

**(19) 대한민국특허청(KR)**
(12) 공개특허공보(A)**(11) 공개번호** 10-2022-0080220
(43) 공개일자 2022년06월14일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07H 19/10 (2006.01) A61K 31/7068 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07H 19/10 (2013.01)
A61K 31/7068 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2022-7019095(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2015년06월25일
심사청구일자 2022년06월07일
- (62) 원출원 특허 10-2016-7033632
원출원일자(국제) 2015년06월25일
심사청구일자 2020년05월22일
- (85) 번역문제출일자 2022년06월07일
- (86) 국제출원번호 PCT/GB2015/051857
- (87) 국제공개번호 WO 2015/198058
국제공개일자 2015년12월30일
- (30) 우선권주장
1411253.6 2014년06월25일 영국(GB)
2050/MUM/2014 2014년06월25일 인도(IN)
- (71) 출원인
뉴카나 피엘씨
영국, 이에이치12 9디티 에든버러 로치사이드 웨이 3
- (72) 발명자
그리피트, 휴
영국, 에딘버러 스코틀랜드 이에이치12 9알퀴, 로치사이드 플레이스 10, 뉴카나 바이오메드 리미티드
- 맥기그안, 크리스토퍼
영국, 카디프 사우스 글라모건 씨에프10 3엔비, 킹 에드워드 7 에비뉴, 레드우드 빌딩, 카디프 유니버시티, 스쿨 오브 파머시 앤 파머스티컬 사이언스
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
이원희

전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 젠시타빈 전구 약물**(57) 요약**

본 발명은 잘 알려진 중앙 약물 젠시타빈의 모노포스페이트 뉴클리오티드의 전구 약물에 관한 것이다. 구체적으로, 본 발명은 단일 포스페이트 부분 입체 이성질체로 존재할 때 젠시타빈-[페닐-벤조시-L-알라닌일]-포스페이트에 관한 것이고, 특히, 본 발명은 (R)-부분 입체 이성질체 대비 용해도에서 눈에 띄고 예상치 못한 상승을 제공하는 (S)-포스페이트 부분 입체 이성질체에 관한 것이다. 상기 (S)-포스페이트 부분 입체 이성질체는 또한 우선적으로 상기 (R)-부분 입체 이성질체보다 사이클로텍스트린 용액에 흡수된다.

(52) CPC특허분류

A61P 35/00 (2018.01)

(72) 발명자

슬러사르지크, 매그달리나

영국, 카디프 사우스 글라모건 씨에프10 3엔비, 킹
에드워드 7 에비뉴, 레드우드 빌딩, 카디프 유니버
시티, 스쿨 오브 파머시 앤 파머스티컬 사이언스

설피, 미케일라

영국, 카디프 사우스 글라모건 씨에프10 3엔비, 킹
에드워드 7 에비뉴, 레드우드 빌딩, 카디프 유니버
시티, 스쿨 오브 파머시 앤 파머스티컬 사이언스

페라리, 발렌티나

영국, 카디프 사우스 글라모건 씨에프10 3엔비, 킹
에드워드 7 에비뉴, 레드우드 빌딩, 카디프 유니버
시티, 스쿨 오브 파머시 앤 파머스티컬 사이언스

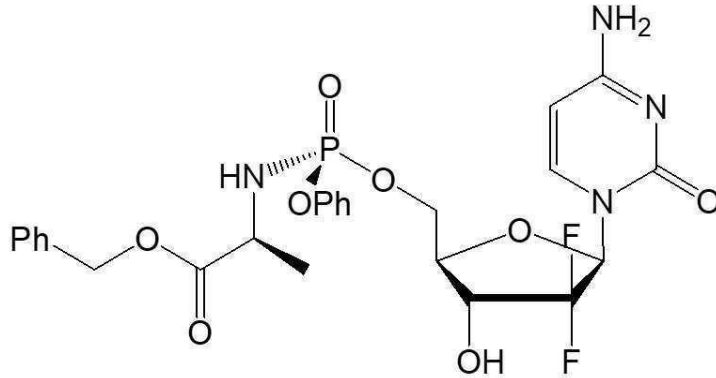
명세서

청구범위

청구항 1

90% 이상의 부분 입체 이성질체적 순도를 가지는, 하기 화학식 (3)으로 표시되는 켄시타빈-[페닐-벤족시-L-알라닌일]-(S)-포스페이트(3), 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물 및 적어도 하나의 약학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는 약학적 제제로, 상기 제제는 극성 유기 용매를 포함하는 수용성 제제인, 약학적 제제:

화학식 (3)



청구항 2

제1항에 있어서, 상기 제제는 비경구(parenteral) 투여용인 것을 특징으로 하는, 약학적 제제.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 제제는 정맥(intravenous) 투여용인 것을 특징으로 하는, 약학적 제제.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제제는 추가적으로 사이클로덱스트린(cyclodextrin)을 포함하는 것을 특징으로 하는, 약학적 제제.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 제제는 경구(oral) 투여용인 것을 특징으로 하는, 약학적 제제.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 켄시타빈-[페닐-벤족시-L-알라닌일]-(S)-포스페이트(3)는 유리(free) 염기의 형태인 것을 특징으로 하는, 약학적 제제.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 켄시타빈-[페닐-벤족시-L-알라닌일]-(S)-포스페이트(3)는 95% 이상의 부분 입체 이성질

체적 순도를 갖는, 약학적 제제.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 젤시타빈-[페닐-벤족시-L-알라닌일]-(S)-포스페이트(3)는 98% 이상의 부분 입체 이성질체적 순도를 갖는, 약학적 제제.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 젤시타빈-[페닐-벤족시-L-알라닌일]-(S)-포스페이트(3)는 99.5% 이상의 부분 입체 이성질체적 순도를 갖는, 약학적 제제.

청구항 10

제1항에 있어서, 암 치료용인, 약학적 제제.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 암은 하기로부터 선택되는 것을 특징으로 하는, 약학적 제제:

췌장암, 유방암, 난소암, 방광암, 대장암, 폐암, 방광암, 전립선 암, 담관암, 신장암, 자궁 경부암, 흉선암, 원 인불명의 암, 림프종 또는 백혈병.

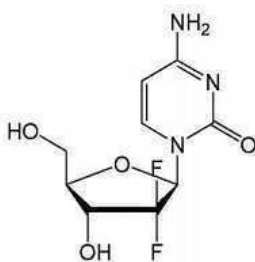
발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 잘 알려진 중앙 약물 켈시타빈의 모노포스페이트(1인산염)의 전구 약물에 관한 것이다. 구체적으로, 본 발명은 단일 포스페이트 부분 입체 이성질체로 존재할 때 켈시타빈-[페닐-벤족시-L-알라닌일]-포스페이트 (화학명: 2'-디옥시-2',2'-디플루오로-D-시티딘-5'-0-[페닐(벤족시-L-알라닌일)]-포스페이트)에 관한 것이고, 특히, 본 발명은 (R)-부분 입체 이성질체 대비 용해도에서 눈에 띄고 예상치 못한 상승을 제공하는 (S)-포스페이트 부분 입체 이성질체에 관한 것이다. 상기 (S)-포스페이트 부분 입체 이성질체는 또한 우선적으로 상기 (R)-부분 입체 이성질체보다 사이클로텍스트린 용액에 흡수된다.

배경 기술

[0002] 젬시타빈(1; 상호명 Gemzar®)은 현재 유방암, 비소세포폐암, 난소암 및 췌장암 치료에 승인된 유효 뉴클리오사이드 유도체이고, 널리 방광, 담도, 대장 및 림프종을 포함하는 여타 다양한 암을 치료하기 위해 사용된다.

$$[0003] \quad (1)$$


[0004]

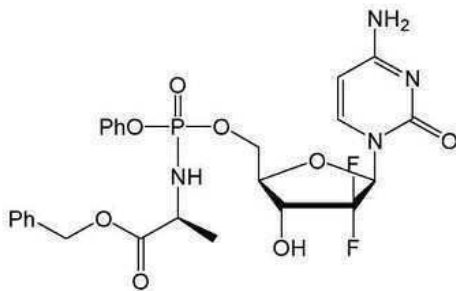
[0005] 젠시타빈의 임상적 유용성은 고유의 및 후천성의 많은 저항 메커니즘에 의해 제한된다. 세포 수준의 저항에서는

세계의 파라미터에 의존한다: (i) 인산화된 모이어티로의 활성화에 필요한, 디옥시시티딘 키나제의 하향 조절; (ii) 뉴클리오사이드 수송자, 특히, 상기 수송자는 암 세포에 의한 활용에 요구되는 hENT1의 감소된 발현; 및 (iii) 촉매 효소, 특히, 젬시타빈을 분해시키는 시티딘 디아미나아제의 상향 조절.

[0006] WO2005/012327에서는 젬시타빈 포스페이트 유도체 시리즈 및 관련 뉴클리오사이드 약물 분자를 개시하고 있다. 이들 중, 젬시타빈-[페닐-(벤족시-L-알라닌일)]-포스페이트(NUC-1031; 2)는 특히 효과적인 화합물로 식별된다. 상기 화합물들은 젬시타빈의 유용성을 제한하는 많은 고유의 및 후천성의 내성 메커니즘들을 회피하는 것으로 나타난다('Application of ProTide Technology to Gemcitabine: A Successful Approach to Overcome the Key Cancer Resistance Mechanisms Leads to a New Agent (NUC-1031) in Clinical Development'; Slusarczyk et al; J. Med. Chem.; 2014, 57, 1531-1542).

[0007] NUC-1031(2)은 포스페이트 중심에서 에피머성의, 두개의 부분 입체 이성질체의 혼합물로 제조된다.

[0008] (2)



[0009]

[0010] 불행히도, NUC-1031(2)은 매우 유성(lipophilic)인 바, 물에 난용성이고(계산 값: <0.1 mg/ml), 이온화 가능한 모이어티인, 피리미딘 질소 및 페놀 히드록시는 비경구 투여에 적합한 pH 범위 밖의 pKa 값을 가진다. 이는 염 함량 또는 pH에 관계없이 물에 본질적으로 녹지 않으며, 효과적인 치료를 위해 충분히 높은 용량으로 전구 약물을 전달하기 위한 제제의 개발에 악영향을 미친다. 또한, NUC-1031을 비용 효율적으로 생산할 수 있는 효율적인 제조 공정 개발에 악영향을 미친다.

[0011] 본 발명의 특정 실시예는 효과적인 약학적 조성물로 제제화될 수 있는 형태의 젬시타빈-[페닐-(벤족시-L-알라닌일)]-포스페이트(NUC-1031; 2)를 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0012] 또한, 본 발명의 특정 실시예는 연장된 시간의 기간 동안 저장되고 제조될 수 있는 젬시타빈-[페닐-(벤족시-L-알라닌일)]-포스페이트(NUC-1031; 2)의 형태를 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0013] 본 발명의 특정 실시예는 종래 기술 형태보다 높은 용해도를 가지는 형태로 젬시타빈-[페닐-(벤족시-L-알라닌일)]-포스페이트(NUC-1031; 2)를 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0014] 본 발명의 특정 실시예는 인(phosphorus)에서 단일 부분 입체 이성질체로 젬시타빈-[페닐-(벤족시-L-알라닌일)]-포스페이트(NUC-1031; 2)를 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0015] 본 발명의 특정 실시예는 상기의 목적들 중 일부 또는 전부를 충족한다.

[0016] 본 발명의 상기 젬시타빈-[페닐-(벤족시-L-알라닌일)]-포스페이트는 바람직하게 실질적으로 젬시타빈-[페닐-(벤족시-L-알라닌일)]-포스페이트(NUC-1031; 2)와 동등한 활성을 가진다. 그러나, 본 발명의 형태로 사용하는 것이 제조상의 또는 치료상의 이점이 있는 경우, 이는 약간 낮은 활성을 가질 수 있지만 본 명세서에 기술된 여타의 이점을 가질 수 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0017] (특허문헌 0001) WO2005/012327

비특허문헌

[0018] (비특허문헌 0001) Slusarczyk et al; J. Med. Chem.; 2014, 57, 1531-1542

발명의 내용

해결하려는 과제

[0019] 본 발명의 특정 실시예는 효과적인 약학적 조성물로 제제화될 수 있는 형태의 젬시타빈-[페닐-벤족시-L-알라닌일]-포스페이트(NUC-1031; 2)를 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0020] 또한, 본 발명의 특정 실시예는 연장된 시간의 기간 동안 저장되고 제조될 수 있는 젬시타빈-[페닐-벤족시-L-알라닌일]-포스페이트(NUC-1031; 2)의 형태를 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0021] 본 발명의 특정 실시예는 종래 기술 형태보다 높은 용해도를 가지는 형태로 젬시타빈-[페닐-벤족시-L-알라닌일]-포스페이트(NUC-1031; 2)를 제공하는 것을 목적으로 한다.

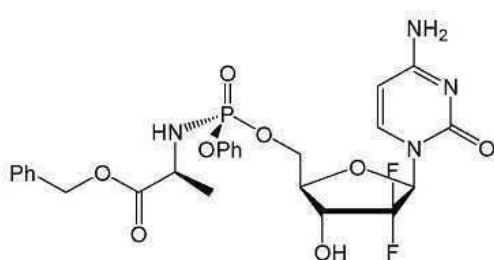
[0022] 본 발명의 특정 실시예는 인(phosphorus)에서 단일 부분 입체 이성질체로 젬시타빈-[페닐-벤족시-L-알라닌일]-포스페이트(NUC-1031; 2)를 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0023] 본 발명의 특정 실시예는 상기의 목적들 중 일부 또는 전부를 충족한다.

과제의 해결 수단

[0024] 본 발명에 따라, 젬시타빈-[페닐-벤족시-L-알라닌일]-(S)-포스페이트 (3)이 제공된다:

[0025] (3)



[0026]

[0027] 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물이 제공된다. 바람직하게, 상기 젬시타빈-[페닐-벤족시-L-알라닌일]-(S)-포스페이트(3)는 실질적으로 부분 입체 이성질체로 순수한 형태이다.

[0028] 본 발명자들은 두개의 부분 입체 이성질체의 용해도가 놀랍고 상당한 차이를 발견하였다. 상기 (S)-에피머(3)는 치료제로서 제제 및 투여에 적합한, 물과 다양한 극성 유기 용매의 혼합물에서 충분한 용해도를 가진다. 하기 (R)-에피머(4)는 실질적으로 측정된 대부분의 용매 혼합물에서 불용성이다. 상기 용해도에서의 눈에 띄는 차이는 이전에는 규명되지 않았고, 상기 (S)-에피머의 특성의 잠재적인 이점도 규명되지 않았다. 시험된 수 많은 용매 혼합물에서 상기 (S)-에피머 및 상기 (R)-에피머 사이 상기 용해도의 차이는 100배 이상이다.

[0029] 놀랍게도, 상기 (S)-에피머는 또한 상기 (R)-에피머보다 우선적으로 사이클로텍스트린 용액에 흡수된다. 이는 여타의 젬시타빈 유도체에서는 관찰되지 않았던 것이다.

[0030] 본 발명의 두번째 양태에서, 본 발명은 약 90% 이상의 부분 입체 이성질체 순도를 가지는, 젬시타빈-[페닐-벤족시-L-알라닌일]-(S)-포스페이트(3), 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물 및 최소한 하나의 약학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는 약학적 제제를 제공한다.

[0031] 상기 제제는 비경구용일 수 있고, 예를 들어 정맥내, 피하 또는 근육내 투여용일 수 있다. 바람직하게, 상기 제제는 정맥내 투여용이다.

[0032] 상기 제제는 수용성 제제일 수 있고, 이는 또한 선택적으로 극성 유기 용매를 포함할 수 있다. 비경구(예, 정맥내) 투여의 경우, 상기 제제는 또한 바람직하게 극성 유기 용매를 포함한다.

[0033] 상기 제제는 또한 사이클로텍스트린을 포함할 수 있다.

- [0034] 본 발명의 세번째 양태에서, 본 발명은 의학적 용도의 젬시타빈-[페닐-벤족시-L-알라닌일)]-(S)-포스페이트(3), 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 제공한다.
- [0035] 본 발명의 네번째 양태에서, 본 발명은 암 치료 용도의 젬시타빈-[페닐-벤족시-L-알라닌일)]-(S)-포스페이트(3), 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 제공한다.
- [0036] 본 발명의 다섯번째 양태에서, 본 발명은 암 치료용 의약품 제조에 사용하기 위한 젬시타빈-[페닐-벤족시-L-알라닌일)]-(S)-포스페이트(3), 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 제공한다.
- [0037] 본 발명의 여섯번째 양태에서, 본 발명은 암 치료 방법을 제공하고, 상기 방법은 암 치료가 필요한 대상(subject)에 치료학적으로 유효한 양의 젬시타빈-[페닐-벤족시-L-알라닌일)]-(S)-포스페이트(3), 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염 또는 용매화물을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0038] 용매화물은 일반적으로 수화물일 것이다. 이에, 상기 젬시타빈-[페닐-벤족시-L-알라닌일)]-(S)-포스페이트는 염 또는 수화물의 형태일 수 있다. 상기 젬시타빈-[페닐-벤족시-L-알라닌일)]-(S)-포스페이트는 염 및/또는 용매화물(예, 수화물)의 형태가 아닐 수 있다. 바람직하게, 이는 유리 염기의 형태이다.
- [0039] 상기 젬시타빈-[페닐-벤족시-L-알라닌일)]-(S)-포스페이트는 약 90% 이상의 부분 입체 이성질체 순도를 가질 수 있다. 상기 젬시타빈-[페닐-벤족시-L-알라닌일)]-(S)-포스페이트는 95%, 98%, 99%, 또는 심지어 99.5% 이상의 부분 입체 이성질체적 순도를 가질 수 있다. '실질적으로 부분 입체적으로 순수'란 약 90% 이상의 부분 입체 이성질체적 순도로 정의된다.
- [0040] 상기 암은 다음으로부터 선택되는 암일 수 있다: 췌장암, 유방암, 난소암, 방광암, 대장암, 폐암, 방광암, 전립선 암, 담관암, 신장암, 자궁 경부암, 흉선암, 원인불명의 암. 상기 암은 또한 림프종 또는 백혈병일 수 있다.
- [0041] 본 발명의 일곱번째 양태에서, 본 발명은 실질적으로 부분 입체 이성질체로 순수한 형태로 젬시타빈-[페닐-벤족시-L-알라닌일)]-(S)-포스페이트의 최소한 하나의 부분 입체 이성질체 제공 방법을 제공하고, 상기 방법은 하기 단계들을 포함한다:
- [0042] 젬시타빈-[페닐-벤족시-L-알라닌일)]-(S)-포스페이트(3) 및 젬시타빈-[페닐-벤족시-L-알라닌일)]-(R)-포스페이트(4)의 혼합물을 수득하는 단계;
- [0043] 상기 혼합물을 분리 기술에 적용하는 단계; 및
- [0044] 일단 분리(separation)되면, 실질적으로 부분 입체 이성질체로 순수한 형태로 젬시타빈-[페닐-벤족시-L-알라닌일)]-(R)-포스페이트(4) 및/또는 젬시타빈-[페닐-벤족시-L-알라닌일)]-(S)-포스페이트(3)를 격리(isolate)하는 단계.
- [0045] 본 발명의 여덟번째 양태에서, 본 발명은 실질적으로 부분 입체 이성질체로 순수한 형태로 최소한 하나의 젬시타빈-[페닐-벤족시-L-알라닌일)]-(S)-포스페이트의 부분 입체 이성질체 제공 방법을 제공한다:
- [0046] 3'-보호된 젬시타빈-[페닐-벤족시-L-알라닌일)]-(S)-포스페이트(3) 및 3'-보호된 젬시타빈-[페닐-벤족시-L-알라닌일)]-(R)-포스페이트(4)의 혼합물을 수득하는 단계;
- [0047] 상기 혼합물을 분리 기술에 적용하는 단계;
- [0048] 일단 분리(separation)되면, 실질적으로 부분 입체 이성질체로 순수한 형태로 3'-보호된 젬시타빈-[페닐-벤족시-L-알라닌일)]-(R)-포스페이트(4) 및/또는 3'-보호된 젬시타빈-[페닐-벤족시-L-알라닌일)]-(S)-포스페이트(3)를 격리(isolate)하는 단계;
- [0049] 실질적으로 부분 입체 이성질체로 순수한 형태로 젬시타빈-[페닐-벤족시-L-알라닌일)]-(R)-포스페이트(4) 및/또는 젬시타빈-[페닐-벤족시-L-알라닌일)]-(S)-포스페이트(3)를 제공하기 위해, 상기 분리된 부분 입체 이성질체의 하나 또는 둘 모두로부터 상기 3'-보호 작용기를 제거하는 단계.
- [0050] 3'-보호된 젬시타빈-[페닐-벤족시-L-알라닌일)]-(S)-포스페이트는 3'-히드록시 작용기가 히드록시 보호 작용기인 것을 특징으로 하는 젬시타빈-[페닐-벤족시-L-알라닌일)]-(S)-포스페이트의 유도체이다. 상기 해당 보호 작용기는 깨끗하게 제거될 수 있어야 한다. 예시적인 보호 작용기는 TFA, HF, 플루오로실릭산 및 테트라부틸암모늄 플루오라이드로부터 선택되는 시약을 사용하여 제거될 수 있는 경우의, 실일 보호 작용기(예, tert-부틸디메틸실일 및 트리에틸실일)이다. 대안적인 보호 작용기는 브린스테드산(예, TFA) 또는 루이스산(예, ZnBr₂)을 사용하여 제거

(NUC-1031; 2)를 제공한다.

[0061] 본 발명은 인(phosphorus)에서 단일 부분 입체 이성질체로 켐시타빈-[페닐-(벤족시-L-알라닌일)]-포스페이트(NUC-1031; 2)를 제공한다.

도면의 간단한 설명

[0062] 본 발명의 실시예는 본 명세서에 첨부된 도면을 참조하여 이하에서 더 설명되고, 상기 도면은:

도 1은 Chiralpak AD 컬럼 및 n-헵탄/IPA 구배 용매 시스템을 사용한 HPLC에 의한 화합물 3 및 4의 분리를 위한 크로마토그래피를 도시한다.

도 2는 x-선 회절에 의해 결정된 화합물 4의 구조를 나타낸다.

도 3은 x-선 회절에 의해 결정된 화합물 3의 구조를 나타낸다.

도 4는 HP-β-CD를 1:2:3 몰비로 첨가한 후, NUC-1031 이성체 혼합물(3.12 mM)의 ³¹P-NMR 스펙트럼(202 MHz, D₂O)을 나타낸다.

도 5는 HP-β-CD를 1:2:3의 몰비로 첨가한 후 H₂O 중의(B), MeOH(A) 중의 NUC-1031(3.12 mM)의 HPLC 흔적을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0063] 본 명세서 전반에 걸쳐, 용어 S-에피머 또는 S-부분 입체 이성질체는 켐시타빈-[페닐-(벤족시-L-알라닌일)]-(S)-포스페이트를 말한다. 마찬가지로, 본 명세서 전반에 걸쳐, 용어 R-에피머 또는 R-부분 입체 이성질체는 켐시타빈-[페닐-(벤족시-L-알라닌일)]-(R)-포스페이트를 말한다.

[0064] 본 발명의 상기 화합물은 인체의 치료에 사용될 수 있다. 상기 화합물은 동물 신체의 치료에 사용될 수 있다. 특히, 본 발명의 화합물은 통상적인 동물, 예를 들어 가축을 치료하는데 사용될 수 있다. 대안적으로, 본 발명의 화합물은 반려동물, 예를 들어 고양이, 개 등을 치료하는데 사용될 수 있다.

[0065] 본 발명의 상기 화합물은 약학적으로 허용 가능한 염의 형태로 수득될 수 있고, 저장될 수 있고 및/또는 투여될 수 있다. 적합한 약학적으로 허용 가능한 염은, 이에 제한되지는 않으나, 약학적으로 허용 가능한 무기산, 예를 들어 염산, 황산, 인산, 질산, 탄산, 보론산, 설파산, 및 브롬화 수소산의 염, 또는 약학적으로 허용 가능한 유기산, 예를 들어 아세트산, 프로피온산, 부티르산, 타르타르산, 말레산, 히드록시말레산, 푸마르산, 말산, 구연산, 유산, 점액산, 글루코산, 벤조산, 숙신산, 옥살산, 페닐아세트산, 메탄설폰산, 톨루엔설폰산, 벤젠설폰산, 살리실산, 설파닐산, 아스파라긴산, 글루타민산, 에데트산, 스테아릭산, 팔미트산, 올레산, 라우르산, 판토텐산, 탄닌산, 아스코르브산, 및 발레르산의 염을 포함한다. 적합한 염기 염은 비-독성 염을 형성하는 염기로부터 형성된다. 예로는, 알루미늄, 아르기닌, 벤자딘, 칼슘, 콜린, 디에틸아민, 디올아민, 글라이신, 리신, 마그네슘, 메글루민, 올라민, 포타슘, 소듐, 트로메타민 및 아연의 염들이 있다. 산 및 염기의 헤미염(Hemisalts) 또한 형성될 수 있는데, 예를 들어 헤미설파이트, 헤미옥살레이트 및 헤미칼슘 염이 형성될 수 있다. 특정 실시예에서, 특히 S-에피머에 적용되는 것들에서, 상기 화합물은 HCl 염의 형태 또는 헤미옥살레이트 염의 형태이다.

[0066] 본 발명의 화합물은 단결정 형태 또는 결정 형태의 혼합물 형태로 존재할 수 있거나 비정질 형태 일 수 있다. 따라서, 약학적 용도로 의도된 본 발명의 화합물은 결정질 또는 비정질 제제로서 투여될 수 있다. 이들은 예를 들어 침전, 결정화, 동결 건조 또는 분무 건조 또는 증발 건조와 같은 방법에 의해 고체 플러그, 분말 또는 필름으로서 수득 될 수 있다. 마이크로파 또는 라디오 주파수 건조가 상기 목적으로 사용될 수 있다.

[0067] 본 발명의 상술된 화합물에 있어서, 투여량은, 물론, 사용되는 화합물, 투여의 정확한 모드, 목적하는 치료 및 대상이 되는 장애에 따라 다양할 것이다. 예를 들어, 본 발명의 상기 화합물이 비경구적으로 투여되는 경우, 본 발명의 화합물의 투여량은 0.1 내지 5 g/m², 예를 들어 0.5 내지 2 g/m²의 범위일 수 있다. 본 발명의 화합물의 치료 목적을 위한 투여량의 크기는 잘 알려진 의학의 공지된 원리에 따라 질환의 성질 및 심각도, 동물 또는 환자의 연령 및 성별 및 투여 경로에 따라 자연적으로 다양할 것이다.

[0068] 본 발명의 화합물의 투여 수준, 투여 빈도, 및 치료 기간은 제제 및 임상적 적응증, 나이, 및 환자의 합병 의학 적 상태에 따라 달라질 것으로 예상된다.

- [0069] 본 발명의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염은 이들 자체로 사용되거나, 일반적으로 약학적 조성물의 형태로 투여될 것이고, 상기 조성물에서 본 발명의 상기 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염은 약학적으로 허용 가능한 보조제, 희석제 또는 담체와 연합된다. 적합한 약학적 제제의 제조 및 선택에 대한 통상적인 절차는, 예를 들어 "Pharmaceuticals - The Science of Dosage Form Designs", M. E. Aulton, Churchill Livingstone, 1988에 설명되어 있다.
- [0070] 본 발명의 화합물의 투여 방식에 따라, 본 발명의 화합물을 투여하기 위해 사용되는 약학적 조성물은 바람직하게는 본 발명의 화합물 0.05 내지 99 중량%, 보다 바람직하게는 본 발명의 화합물 0.05 내지 80 중량%, 더욱더 바람직하게는 본 발명의 화합물 0.10 내지 70 중량% 및 더 바람직하게는 0.10 내지 50 중량%의 본 발명의 화합물을 포함하며, 모든 백분율은 전체 조성물을 기초한 중량으로 한다.
- [0071] 경구 투여에 있어서, 본 발명의 상기 화합물은 보조제 또는 담체, 예를 들어 상기 보조제 또는 담체는 락토스, 사카로스, 소르비톨, 만니톨; 전분, 예를 들어, 감자 전분, 옥수수 전분 또는 아밀로펙틴; 셀룰로오스 유도체; 결합제, 예를 들어 젤라틴 또는 폴리비닐피롤리돈; 및/또는 윤활제, 예를 들어 마그네슘 스테아레이트, 칼슘 스테아레이트, 폴리에틸렌 글리콜, 왁스, 파라핀, 등과 상기 활성 화합물을 혼합하여 포함하고, 이어 정제로 압축할 수 있다. 만약 코팅된 정제가 요구되는 경우, 상술된 바와 같이 제조된 코어(중심)는 예를 들어, 아라비아검, 젤라틴, 활석 및 이산화 티탄을 함유할 수 있는 농축된 당 용액으로 코팅될 수 있다. 대안적으로는, 상기 정제는 용이하게 휘발성인 유기 용매에 용해된 적합한 중합체로 코팅될 수 있다.
- [0072] 연질 젤라틴 캡슐의 제조를 위해, 본 발명의 화합물은 예를 들어 식물성 오일 또는 폴리에틸렌 글리콜과 혼합될 수 있다. 경질 젤라틴 캡슐은 상기 언급된 정제용 부형제 중 하나를 사용하여 화합물의 과립을 함유할 수 있다. 또한, 본 발명의 화합물의 액체 또는 반고체 제형은 경질 젤라틴 캡슐에 충전될 수 있다.
- [0073] 경구 투여용 액체 제제는 시럽 또는 현탁액, 예를 들어 본 발명의 화합물을 함유하는 용액 형태일 수 있으며, 나머지는 당 및 에탄올, 물, 글리세롤 및 프로필렌 글리콜의 혼합물이다. 임의로, 상기 액체 제제는 증점제로서의 착색제, 향료, 감미제(예 : 사카린), 방부제 및/또는 카르복시메틸셀룰로오스 또는 당알파에게 공지된 다른 부형제를 함유 할 수 있다.
- [0074] 비경구(예: 정맥 내) 투여의 경우, 본 발명의 화합물은 멸균 수성 또는 유성 용액으로서 투여될 수 있다. 상기 본 발명의 화합물은 매우 친유성이다. 따라서 수성 제제는 전형적으로 약학적으로 허용 가능한 극성 유기 용매를 또한 함유할 것이다.
- [0075] 사이클로덱스트린은 약물 전달에서 널리 응용되고 있다(Rasheed et al, Sci. Pharm., 2008, 76, 567-598). 사이클로덱스트린은 환형 올리고당 계열이다. 그들은 약물 분자를 캡슐화하고 용해성과 같은 약물 분자의 특성을 변화시키는 '분자 케이지(molecular cage)'의 역할을 한다. 사이클로덱스트린은 (α -1,4)-결합된 α -D-글루코피라노스 단위체를 포함한다. 사이클로덱스트린은 6, 7 또는 8 글루코피라노스 단위체(각각 α -, β - 및 γ -사이클로덱스트린으로 표시됨)를 함유할 수 있다. 약학 제제에 사용되는 사이클로덱스트린은 종종 β -사이클로덱스트린이다. 펜던트 하이드록실 작용기는 C_1 - C_6 치환 또는 비치환 알킬 작용기로 알킬화될 수 있다. 사이클로덱스트린의 예로는 α -사이클로덱스트린, β -사이클로덱스트린, γ -사이클로덱스트린, 2-히드록시프로필- β -사이클로덱스트린(HP- β -CD), 설포부틸에테르 β -사이클로덱스트린 소듐염, 부분 메틸화 β -사이클로덱스트린 등이 있다.
- [0076] 본 발명의 화합물의 치료 목적을 위한 투여량의 크기는 잘 알려진 의학의 공지된 원리에 따라 질환의 성질 및 심각도, 동물 또는 환자의 연령 및 성별 및 투여 경로에 따라 자연적으로 달라질 것이다.
- [0077] 본 발명의 화합물의 투여량 수준, 투여 빈도 및 치료 기간은 환자의 제제 및 임상 적 적응증, 연령 및 병적 상태에 따라 다를 것으로 예상된다.
- [0078] 본 발명은 또한 화합물 3 또는 4의 모든 약학적으로 허용 가능한 동위 원소-표지된 형태의 제제를 포함하며, 여기서 하나 이상의 원자는 동일한 원자 번호를 가지나, 주로 자연에서 발견되는 우세한 동위 원소의 원자 질량 또는 질량수와 다른 원자 질량 또는 질량수를 갖는 원자로 대체된다.
- [0079] 본 발명의 화합물에 포함되는 적합한 동위 원소의 예로는 ^2H 및 ^3H 와 같은 수소 동위 원소, ^{11}C , ^{13}C 및 ^{14}C 와 같은 탄소, ^{36}Cl 와 같은 염소, ^{18}F 와 같은 불소, ^{123}I 및 ^{125}I 와 같은 요오드, ^{13}N 및 ^{15}N 과 같은 질소, ^{15}O , ^{17}O 및 ^{18}O 와 같은 산소, ^{32}P 와 같은 인 및 ^{35}S 와 같은 황을 포함한다.

- [0080] 특정 동위 원소 - 표지된 화합물, 예를 들어 방사성 동위 원소를 포함하는 화합물은 약물 및/또는 기질 조직 분포 연구에 유용하다. 방사성 동위 원소인 삼중수소, 즉 ^3H 및 탄소-14, 즉 ^{14}C 는 이들의 혼입의 용이성 및 검출 수단의 관점에서 상기 목적에 특히 유용하다.
- [0081] 중수소, 즉 ^2H 와 같은 더 무거운 동위 원소로 치환함으로써, 보다 큰 대사 안정성, 예를 들어 증가된 생체 내 반감기 또는 감소된 투여량 요구로 인한 특정 치료 이점을 제공할 수 있으며, 따라서 일부 상황에서는 바람직할 수 있다.
- [0082] ^{11}C , ^{18}F , ^{15}O 및 ^{13}N 과 같은 양전자 방출 동위 원소로 대체하면 기질 수용체 점유를 검사하는 양전자 방출 지형 (PET) 연구에 유용할 수 있다.
- [0083] 동위 원소-표지된 화합물은 일반적으로 당 업계의 숙련자에게 공지된 통상의 기술에 의해 또는 이전에 사용된 비 표지 시약 대신에 적절한 동위 원소-표지된 시약을 사용하여 기술된 것과 유사한 방법에 의해 제조될 수 있다.
- [0084] 암, 림프종 또는 백혈병의 치료에 사용하기 위한 치료 방법 또는 제제는 본 발명의 제제 이외에 통상적인 수술 또는 방사선 요법 또는 화학 요법을 포함할 수 있다. 이러한 화학 요법은 하나 이상의 다른 활성제의 투여를 포함할 수 있다.
- [0085] 추가 활성제가 본 발명의 치료 방법의 일부로서 투여되는 경우, 이러한 조합 치료는 치료의 개별 성분의 동시, 순차 또는 개별 투여에 의해 달성될 수 있다. 이러한 조합 제제는 본원에 기재된 치료적 유효 투여량 범위로 본 발명의 화합물 및 하나 이상의 다른 약학적 활성 제제를 그것의 승인된 투여량 범위 내에서 사용한다.
- [0086] 따라서, 본 발명의 약학 제제는 또 다른 활성제를 포함할 수 있다.
- [0087] 상기 하나 이상의 다른 활성제는 항종양제의 하기 카테고리 중 하나 이상일 수 있다:
- [0088] (i) 알킬화제(예: 사이클로포스파미드, 질소 머스타드, 벤다미스틴, 멜팔란, 클로람부실, 부설판, 테모졸라미드 및 니트로소우레아)와 같은 항증식성/항종양 약제 및 이들의 조합; 항대사제(예를 들어, 젬시타빈 및 항불안제, 예컨대 5-플루오로우라실 및 테가푸르, 알티트렉스, 메토틱세이트, 페메트렉시드, 시토신 아라비노시드 및 히드록시우레아); 항생제(예: 아드리아마이신(adriamycin), 블레오마이신(bleomycin), 도소루비신(doxorubicin), 다우노마이신(daunomycin), 에피루비신(epirubicin), 이다루비신(idarubicin), 미토마이신-C(mitomycin-C), 닥티노마이신(dactinomycin) 및 미쓰라마이신(mithramycin)과 같은 안트라사이클린); 항진균제(예를 들어, 빈크리스틴(vincristine), 빈블라스틴(vinblastine), 빈데신(vindesine), 빈오렐빈(vinorelbine)과 같은 빈카 알칼로이드(vinca alkaloids), 탁솔(taxol), 탁소텔(taxotere) 및 폴로키나제(polokinas) 억제제 같은 탁소이드(taxoids)); 프로테아좀 저해제, 예를 들어 카필조미(carfilzomib) 및 보르테조 미(bortezomib); 인터페론 요법; 및 국소이성화효소 억제제(topoisomerase inhibitor) (예: 에토포시드 및 테니포시드와 같은 에피도필로톡신, 암사크린, 토포테칸, 미톡산트론 및 캄프토테신);
- [0089] (ii) 항에스트로겐과 같은 세포 증식 억제제(예를 들어 타목시펜, 퓌베스트랑, 토레미펜, 드록시펜(droloxifene) 및 요오드옥시펜(iodoxyfene), 항안드로젠(예, 비칼루타미드, 플루타미드, 닐루타미드 및 사이프로테론 아세테이트), LHRH 작용제 또는 LHRH 길항제(예를 들어, 고세렐린(goserelin), 루프로레린(leuporelin) 및 부세렐린(buserelin), 프로게스토겐(예, 메게스트롤 아세테이트), 방향화효소 억제제(예, 아나스트로졸, 레트로졸, 보라졸 및 엑세메스탄) 및 피나스테라이드와 같은 5 α -환원효소;
- [0090] (iii) 항-침입 제제, 예컨대 다사티닙 및 보스티닙(SK1-606) 및 메탈로프로티아제 억제제, 유로키나아제 플라스미노젠 활성제 수용체 기능의 억제제 또는 헤파라나제에 대한 항체;
- [0091] (iv) 성장 억제 인자 기능 억제제 : 예를 들어 항-erbB2 항체 트라스투주맙 [허셉틴(HerceptinTM)], 항-EGFR 항체인 파니투무맙(panitumumab), 항-erbB1 항체 세투시맙(cetuximab), 티로신 키나아제 억제제, 예를 들어 표피 성장 인자 패밀리의 억제제(예를 들어, 게피티닙, 에를로티닙 및 6-아크릴아미도-N-(3-클로로-4-플루오로 페닐)-7-(3-모르폴리노프로폭시)-퀴나졸린-4-아민(C1 1033)과 같은 EGFR 계열 티로신 키나제 억제제, erbB2 티로신 키나아제 억제제, 예를 들어 라파티닙); 표피 세포 성장 인자 계열의 억제제; 인슐린 성장 인자 패밀리의 억제제; 세포 사멸의 단백질 조절자 조절제(예: Bcl-2 억제제); 이마티닙 및/또는 닐로티닙(nilotinib (AMN107))와 같은 혈소판 유래 성장 인자 계열의 억제제; 세린/트레오닌 키나아제 억제제(예를 들어, 소라페닙(sorafenib), 티피파닙(tipifarnib) 및 로나파닙(lonafarnib)과 같은 Ras/Raf 신호 전달 억제제), MEK 및/또는

AKT 키나아제를 통한 세포 신호 전달의 억제제, c-kit 억제제, abl 키나제 억제제, PI3 키나아제 저해제, Plt3 키나제 억제제, CSF-1R 키나아제 저해제, IGF 수용체, 키나제 저해제; 오로라 키나제 억제제 및 CDK2 및/또는 CDK4 억제제와 같은 사이클린 의존성 키나아제 억제제;

- [0092] (v) 혈관 내피 성장 인자의 효과를 억제하는 것과 같은 항혈관형성제 [예를 들어 항혈관 내피세포 성장 인자 항체인 베바시주맵 (AvastinTM); 탈리도마이드; 레날리도마이드; 예를 들어, 반데타닙(vandetanib), 바타라닙(vatalanib), 서니티닙(sunitinib), 악시티닙(axitinib) 및 파조파닙(pazopanib)과 같은 VEGF 수용체 티로신 키나아제 억제제;
- [0093] (vi) 예를 들어 비정상적인 p53 또는 이상 BRCA1 또는 BRCA2와 같은 이상 유전자를 대체하는 접근법을 포함하는 유전자 치료 접근법;
- [0094] (vii) 예를 들어 알레무투주맵, 리톡시맵, 이브리튜모맵 티우세탄(ibritumomab tiuxetan, (Zevalin®)) 및 오아투뮤맵을 포함하는 면역 요법; 인터페론 α와 같은 인터페론; 인터루킨, 예컨대 IL-2(알테스루이킨); 인터루킨 억제제, 예를 들어 IRAK4 억제제; 예를 들어 가르다실(Gardasil), 세르바릭스(Cervarix), 온코파지(Oncophage) 및 시플루셀-T(프로베니지)와 같은 HPV 백신과 같은 예방 및 치료 백신을 포함한 암 백신; 및 예를 들어 TLR-7 또는 TLR-9 작용제와 같은 toll 유사 수용체 조절제;
- [0095] (viii) 플루다리빈(fludaribine, fludara), 클라드리빈(cladribine), 펜토스타틴(pentostatin, (NipentTM))과 같은 세포 독성 제제;
- [0096] (ix) 스테로이드 예를 들어, 글루코코르티코이드 및 미네랄로코르티코이드를 포함하는 코르티코스테로이드, 예, 아크로메타손, 아크로메타손 디프로피오네이트, 알도스테론, 베타메타손 디프로피오네이트, 베타메타손 소듐 포스페이트, 베타메타손 발러레이트, 부데소나이드, 클로베타손, 클로베타손 부티레이트, 클로베타솔 프로피오네이트, 클로프레드놀, 코르티손, 코르티손 아세테이트, 코르티바졸, 이옥시코르톤, 데소나이드, 데속시메타손, 텍사메타손, 텍사메타손 소듐 포스페이트, 텍사메타손 이소니코티네이트, 디플루오로코르톨론, 플루크솔론, 플루메타손, 플루니솔리드, 플루오시놀론, 플루오시놀론 아세토나이드, 플루오시노나이드, 플루코르틴 부틸, 플루오로코르티손, 플루오로코르톨론, 플루코르톨론 카프로에이트, 플루코르톨론 피발레이트, 플루오로메톨론, 플루프레드니텐, 플루프레드니텐 아세테이트, 플루란드레놀론, 플루티카손, 플루티카손 프로피오네이트, 할시노나이드, 하이드로코르티손, 하이드로코르티손 아세테이트, 하이드로코르티손 부티레이트, 하이드로코르티손 아세포네이트, 하이드로코르티손 부티레이트, 하이드로코르티손 발러레이트, 이코메타손 엔부테이트, 메프레드니손, 메틸프레드니솔론, 모메타손 파라메타손, 모메타손 프로에이트 모노하이드레이트, 프레드니카베이트, 프레드니솔론, 프레드니손, 텍소코르톨, 텍소코르톨 피발레이트, 트리암시놀론, 트리암시놀론 아세토나이드, 트리암시놀론 알코올 및 상기의 각각의 약학적으로 허용 가능한 유도체. 스테로이드의 조합이 사용될 수 있고, 예를 들어 본 단락에서 언급된 둘 또는 그 이상의 스테로이드의 조합일 수 있고;
- [0097] (x) 표적 치료, 예를 들어, 이데라리십 및 페리포신과 같은 PI3Kd 억제제; 또는 PD-1, PD-L1 및 CAR T를 억제하는 화합물을 포함한다.
- [0098] 상기 하나 이상의 다른 활성제는 또한 항생제일 수 있다.
- [0099] 본 명세서의 상세한 설명 및 청구 범위에서, "포함한다" 및 "포함하다"라는 단어 및 그 변형은 "포함하지만 이에 국한되지 않음"을 의미하며, 다른 모이어티, 첨가제, 성분, 정수 또는 단계를 배제시키려는 의도는 아니다. 본 명세서의 설명 및 청구 범위 전반에 걸쳐, 단수는 문맥상 달리 요구되지 않는 한 복수를 포함한다. 특히, 부정사가 사용되는 경우, 명세가 달리 요구하지 않는 한, 명세는 복수형 및 특이성을 고려하는 것으로 이해되어야 한다.
- [0100] 본 발명의 특정 양상, 실시 양태 또는 실시예와 관련하여 기술된 특징, 정수, 특성, 화합물, 화학적 잔기 또는 그룹은 이들과 양립할 수 없다면 본원에 기재된 임의의 다른 양상, 실시 양태 또는 실시예에 적용 가능한 것으로 이해되어야 한다. 첨부된 청구 범위, 요약 및 도면을 포함하여, 본 명세서에 개시된 모든 특징 및/또는 개시된 임의의 방법 또는 프로세스의 모든 단계는 임의의 조합으로 조합될 수 있지만, 그러한 특징 중 적어도 일부 및/또는 단계들은 상호 배타적이다. 본 발명은 임의의 전술 한 실시 예들의 세부 사항에 제한되지 않는다. 본 발명은 본 명세서(임의의 수반하는 청구 범위, 요약 및 도면을 포함함), 또는 임의의 방법 또는 프로세스의 임의의 신규한 또는 임의의 새로운 조합에 개시된 특징의 임의의 신규한 것 또는 임의의 신규한 조합으로 확장되고, 그렇게 공개된다.
- [0101] 독자의 주의는 이 출원과 관련하여 이 명세서와 동시에 또는 이전에 제출되고 이 명세서에 공개되어 공개된 모

든 논문 및 문서에 관한 것이고, 그러한 모든 논문 및 문서의 내용은 참조로 본원에 통합된다.

[0102] 다음 약어가 본 명세서에서 사용된다:

[0103] DMF - N, N-디메틸포름아미드

[0104] DMSO - 디메틸설폭사이드

[0105] IPA - 이소프로필알코올

[0106] NMP - N-메틸피롤리돈

[0107] PEG - 폴리에틸렌글리콜

[0108] TBDMS - tert-부틸디메틸실일

[0109] TFA - 트리플루오로아세트산

[0110] 실시예 1

[0111] 상기 (R) 및 (S) 이성질체를 하기 조건하에서 HPLC로 분리하였다:

[0112] 장비 : DAD 검출기가있는 Agilent 1200TM 시리즈

[0113] 유속 : 1.0 mL/min

[0114] 칼럼 : Chiralpak ADTM; 250 x 4.6 mm ID (정상 위상)

[0115] 온도 : 주변 온도

[0116] 입자 크기 : 20 μ m

[0117] 공급 물 : MeOH에 용해; 10 g/L

[0118] 용매 : n-헵탄 / IPA 10 -> 50 % IPA

[0119] 본 크로마토그램을 도 1에 나타내었다. 상기 (S)-에피머는 8.6 분에 용리되고, 상기 (R)-에피머는 10.3 분에 용리되었다.

[0120] **특성분석 방법 및 재료:** 25°C에서 Bruker Avance 500 분광기로 수소(^1H), 탄소(^{13}C), 인(^{31}P) 및 불소(^{19}F) NMR 스펙트럼을 기록했습니다. 스펙트럼은 중수소화 된 용매 피크에 대해 자동 보정되었고, 모든 ^{13}C NMR 및 ^{31}P NMR 은 양성자-디커플링 되었다. 최종 화합물의 순도는 Varian Polaris C18-A (10 μ M)를 H₂O/MeOH의 구배 용출로 분석 컬럼으로 사용하여 HPLC 분석에서 > 100%에서 0/100까지 35분 동안 > 95%인 것으로 확인되었다. HPLC 분석은 Varian Prostar(LC Workstation-Varian prostar 335 LC 검출기)에 의해 수행되었다.

[0121] 2'-디옥시-2',2'-디플루오로-D-시티딘-5'-O-[페닐(벤질옥시-L-알라닌일)]-(S)-포스페이트 3

[0122] (ES+) m/z, found: (M + Na⁺) 603.14. C₂₅H₂₇F₂N₄O₈NaP required: (M⁺) 580.47.

[0123] ^{31}P NMR (202 MHz, MeOD): δ_{P} 3.66

[0124] ^1H NMR (500 MHz, MeOD): δ_{H} 7.58 (d, J = 7.5 Hz, 1H, H-6), 7.38-7.32 (m, 7H, ArH), 7.26-7.20 (m, 3H, ArH), 6.24 (t, J = 7.5 Hz, 1H, H-V), 5.84 (d, J = 7.5 Hz, 1H, H-5), 5.20 (AB system, JAB = 12.0 Hz, 2H, OCH₂Ph), 4.46-4.43 (m, 1H, H-5'), 4.36-4.31 (m, 1H, H-5'), 4.25-4.19 (m, 1H, H-3'), 4.07-4.00 (m, 2H, H-4', CHCH₃), 1.38 (d, J = 7.2 Hz, 3H, CHCH₃).

[0125] ^{19}F NMR (470 MHz, MeOD): δ_{F} - 118.0 (d, J = 241 Hz, F), - 120.24 (broad d, J = 241 Hz, F).

[0126] ^{13}C NMR (125 MHz, MeOD): δ_{C} 174.61 (d, $^3\text{J}_{\text{C-P}}$ =5.0 Hz, C=O, 에스테르), 167.63 (C-NH₂), 157.74 (C=O base), 152.10 (d, $^2\text{J}_{\text{C-P}}$ =7.0 Hz, C-Ar), 142.40 (CH-base), 137.22 (C-Ar), 130.90, 129.63, 129.39, 129.32, 126.32

(CH-Ar), 124.51 (d, $^1J_{C-F}=257$ Hz, CF₂), 121.47, 121.43 (CH-Ar), 96.67 (CH-base), 85.92 (broad signal, C-1'), 80.31 (C-4'), 71.27 (apparent t, $^2J_{C-F}=23.7$ Hz, C-3'), 68.03 (OCH₂Ph), 65.73 (d, $^2J_{C-P}=5.30$ Hz, C-5'), 51.66 (CHCH₃), 20.42 (d, $^3J_{C-P}=6.25$ Hz, CHCH₃).

[0127] 35분 동안 100/0 내지 0/100의 H₂O / MeOH로 용리한 역 HPLC는 t_R = 22.53 분을 갖는 부분 입체 이성질체의 하나의 피크를 나타냈다.

[0128] **2'-디옥시-2',2'-디플루오로-D-시티딘-5'-O-[페닐(벤질옥시-L-알라닌일)]-(R)-포스페이트 4.**

[0129] (ES+) m/F found: (M+Na⁺) 603.14. C₂₅H₂₇F₂N₄O₈NaP required: (M⁺) 580.47.

[0130] ³¹P NMR (202 MHz, MeOD): δ_p 3.83

[0131] ¹H NMR (500 MHz, MeOD): δ_H 7.56 (d, J = 7.5 Hz, 1H, H-6), 7.38 - 7.31 (m, 7H, ArH), 7.23 - 7.19 (m, 3H, ArH), 6.26 (t, J = 7.5 Hz, 1H, H-1'), 5.88 (d, J = 7.5 Hz, 1H, H-5), 5.20 (s, 2H, OCH₂Ph), 4.49 - 4.46 (m, 1H, H-5'), 4.38 - 4.34 (m, 1H, H-5'), 4.23 - 4.17 (m, 1H, H-3'), 4.07 - 4.01 (m, 2H, H-4', CHCH₃), 1.38 (d, J = 7.2 Hz, 3H, CHCH₃).

[0132] ¹⁹F NMR (470 MHz, MeOD): δ_F - 118.3 (d, J = 241 Hz, F), - 120.38 (broad d, J = 241 Hz, F).

[0133] ¹³C NMR (125 MHz, MeOD): δ_C 174.65(d, $^3J_{C-P}$ = 5.0 Hz, C=O, ester), 167.65 (C-NH₂), 157.75 (C=O base), 152.10 (d, $^2J_{C-P}$ = 7.0 Hz, C-Ar), 142.28 (CH-base), 137.50 (C-Ar), 130.86, 129.63, 129.40, 129.32, 126.31 (CH-Ar), 124.50 (d, $^1J_{C-F}$ = 257 Hz, CF₂), 121.44, 121.40 (CH-Ar), 96.67 (CH-base), 85.90 (broad signal, C-1'), 80.27 (C-4'), 71.30 (apparent t, 2JC - F = 23.7 Hz, C-3'), 68.02 (OCH₂Ph), 65.50 (C-5'), 51.83 (CHCH₃), 20.22 (d, $^3J_{C-P}$ = 7.5 Hz, CHCH₃).

[0134] 35 분 동안 100/0 내지 0/100의 H₂O / MeOH로 용리한 역 HPLC는 t_R = 21.87 분을 갖는 부분 입체 이성질체의 하나의 피크를 나타내었다.

[0135] 두 가지 이성질체에 대해서도 X-선 회절 데이터를 얻었고 그 결과 이미지를 도 2 및 3에 나타내었다. 상응하는 회절 데이터 및 방법은 하기 표 1 내지 4에 제공된다.

[0136] **표 1. (R)-에피머(4)에 대한 결정 데이터 및 구조 정제.**

[0137] 식별 코드 shelx

[0138] 실험식 C₂₅H₂₇F₂N₄O₈P

[0139] 화학식 무게 580.47

[0140] 온도 296(2) K

[0141] 파장 1.54184 Å

[0142] 결정계 단사정계(Monoclinic)

[0143] 공간군 C 2

[0144] 단위 셀 치수 a = 19.2280(3) Å α = 90° .

[0145] b = 10.22330(10) Å β = 97.966(2)° .

[0146] c = 13.6911(2) Å γ = 90° .

[0147]	부피 2665.34(6) Å ³
[0148]	Z 4
[0149]	밀도(계산) 1.447 Mg/m ³
[0150]	흡수 계수 1.541 mm ⁻¹
[0151]	F(000) 1208
[0152]	결정 크기 0.584 x 0.095 x 0.051 mm ³
[0153]	데이터 수집을 위한 세타 범위 3.259 내지 73.477° .
[0154]	인덱스 범위 -23<=h<=23, -12<=k<=12, -17<=l<=13
[0155]	반사 수집 9684
[0156]	독립 반사 5150[R(int) = 0.0239]
[0157]	세타에 대한 완전성 = 67.684° 99.9%
[0158]	당량 세미 실험 흡수 보정
[0159]	최대. 및 최소. 방출 1.00000 및 0.61719
[0160]	정제 방법 F ² 에 대한 전체 행렬 최소 제곱
[0161]	데이터/제한자/매개변수 5150/549/437
[0162]	F ² 의 적합성 1.065
[0163]	최종 R 인덱스 [I> 2시그마(I)] R1 = 0.0646, wR2 = 0.1759
[0164]	R 인덱스 (모든 데이터) R1 = 0.0681, wR2 = 0.1793
[0165]	절대 구조 매개 변수 0.039(10)
[0166]	흡광 계수 n/a
[0168]	픽 및 홀의 가장 큰 차이. 0.477 및 -0.917 e.Å ⁻³
[0169]	표 2. (R)-에피머(4)에 대한 원자 배위(x 10⁴) 및 등방성 변위 매개 변수(Å² x 10³).
[0170]	U (eq)는 직교화된 U ^{ij} 텐서의 궤적의 1/3로 정의된다.
[0171]	x y z U(eq)
[0172]	N(1) 746(2) 9565(4) 4120(3) 35(1)
[0173]	C(1) 1373(2) 10267(5) 4426(4) 40(1)
[0174]	C(2) 779(3) 12200(5) 4030(4) 40(1)
[0175]	C(3) 131(3) 11526(5) 3717(4) 45(1)
[0176]	C(4) 141(3) 10216(5) 3785(4) 39(1)
[0177]	C(5) 723(2) 8163(4) 4257(4) 33(1)
[0178]	C(6) 1301(2) 6686(5) 5412(3) 34(1)
[0179]	C(7) 1730(2) 6675(4) 4553(3) 33(1)
[0180]	C(8) 1228(3) 7319(5) 3735(4) 37(1)

[0181]	C(9) 1755(3) 6761(6) 6387(4) 43(1)
[0182]	C(10) 1727(3) 3180(6) 7861(5) 50(1)
[0183]	C(11) 1763(4) 2447(7) 7027(5) 61(2)
[0184]	C(12) 1751(4) 1097(8) 7088(7) 75(2)
[0185]	C(13) 1724(5) 533(8) 7970(9) 94(3)
[0186]	C(14) 1685(6) 1247(9) 8799(8) 97(3)
[0187]	C(15) 1693(5) 2625(8) 8758(6) 78(2)
[0188]	P(1) 1047(1) 5375(1) 7561(1) 43(1)
[0189]	F(1) 1535(2) 7981(3) 3064(2) 54(1)
[0190]	F(2) 828(2) 6372(3) 3227(2) 54(1)
[0191]	N(2) 792(3) 13496(4) 3968(4) 53(1)
[0192]	N(3) 1370(2) 11570(4) 4362(4) 44(1)
[0193]	O(1) 1897(2) 9608(4) 4734(4) 54(1)
[0194]	O(2) 868(2) 7849(4) 5276(3) 42(1)
[0195]	O(3) 1921(2) 5414(4) 4294(3) 42(1)
[0196]	O(4) 1354(2) 6700(4) 7211(3) 48(1)
[0197]	O(5) 1755(2) 4556(4) 7796(3) 51(1)
[0198]	O(6) 514(2) 4743(5) 6869(4) 63(1)
[0199]	N(4) 789(3) 5715(6) 8600(5) 69(1)
[0200]	O(7) 595(5) 5712(9) 10681(7) 76(1)
[0201]	O(8) 1614(5) 4778(9) 10851(7) 73(1)
[0202]	C(16) 1339(8) 6191(13) 9486(10) 72(1)
[0203]	C(17) 1345(8) 7650(14) 9611(10) 75(1)
[0204]	C(18) 1162(8) 5543(19) 10418(11) 73(1)
[0205]	C(19) 1420(3) 4227(5) 11796(4) 74(1)
[0206]	C(20) 1213(3) 2833(5) 11556(4) 74(1)
[0207]	C(21) 1737(3) 1889(5) 11701(4) 74(1)
[0208]	C(22) 1562(3) 570(5) 11626(4) 74(1)
[0209]	C(23) 863(3) 195(5) 11406(4) 73(1)
[0210]	C(24) 339(3) 1139(5) 11261(4) 74(1)
[0211]	C(25) 514(3) 2458(5) 11336(4) 74(1)
[0212]	N(4A) 789(3) 5715(6) 8600(5) 69(1)
[0213]	O(7A) 643(8) 6651(15) 10878(10) 71(1)
[0214]	O(8A) 1156(10) 4892(18) 10491(12) 73(1)
[0215]	C(16A) 1034(13) 6570(20) 9296(16) 72(1)
[0216]	C(17A) 797(12) 7900(20) 9187(16) 74(2)

[0217]	C(18A) 945(13) 6100(20) 10317(17) 72(1)
[0218]	C(19A) 974(5) 4324(9) 11444(7) 74(1)
[0219]	C(20A) 986(5) 2873(9) 11442(7) 74(1)
[0220]	C(21A) 1654(5) 2345(9) 11684(7) 74(1)
[0221]	C(22A) 1747(5) 996(9) 11687(7) 74(1)
[0222]	C(23A) 1172(5) 176(9) 11448(7) 74(1)
[0223]	C(24A) 504(5) 704(9) 11206(7) 74(1)
[0224]	C(25A) 411(5) 2052(9) 11203(7) 74(1)
[0225]	표 3. (S)-에피머(3)의 결정 데이터 및 구조 정제.
[0226]	식별 코드 shelx
[0227]	실험식 $C_{25.29}H_{26.44}F_2N_{4.14}O_8P$
[0228]	화학식 무게 585.44
[0229]	온도 293(2) K
[0230]	파장 1.54184 Å
[0231]	결정계 단사정계(Monoclinic)
[0232]	공간군 P 2 ₁
[0233]	단위 셀 치수 a = 11.3844(3) Å α = 90° .
[0234]	b = 34.8283(7) Å β = 111.282(4)° .
[0235]	c = 15.1260(6) Å γ = 90° .
[0236]	부피 5588.5(3) Å ³
[0237]	Z 8
[0238]	밀도(계산) 1.392 Mg/m ³
[0239]	흡수 계수 1.477 mm ⁻¹
[0240]	F(000) 2434
[0241]	결정 크기 0.249 x 0.072 x 0.042 mm ³
[0242]	데이터 수집을 위한 쉼타 범위 3.135 내지 73.481° .
[0243]	인덱스 범위 -13<=h<=12, -42<=k<=42, -17<=l<=18
[0244]	반사 수집 43816
[0245]	독립 반사 21792[R(int) = 0.0582]
[0246]	쉼타에 대한 완전성 = 67.684° 100.0%
[0247]	당량 세미 실험 흡수 보정
[0248]	최대. 및 최소. 방송 1.00000 및 0.62509
[0249]	정제 방법 F ² 에 대한 전체 행렬 최소 제곱
[0250]	데이터/제한자/매개변수 21792/2/1478

[0251]	F^2 의 적합성 1.022
[0252]	최종 R 인덱스 [$I > 2\sigma(I)$] $R_1 = 0.0628$, $wR_2 = 0.1597$
[0253]	R 인덱스 (모든 데이터) $R_1 = 0.0628$, $wR_2 = 0.1794$
[0254]	절대 구조 매개 변수 0.031(13)
[0255]	흡광 계수 n/a
[0256]	피크 및 홀의 가장 큰 차이. 0.513 및 $-0.413 \text{ e. \AA}^{-3}$
[0257]	표 4. (S)-에피머(3)에 대한 원자 배위(x 104) 및 등방성 변위 파라미터 ($\text{\AA}^2 \times 10^3$).
[0258]	U (eq)는 직교화된 U^{ij} 텐서의 궤적의 1/3로 정의된다.
[0259]	$x \quad y \quad z \quad U(\text{eq})$
[0260]	C(1) -2481(7) 1599(2) 6585(6) 35(2)
[0261]	C(2) -4079(6) 1825(2) 7037(5) 36(2)
[0262]	C(3) -3292(7) 2138(2) 7558(6) 40(2)
[0263]	C(4) -2138(7) 2159(2) 7573(6) 40(2)
[0264]	C(5) -417(6) 1916(2) 7113(6) 37(2)
[0265]	C(6) 1520(6) 2176(2) 7885(6) 37(2)
[0266]	C(7) 1182(7) 2311(2) 6853(6) 41(2)
[0267]	C(8) -198(7) 2183(2) 6399(6) 42(2)
[0268]	C(9) 2187(7) 2464(2) 8638(6) 40(2)
[0269]	C(10) -428(7) 3331(2) 8699(6) 42(2)
[0270]	C(11) -661(8) 3061(2) 9279(7) 52(2)
[0271]	C(12) -1894(8) 2980(2) 9149(8) 53(2)
[0272]	C(13) -2880(8) 3159(3) 8495(7) 59(2)
[0273]	C(14) -2631(9) 3426(4) 7913(9) 71(3)
[0274]	C(15) -1403(9) 3517(3) 8012(7) 61(2)
[0275]	C(16) 3026(7) 3528(2) 8008(6) 44(2)
[0276]	C(17) 4074(8) 3825(2) 8156(7) 52(2)
[0277]	C(18) 3226(7) 3213(2) 7405(6) 46(2)
[0278]	C(19) 2875(10) 3054(3) 5787(8) 65(3)
[0279]	C(20) 4128(8) 3142(2) 5690(6) 46(2)
[0280]	C(21) 4412(9) 3504(2) 5462(6) 48(2)
[0281]	C(22) 5504(9) 3580(3) 5340(7) 59(2)
[0282]	C(23) 6360(9) 3281(3) 5425(8) 67(3)
[0283]	C(24) 6068(10) 2917(3) 5643(9) 73(3)
[0284]	C(25) 4979(10) 2851(3) 5777(7) 62(2)
[0285]	N(1) -1680(6) 1893(2) 7097(5) 36(1)

[0286]	N(2) -3652(6) 1572(2) 6561(5) 38(1)
[0287]	N(3) -5247(6) 1787(2) 7003(6) 50(2)
[0288]	N(4) 3092(6) 3390(2) 8954(5) 44(2)
[0289]	O(1) -2035(5) 1369(2) 6152(5) 49(1)
[0290]	O(2) 360(5) 2074(1) 7991(4) 39(1)
[0291]	O(3) 1997(5) 2165(2) 6434(5) 50(2)
[0292]	O(4) 1475(5) 2819(1) 8445(4) 39(1)
[0293]	O(5) 805(5) 3441(1) 8776(4) 41(1)
[0294]	O(6) 2374(5) 3056(2) 10168(4) 43(1)
[0295]	O(7) 3851(6) 2925(2) 7682(5) 51(1)
[0296]	O(8) 2644(6) 3304(2) 6471(5) 57(2)
[0297]	P(1) 1979(2) 3167(1) 9166(1) 38(1)
[0298]	F(1) -960(4) 2496(2) 6274(4) 56(1)
[0299]	F(2) -474(5) 2023(2) 5530(4) 62(1)
[0300]	C(26) -2061(6) 6176(2) 4177(5) 33(1)
[0301]	C(27) -3538(6) 5940(2) 4770(6) 35(2)
[0302]	C(28) -2710(7) 5634(2) 5256(6) 38(2)
[0303]	C(29) -1565(7) 5637(2) 5238(6) 38(2)
[0304]	C(30) 84(6) 5918(2) 4754(5) 32(1)
[0305]	C(31) 1757(6) 5545(2) 4799(6) 34(2)
[0306]	C(32) 2320(6) 5811(2) 5667(5) 34(2)
[0307]	C(33) 1125(7) 6014(2) 5697(6) 38(2)
[0308]	C(34) 2224(7) 5144(2) 4906(6) 35(2)
[0309]	C(35) 882(8) 4453(2) 6664(7) 50(2)
[0310]	C(36) 404(11) 4719(4) 7049(10) 78(3)
[0311]	C(37) -867(11) 4722(4) 6911(10) 88(4)
[0312]	C(38) -1658(11) 4449(4) 6353(11) 91(4)
[0313]	C(39) -1148(11) 4166(4) 5937(10) 84(4)
[0314]	C(40) 101(10) 4166(3) 6074(9) 69(3)
[0315]	C(41) 4806(7) 4794(2) 7341(6) 43(2)
[0316]	C(42) 6103(8) 4628(3) 7868(8) 59(2)
[0317]	C(43) 4987(7) 5214(3) 7111(7) 48(2)
[0318]	C(44) 5647(11) 5817(3) 7891(9) 71(3)
[0319]	C(45) 7060(10) 5779(2) 8217(8) 60(2)
[0320]	C(46) 7713(12) 5808(4) 7623(9) 79(3)
[0321]	C(47) 8991(14) 5754(5) 7926(10) 98(4)

[0322]	C(48) 9642(12) 5675(4) 8866(10) 82(3)
[0323]	C(49) 9007(11) 5644(3) 9451(9) 74(3)
[0324]	C(50) 7752(11) 5689(3) 9171(8) 67(3)
[0325]	N(5) -1179(5) 5908(2) 4744(5) 34(1)
[0326]	N(6) -3210(5) 6187(2) 4213(5) 35(1)
[0327]	N(7) -4662(6) 5986(2) 4836(5) 43(2)
[0328]	N(8) 4159(6) 4572(2) 6488(5) 41(1)
[0329]	O(9) -1723(5) 6398(1) 3670(4) 40(1)
[0330]	O(10) 423(4) 5538(1) 4567(4) 36(1)
[0331]	O(11) 3246(5) 6065(2) 5588(4) 41(1)
[0332]	O(12) 2070(5) 4969(1) 5727(4) 37(1)
[0333]	O(13) 2175(5) 4448(2) 6814(4) 43(1)
[0334]	O(14) 2253(5) 4294(1) 5142(4) 41(1)
[0335]	O(15) 5126(5) 5327(2) 6402(4) 47(1)
[0336]	O(16) 5079(6) 5439(2) 7854(5) 59(2)
[0337]	P(2) 2638(2) 4552(1) 5976(1) 36(1)
[0338]	F(3) 848(4) 5870(2) 6437(3) 53(1)
[0339]	F(4) 1260(4) 6399(1) 5827(4) 52(1)
[0340]	C(51) 1164(6) 6520(2) 10539(5) 33(2)
[0341]	C(52) -905(6) 6744(2) 9936(6) 35(2)
[0342]	C(53) -566(7) 7031(2) 9380(6) 40(2)
[0343]	C(54) 599(7) 7038(2) 9410(6) 36(2)
[0344]	C(55) 2751(6) 6779(2) 9946(5) 32(1)
[0345]	C(56) 4386(6) 7140(2) 9914(5) 32(1)
[0346]	C(57) 4124(6) 6867(2) 9056(5) 34(2)
[0347]	C(58) 2905(7) 6665(2) 9004(5) 34(2)
[0348]	C(59) 4765(6) 7544(2) 9783(6) 35(2)
[0349]	C(60) 1742(7) 8055(2) 7650(7) 47(2)
[0350]	C(61) 1252(10) 7835(3) 6826(8) 68(3)
[0351]	C(62) 84(11) 7676(4) 6616(10) 82(3)
[0352]	C(63) -591(8) 7726(3) 7205(9) 64(3)
[0353]	C(64) -89(8) 7946(2) 7989(8) 54(2)
[0354]	C(65) 1092(8) 8113(2) 8209(7) 52(2)
[0355]	C(66) 5145(7) 7905(2) 7409(6) 41(2)
[0356]	C(67) 6043(9) 8071(3) 6954(7) 53(2)
[0357]	C(68) 5468(8) 7483(2) 7619(6) 42(2)

[0358]	C(69) 5155(10) 6864(3) 6889(8) 60(2)
[0359]	C(70) 6264(9) 6846(2) 6585(7) 53(2)
[0360]	C(71) 6155(10) 6982(3) 5686(8) 59(2)
[0361]	C(72) 7172(12) 6977(3) 5408(9) 71(3)
[0362]	C(73) 8315(12) 6830(3) 5991(10) 75(3)
[0363]	C(74) 8438(12) 6699(4) 6868(10) 81(3)
[0364]	C(75) 7418(11) 6703(3) 7169(8) 67(3)
[0365]	N(9) 1491(5) 6777(2) 9943(5) 34(1)
[0366]	N(10) -10(5) 6508(2) 10508(5) 35(1)
[0367]	N(11) -2054(6) 6705(2) 9902(5) 41(2)
[0368]	N(12) 5259(6) 8126(2) 8254(5) 41(1)
[0369]	O(17) 2023(4) 6309(1) 11077(4) 39(1)
[0370]	O(18) 3243(4) 7154(1) 10110(4) 35(1)
[0371]	O(19) 5136(5) 6622(1) 9151(4) 39(1)
[0372]	O(20) 3850(4) 7708(1) 8941(4) 37(1)
[0373]	O(21) 2929(5) 8222(2) 7826(4) 46(1)
[0374]	O(22) 4481(5) 8389(1) 9527(4) 41(1)
[0375]	O(23) 6271(6) 7362(2) 8322(4) 49(1)
[0376]	O(24) 4745(6) 7264(2) 6883(5) 53(2)
[0377]	P(3) 4158(2) 8129(1) 8706(1) 36(1)
[0378]	F(5) 1915(4) 6800(2) 8253(3) 50(1)
[0379]	F(6) 2937(5) 6285(1) 8908(4) 53(1)
[0380]	C(76) 3540(7) 11117(2) 8649(6) 35(2)
[0381]	C(77) 1484(7) 10884(2) 8173(6) 39(2)
[0382]	C(78) 1778(7) 10570(2) 7671(6) 40(2)
[0383]	C(79) 2942(7) 10551(2) 7677(5) 35(2)
[0384]	C(80) 5100(7) 10796(2) 8131(5) 35(2)
[0385]	C(81) 6303(6) 10530(2) 7384(6) 35(2)
[0386]	C(82) 6961(7) 10396(2) 8421(6) 40(2)
[0387]	C(83) 6006(7) 10527(2) 8865(6) 41(2)
[0388]	C(84) 6246(7) 10233(2) 6633(6) 39(2)
[0389]	C(85) 3528(7) 9348(2) 6559(6) 38(2)
[0390]	C(86) 2822(8) 9666(2) 6114(7) 48(2)
[0391]	C(87) 1628(8) 9720(2) 6144(7) 48(2)
[0392]	C(88) 1173(9) 9470(3) 6643(9) 67(3)
[0393]	C(89) 1910(11) 9160(4) 7098(11) 94(5)

[0394]	C(90) 3074(10) 9099(3) 7046(9) 71(3)
[0395]	C(91) 7615(8) 9178(2) 7289(7) 49(2)
[0396]	C(92) 8505(9) 8866(2) 7193(9) 64(3)
[0397]	C(93) 8450(7) 9499(3) 7889(6) 47(2)
[0398]	C(94) 9666(9) 9667(3) 9478(7) 62(3)
[0399]	C(95) 10946(8) 9549(3) 9561(6) 50(2)
[0400]	C(96) 11759(10) 9775(3) 9326(8) 61(2)
[0401]	C(97) 12923(11) 9654(4) 9378(10) 84(4)
[0402]	C(98) 13298(11) 9271(4) 9690(10) 84(4)
[0403]	C(99) 12498(11) 9039(3) 9906(8) 70(3)
[0404]	C(100) 11361(10) 9177(3) 9876(8) 63(3)
[0405]	N(13) 3848(5) 10818(2) 8143(5) 34(1)
[0406]	N(14) 2369(6) 11140(2) 8647(5) 38(1)
[0407]	N(15) 343(6) 10931(2) 8180(5) 48(2)
[0408]	N(16) 6823(6) 9309(2) 6359(5) 44(2)
[0409]	O(25) 4392(5) 11344(2) 9089(4) 46(1)
[0410]	O(26) 5042(5) 10633(1) 7266(4) 39(1)
[0411]	O(27) 8180(5) 10544(2) 8843(5) 51(2)
[0412]	O(28) 5706(5) 9886(1) 6841(4) 39(1)
[0413]	O(29) 4702(5) 9262(1) 6535(4) 39(1)
[0414]	O(30) 4937(5) 9639(1) 5117(4) 41(1)
[0415]	O(31) 8836(5) 9768(2) 7578(5) 50(1)
[0416]	O(32) 8700(6) 9428(2) 8821(5) 62(2)
[0417]	P(4) 5510(2) 9535(1) 6125(1) 36(1)
[0418]	F(7) 5347(5) 10213(1) 8974(4) 55(1)
[0419]	F(8) 6542(5) 10684(2) 9723(4) 61(1)
[0420]	C(101) 6810(20) 9411(8) 10080(20) 93(8)
[0421]	C(102) 6300(20) 9155(6) 9290(15) 83(7)
[0422]	N(17) 7140(30) 9630(9) 10710(20) 148(12)

[0423] **실시예 2**

[0424] NUC-1031 및 그의 부분 입체 이성질체의 용해도는 다양한 약학적으로 허용 가능한 용매 시스템에서 결정되었다. 채택된 프로토콜은 다음과 같았다:

[0425] 각 용제 시스템의 작은 부피, 1-2 mL를 준비하고 해당 화합물의 중량을 더했습니다. 용액을 약 4시간 동안 교반한 다음 0.45 μ L 막으로 여과하였다. 이어서, 여과물에서 해당 화합물의 농도를 HPLC 분석에 의해 측정하였다.

[0426] 웨장암 치료에 사용되는 젬시타빈 투여 계획에 따르면, NUC-1031의 분자량 조절 투여량은 주당 1회 주입으로 약 3200 mg이 될 것이다. 필요로 하는 용해도 수준을 나타내는 지표로서, 500mL 주입 부피의 개념적 표적을 취하면 NUC-1031의 필요한 용해도는 주입 유체에서 >6 mg/ml가 된다. 그러나, 이 용해도 수준은 단순한 표시일 뿐이고

아래의 용해도는 여전히 효과적인 치료법을 제공 할 수 있다.

[0427] 표 5는 정맥 내 투여에 적합한 용매의 범위에서 젬시타빈-[페닐-벤족시-L-알라닌일]-포스페이트 2 에피머 혼합물의 용해도를 나타낸다.

표 5

용매	외관	분석(mg/ml)
에탄올	빠르게 용해됨, 30분 후 흰색 페이스트가 침전됨	
글리세롤	분명한 API	
프로필렌 글리콜	30분 후 분명한 침전	371
PEG 400	120분 후 분명한 침전	385
NMP	맑은 용액	>207
DMSO	맑은 용액	>217

[0429] 표 6은 용매/물 혼합물의 범위에서 2개의 젬시타빈-[페닐-벤족시-L-알라닌일]-포스페이트 에피머 3 및 4의 용해도를 나타낸다.

표 6

용매(부피%)	(R)-에피머(4) 용해도(mg/mL)	(S)-에피머(3) 용해도(mg/mL)
프로필렌 글리콜(10%)	0	0.23
프로필렌 글리콜(50%)	0.11	11.29
PEG400(10%)	0	0.46
PEG400(50%)	0.27	32.13
에탄올(10%)	0	0.27
에탄올(50%)	0.69	34.79

[0431] 표 6에서 알 수 있는 바와 같이, (R)-에피머(4)는 물 중의 극성 유기 용매의 10% 혼합물에 실질적으로 불용성이다. 한편, (S)-에피머(3)는 현저히 향상된 용해도를 나타낸다. 수중의 극성 유기 용매의 50% 혼합물에서, (S)-에피머(3)는 (R)-에피머(4)보다 100배 이상 가용성일 수 있다. 따라서, (S)-에피머는 잠재적으로 매우 편리하고 효과적인 치료법을 제공할 수 있다.

[0432] 실시예 3

[0433] 사이클로덱스트린으로의 (R)- 및 (S)-에피머의 상이한 흡수를 평가하기 위해, D₂O 중의 HP-β-CD 처리 후의 NUC-1031 이성질체 혼합물의 ³¹P NMR 스펙트럼을 측정하였다.

[0434] **NMR 연구.** ¹H NMR (500 MHz) 및 ³¹P NMR (202 MHz)은 25°C에서 Bruker Avance 500 MHz 분광계로 기록하였다. 화학적 이동(δ)은 내부 D₂O(δ 4.9 ¹H NMR) 또는 외부 85% H₃PO₄(δ 0.00 ³¹P NMR)에 비해 백만 분율(ppm)로 인용된다. HPLC 및 NMR 연구는 모두 실온에서 수행되었다.

[0435] **HPLC 연구.** 열 과학적(ThermoScientific) 시스템을 사용하여 분석용 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC) 분석을 수행했다. 역상 HPLC 분석은 1 mL/min의 유속에서 30분 동안 90/10에서 0/100으로 H₂O/CH₃CN으로 용리되는 SCIENTIFIC Hypersil Gold C18, 5μ, 150 x 4.6 mm에서 수행하였고(검출 파장 280 nm). 상기 조건하에서 (S)-에피머(3)의 경우 13.58분 및 (R)-에피머(4)의 경우 13.44분에 NUC-1031 에피머(MeOH에 용해 됨)의 유지 시간이 각각 관찰된다(도 5A).

[0436] 2.36mg의 NUC-1031 이성질체 혼합물(1:1.1 (S):(R))을 칭량하고 NMR 튜브로 옮겼다. 13.3mg의 HP-β-CD를 1.3 mL의 중수소 산화물에 용해 시키고 이것을 NMR 관에 첨가하였다(NUC1031:HP-β-CD의 몰비 1:2.3)(참고: 용액에 모든 고체가 용해된 것은 아님).

[0437] ³¹P NMR 스펙트럼은 HP-β-CD가 (R)-에피머(4.00 Hz)에 비해 NUC-1031 (S)-에피머(3)(4.14 Hz)의 용해도를 향상시킬 수 있으며, 용액 중 관찰된 (S)- 및 (R)- 에피머의 비율은 (S)-에피머에 유리하게 6.6:1이다(도 4).

[0438] NMR 연구에서 얻은 D₂O 용액 0.5 mL를 0.5 mL의 물(1.15 mg / mL)을 첨가하여 1 mL로 희석시켰다. 이 용액 20 μ L를 HPLC에 주입하였다.

[0439] 희석된 NMR 샘플의 HPLC 분석은 (S)-에피머(3)가 (R)-에피머(4) 보다 우수하게 용액으로 흡수되고, 용액에서 관찰된 (S)- 및 (R)- 에피머의 비율은 광범위하게 NMR 데이터와 일치하여 (S)-에피머에 유리하게 5:1이다(도 5B).

[0440] 여타 챔시타빈 포스페이트 유도체를 사용하여 수행한 유사한 연구는 해당 유도체의 (S)- 및 (R)- 에피머의 사이클로 덤스트린 용액으로의 흡수간에 차이가 없음을 보여준다.

[0441] 실시예 4

[0442] 대부분의 의약품의 클리어런스와 생물학적 이용 가능성은 간에서의 1차 통과 신진 대사에 크게 영향을 받는다. 동결 보존된 간세포와 함께 화합물을 향한 배양하고 배양 혼합물에서 시험 화합물의 최종량을 결정함으로써 체외에서 상대적 간장 "대사 안정성"을 추정하는 것이 가능하다.

[0443] 다음 절차는 풀링된(pooled) 인간 저온보존 간세포 현탁액을 사용한 HPLC-MS/MS 분석이다.

[0444] 분석 매트릭스

[0445] 인간 간세포: 혼합 성별 및 10 폴

[0446] 최종 세포 밀도: 1 백만 (10^6) 생존 세포/mL

[0447] 실험 프로토콜

[0448] 공동 저온보존 된 간세포를 해동하고, 세척하고, Krebs-Heinslet 완충액 (pH 7.3)에 재현 탁한다. 시험 화합물 (최종 농도 1 μ M)을 세포 현탁액에 첨가하여 반응을 개시하고, 평평한 바닥 96-웰 플레이트에서 최종 부피 100 μ L로 각각 0분 및 120분 동안 37°C / 5% CO₂로 배양하였다. 부화 혼합물에 아세트니트릴 100 μ L를 첨가하여 반응을 정지시킨다. 샘플을 접시 웨이커에서 부드럽게 천천히 혼합하고 완전히 0.8 mL V 바닥 96-웰 플레이트로 옮기고 상온에서 15분 동안 2550 xg에서 원심 분리한다. 각 상등액 (150 μ L)을 깨끗한 클러스터 튜브에 옮긴 후 Thermo Electron triple-quadrupole 시스템에서 HPLC-MS / MS 분석을 수행한다.

[0449] 이 분석은 반감기 결정을 위해 수정되었습니다. 이 경우 샘플링 시점은 0, 30, 60, 90 및 120분이다.

[0450] 기준 화합물

[0451] 4개의 기준 화합물(1 μ M)을 시험 화합물과 동시에 시험하였다. 프로프라놀롤은 인간 간세포에 비교적 안정한 반면, 플루라제팜, 날록손 및 테르페나딘은 인간 간세포와 상대적으로 불안정하다.

[0452] 분석 방법

[0453] 선택된 반응 모니터링 (SRM)을 사용하여 (RP) HPLC-MS / MS를 통해 시료를 분석하다. HPLC 조건은 오토 샘플러가있는 HP1100 바이너리 펌프, C-12 혼합 모드, 2 x 20mm 컬럼 및 그라디언트로 구성된다.

[0454] 데이터 분석

[0455] 시험 화합물에 상응하는 피크 면적을 HPLC-MS/MS로 기록한다. 남은 시험 화합물의 퍼센트로 표시되는 대사 안정성은 2시간에서 시험 화합물의 피크 면적을 시간 0과 비교함으로써 계산된다. 반감기 결정의 경우, 반감기는 시험 화합물의 대수 곡선의 초기 직선 범위의 기울기 1차 반응 속도를 가정 할 때, 시간 대 잔여 시간 (%)로부터 추정된다.

[0456] 그 결과를 표 7에 나타낸다.

[0457] 표 7은 S 에피머, R 에피머 및 2 개의 에피머의 혼합물의 본연의 클리어런스를 나타낸다

표 7

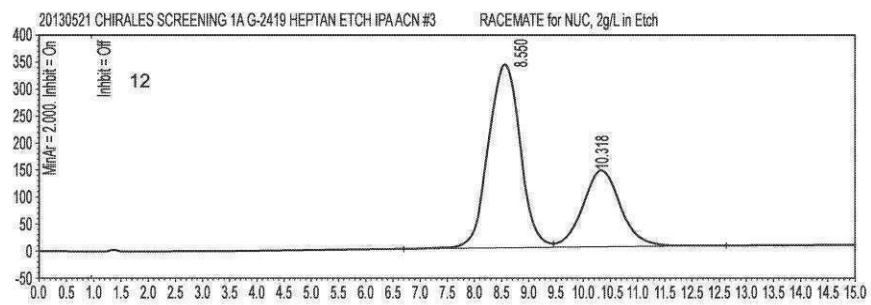
[0458]

	실험 농도(M)	배양 시간 (min)	% 잔여 화합물				반감기 (분, min)				클린트 (Clint)
			1st	2nd	3rd	Mean	1st	2nd	3rd	Mean	
R/S Mix	1.0E-06	0	100.0	100.0	100.0	100.0	72.9	72.5	82.2	76	13.10

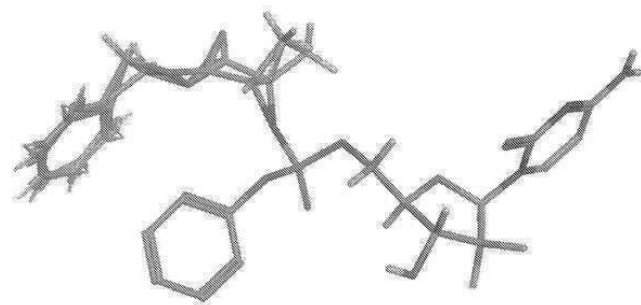
	1.0E-06	30	64.3	68.7	74.3	69.1					13.10
	1.0E-06	60	56.5	56.3	60.3	57.7					13.10
	1.0E-06	90	59.6	55.9	45.2	53.6					13.10
	1.0E-06	120	36.9	56.8	53.9	49.2					13.10
S	1.0E-06	0	100.0	100.0	100.0	100.0	40.5	36.5	35.0	37	26.60
	1.0E-06	30	47.2	57.6	52.9	52.6					26.60
	1.0E-06	60	35.8	32.0	30.4	32.7					26.60
	1.0E-06	90	25.0	26.0	30.2	27.0					26.60
	1.0E-06	120	31.0	30.6	35.6	32.4					26.60
R	1.0E-06	0	100.0	100.0	100.0	100.0	471.6	>120	>120	>120	<8.2
	1.0E-06	30	80.2	86.9	94.3	87.1					<8.2
	1.0E-06	60	97.4	{2.1}	{1.3}	97.4					<8.2
	1.0E-06	90	73.6	91.6	88.0	84.4					<8.2
	1.0E-06	120	83.8	108.5	111.4	101.2					<8.2

도면

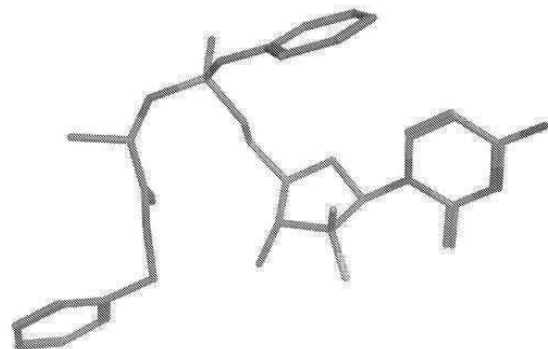
도면1



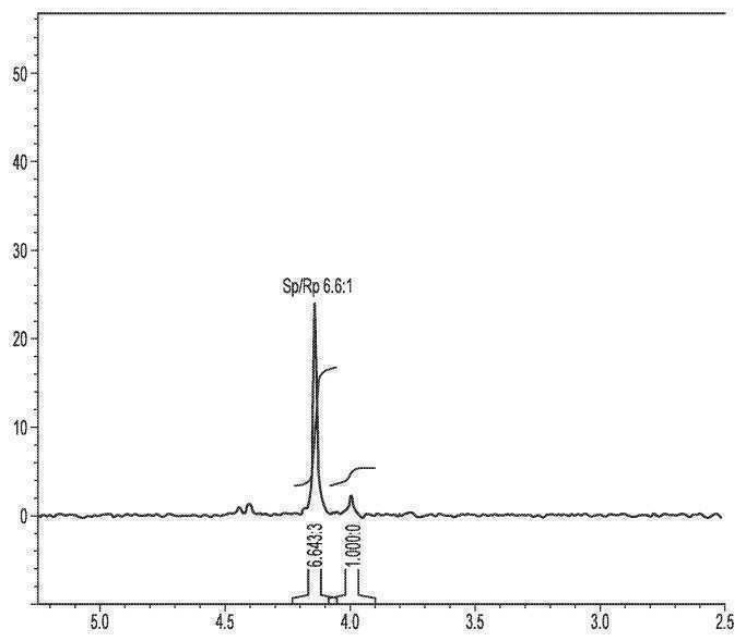
도면2



도면3



도면4



도면5

