기재하였다. 경구 제공된 화합물 **12i**는 인플루엔자 바이러스 감염된 마우스에서 생존율 및 체중 감소를 개선시켰다.

[0533] **표 5**. 마우스 인플루엔자 모델 바이러스 - H3N2 A/Vic/3/75에서 화합물 **12i** (경구)

처리	투여량 수준 (mg/kg/d) qd	생존/총	치사까지의 평균 일수 (평균±SEM)	평균 체중 변화 (gram±SEM) 9일
비감염된 비히클	0	0	>16	1.36 ±0.96
감염된 비히클	0	7/15	10.5 ±0.3	-3.74 ±0.23
화합물 12i	30	10/10*	>16	-1.58 ±0.32**
화합물 12i	100	10/10*	>16	1.03 ±.22**
화합물 12i	100 (bid)	10/10*	>16	0.01 + 0.27**
화합물 12i	300	10/10*	>16	0.66 ±0.23**

[0534]

[0535] *비히클-감염된 군과 비교하여 P<0.001 (log 랭크 시험)

[0536] **비히클-감염된 군과 비교하여 P<0.001 (t-시험)

[0537] 실시예 14: 마우스에서 약동학적 연구

[0538] 암컷 BALB/c 마우스 (N = 30)에 100 mg/kg의 화합물 **12i**를 경구 투여하였다. 마우스로부터 레트로 오르비탈 시누스를 통해 t = 0.17, 0.5, 1.0, 3, 6, 및 24 h에서 채혈하고 (각 시점당 각 5 마리 마우스), 원심분리하고, 혈장을 -80℃에서 저장하였다. 혈장내 약물 수준을 LC/MS/MS 분석을 통해 측정하였다.

[0539] 경구 투여 후 화합물 **12i**에 대한 마우스 혈장내 수준은 **표 6**에 기록하였다.

[0540] 표 6. 경구 투여 후 마우스에서 화합물 **12i**의 혈장내 수준

[0541]

시점 (h)	혈장내 약물 수준 (ng/mL) (평균 ±SEM)
0.17	607.1± 61.0
0.5	910.0±121.9
1	341.6±121.9
3	89.7 ±8.5
5	94.2 ±6.4
24	50.5 ±8.9

[0542] 실시예 15: 에볼라 바이러스 마우스 예방 연구

[0543] 화합물 **12i**를 8-12 주령 C57BL/6 마우스에 i.p., i.m., 및 경구 (300 mg/kg/day, BID) 투여하였다 (군당 N = 10 마리, 4 개 군 - 하나는 염수 및 3개는 약물 처리된 군). 감염전 4h 부터 출발하여 8일 동안 처리. 마우스-적응된 에볼라 바이러스 (Zaire) 자극을 복강내 투여하였다. 치사성 및 체중을 감염후 14일 동안 모니터링하였다.

[0544] 에볼라 바이러스로 감염된 염수-처리 마우스는 8일까지 모두 죽었다. 화합물 **12i**로 복강내 또는 근내 처리된 모든 마우스는 연구 종점 (14일)에 생존하였다. 화합물 **12i**로 경구 처리된 마우스의 80%는 연구 종점에 생존하였다 (14일).

[0545] 에볼라 바이러스로 감염된 염수-처리된 마우스는 8일까지 전반적인 체중 감소를 나타냈다 (모든 대조군 마우스가 8일까지 죽었다). 화합물 **12i**로 복강내 또는 근내 처리된 마우스는 12일째에 출발 체중의 95%보다 높게 유지되었다. 화합물 **12i**로 경구 처리된 마우스는 12일째에 출발 체중의 80%보다 높게 유지되었다. 모든 약물-처리된 마우스는 12일 후에 체중이 계속해서 증가하였다.

[0546] 실시예 16: 에볼라 바이러스 마우스 예방 연구

[0547] 화합물 **12i**를 8-12 주령 C57BL/6 마우스에 i.m., 및 경구 투여하였다. 연구 대상체는 6개 군으로 나누었다(군당 N = 10). 군 1은 염수 대조군이며, 군 2는 150 mg/kg 화합물 **12i** (p.o., BID)을 투여하고; 군 3은 250 mg/kg 화합물 **12i** (p.o., BID)을 투여하고; 군 4는 150 mg/kg 화합물 **12i** (i.m., BID)를 투여하였다. 군 5는 염수로 처리된 비감염된 마우스 (p.o., BID)이며, 군 6은 250 mg/kg 화합물 **12i** (p.o., BID)로 처리된 비감염된 마우스이다. 처리는 감염 전 4h로부터 출발하여 9일 동안 수행하였다. 마우스-적응된 에볼라 바이러스 (Zaire) 자극물을 복강내 투여하였다 (1,000 pfu). 치사성 및 체중을 감염후 14일 동안 모니터링하였다.

[0548] 에볼라 바이러스로 감염된 염수-처리 마우스는 8일까지 모두 죽었다. 화합물 **12i**로 근내 처리된 모든 마우스는 연구 종점에 생존하였으며, 이는 화합물 12i의 i.m. 투약이 완전히 보호성임을 나타낸다. 화합물 **12i**로 경구 처리된 마우스의 80% 또는 그 초과는 연구 종점에 생존하였다.

[0549] 에볼라 바이러스로 감염된 염수-처리된 마우스는 7일까지 전반적인 체중 감소를 나타냈다 (모든 대조군 마우스가 8일까지 죽었다). 화합물 **12i**로 근내 처리된 마우스는 11일에 비감염된 대조군 군과 유사한 체중 증가를 나타내었다. 화합물 **12i**로 경구 처리된 마우스는 가역적 체중 감소를 나타냈으며, 11일에 출발 체중의 100%보다 높게 유지되었다.

[0550] 실시예 17: 황열 바이러스 (YFV) 시간 윈도우 골든 햄스터 연구

[0551] 황열 바이러스 (Jimenez 균주)를 햄스터당 20 CCID50에서 암컷 시리안 골든 햄스터 (Syrian golden hamster) (99 g)에 i.p. 주입하였다 (~ 6.25 x LD50). 군을 하기와 같이 나누었다: 1) 화합물 **12i**를 -4h부터 투여 시작하였다 (N = 15); 2) 화합물 **12i**를 1dpi (감염 후 일)부터 투여 시작하였다 (N = 10); 3) 화합물 **12i**을 2 dpi부터 투여 시작하였다 (N = 10); 4) 화합물 **12i**을 3 dpi부터 투여 시작하였다 (N = 10); 5) 화합물 **12i**을 4 dpi부터 투여 시작하였다 (N = 10); 6) 리바비린을 -4h부터 투여 시작하였다(N = 10); 7) 염수 비히클은 -4h부터 투여 시작하였다(N = 16); 8) 비감염된 햄스터에는 화합물 **12i**를 -4h부터 투여 시작하였다 (N = 3); 9) 비감염된 햄스터에는 염수 비히클을 -4h부터 투여 시작하였다 (N = 3); 및 10) 비감염되고 비처리된 정상 대조군 (N = 3). 처리 용량은 7일 동안 100 mg/kg i.p., BID이었다. 연구 종점에서 21일에서의 치사율, 0, 3, 5 및 6일에 측정된 체중 및 간 바이러스 역가 (4일, -4h에서의 화합물 **12i** 및 -4h에서의 비히클), 및 6일에서의 ALT 및 AST를 측정하였다.

[0552] 결과는 플라세보와 비교하여, 지연되어 처리된 화합물 **12i**에 있어서 향상된 생존율을 나타내었다 (**도 2**). YFV로 감염되고, 바이러스 자극 후 다양한 시간에서 시작하여 7일 동안 매일 2회 화합물 **12i**로 처리된 생존 햄스터를 나타내었다 (***P<0.001, **P<0.1, 플라세보와 비교시). 감염 전부터 시작한 경우 및 감염 후 3일까지의 지연되어 처리된 화합물 **12i**에 있어서 생존율은 100%이었다. 감염 후 4일부터 투여시작한 화합물 **12i**에 있어서 생존율은 80%이었으며, 이는 지연 처리된 군에서 플라세보 대비 현저한 개선을 나타낸다. 그에 반해, 감염 전부터 투여 시작한 리바비린은 90% 생존율을 제공하였으며, 감염 전부터 투여 시작한 비히클은 12.5% 생존율을 제공하였다. 감염 10일 이내에 대부분의 치사가 발생하였다. 생존 동물에는 감염 후 21일째에 YFV로 재자극할 것이다.

[0553] YFV로 감염되고, 감염 전부터 감염 후 4일까지 화합물 **12i**로 처리된 햄스터는 감염 전 투여된 리바비린 및 플라세보 대비 체중 증가를 나타냈다.

[0554] 실시예 18: 화합물 **12i**에 대한 마르부르크 바이러스 연구

[0555] 화합물 **12i**를 1000 pfu 마우스-적응된 MARV-Ravn으로 (복강내) 자극된 10-12 주령 BALB/c 마우스에 i.m. 투여하였다. 본 연구는 10개 군으로 나누었다 (군 당 N = 10). 투여 요법, 경로 및 용량은 **표 7**에 기재되어 있다. 화합물 **12i**를 투여 전에 0.9% 염수에 용해시키고, 감염 후 14일 동안 건강 상태 및 체중을 모니터링하였다.

[0556] **표 7.** 마르부르크 바이러스 감염에 있어서 화합물 **12i**로의 예방 및 치료를 위한 연구 설계

[0557]

군	N	처리	화합물 12i 용량 (mg/kg)	화합물 12i 용량 (mg/kg/d)	경로	요법*
1	10	염수		-	IM	BID; 0-8일 PI
2	10	화합물 12i	150	300	IM	BID; 0-8일 PI
3	10	화합물 12i	50	100	IM	BID; 0-8일 PI
4	10	화합물 12i	15	30	IM	BID; 0-8일 PI
5	10	화합물 12i	5	10	IM	BID; 0-8일 PI
6	10	화합물 12i	150	300	IM	BID; -1- 4h, 1-8일 PI
7	10	화합물 12i	150	300	IM	BID; 1-8일 PI
8	10	화합물 12i	150	300	IM	BID; 2-8일 PI
9	10	화합물 12i	150	300	IM	BID; 3-8일 PI
10	10	화합물 12i	150	300	IM	BID; 4-8일 PI

[0558] * 0일 처리는 감염 전 4h에 개시하였다 (군 6은 제외).

[0559] 군 6은 0일에 감염 후 4h에 처리 개시하였다.

[0560] PI = 감염 후

[0561] 본 연구의 10 군에 대한 12일까지의 생존율은 **표 8**에 포함되어 있다. 비히클 (0.9% 염수)로만 처리된 마우스에 대한 생존율은 7일에 60% 및 8-12일에 30%이었다. 화합물 12i이 생존율을 모든 투여 용량에서 7일에 적어도 90% 및 8-12일에 적어도 80%로 증가시키는 것으로 나타났다.

[0562] **표 8.** 마르부르크 바이러스 감염에 있어서 화합물 **12i**로의 예방 및 치료에서 생존율 %

군	처리	생존율 (일)												
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	0.9% 염수	100	100	100	100	100	100	100	60	30	30	30	30	30
2	화합물 12i (150 mg/kg)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
3	화합물 12i (50 mg/kg)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
4	화합물 12i (15 mg/kg)	100	100	100	100	100	90	90	90	90	90	90	90	90
5	화합물 12i (5 mg/kg)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
6	화합물 12i (150 mg/kg) + 4 h	100	100	100	100	100	100	100	100	100	90	90	90	90
7	화합물 12i (150 mg/kg) + 24 h	100	100	100	90	90	90	90	80	80	80	80	80	80
8	화합물 12i (150 mg/kg) + 48 h	100	100	100	100	100	100	100	90	90	90	90	90	90
9	화합물 12i (150 mg/kg) + 72 h	100	100	100	100	90	90	90	90	80	80	80	80	80
10	화합물 12i (150 mg/kg) + 96 h	100	100	100	100	100	100	100	100	100	90	90	90	90

[0563]

[0564] 실시예 19: 약제학적 투약 형태

[0565] 하기는 인간에서 치료 또는 예방적 용도를 위한 본 발명의 화합물 ('화합물 X')를 함유하는 대표적인 약제학적 투약 형태를 예시한다.

[0566] (i) 정제 1 mg/정제

[0567] 화합물 X 100.0

[0568] 락토스 77.5

[0569] 포비돈 15.0

[0570] 크로스카르멜로스 소듐 12.0

[0571] 미세결정질 셀룰로스 92.5

[0572] 마그네슘 스테아레이트 3.0

[0573] 300.0

[0574] (ii) 정제 2 mg/정제

[0575] 화합물 X 20.0

[0576] 미세결정질 셀룰로스 410.0

[0577] 전분 50.0

[0578] 소듐 전분 글리콜레이트 15.0

[0579] 마그네슘 스테아레이트 5.0

[0580] 500.0

[0581] (iii) 캡슐 mg/캡슐

[0582] 화합물 X 10.0

[0583] 콜로이드 실리콘 디옥사이드 1.5

[0584] 락토스 465.5

[0585] 전호화분 전분 120.0

[0586] 마그네슘 스테아레이트 3.0

[0587] 600.0

[0588] (iv) 주사액 1 (1 mg/mL) mg/mL

[0589] 화합물 X (유리산 형태) 1.0

[0590] 이염기성 소듐 포스페이트 12.0

[0591] 일염기성 소듐 포스페이트 0.7

[0592] 소듐 클로라이드 4.5

[0593] 1.0 N 소듐 히드록시드 용액

[0594] (7.0-7.5로 pH 조절) q.s.

[0595] 주사용 물 q.s. ad 1 mL

[0596] (v) 주사액 2 (10 mg/mL) mg/mL

[0597] 화합물 X (유리산 형태) 10.0

[0598] 일염기성 소듐 포스페이트 0.3

[0599] 이염기성 소듐 포스페이트 1.1

[0600] 폴리에틸렌 글리콜 400 200.0

[0601] 1.0 N 소듐 히드록시드 용액

[0602] (7.0-7.5로 pH 조절) q.s.

[0603] 주사용 물 q.s. ad 1 mL

[0604] (vi) 에어로졸 mg/캔

[0605] 화합물 X 20.0

[0606] 올레산 10.0

[0607] 트리클로로모노플루오로메탄 5,000.0

[0608] 디클로로디플루오로메탄 10,000.0

[0609] 디클로로테트라플루오로에탄 5,000.0

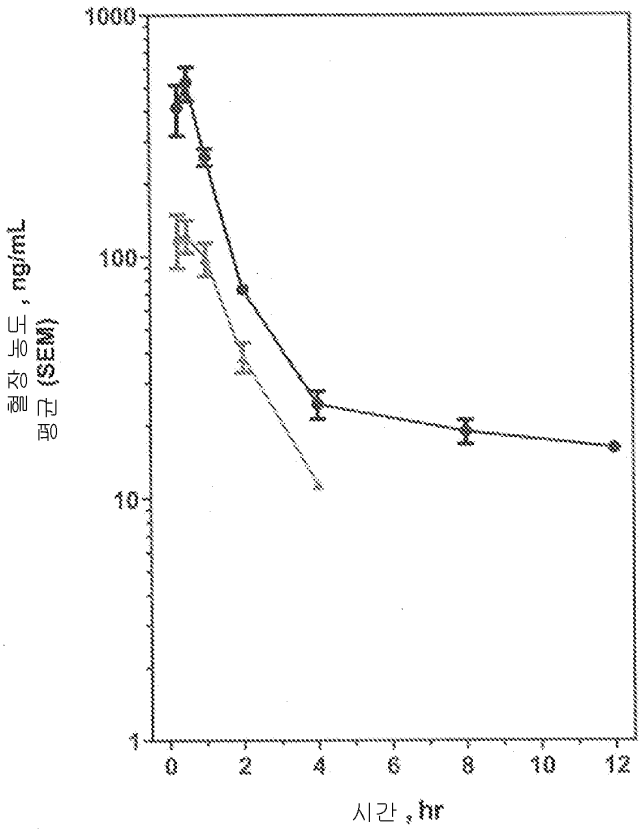
[0610] 상기 제형은 약제 분야에서 널리 공지된 통상적인 절차에 의해 수득될 수 있다.

[0611] 모든 간행물, 특허 및 특허 문헌은 개별적으로 참조로서 통합된 바와 같이, 본원에 참조로서 통합된다. 본 발명은 다양한 특정하고 바람직한 구체예 및 기법을 참조로 기술되었다. 그러나, 본 발명의 사상 및 범위내에 유

지되면서 많은 변형 및 변경이 이루어질 수 있음이 이해되어야 한다.

도면

도면1



도면2

