

(19)대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(51) Int. Cl.⁷
C07H 21/00

(45) 공고일자 2003년11월01일
(11) 등록번호 10-0403900
(24) 등록일자 2003년10월20일

(21) 출원번호 10-2000-0024885
(22) 출원일자 2000년05월10일

(65) 공개번호 특2001-0069193
(43) 공개일자 2001년07월23일

(30) 우선권주장 60/133,651 1999년05월11일 미국(US)

(73) 특허권자 화이자 프로덕츠 인크.
미국 06340 코네티컷주 그로톤 이스턴 포인트 로드

(72) 발명자 스코트,로버트,윌리엄
미국06340코네티컷주그로톤이스턴포인트로드화이자센트랄리써치

(74) 대리인 주성민
김영

심사관 : 임혜준

(54) 뉴클레오시드 유사체의 합성 방법

요약

본 발명은 $\alpha:\beta$ 아노머의 비율이 낮은 뉴클레오시드를 합성하는 개선된 방법에 관한 것이다. 이 방법은 친핵성 극성 용매 및 강염기 존재하에, 보호된 푸라노실 할라이드와 적절하게 보호된 헤테로사이클을 커플링시키는 것을 포함한다.

색인어

뉴클레오시드, 뉴클레오시드 유도체, 푸라노실 할라이드.

명세서

발명의 상세한 설명

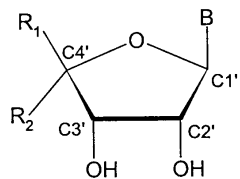
발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 합성 유기 화학 분야에 속한다. 특히, 본 발명은 헤테로사이클과 푸라노실 할라이드 사이의 개선된 커플링 반응을 기초로 하는, β -뉴클레오시드 또는 β -뉴클레오시드 유사체를 합성하는 개선된 방법에 관한 것이다. 뉴클레오시드 유사체는 다양한 질환의 치료에 잠재적인 유용성을 지니는 화합물의 중요한 군이다. 일부 뉴클레오시드 유사체는 아데노신 키나제를 억제할 수 있으므로 유효할 수 있다. 아데노신 키나제는 아데노신이 아데노신 5'-모노포스페이트 (AMP)로 인산화되는 것을 촉매한다. 아데노신 키나제의 억제는 인체에서 아데노신의 세포외 수준을 효과적으로 증가시킬 수 있어 졸중과 같은 허혈성 상태, 염증, 관절염, 발작 및 간질의 치료법이 될 수 있다[미국 특허

제5,674,998호 참조]. 뉴클레오시드 유사체는 만성적인 통증의 치료 능력을 가질 수도 있다. 그러나, 뉴클레오시드 유사체의 치료학적 유효성을 결정하기 위해서 임상 실험을 행하고, 또한 일단 치료법이 시장에 나왔을 때 수요를 충족시키기 위해서는 정제된 해당 뉴클레오시드 유사체가 대량으로 필요하다.

본 발명의 방법에 따라 합성할 수 있는 뉴클레오시드 유사체는 하기 화학식으로 표시되는 바와 같이 헤테로사이클 (B)에 공유 결합되어 있는 푸라노스로 구성되어 있다.



푸라노스 고리의 C4' 위치의 치환기인 R_1 및 R_2 는 경우에 따라 서로 독립적으로 ($C_1 - C_6$)알킬 또는 치환된 ($C_1 - C_6$)알킬과 같은 기로 치환될 수 있다. R_1 이 $-CH_2-OH$ 이고 R_2 가 $-H$ 일 경우, 뉴클레오시드 당은 리보스이다. 푸라노스는 C1' 위치에 아노머 탄소를 포함하고 있다. 이 아노머 탄소 때문에, 푸라노스의 두 개의 입체 이성질체 또는 아노머, 즉 α -아노머 및 β -아노머가 존재한다[예를 들어, Streitweiser 및 Heathcock, 1985, Introduction to Organic Chemistry, Macmillan 참조]. 푸라노스의 입체 이성질로 인해 상응하는 α 및 β 뉴클레오시드 이성질체가 얻어지게 된다. 대개는, β -뉴클레오시드 아노머가 생물학적으로 관심있는 아노머이다.

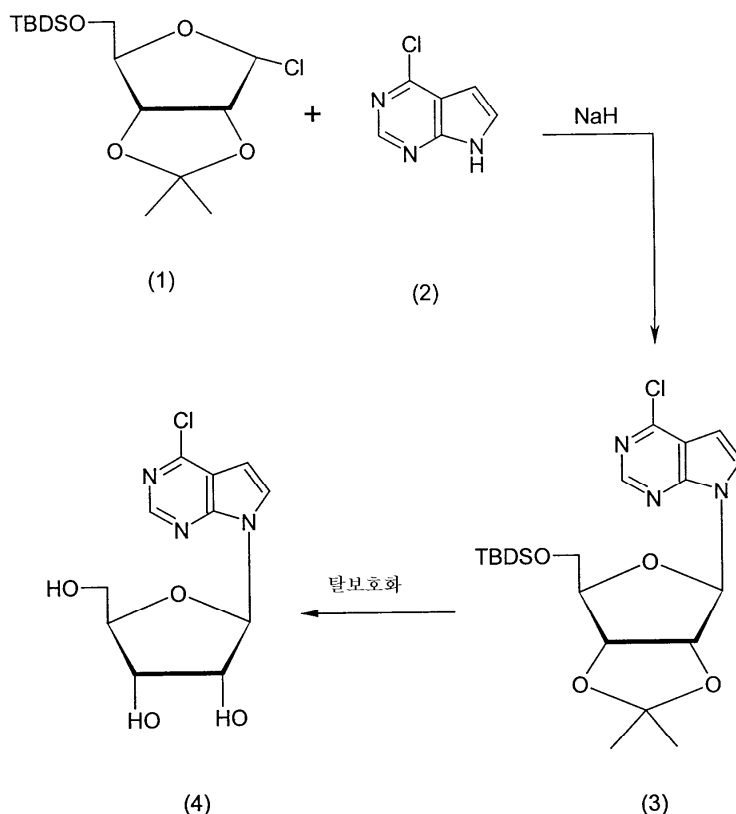
순수한 β -뉴클레오시드 및 β -뉴클레오시드 유사체의 합성은 어려운 것으로 증명되었다. 많은 공지된 반응식에 따른 뉴클레오시드 유사체 합성은 $\alpha:\beta$ 아노머의 혼합물을 형성하였다. 전형적으로, 특히 순수한 β -뉴클레오시드 유사체를 경제적으로 대규모화시킬 필요가 있는 경우, β -아노머를 그와 같은 $\alpha:\beta$ 혼합물로부터 분리하는 것은 어렵다. 바람직하지 않은 $\alpha:\beta$ 뉴클레오시드 유사체 혼합물을 피하기 위해서, 당업계에서는 α -뉴클레오시드 유사체보다 β -뉴클레오시드 유사체를 더 잘 생성하는 출발 시약의 사용을 강조해 왔다. 선행기술은 (i) 중금속을 이용하는 방식, (ii) α -푸라노실 할라이드를 이용하는 방식, 및 (iii) 수소화 나트륨/N,N-디메틸포름아미드에 기초한 방식의 세 가지 범주로 나눌 수 있다.

중금속을 이용하는 방식은 수은 또는 은과 같은 중금속과 커플링된 헤테로음이온을 사용한다. 예를 들어, 레르너 (Lerner)는 중금속을 이용하는 방식을 이용하여 β -아노머가 α -아노머보다 거의 13 대 1의 비율로 우세한 9-(α,β)-L-에리트로푸라노실아데닌을 수득할 수 있었다[Lerner, 1969, Carbohydr. Res., 9, 1-4]. 레르너의 방법에서는, 고온의 탄화수소 용매 존재하에 클로로머큐리헤테로사이클 착물을 β -푸라노실 클로라이드와 반응시켜 뉴클레오시드 유사체를 수득하였다. 염화제2수은 염의 형성이 이 반응을 진행시켰다. 수은의 독성으로 인해, 레르너의 방식은 β -뉴클레오시드의 대량 합성에는 적합하지 않다. 그러나, 상기 레르너 등이 제공한 것과 같은 반응에서 수은 대신에 중금속 은을 사용할 수도 있음이 당업계에는 공지되어 있다. 따라서, 수은의 독성은 피할 수 있다.

일반적으로, 중금속을 이용하는 방식이 대체로 적절하지만 실용적인 면에서 만족스럽지 못하다. 당 또는 헤테로사이클과 비교해서 중금속을 화학량론적인 양으로 넣는 것이 필요하다. 대규모 반응에서는, 중금속:헤테로사이클 음이온을 1:1 몰비로 사용하는 것은 비싸서 대개는 생물학적으로 활성인 뉴클레오시드 유사체를 입체 특이적으로 합성하는 경제적인 해결책을 제공하지 않는다. 또한, 중요한 일부 뉴클레오시드 유사체의 경우, 중금속을 이용하는 방식은 종종 완전히 실패한다.

α -푸라노실 할라이드 방식은 α -푸라노실 할라이드를 출발 시약으로 사용한다. 이와 같은 방식에서는, 푸라노실과 헤테로음이온이 커플링됨에 따라 α -푸라노실 클로라이드의 아노머 중심에서 반전이 일어난다. 예를 들면, 라마사이 (Ramasay) 등은 α -푸라노실 할라이드 방식을 이용하여 β -7-데아자구아노신 및 관련 뉴클레오시드 유사체를 특정 입체 이성질적으로 합성하였다[Ramasay et al., 1987, Tetrahedron Letters, 28, 5107-5110]. 라마사이 등의 방법을 하기 반응식 1에 도시하였다.

반응식 1



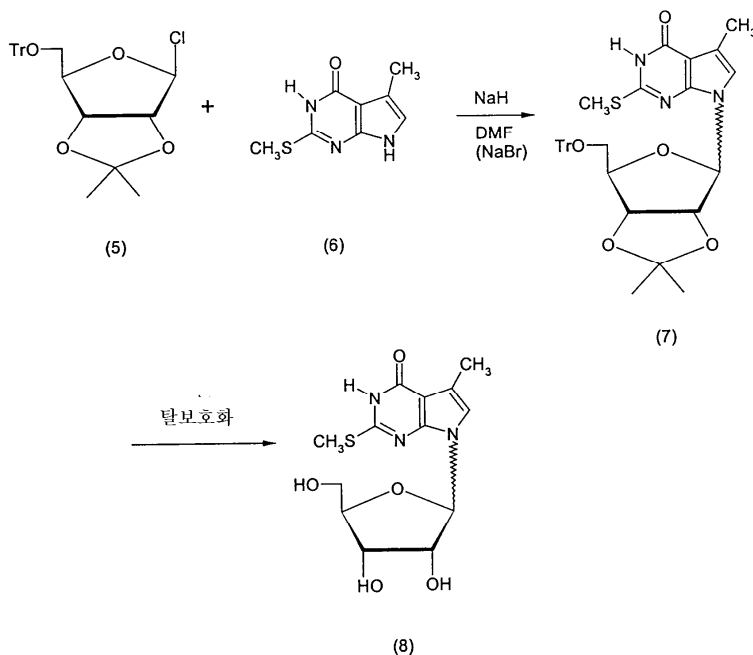
상기 식에서, TBDS는 t-부틸디메틸실릴을 나타낸다.

반응식 1에서, 헤테로사이클 (2)의 나트륨염이 아세트니트릴 중에서 수소화 나트륨 (NaH)으로 처리함으로써 생성되고, 이것을 α -푸라노실 클로라이드 (1)과 반응시켜 보호된 β -뉴클레오시드 유사체 (3)을 얻는다. 그런 다음, 보호된 β -뉴클레오시드 유사체 (3)을 탈보호화하여 β -뉴클레오시드 (4)를 얻는다. α -푸라노실 클로라이드 (1)은 문헌 [Wilcox et al., 1986, Tetrahedron Lett., 27, 1011]에 기재된 방법에 따라 제조할 수 있다.

중금속을 이용하는 방식과 마찬가지로, α -푸라노실 할라이드를 이용하는 방법은 실행은 되지만 실용적으로 항상 만족스러운 것은 아니다. 예를 들어, α -푸라노실 할라이드 출발 물질이 전형적으로 불안정하고 쉽게 β -이성질체로 이성질화되기 때문에, 이와 같은 방법을 언제나 대규모로 변형시킬 수 있는 것은 아니다. 또한, α -푸라노실 할라이드가 β -푸라노실 할라이드 아노머보다 형성시키기가 더 어렵다. 예를 들어, α -푸라노실 할라이드를 합성하기 위해서는 대개 저온과 같은 특별한 반응 조건이 필요하다. 이러한 이유로 해서, β -푸라노실 할라이드 아노머를 출발 시약으로서 사용하는 방식이 α -푸라노실 할라이드 방식보다 바람직하다.

수소화 나트륨/N,N-디메틸포름아미드를 이용하는 방식은 중금속 또는 α -푸라노실 할라이드를 사용하지 않는다[Kondo et al., 1986, Tetrahedron, 42, 199-205]. 콘도 (Kondo)는 뉴클레오시드 유사체 (8)의 α : β 혼합물을 합성하였는데, 반응식 2에 따라 β -푸라노실 클로라이드 (5)를 (6)의 헤테로사이클 음이온과 커플링시켜 보호된 β -뉴클레오시드 유사체 (7)을 얻는다.

반응식 2



상기 식에서,
Tr은 트리틸을 나타내고,
DMF는 N,N-디메틸포름아미드를 나타낸다.

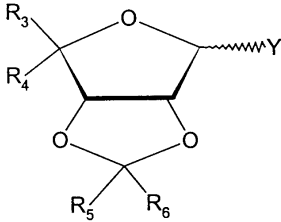
그런 다음, 보호된 β-뉴클레오시드 유사체 (7)을 표준 방법을 이용하여 탈보호하여 β-뉴클레오시드 유사체 (8)을 수득하였다. 콘도 (Kondo) 등은 수소화 나트륨 및 DMF 존재하에 β-푸라노실 클로라이드 (5)를 헤테로사이클 (6)과 커플링시키면 매우 바람직하지 않는 (α,β)-뉴클레오시드 유사체 (8)의 3:1 혼합물이 얻어짐을 발견하였다. α:β 아노머 선택성을 향상시키기 위하여, 콘도 등은 반응식 2에서 첨가제로서 NaBr, NaI, MgBr₂·OEt₂, 또는 (n-Bu)₄NBr을 사용하여 실험하였다. 이 실험에 기초하여 콘도 등이 얻은 가장 좋은 결과는 수소화 나트륨, 분말형 소듐 브로마이드 및 DMF 존재하에 커플링 반응 2를 행하였을 때, 뉴클레오시드 유사체 (8)의 α:β 혼합물이 1:2인 것이다. 콘도 등에 의해 설명된 바와 같이, NaH/DMF를 이용하는 방식은 β-뉴클레오시드 유사체 생성물을 선택적으로 제공하지 않으므로, 이 방법은 일반적으로 β-뉴클레오시드 유사체를 대량으로 제조하기에는 바람직하지 않다. 그보다는 뉴클레오시드 유사체 생성물의 α 및 β 아노머 혼합물이 형성된다. 따라서, NaH/DMF를 이용하는 방법으로 합성된 β-뉴클레오시드는 α:β 뉴클레오시드 유사체 혼합물로부터 정제하여야 한다. 이와 같은 정제 단계는 뉴클레오시드의 대량 합성을 원하는 경우에는 특히 어렵다. 요약하자면, 콘도 등의 NaH/DMF를 이용하는 방법은 β-뉴클레오시드 및 β-뉴클레오시드 유사체를 선택적으로 합성하는 경제적인 방법에 대한 당업계의 필요에는 적절하지 않다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

상기에 기재한 바와 같이, 인용한 참고 문헌은 β-뉴클레오시드 유사체를 제조하는 여러 방법에 대해 언급하고 있다. 각 방법은 많은 경우에 실행은 되지만 결점이 있다. 일부 뉴클레오시드 유사체는 선행 기술의 방법으로는 합성할 수 없다. 종종 선행 기술의 방법은 α:β 아노머 선택성이 그다지 좋지 않다. 많은 선행 기술의 방법에서는 특별한 합성 단계가 필요하고(거나) 불안정한 출발 물질이 요구된다. 따라서, 당업계에서는 뉴클레오시드 및 뉴클레오시드 유사체의 β 아노머를 선택적으로 합성하는 향상되고 대규모화할 수 있는 방법을 필요로 한다.

발명의 구성 및 작용

한 측면에서, 본 발명은 2',3'-O-알킬리덴 β-뉴클레오시드 유사체 및 β-뉴클레오시드 유사체를 제조하는 개선된 방법을 제공한다. 이 방법은 일반적으로 친핵성 극성 용매 중에서 강염기의 존재하에 2',3'-알킬리덴 푸라노실 할라이드를 적절하게 보호된 헤테로사이클과 반응시켜 β-2',3'-O-알킬리덴 뉴클레오시드 유사체를 수득하는 것을 포함한다. 바람직한 실시태양에서, 강염기와 헤테로사이클의 몰비는 약 1:1 내지 약 8:1이다. 그런 다음, 2',3'-O-알킬리덴을 제거하여 상응하는 β-뉴클레오시드 유사체를 수득할 수 있다. 일반적으로, 2',3'-O-알킬리덴 푸라노실 할라이드는 하기와 같은 화학 구조이다.



상기 식에서,

R_3 및 R_4 는 서로 독립적으로 수소, $(C_2 - C_6)$ 알케닐 및 $(CH_2)_n Q$ (여기에서, n 은 1 내지 6의 정수임)로 구성된 군에서 선택된 것이거나,

R_3 와 R_4 가 함께, 3 내지 6개의 탄소로 이루어진 고리를 형성하고, 이 고리는 산소 및 질소에서 선택된 0 내지 3개의 헤테로원자를 포함하고 경우에 따라 하나 이상의 Q로 치환되고,

R_5 및 R_6 는 서로 독립적으로 수소, Q, $(C_1 - C_6)$ 알킬, 및 하나 이상의 Q로 치환된 $(C_1 - C_6)$ 알킬로 구성된 군에서 선택된 것이고,

Q는 수소, $-NO_2$, $-N_3$, $-CN$, $-SR_7$, $-CX_3$, $-CF_3$, $-X$, $-OR_7$, $-C(O)OR_7$, $-C(O)R_7$, $-NR_7R_7$, $-NH-SO_2-R_7$, 및 $-SO_2R_7$ 으로 구성된 군에서 선택된 것이고,

X는 할로겐이고,

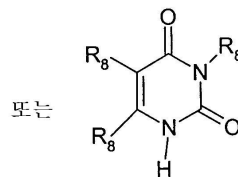
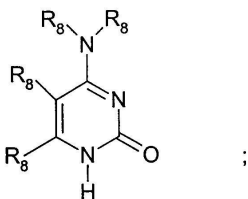
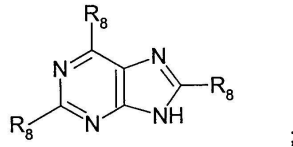
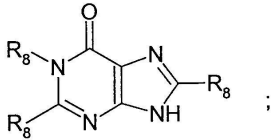
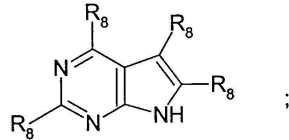
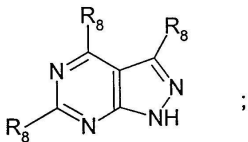
Y는 클로로 또는 브로미고,

각 R_7 은 서로 독립적으로 수소, $(C_1 - C_6)$ 알킬, $(C_2 - C_6)$ 알케닐, $(C_5 - C_{20})$ 아릴, 치환된 $(C_5 - C_{20})$ 아릴, 5 내지 20원의 헤테로아릴 및 치환된 5 내지 20원의 헤테로아릴로 구성된 군에서 선택된 것이거나,

R_7 은 보호기이다.

바람직하게는, R_3 및 R_4 는 각각 수소이다. 헤테로사이클은 일반적으로 푸라노스 또는 푸라노스 유사체의 아노머 탄소와 공유 결합을 형성할 수 있는 고리 내 질소가 존재하는 임의의 헤테로사이클이다.

바람직한 실시태양에서 헤테로사이클은 하기와 같은 화학 구조이다.



상기 식에서,

각 R_8 은 서로 독립적으로 Q, $(C_1 - C_6)$ 알킬, 하나 이상의 Q로 치환된 $(C_1 - C_6)$ 알킬, $(C_5 - C_{20})$ 아릴, 하나 이상의 Q로 치환된 $(C_5 - C_{20})$ 아릴, 5 내지 20원의 헤테로아릴, 하나 이상의 Q로 치환된 5 내지 20원의 헤테로아릴, $(C_6 - C_{26})$ 알크아릴, 하나 이상의 Q로 치환된 $(C_6 - C_{26})$ 알크아릴, 6 내지 26원의 알크헤테로아릴 및 하나 이상의 Q로 치환된 6 내지 26원의 알크헤테로아릴로 구성된 군에서 선택된 것이고,

Q는 상기에서 정의한 바와 같다.

바람직한 실시태양에서, 강염기는 소듐 t-부톡시드 또는 포타슘 t-부톡시드이다. 또다른 바람직한 실시태양에서, 극성 용매는 DMSO, 또는 DMF, 아세토니트릴, 테트라히드로푸란 또는 메틸 t-부틸 에테르와 혼합된 DMSO로 구성된 군에서 선택된 친핵성 극성 용매다.

<발명의 상세한 설명>

본 명세서에서 사용하는 각 용어는 하기의 의미를 지닐 것이다.

"알킬"은 포화된 직쇄형 또는 분지쇄형 또는 고리형 탄화수소기를 나타낸다. 전형적인 알킬기는 비제한적으로 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 시클로프로필, 부틸, 이소부틸, t-부틸, 시클로부틸, 펜틸, 이소펜틸, 시클로펜틸, 헥실, 시클로헥실 등을 포함한다. 바람직한 실시태양에서 알킬기는 $(C_1 - C_8)$ 알킬이고, 더욱 바람직하게는 $(C_1 - C_6)$ 알킬이며, 가장 바람직하게는 $(C_1 - C_3)$ 알킬이다.

"치환된 알킬"은 하나 이상의 수소 원자가 서로 독립적으로 다른 치환기로 대체되어 있는 알킬기를 나타낸다. 전형적인 치환기는 비제한적으로 -X, -SR, -CN, -NO₂, -NRR, -OR, -CX₃, -CF₃, -C(O)R, -C(O)OR, -C(O)NRR, -C(NRR)=NR, -C(O)NROR, -C(NRR)=NOR, -NR-C(O)R, -NR-C(O)-NRR, -NR-C(O)-OR, 또는 -NR-SO₂-R을 포함하며, 여기에서 X는 할로겐이고, 각 R은 서로 독립적으로 본 명세서에서 정의한 -H, -(C₁-C₆)알킬, -(C₂-C₆)알케닐, -(C₂-C₆)알킬닐, -(C₅-C₂₀)아릴, 치환된 -(C₅-C₂₀)아릴, 5 내지 20원의 헤테로아릴, 치환된 5 내지 20원의 헤테로아릴, -(C₆-C₂₆)알크아릴, 치환된 -(C₆-C₂₆)알크아릴, 6 내지 26원의 알크헤테로아릴, 및 치환된 6 내지 26원의 알크헤테로아릴로 구성된 군에서 선택된 것이다.

"알케닐"은 하나 이상의 탄소-탄소 이중 결합이 있는 불포화 직쇄형 또는 분지쇄형 또는 고리형 탄화수소기를 나타낸다. 이 기는 이중 결합에 대해서 시스 또는 트랜스 형태일 수 있다. 전형적인 알케닐기는 비제한적으로 에테닐, 비닐리덴, 프로페닐, 프로필리덴, 이소프로페닐, 이소프로필리덴, 부테닐, 부테닐리덴, 이소부테닐, tert-부테닐, 시클로부테닐, 펜테닐, 이소펜테닐, 시클로펜테닐, 헥세닐, 시클로헥세닐 등을 포함한다. 바람직한 실시태양에서 알케닐기는 (C₂-C₈)알케닐이고, 더욱 바람직하게는 (C₂-C₆)알케닐이고, 가장 바람직하게는 (C₂-C₃)알케닐이다.

"치환된 알케닐"은 하나 이상의 수소 원자가 서로 독립적으로 다른 치환기로 대체된 알케닐기를 나타낸다. 전형적인 치환기는 비제한적으로 -X, -SR, -CN, -NO₂, -NRR, -OR, -CX₃, -CF₃, -C(O)R, -C(O)OR, -C(O)NRR, -C(NRR)=NR, -C(O)NROR, -C(NRR)=NOR, -NR-C(O)R, -NR-C(O)-NRR, -NR-C(O)-OR 또는 -NR-SO₂-R을 포함하며, 여기에서 X는 할로겐이고, 각 R은 서로 독립적으로 본 명세서에서 정의한 -H, -(C₁-C₆)알킬, -(C₂-C₆)알케닐, -(C₂-C₆)알킬닐, -(C₅-C₂₀)아릴, 치환된 -(C₅-C₂₀)아릴, 5 내지 20원의 헤테로아릴, 치환된 5 내지 20원의 헤테로아릴, -(C₆-C₂₆)알크아릴, 치환된 -(C₆-C₂₆)알크아릴, 6 내지 26원의 알크헤테로아릴, 및 치환된 6 내지 26원의 알크헤테로아릴로 구성된 군에서 선택된 것이다.

"알킬닐"은 하나 이상의 탄소-탄소 삼중 결합이 있는 불포화 직쇄형 또는 분지쇄형 또는 고리형 탄화수소기를 나타낸다. 전형적인 알킬닐기는 비제한적으로 에티닐, 프로피닐, 부티닐, 이소부티닐, 펜티닐, 헥시닐 등을 포함한다. 바람직한 실시태양에서 알킬닐기는 (C₂-C₈)알킬닐이고, 더욱 바람직하게는 (C₂-C₆)알킬닐이고, 가장 바람직하게는 (C₂-C₃)알킬닐이다.

"치환된 알킬닐"은 하나 이상의 수소 원자가 서로 독립적으로 다른 치환기로 대체된 알킬닐기를 나타낸다. 전형적인 치환기는 비제한적으로 -X, -SR, -CN, -NO₂, -NRR, -OR, -CX₃, -CF₃, -C(O)R, -C(O)OR, -C(O)NRR, -C(NRR)=NR, -C(O)NROR, -C(NRR)=NOR, -NR-C(O)R, -NR-C(O)-NRR, -NR-C(O)-OR 또는 -NR-SO₂-R을 포함하며, 여기에서 X는 할로겐이고, 각 R은 서로 독립적으로 본 명세서에서 정의한 -H, -(C₁-C₆)알킬, -(C₂-C₆)알케닐, -(C₂-C₆)알킬닐, -(C₅-C₂₀)아릴, 치환된 -(C₅-C₂₀)아릴, 5 내지 20원의 헤테로아릴, 치환된 5 내지 20원의 헤테로아릴, -(C₆-C₂₆)알크아릴, 치환된 -(C₆-C₂₆)알크아릴, 6 내지 26원의 알크헤테로아릴, 및 치환된 6 내지 26원의 알크헤테로아릴로 구성된 군에서 선택된 것이다.

"아릴"은 공액 π-전자 시스템이 있는 불포화 고리 탄화수소기를 나타낸다. 전형적인 아릴기는 비제한적으로 펜타-2, 4-디에닐, 페닐, 나프틸, 아세안트릴릴, 아세나프틸, 안트라실, 아줄레닐, 크리세닐, 인다세닐, 인다닐, 오발레닐, 페릴레닐, 페난트레닐, 페날레닐, 피세닐, 피레닐, 피란트레닐, 루비세닐 등을 포함한다. 바람직한 실시태양에서 아릴기는 (C₅-C₂₀)아릴이고, 더욱 바람직하게는 (C₅-C₁₀)아릴이고, 가장 바람직하게는 페닐이다.

"치환된 아릴"은 하나 이상의 수소 원자가 서로 독립적으로 다른 치환기로 대체된 아릴기를 나타낸다. 전형적인 치환기는 비제한적으로 -X, -SR, -CN, -NO₂, -NRR, -OR, -CX₃, -CF₃, -C(O)R, -C(O)OR, -C(O)NRR, -C(NRR)=NR, -C(O)NROR, -C(NRR)=NOR, -NR-C(O)R, -NR-C(O)-NRR, -NR-C(O)-OR, 또는 -NR-SO₂-R을 포함하며, 여기에서 X는 할로겐이고, 각 R은 서로 독립적으로 본 명세서에서 정의한 -H, -(C₁-C₆)알킬, -(C₂-C₆)알케닐, -(C₂-C₆)알킬닐, -(C₅-C₂₀)아릴, 치환된 -(C₅-C₂₀)아릴, 5 내지 20원의 헤테로아릴, 치환된 5 내지 20원의 헤테로아릴, -(C₆-C₂₆)알크아릴, 치환된 -(C₆-C₂₆)알크아릴, 6 내지 26원의 알크헤테로아릴, 및 치환된 6 내지 26원의 알크헤테로아릴로 구성된 군에서 선택된 것이다.

"알크아릴"은 말단 탄소에 결합된 수소 원자 중 하나가 아릴 잔기로 대체된 직쇄형 알킬, 알케닐 또는 알킬닐기를 나타낸다. 알크아릴은 또한 말단 탄소에 결합된 수소 원자 중 하나가 아릴 잔기로 대체된 분지쇄형 알킬, 알케닐 또는 알킬닐기를 나타낸다. 전형적인 알크아릴기는 비제한적으로 벤질, 벤질리덴, 벤질리딘, 벤젠노벤질, 나프탈레노벤질 등을 포함한다. 바람직한 실시태양에서 알크아릴기는 (C₆-C₂₆)알크아릴, 즉 알크아릴기의 알킬, 알케닐 또는 알킬닐 잔기가 (C₁-C₆)이고, 아릴 잔기가 (C₅-C₂₀)인 것이다. 특히 바람직한 실시태양에서 알크아릴기는 (C₆-C₁₃), 즉, 알크아릴기의 알킬, 알케닐 또는 알킬닐 잔기가 (C₁-C₃)이고, 아릴 잔기가 (C₅-C₁₀)인 것이다.

"치환된 알크아릴"은 아릴 잔기에 있는 하나 이상의 수소 원자가 서로 독립적으로 다른 치환기로 대체된 알크아릴기를 나타낸다. 전형적인 치환기는 비제한적으로 -X, -SR, -CN, -NO₂, -NRR, -OR, -CX₃, -CF₃, -C(O)R, -C(O)OR, -C(O)NRR, -C(NRR)=NR, -C(O)NROR, -C(NRR)=NOR, -NR-C(O)R, -NR-C(O)-NRR, -NR-C(O)-OR, 또는 -NR-SO₂-R을 포함하며, 여기에서 X는 할로겐이고, 각 R은 서로 독립적으로 본 명세서에서 정의한 -H, -(C₁-C₆)알킬, -(C₂-C₆)알케닐, -(C₂-C₆)알킬닐, -(C₅-C₂₀)아릴, 치환된 -(C₅-C₂₀)아릴, 5 내지 20원의 헤테로아릴, 치환된 5 내지 20원의 헤테로아릴, -(C₆-C₂₆)알크아릴, 치환된 -(C₆-C₂₆)알크아릴, 6 내지 26원의 알크헤테로아릴, 및 치환된 6 내지 26원의 알크헤테로아릴로 구성된 군에서 선택된 것이다.

"헤테로아릴"은 하나 이상의 탄소 원자가 N, P, O, S, As, Ge, Se, Si, Te 등의 다른 원자로 대체된 아릴 잔기를 나타낸다. 전형적인 헤테로아릴기는 비제한적으로 아크리다르신, 아크리딘, 아르산트리딘, 아르신돌, 아르신돌린, 벤조디옥솔, 벤조티아디아졸, 카르바졸, β-카르볼린, 크로만, 크로멘, 신놀린, 푸란, 이미다졸, 인다졸, 인돌, (1,3)-벤조디옥솔, 옥신돌, 아자인돌, 이소인돌, 인돌리진, 이소아르신돌, 이소아르시놀린, 이소벤조푸란, 이소크로만, 이소크로멘, 이소인돌, 이소포스포인돌, 이소포스포놀린, 이소퀴놀린, 이소티아졸, 이속사졸, 나프티리딘, 페리미딘, 페난트리딘,

페난트롤린, 페나진, 포스포인돌, 포스포놀린, 프탈라진, 피아즈티올, 프테리딘, 푸린, 피란, 피라진, 피라졸, 피리다진, 피리딘, 피리미딘, 피롤, 피롤리진, 퀴나졸린, 퀴놀린, 퀴놀리진, 퀴녹살린, 셀레노펜, 텔루로펜, 티아조피롤리진, 티오펜 및 크산텐을 포함한다. 바람직한 실시태양에서 헤테로아릴기는 5 내지 20원의 헤테로아릴이고, 특히 바람직한 것은 5 내지 10원의 헤테로아릴이다.

"치환된 헤테로아릴"은 하나 이상의 수소 원자가 서로 독립적으로 다른 치환기로 대체된 헤테로아릴기를 나타낸다.

전형적인 치환기는 비제한적으로 -X, -SR, -CN, -NO₂, -NRR, -OR, -CX₃, -CF₃, -C(O)R, -C(O)OR, -C(O)NRR, -C(NRR)=NR, -C(O)NROR, -C(NRR)=NOR, -NR-C(O)R, -NR-C(O)-NRR, -NR-C(O)-OR, 또는 -NR-SO₂-R을 포함하며, 여기에서 X는 할로겐이고, 각 R은 서로 독립적으로 본 명세서에서 정의한 -H, -(C₁-C₆)알킬, -(C₂-C₆)알케닐, -(C₂-C₆)알킬닐, -(C₅-C₂₀)아릴, 치환된 -(C₅-C₂₀)아릴, 5 내지 20원의 헤테로아릴, 치환된 5 내지 20원의 헤테로아릴, -(C₆-C₂₆)알크아릴, 치환된 -(C₆-C₂₆)알크아릴, 6 내지 26원의 알크헤테로아릴, 및 치환된 6 내지 26원의 알크헤테로아릴로 구성된 군에서 선택된 것이다.

"알크헤테로아릴"은 말단 탄소 원자에 결합된 수소 원자 중 하나가 헤테로아릴 잔기로 대체된 직쇄형 또는 분지쇄형 알킬, 알케닐 또는 알킬닐기를 나타낸다. 바람직한 실시태양에서 알크헤테로아릴기는 6 내지 26원의 알크헤테로아릴, 즉, 알크헤테로아릴의 알킬, 알케닐 또는 알킬닐 잔기가 (C₁-C₆)이고, 헤테로아릴 잔기가 5 내지 20원의 헤테로아릴인 것이다. 특히 바람직한 실시태양에서 알크헤테로아릴은 6 내지 13원의 알크헤테로아릴, 즉 알킬, 알케닐 또는 알킬닐 잔기가 (C₁-C₃)이고, 헤테로아릴 잔기가 5 내지 10원의 헤테로아릴인 것이다.

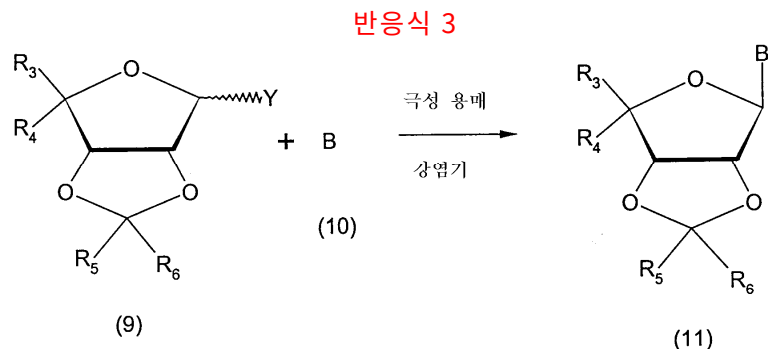
"치환된 알크헤테로아릴"은 헤테로아릴 잔기에 있는 하나 이상의 수소 원자가 서로 독립적으로 다른 치환기로 대체된 알크헤테로아릴기를 나타낸다. 전형적인 치환기는 비제한적으로 -X, -SR, -CN, -NO₂, -NRR, -OR, -CX₃, -CF₃, -C(O)R, -C(O)OR, -C(O)NRR, -C(NRR)=NR, -C(O)NROR, -C(NRR)=NOR, -NR-C(O)R, -NR-C(O)-NRR, -NR-C(O)-OR, 또는 -NR-SO₂-R을 포함하며, 여기에서 X는 할로겐이고, 각 R은 서로 독립적으로 본 명세서에서 정의한 -H, -(C₁-C₆)알킬, -(C₂-C₆)알케닐, -(C₂-C₆)알킬닐, -(C₅-C₂₀)아릴, 치환된 -(C₅-C₂₀)아릴, 5 내지 20원의 헤테로아릴, 치환된 5 내지 20원의 헤테로아릴, -(C₆-C₂₆)알크아릴, 치환된 -(C₆-C₂₆)알크아릴, 6 내지 26원의 알크헤테로아릴, 및 치환된 6 내지 26원의 알크헤테로아릴로 구성된 군에서 선택된 것이다.

"히드록실 보호기"는 비제한적으로 히드록실을 에테르 또는 에스테르로 전환시키는 기를 포함한다. 히드록실 보호기에 의해 형성된 대표적인 에테르는 메틸 에테르, 메톡시메틸 에테르, 메틸티오메틸 에테르, 2-메톡시메톡시메틸 에테르, 비스(2-클로로에톡시)메틸 에테르, 테트라히드로피라닐 에테르, 테트라히드로티오피라닐 에테르, 4-메톡시테트라히드로피라닐 에테르, 4-메톡시테트라히드로-티오피라닐 에테르, 테트라히드로푸라닐 에테르, 테트라히드로티오피라닐 에테르, 1-에톡시에틸 에테르, 1-메틸-1-메톡시에틸 에테르, 2-(페닐셀레닐)에틸 에테르, t-부틸 에테르, 알릴 에테르, 벤질 에테르, o-니트로벤질 에테르, 트리페닐메틸 에테르, α-나프틸디페닐메틸 에테르, p-메톡시페닐-디페닐메틸 에테르, 9-(9-페닐-10-옥소)안트릴 에테르, 트리메틸실릴 에테르, 이소프로필디메틸실릴 에테르, t-부틸디메틸실릴 에테르, t-부틸디페닐실릴 에테르, 트리벤질실릴 에테르, 트리이소프로필실릴 에테르, p-메톡시벤질 에테르, 3,4-디메톡시벤질 에테르, o-니트로벤질 에테르, p-니트로벤질 에테르, p-할로벤질 에테르, 2,6-디클로로벤질 에테르, p-시아노벤질 에테르, p-페닐벤질 에테르, 2- 및 4-피콜릴 에테르, 3-메틸-2-피콜릴 N-옥시도 에테르, 디페닐메틸 에테르, 트리페닐메틸 에테르, 트리페닐메틸 유도체 에테르, p-메톡시페닐디페닐메틸 에테르, 디(p-메톡시페닐) 에테르, 페닐메틸 에테르, 트리(p-메톡시페닐)메틸 에테르, 9-안트릴 에테르, 9-(9-페닐)크산테닐 에테르, 9-(9-페닐-10-옥소)안트릴 에테르, 1,3-벤조디티올란-2-일 에테르, 벤즈이소티아졸릴 S,S-디옥시도 에테르, 트리메틸실릴 에테르, 트리에틸실릴 에테르, 트리이소프로필실릴 에테르, 디메틸이소프로필실릴 에테르, 디메틸헥실실릴 에테르, t-부틸디메틸실릴 에테르, t-부틸디페닐실릴 에테르, 트리벤질실릴 에테르, 트리-p-크실릴실릴 에테르, 트리페닐실릴 에테르, 디페닐메틸실릴 에테르, 및 t-부틸메톡시페닐실릴 에테르를 포함한다. 히드록실 보호기에 의해 형성된 대표적인 에스테르는 아세테이트 에스테르, 트리클로로아세테이트 에스테르, 페녹시아세테이트 에스테르, 이소부티레이트 에스테르, 피발로에이트 에스테르, 아다만토에이트 에스테르, 벤조에이트 에스테르, 2,4,5-트리메틸벤조에이트 에스테르, 탄산 에스테르, N-페닐카르바메이트 에스테르, 질산염 에스테르, 및 2,4-디니트로페닐술페네이트 에스테르를 포함한다 [예를 들어, Greene Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 1991, John Wiley Sons, New York 참조].

본 명세서에서 사용되는 "할로겐"은 별다른 지시사항이 없으면, 클로로, 플루오로, 브로모 및 요오도를 포함한다.

본 발명은 당을 헤테로사이클과 커플링시켜 β-뉴클레오시드 및(또는) β-뉴클레오시드 유사체를 입체 선택적으로 형성시키는 개선된 방법을 제공한다. 본 발명의 방법에서, β-뉴클레오시드 또는 β-뉴클레오시드 유사체는 친핵성 극성 용매 중에서 강염기 존재하에 헤테로사이클을 푸라노실 할라이드와 커플링시킴으로써 선택적으로 합성된다. 본 발명의 커플링 반응은 α-푸라노실 할라이드가 필요 없고, 반응 결과 β 선택성이 높은 뉴클레오시드 및 뉴클레오시드 유사체를 형성시키기 때문에 유리하다. 본 발명의 방법에서 사용되는 시약이 안정하고 중금속을 사용하지 않기 때문에, 이 방법은 용이하게 대규모화하여 관심있는 β-뉴클레오시드 유사체를 킬로그램 단위로 제공할 수 있다.

본 발명의 방법은 하기 반응식 3으로 표시된다.



상기 식에서,

R_3 및 R_4 는 서로 독립적으로 수소, $(C_2 - C_6)$ 알케닐 및 $(CH_2)_n Q$ (여기에서, n 은 1 내지 6의 정수임)로 구성된 군에서 선택된 것이거나,

R_3 와 R_4 가 함께 3 내지 6개의 탄소로 이루어진 고리를 형성하고, 이 고리는 산소 및 질소로부터 선택된 0 내지 3 개의 헤테로원자를 포함하고 경우에 따라 하나 이상의 Q 로 치환되고,

R_5 및 R_6 는 서로 독립적으로 수소, Q , $(C_1 - C_6)$ 알킬, 및 하나 이상의 Q 로 치환된 $(C_1 - C_6)$ 알킬로 구성된 군에서 선택된 것이고,

Q 는 수소, $-NO_2$, $-N_3$, $-CN$, $-SR_7$, $-CX_3$, $-CF_3$, $-X$, $-OR_7$, $-C(O)OR_7$, $-C(O)R_7$, $-NR_7R_7$, $-NH-SO_2-R_7$, 및 $-SO_2R_7$ 로 구성된 군에서 선택된 것이고,

각 R_7 은 서로 독립적으로 수소, $(C_1 - C_6)$ 알킬, $(C_2 - C_6)$ 알케닐, $(C_5 - C_{20})$ 아릴, 치환된 $(C_5 - C_{20})$ 아릴, 5 내지 20원의 헤테로아릴 및 치환된 5 내지 20원의 헤테로아릴로 구성된 군에서 선택된 것이거나,

R_7 은 보호기이고,

X 는 할로젠이고,

Y 는 클로로 또는 브로미고,

B 는 푸라노스 또는 푸라노스 유사체의 아노머 탄소와 공유 결합을 형성할 수 있는 고리 내 질소가 존재하는 헤테로사이클이다.

바람직한 실시태양에서, R_3 및 R_4 는 각각 수소이다.

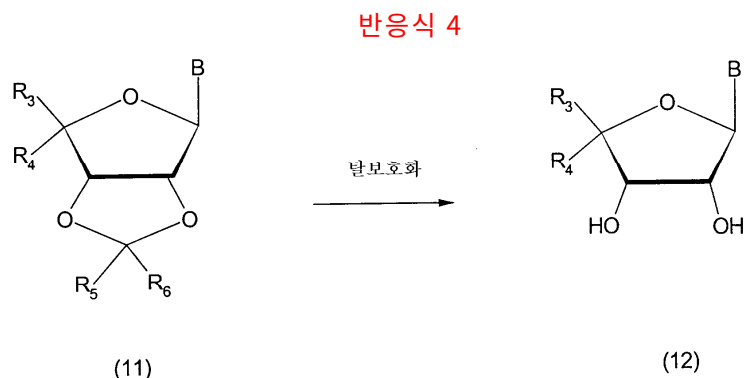
또다른 바람직한 실시태양에서, R_3 는 $-CH_2OR_7$ 이고 R_4 는 H이거나, R_3 은 H이고 R_4 는 $-CH_2OR_7$ (여기에서, R_7 은 보호기임)이다.

바람직한 실시태양에서 R_5 및 R_6 은 각각 메틸이다.

또다른 바람직한 실시태양에서, 2',3'-O-알킬리덴 푸라노실 할라이드는 2,3-O-이소프로필리덴- β -D-에리트로푸라노실 클로라이드이다.

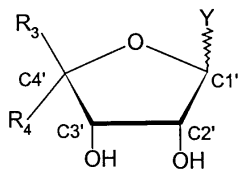
푸라노실 할라이드 (9)는 α/β 푸라노실 할라이드의 혼합물이거나 순수한 β -푸라노실 할라이드일 수 있다. 따라서, 반응 3은 α -푸라노실 할라이드가 전혀 필요하지 않다. 어떤 특정 이론에 구속되는 것은 아니나, α/β 푸라노실 할라이드 (9) 혼합물을 사용할 경우, 반응 3에서 헤테로음이온과 반응하기에 앞서 α -아노머가 β -아노머로 전환되는 것으로 여겨진다. α/β 푸라노실 할라이드 혼합물, α -푸라노실 할라이드 또는 β -푸라노실 할라이드 중 어느 것을 반응 3에 사용하든지 헤테로음이온 염기 (B)는 반응 3에 따라 합성된 화합물 (11)에서 2',3'-O-알킬 리덴과는 트랜스 위치에 있게 될 것이다.

2',3'-O-알킬리덴 β -뉴클레오시드 유사체 (11)은 통상적인 방법으로 탈보호시켜 상응하는 β -뉴클레오시드 유사체를 형성시킬 수 있다. 예를 들면, 이들은 반응식 4에 따라, 또한 하기 및 실시예에 더 상세하게 설명한 바와 같이 산 존재하에 2',3'-O-알킬리덴 β -뉴클레오시드 유사체 (11)을 히드록실 용매에 용해시킴으로써 탈보호시킬 수 있다.



다른 적절한 탈보호화 방법이 당업계에 공지되어 있다[예를 들어, Greene 및 Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 1991, John Wiley Sons, New York 참조].

본 명세서에서 사용되는 푸라노실 고리의 번호 표시 방식은 통상적인 방법을 따르고, 하기와 같다.

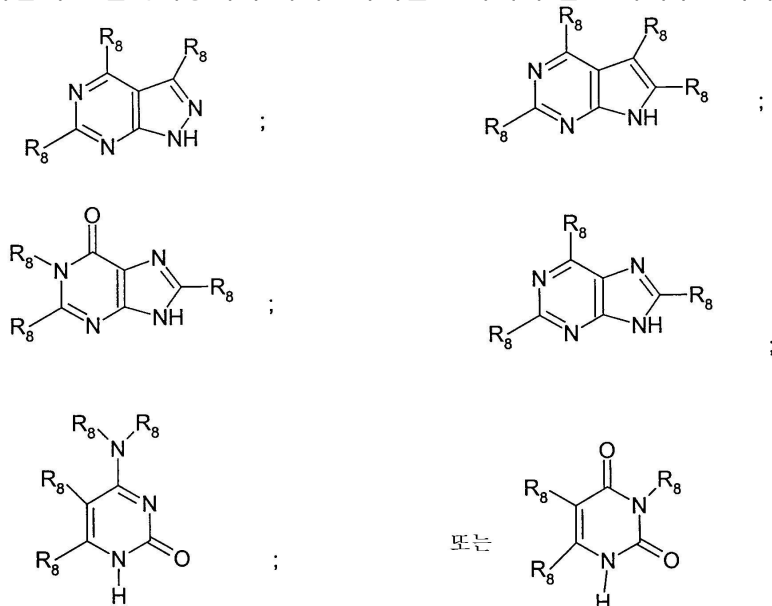


여기에서, C1'은 아노머 탄소로 정의된다. 따라서, 본 명세서에서 사용되는 용어 " β -뉴클레오시드" 및 " β -뉴클레오시드 유사체"는 C1' 아노머 탄소의 입체 화학이 β 인 화학식 (12)의 화합물을 나타낸다. 또한, 본 명세서에서 사용되는 용어 "2',3'-O-알킬리덴 β -뉴클레오시드" 및 "2',3'-O-알킬리덴- β -뉴클레오시드 유사체"는 C1' 아노머 탄소의 입체 화학이 β 인 화학식 (11)의 화합물을 나타낸다. 또한, 본 명세서에서 언급하는 모든 "뉴클레오시드 유사체"는 "뉴클레오시드"를 포함하고, 본 명세서에서 언급하는 모든 "2',3'-O-알킬리덴 β -뉴클레오시드 유사체"는 "2',3'-O-알킬리덴 β -뉴클레오시드"를 포함한다.

본 발명의 범위에 포함되는 헤테로사이클은 뉴클레오시드 또는 뉴클레오시드 유사체의 합성에 사용되는 모든 헤테로사이클을 포함한다. 이와 같은 헤테로사이클은 모두 푸라노스 (9)의 아노머 C1' 탄소와 공유 결합을 형성할 수 있는 NH를 고리 상에 포함하고 있다. 이러한 고리 상의 NH를 본 명세서에서는 "후보 NH"로 명명한다. 따라서 본 발명의 헤테로사이클은 비제한적으로 시토신, 티민 및 우라실과 같은 피리미딘, 아데닌, 구아닌, 카페인 및 테오브로민과 같은 푸린, 피롤로피리미딘, 피롤로피리미딘-4-온, 피라졸로피리미딘, 및 3-할로알로푸리놀을 포함한다[예를 들어, 미국 특허 제5,674,998호; Ramasay et al., supra, Kondo et al., supra, 및 Cottam et al, supra 참조]. 본 발명의 범위에 포함되는 헤테로사이클의 또다른 예는 문헌 [Fasman, 1980, Biochemistry and Molecular Biology, CRC Press]에 기재되어 있다. 또한, 미국 특허 제5,852,027호, 동 제5,840,743호, 동 제5,837,871호, 동 제5,830,881호, 동 제5,808,147호, 동 제5,763,596호, 동 제5,747,473호, 동 제5,744,596호, 동 제5,726,174호, 동 제5,693,771호, 동 제5,605,903호, 동 제5,246,931호, 동 제5,110,926호, 동 제4,859,677호 및 동 제4,751,292호는 본 발명의 범위에 포함되는 대표적인 뉴클레오시드 유사체 및 그에 상응하는 헤테로사이클의 몇 가지 예를 제공한다.

일반적으로, 후보 NH가 5원 방향족 고리에 존재하는 헤테로사이클이 바람직하다. 따라서, 피롤로피리미딘, 피롤로피리미딘-4-온, 피라졸로피리미딘 및 푸린과 같은 헤테로사이클이 바람직하다. 더욱 바람직하게는, 헤테로사이클이 피롤로(2,3-d)피리미딘, 피롤로(2,3-d)피리미딘-4-온, 또는 피라졸로(3,4-d)피리미딘인 것이다.

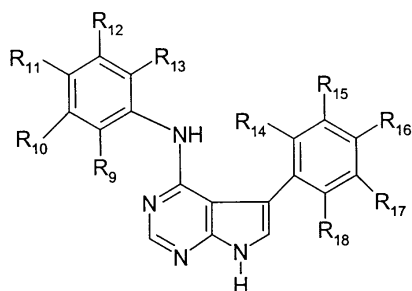
바람직한 실시태양에서 헤테로사이클은 하기와 같은 화학구조이다.



상기 식에서,

각 R_8 은 서로 독립적으로 Q, ($C_1 - C_6$)알킬, 하나 이상의 Q로 치환된 ($C_1 - C_6$)알킬, ($C_5 - C_{20}$)아릴, 하나 이상의 Q로 치환된 ($C_5 - C_{20}$)아릴, 5 내지 20원의 헤테로아릴, 하나 이상의 Q로 치환된 5 내지 20원의 헤테로아릴, ($C_6 - C_{26}$)알크아릴, 하나 이상의 Q로 치환된 ($C_6 - C_{26}$)알크아릴, 6 내지 26원의 알크헤테로아릴, 및 하나 이상의 Q로 치환된 6 내지 26원의 알크헤테로아릴로 구성된 군에서 선택된 것이고, Q는 상기에서 정의한 바와 같다.

또다른 바람직한 실시태양에서, 헤테로사이클은 하기와 같은 화학 구조이다.



상기 식에서,

$R_9, R_{10}, R_{11}, R_{12}, R_{13}, R_{14}, R_{15}, R_{16}, R_{17}$ 및 R_{18} 은 서로 독립적으로 Q, ($C_1 - C_6$)알킬, 하나 이상의 Q로 치환된 ($C_1 - C_6$)알킬, ($C_5 - C_{20}$)아릴, 하나 이상의 Q로 치환된 ($C_5 - C_{20}$)아릴, 5 내지 20원의 헤테로아릴, 하나 이상의 Q로 치환된 5 내지 20원의 헤테로아릴, ($C_6 - C_{26}$)알크아릴, 하나 이상의 Q로 치환된 ($C_6 - C_{26}$)알크아릴, 6 내지 26원의 알크헤테로아릴, 및 하나 이상의 Q로 치환된 6 내지 26원의 알크헤테로아릴로 구성된 군에서 선택된 것이고,

Q는 상기에서 정의한 바와 같다.

바람직한 실시태양에서, $R_9, R_{10}, R_{11}, R_{12}$ 및 R_{13} 은 서로 독립적으로 수소, 할로젠, $-NH_2$, $-NO_2$, $-CN$, CF_3 및 $-OCH_3$ 로 구성된 군에서 선택된 것이고,

$R_{14}, R_{15}, R_{16}, R_{17}$ 및 R_{18} 은 각각 수소이다.

더욱 바람직한 실시태양에서, R_{11} 은 플루오로이고, R_9, R_{10}, R_{12} 및 R_{13} 은 각각 수소이다.

더욱 바람직한 실시태양에서, 헤테로사이클은 5-페닐-4-N-(4-플루오로페닐)아미노피롤로(2,3-d)피리미딘이다.

본 발명의 일부 헤테로사이클 및 당은 커플링 반응 3을 하기 전에 하나 이상의 보호기를 부가할 필요가 있다. 예를 들어, 아마이드 산소 및 히드록실기는 보호를 필요로 할 수 있다. 적절한 보호기는 커플링 반응 3의 강염기 조건하에서 분해되지 않는 것이다.

본 발명의 당에 있어서, 알킬리덴을 사용하여 C2' 및 C3' 두 히드록실의 에테르를 형성시킴으로써 이들 두 히드록실기를 보호한다. 당 또는 헤테로사이클에 존재하는 다른 히드록실은 표준 히드록실 보호기를 사용하여 히드록실을 에테르 또는 에스테르로 전환시키는 방법을 비롯한 통상적인 방법으로 보호할 수 있다. 특정 히드록실을 보호하는 데 사용하는 실제 보호기는 커플링할 당 및 헤테로사이클의 정확한 성질에 따라 매우 달라진다. 히드록실을 에테르 또는 에스테르로 전환시킴으로써 보호할 경우, 몇 가지 다른 유형의 에테르 또는 에스테르가 형성될 수 있다 [상기 문헌에서 제공되는 "히드록실 보호기"의 정의, 또는 Greene Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis 참조].

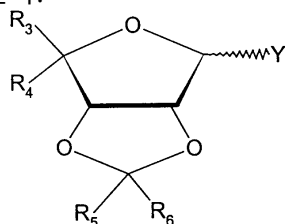
아미드를 보호하는 데 사용하는 방법은 커플링할 헤테로사이클 및 당의 정확한 성질에 따라 매우 달라진다. 아미드는 N 또는 O 알킬화함으로써 보호할 수 있다. 어떤 경우, 비제한적으로 실릴기, 포스포노티오일, 2-니트로페닐, 시아노에틸 또는 니트로페닐에틸기를 비롯한 통상적인 아미드 보호기를 사용할 수 있다 [예를 들어, Daskalov et al., 1981, Bull. Chem. Soc. Japan, 54, 3076; Jones et al, 1981, Tetrahedron Lett., 22, 4755; Gaffney and Jones, 1982, Tetrahedron Lett., 23, 2257; Trichtinger et al., 1983, Tetrahedron Lett., 24, 211 참조].

헤테로사이클에 결합된 치환기, 및 당의 R_3 및 R_4 의 정확한 관능기에 따라, 추가의 보호기가 필요할 수 있다. 그와 같은 보호기는 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 염기에 안정한 다양한 보호기를 문헌에서 찾아볼 수 있다 [Greene and Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley Sons, New York].

커플링 반응 3이 완료되면, 보호기를 제거한다. 반응 3 과정에서 푸라노실 C2' 및 C3' 히드록실을 보호한 알킬리덴기는 히드록실 용매의 존재하에 산 조건하에서 제거한다. 이러한 탈보호 단계에 적절한 산은 비제한적으로 HCl, 황산, 또는 트리플루오로아세트산을 비롯한, 알킬리덴기의 제거를 촉매하기에 충분히 강한 임의의 산을 포함한다. 적절한 히드록실 용매는 알코올 및 H_2O 를 포함한다.

에테르로 연결된 히드록실 보호기는 온화한 산성 조건을 이용하여 제거하여 유리 히드록실을 수득할 수 있다 [예를 들어, Gait, 1984, Oligonucleotide Synthesis, supra 참조]. 아실 보호된 엑소시클릭 아민은 전형적으로 진한 암모니아를 가함으로써 탈아실화시킨다 [예를 들어, Gait, 1984, Oligonucleotide Synthesis, supra 참조]. 또다른 탈보호 방법은 당업계에 공지되어 있다. 대표적인 탈보호 방법은 문헌 [Greene and Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, supra]에서 발견된다.

푸라노실 할라이드의 C2' 및 C3' 탄소가 알킬리덴으로 연결되어 화학식 (9) 에서 보이는 것과 같은 5원 고리를 형성한다.



상기 식에서, R_3, R_4, R_5, R_6 및 Y는 상기에서 정의한 바와 같다.

바람직한 실시태양에서, R_5 및 R_6 은 메틸이고, 따라서 알킬리덴은 이소프로필리덴이다.

반응식 3은 화학식 (9)의 5원 고리의 절대적인 입체화학 구조에 의존하지 않는다. 당업자는 R_5 과 R_6 이 서로 다르다면 R_5 과 R_6 이 결합하고 있는 탄소 원자가 키랄 중심임을 알 것이다. 반응식 3은 이 키랄 중심의 키랄성에 의존하지 않는다. 또한, 이 키랄 중심의 키랄성은 반응 3 중에 유지되고, 그 결과 이 키랄 중심의 입체 화학은 상응하는 β -2',3'-O-알킬리덴 뉴클레오시드 유사체 (11)에서 유지될 것이다.

반응식 3에 도시된 아노머 특이적 반응을 시키기 위해서는 친핵성 극성 용매를 사용해야 한다. 어떤 특정한 이론에 구속되고자 하는 것은 아니나, 친핵성 극성 용매가 필요한 것은 반응식 3의 반응 메커니즘에 이 용매가 관여하기 때문이라고 여겨진다. 적절한 친핵성 극성 용매는 비제한적으로 N,N-디메틸포름아미드 (DMF), 아세토니트릴, 테트라히드로푸란 (THF), 디메틸설폭사이드 (DMSO), 및 이의 혼합물을 비롯한, 헤테로사이클, 당 물질 및 강염기를 용해시킬 수 있는 임의의 용매를 포함한다. 바람직한 실시태양에서, 그와 같은 혼합물은 DMSO:용매 혼합물이다.

예상치 않은 일이지만, DMSO 및 DMSO:용매 혼합물이 다른 친핵성 극성 용매보다 더 양호한 것으로 밝혀졌다. 따라서, 친핵성 극성 용매는 바람직하게는 DMSO 또는 DMSO:용매 혼합물이다. DMSO보다 DMSO:용매 혼합물을 사용하는 것이 반응의 $\alpha:\beta$ 선택성 면에서 향상이 두드러지지 않았다. 그러나 사용하는 물질에 따라서는 DMSO보다 DMSO:용매 혼합물을 사용하는 것이 반응 3의 효과를 향상시킬 수 있다. DMSO:용매 혼합물을 사용할 경우, DMF, 아세토니트릴, THF, 및(또는) 메틸 t-부틸 에테르 (MTBE)를 사용하여 DMSO:용매 혼합물을 제조하는 것이 바람직하다. DMSO:용매 혼합물에 상당량의 DMSO, 즉, 전체 부피에 대해 약 15% (부피)이상의 DMSO (예를 들어, 약 15% 내지 약 25% (부피)의 DMSO)가 존재하는 한, 용매에 대하여 DMSO를 임의의 비율로 사용하여 DMSO:용매 혼합물을 제조할 수 있음을 예상할 수 있다. 이와 같은 DMSO:용매 혼합물은 DMF, 아세토니트릴, THF 및 MTBE로 구성된 군에서 선택된 하나 이상의 용매를 포함하는 0 내지 3부의 용액과 혼합된 1부의 DMSO를 포함할 수 있다. 따라서, 예를 들어 1부 DMSO 대 3부 MTBE로 구성된 DMSO:용매 혼합물이 반응식 3에 따른 반응을 시키기에 적절하다. 하기 표 1은 본 발명의 일부 예시적인 친핵성 극성 용매를 상술한다.

[표 1]

반응식 3에 있어서 적절한 친핵성 극성 용매의 예

용매
100% DMSO
100% DMF
100% 아세토니트릴
100% THF
1:1 DMSO:아세토니트릴
1:1 DMSO:THF
1:1 DMSO:MTBE
1:3 DMSO:MTBE

반응식 3에서 소량의 물은 용인된다. 그러나, 2부의 당 물질에 대해 1부의 물이 존재하면 커플링 반응이 상당히 약화됨을 발견하였다. 따라서, 극성의 친핵성 용매는 바람직하게는 무수인 것이고, 반응은 바람직하게는, 특히 흡습성 용매를 사용할 경우, 무수 조건하에서 수행된다. 무수 조건이 바람직하므로, 반응은 바람직하게는 헬륨, 질소 또는 아르곤과 같은 불활성 대기하에서 수행한다.

바람직한 실시태양에서, 본 발명의 방법은 2',3'-O-알킬리덴 푸라노실 할라이드를 2,3-O-이소프로필리덴- β -D-에리트로푸라노실 클로라이드로, 적절하게 보호된 헤테로사이클을 5-페닐-4-N-(4-플루오로페닐)아미노피롤로(2,3-d)피리미딘으로, 친핵성 극성 용매를 DMSO로 하여 행한다.

2',3'-O-알킬리덴 푸라노실 할라이드와 헤테로사이클의 커플링은 강염기의 존재하에 수행한다. 강염기는 음이온을 형성할 수 있는 고리 내 질소의 음이온화를 일으킨다. 푸라노실 할라이드를 음이온화된 고리 내 질소와 반응시키면 푸라노실에 의해 고리 내 질소가 알킬화된다. 헤테로사이클에 음이온화된 고리 내 질소가 하나만 있을 경우, 오직 한 가지의 알킬화된 헤테로사이클이 형성될 것이다. 헤테로사이클이 강염기에 의해서 음이온화될 수 있는 고리 내 질소를 두 개 포함하고 있을 경우, 일부 헤테로사이클은 첫 번째 고리 내 질소에서 음이온화되고 일부 헤테로사이클은 두 번째 고리 내 질소에서 음이온화된 헤테로사이클 음이온의 혼합물이 형성될 것이다. 이와 같은 헤테로사이클 음이온의 혼합물은 결과적으로 상응하는 알킬화된 헤테로사이클 생성물의 혼합물을 형성할 것이다. 헤테로사이클이 고리 내 아민을 세 개 이상 포함할 경우, 좀 더 복잡한 알킬화된 헤테로사이클 생성물의 혼합물이 형성될 수 있다. 혼합물 중의 각 알킬화된 생성물이 당과 헤테로사이클 상에 있는 다른 질소와의 커플링을 나타내는 것이므로, 알킬화된 생성물은 서로 구별되는 화학적 성질을 가지게 될 것이다. 그러므로, 원하지 않는 알킬화된 헤테로사이클이 형성된다 하더라도, 전형적으로 산 추출과 같은 통상적인 정제 방법을 이용하여 원하는 뉴클레오시드 유사체로부터 분리해 낼 수 있다. 그러나 푸라노실 할라이드 및 헤테로사이클 출발 시약을 절약하기 위해서는 원하지 않는 알킬화된 생성물을 최소화시키는 것이 바람직하다.

원하지 않는 알킬화된 헤테로사이클 생성물의 형성은 헤테로사이클 내의 원하는 질소에서 음이온을 형성하는 헤테로 사이클의 양을 최적화함으로써 최소화시킬 수 있다. 예를 들면, 5-페닐-4-N-(4-플루오로페닐)아미노피롤로(2,3-d) 피리미딘을 강염기와 혼합시키면 1번과 7번 고리 내 질소 사이에서 공명하는 음이온이 형성된다. 7번 질소의 알킬화 (N7-알킬화)는 원하는 뉴클레오시드를 형성하는 반면 1번 질소의 알킬화 (N1-알킬화)는 원하지 않는 부산물을 생성 한다. 소듐 t-부톡시드 또는 포타슘 t-부톡시드를 사용함으로써 N1-알킬화와 비교하여 N7-알킬화의 양이 최적화될 수 있음을 우연히 발견하였다. 따라서, 하기 실시예 2에 기재하는 바와 같이, 소듐 t-부톡시드를 사용하여 N7- 대 N1-알킬화된 헤테로사이클의 3:1 혼합물이 생성될 수 있다. N1-알킬화된 헤테로사이클이 N7-알킬화된 헤테로사이클 보다 더 염기성이므로, 산 추출함으로써 N7:N1 알킬화된 헤테로사이클 혼합물로부터 N1-알킬화된 헤테로사이클이 쉽게 제거된다.

고리 내에 NH를 포함하는 헤테로사이클의 음이온을 형성시킬 수 있는 임의의 강염기는 본 발명의 범위에 속한다. 적절한 염기는 일반적으로 수산화나트륨 또는 수산화칼륨과 같은 알칼리 금속 수산화물, 알칼리 t-부톡시드 및 알칼리 t-펜톡시드 (알칼리 아밀레이트)와 같은 (C₄-C₁₀)알칼리 금속 알콕시화물뿐 아니라 알칼리 금속 수소화물을 포함 한다. 어떤 경우에는, Mg(OH)₂ 또는 Ca(OH)₂와 같은 알칼리 토금속 수산화물이 제한된 정도까지 반응식 3에서 작용할 수 있다. 그러나, 알칼리 토금속 염기는 일반적으로 그다지 효과적으로 작용하지 못할 것으로 여겨진다. 본 발명의 강염기는 일반적으로 알칼리 금속 염기이지만, 알칼리 금속 중 리튬은 물리적 특성 때문에 매우 미약하게 작용할 것으로 생각된다. 바람직한 강염기는 알칼리 금속 수소화물 또는 알칼리 t-부톡시드이다. 더욱 바람직하게는, 강염기는 수소화 나트륨, 수소화 칼륨, 소듐 t-부톡시드, 소듐 t-펜톡시드, 포타슘 t-부톡시드 또는 포타슘 t-펜톡시드이다. 더더욱 바람직하게는 강염기는 소듐 t-부톡시드 또는 포타슘 t-부톡시드이다. 가장 바람직하게는, 강염기는 소듐 t-부톡시드이다.

콘도 등은 강염기 수소화 나트륨 및 친핵성 극성 용매 DMF를 사용하는 뉴클레오시드 유사체를 합성하는 방법을 교 시한다. 그러나, 콘도 등은 $\alpha:\beta$ 비율이 낮은 뉴클레오시드를 합성하지 못하였다. 이 선택성 문제를 해결하기 위해 콘 도 (등은 첨가제로서 다양한 염의 사용을 시도하였다. 그러나 아노머 선택성을 향상시키기 위한 수많은 시도를 거쳤 음에도, 그들은 수소화 나트륨/DMF를 이용하는 방식을 사용하여 1:2의 뉴클레오시드 생성물 $\alpha:\beta$ 비를 달성할 수 있었을 뿐이다. 본 발명의 방법은 콘도 등보다 더 나은 (즉, 더 낮은) 뉴클레오시드 생성물의 $\alpha:\beta$ 비를 제공한다. 4-N-(4-플루오로페닐)아미노-5-페닐-1-(β -D-에리트르푸라노실)피롤로-(2,3-d)피리미딘 (하기 실시예 4의 표제 화합물)의 합성에 DMSO 및 소듐 t-부톡시드를 사용하는 경우, 뉴클레오시드 생성물의 $\alpha:\beta$ 비는 1:100 미만이었다. 사용하는 특정한 당 및 헤테로음이온 물질에 따라 본 발명의 방법은 뉴클레오시드 생성물의 훨씬 더 나은 $\alpha:\beta$ 비를 제공할 수 있다. 그러나, 사용하는 특정한 당 및 헤테로음이온에 따라 본 발명의 방법은 일반적으로 뉴클레오시드 생 성물의 $\alpha:\beta$ 비가 1:2 미만, 더욱 전형적으로는 1:50 미만, 종종 1:100 미만 또는 그보다 더 양호하게 제공할 수 있 다. 본 발명의 방법은 콘도 등이 사용한 수소화 나트륨과 DMF의 조합이 적절하지 않음을 시사한다. 일반적으로 본 발 명의 방법은 사용하는 당 및 헤테로음이온에 상관없이 콘도 등보다 뉴클레오시드 생성물의 더 나은 (즉, 더 낮은) $\alpha:\beta$ 비를 제공할 것이다.

일반적으로, 강염기 대 헤테로사이클의 몰비는 약 1:1 내지 약 8:1의 범위에 포함된다. 반응 3을 효과적으로 진행하 려면 강염기 대 헤테로사이클의 몰비가 약 1:1 이상 필요한 것으로 측정되었다. 강염기 대 헤테로사이클의 몰비를 약 1:1 몰비 미만으로 사용하더라도 뉴클레오시드 유사체를 일부 형성한다. 그러나, 반응 3 이 조기에 종료되어 시약의 상당량이 낭비되는 결과를 가져올 것이다. 이를 방지하기 위해서, 강염기 대 헤테로사이클의 몰비가 약 2:1 내지 4:1 인 것을 전형적으로 사용한다.

반응식 3은 일반적으로 실온에서 (약 20°C 내지 약 30°C) 수행한다. 약 40°C 내지 약 50°C와 같은 승온이라 하더라도 반응 3의 수율이나 뉴클레오시드 또는 뉴클레오시드 유사체 생성물의 $\alpha:\beta$ 비율에 있어서 이로온 효과는 없는 것으 로 밝혀졌다.

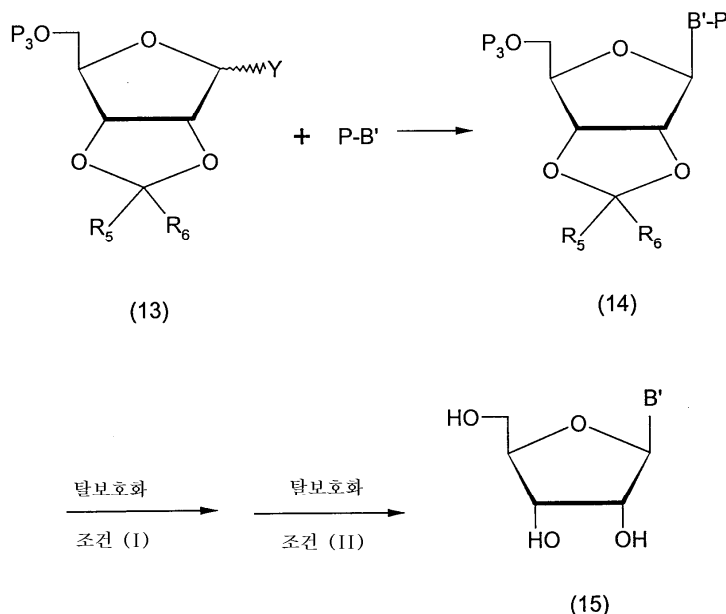
반응 3은 헤테로사이클에 대한 2',3'-O-알킬리덴 푸라노실 할라이드의 몰비에는 의존하지 않는다. 2',3'-O-알킬리덴 푸라노실 할라이드 대 헤테로사이클의 몰비는 약 1:1 내지 약 3:1이 사용될 수 있고, 3:2 내지 2:1의 몰비가 전형적으 로 사용된다. 바람직하게는 2',3'-O-알킬리덴 푸라노실 할라이드 대 헤테로사이클의 몰비는 약 3:2이다.

반응 3은 수율의 감소없이 대규모화할 수 있다. 예를 들면, 반응 3은 그램 단위 (하기 실시예 2) 및 킬로그램 단위 (하 기 실시예 3)의 2',3'-O-알킬리덴 푸라노실 할라이드 및 헤테로사이클을 사용하여 성공적으로 완결되었다. 본 발명의 방법을 사용하여 생성된 뉴클레오시드 유사체의 $\alpha:\beta$ 비는 일반적으로, 선행 기술의 반응에 의해 생성된 것보다 상 당히 더 양호하다(즉, 더 낮음). 예를 들면, 실시예 2에서, $\alpha:\beta$ 비는 1:100 미만이었다. 최종 생성물의 고성능 액체 크로마토그래피 (HPLC)로는 α -뉴클레오시드 생성물을 전혀 관측할 수 없었으므로, 이 비는 줄잡아 어림한 것이다. 실제로는, $\alpha:\beta$ 비가 1:100 보다 훨씬 더 낮을 수 있다.

반응 3을 완결시키는 데 필요한 시간의 길이는 사용하는 강염기 및 구체적인 2',3'-O-알킬리덴 푸라노실 할라이드 및 헤테로사이클에 따라 달라진다. 그러나, 일반적으로 반응 3은 약 2시간 이내에 완료될 것으로 생각된다. 4-N-(4-플 루오로페닐)아미노-5-페닐-1-(2,3-O-이소프로필리덴- β -D-에리트르푸라노실)피롤로-(2,3-d)피리미딘의 경우, 반응 시간을 14 내지 15시간 정도로 하는 것이 2 시간의 반응 시간에 비해서 수율의 양에서 어떠한 향상도 제공하지 않는 것으로 밝혀졌다. 반응은 HPLC를 사용하여 반응 샘플 내에서 출발 물질이 사라지는 것을 확인함으로써 관측한 다.

또다른 실시태양에서, 본 발명은 리보푸린 및 리보피리미딘을 합성하는 방법을 제공한다. 이 실시태양에서, 리보푸린 은 하기 반응식 5에 따라 합성된다.

반응식 5



상기 식에서,

Y, R₅ 및 R₆ 은 상기에서 정의한 바와 같고,

P₃ 은 염기에 안정한 히드록실 보호기이며, 비제한적으로 히드록실의 에스테르 또는 에테르를 형성할 수 있는 기를 포함하고,

P-B'은 적절하게 보호된 푸린 또는 피리미딘이다.

반응식 5에서, 보호된 β-리보실 할라이드 (13)을 적절하게 보호된 푸린 또는 피리미딘 (P-B')과 반응시켜 각각 보호된 β-리보푸린 또는 β-리보피리미딘 (14)를 얻는다. 2',3'-O-알킬리덴 기, 5' 히드록실 보호기 P₃ 및 푸린 또는 피리미딘 염기 (P) 상에 존재하는 임의의 보호기는 이어서 한 번 이상의 탈보호화 단계를 거쳐 제거된다. P₃ 보호기는 비제한적으로 상기 문헌 및 문헌 [Greene Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, supra]에 기재된 통상적인 에테르 또는 에스테르를 형성하는 임의의 보호기를 포함하되, 보호기는 염기에 안정한 것이다.

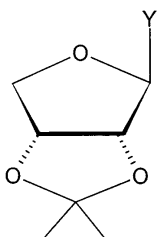
본 발명의 방법에 따라 합성된 뉴클레오시드 유사체는 핵산의 표지화, 검출 및 분석용으로 유용한 시약이다. 또한, 뉴클레오시드 유사체는 키나제, 기라제 및 역전사효소와 같은 중요한 거대분자 표적에 대한 억제 활성을 시험하기 위한 목적으로 뉴클레오시드 유사체의 조합 라이브러리 (library)를 발생시키는 데 사용할 수 있다. 그와 같은 거대분자 표적에 대한 억제 활성을 지닌 라이브러리 내 뉴클레오시드 유사체는 염증 또는 후천성 면역 결핍증 등의 감염 질환과 같은 임상 증상을 경감시키는 약제 개발을 위한 선도 화합물로 활용될 수 있다.

반응식 3에 따라 합성된 뉴클레오시드 유사체의 일부는 아데노신 키나제 억제제로서 특별한 유용성을 갖는다 [미국 특허 제5,674,998호 참조]. 아데노신 키나제 억제제는 발작과 같은 신경성 상태를 치료하는 데 유용성을 보인다 [동 문헌]. 미국 특허 제5,674,998호에서는 4-페닐아미노-5-페닐-7-(4-히드록시메틸-1-β-D-리보푸라노실)피롤로(2,3-d)피리미딘, 4-N-(4-플루오로페닐아미노)-5-페닐-7-(4-스피로시클로프로필-β-D-에리트로푸라노실)피롤로(2,3-d)피리미딘 및 4-페닐아미노-5-페닐-7-(1-β-D-에리트로푸라노실)-피롤로(2,3-d)피리미딘은 모두 나노몰 수준에서 부분적으로 정제된 돼지 심장 아데노신 키나제의 억제제임이 기재되어 있다. 또한, 반응 3에 따라 합성된 뉴클레오시드 유사체의 일부는 만성 통증을 치료하는 데 사용할 수 있다.

본 명세서에서 언급하는 화학 구조식은 호변 이성질, 형태 이성질, 기하 이성질 및(또는) 입체 이성질 현상을 나타낼 수 있다. 본 명세서에 도시된 화학식은 가능한 호변, 형태 이성질, 기하 이성질 또는 입체 이성질 형태 중 하나를 대표하는 것뿐이므로, 본 발명은 본 명세서에서 정의된 생물학적 또는 제약학적 활성을 나타내는 임의의 호변, 형태 이성질, 기하 이성질 또는 입체 이성질 형태를 포함하는 것으로 이해하여야 한다.

<실시예>

실시예 1 : 2,3-O-이소프로필리덴-β-D-에리트로푸라노실 클로라이드 (10a)의 합성



상기 식에서, Y=Cl (10a), Y=Br (10b).

중간체 : 2,3-O-이소프로필리덴-D-에리트로즈

2,3-O-이소프로필리덴-D-에리트로즈를 판스타일 (Pfansteihl)사로부터 구입하거나, 문헌 [Cohen et al., 1983, J. Am. Chem. Soc., 105, 3661-3672]의 방법에 따라 2,3-O-이소프로필리덴-D-에리트로놀락톤을 디이소부틸알루미늄 히드라이드로 환원시킴으로써 제조하였다. 시약 2,3-O-이소프로필리덴-D-에리트로놀락톤은 알드리치 (Aldrich)사로부터 구매 가능하거나 문헌 [Organic Synthesis Coll. Vol. VII, 297쪽]에 기재된 바와 같이 이소-아스코르브산으로부터 합성할 수 있다.

표제 화합물

표제 화합물의 합성은 문헌 [Ireland et al., 1978, Org. Chem., 43, 786-787, 및 Lerner et al., 1969, Carbohydr. Res., 9, 1-4]의 방법에 따라 수행하였다. 구체적으로, CH_2Cl_2 (250 mL) 및 피리딘 (40 mL) 중의 2,3-O-이소프로필리덴-D-에리트로즈 (20.0 g, 125 mmol)의 용액을 빙수조에서 냉각시켰다. 이 혼합물에 SOCl_2 (10 mL, 137.8 mmol)을 내부 온도가 5°C 이하로 유지되는 속도로 적가하였다(첨가 시간이 35분 걸림). 분취량을 취하여 반응을 ^1H NMR로 확인하여 출발 물질이 사라졌음을 확인하였다. SOCl_2 첨가를 완료한 15분 후에, 이 차가운 용액을 H_2O (500 mL) 및 디이소프로필 에테르 (500 mL)에 가하였다. 층을 분리하여 유기층을 0.5 M HCl (500 mL)로 추출하여 잔류 피리딘을 제거하였다. 그런 다음 유기층을 포화 NaHCO_3 (300 mL)로 추출하고, K_2CO_3 상에서 건조하였다. 이 용액을 여과하고, 농축시켜 16.96 g (76%)의 표제 화합물을 백색 결정성 고상물로서 수득하였다.

mp = 57.0-58.3°C (문헌에 보고된 값 (Lit.) = 60-61.5°C, 거울상 이성질체의 문헌 값 : 59-60°C).

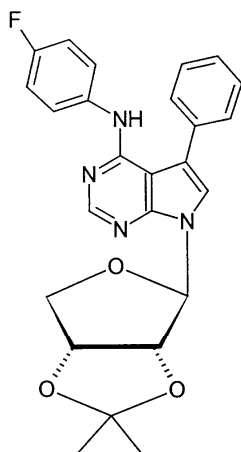
$[\alpha]_D$: -167 (c 2.0, CH_2Cl_2) [문헌 값 $[\alpha]_D$: -167 (c 0.8, CHCl_3), 거울상 이성질체의 문헌값 $[\alpha]_D$: +168 (α 2.0, CH_2Cl_2)].

^1H NMR (300 MHz, d_6 -DMSO) : 1.28 (s, 3), 1.38 (s, 3), 4.05 (dd, 1, J=3.4, 10.9), 4.13 (d, 1, J=10.9), 4.95 (d, 1, J=5.9), 5.00 (dd, 1, J=3.3, 5.9), 6.46 (s, 1).

^{13}C NMR (75 MHz, d_6 -DMSO) : δ 25.83, 27.16, 74.74, 79.38, 89.44, 101.07, 113.17.

원소 분석 $\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{O}_3$ Cl의 계산치 : C, 47.07; H, 6.21.

측정치 : C, 47.24; H, 6.20.

실시예 2 : 4-N-(4-플루오로페닐)아미노-5-페닐-1-(2,3-O-이소프로필리덴-β-D-에리트로푸라노실)피롤로-(2,3-d)피리미딘 (CJ-19039)의 합성**중간체 : 5-페닐-4-N-(4-플루오로페닐)아미노피롤로-(2,3-d)피리미딘**

5-페닐-4-N-(4-플루오로페닐)아미노피롤로-(2,3-d)피리미딘의 합성은 미국 특허 제5,674,998호의 방법에 따라 수행하였다.

표제 화합물

DMSO (75 mL) 중의 5-페닐-4-N-(4-플루오로페닐)아미노피롤로-(2,3-d)피리미딘 (9.00 g, 29.6 mmol)의 용액에 소듐 t-부톡사이드 (8.56 g, 89.1 mmol)를 가하였더니 내부 온도가 20°C에서 28°C로 상승하였다. 이 용액에 2,3-O-이소프로필리덴-β-D-에리트로푸라노실 클로라이드 (화합물 10a, 7.97 g, 44.6 mmol)를 가하였다. 내부 온도가 2 내지 3분에 걸쳐서 26°C에서 44°C로 상승하였다. 총 반응시간 30분 후에, 이 용액을 H_2O (400 mL) 및 메틸 t-부틸 에테르 (275 mL)에 가하였다. 상을 분리하고, 유기층을 0.5 M HCl (1×200 mL, 1×100 mL)로 추출하고, 포화 NaHCO_3 수용액 (100 mL)으로 다시 추출하여, MgSO_4 상에서 건조하고, 여과한 후 농축시켜 노란색의 습한 고상물을 수득하였다. 이 물질에 이소프로필 에테르 (70 mL)를 가하고, 불균질한 혼합물을 가열하여 2시간 동안 환류시켰다. 0°C로 냉각시키면서, 용액을 여과하고 고상물을 차가운 디이소프로필 에테르 (75 mL)로 헹구어서, (건조 후) 6.2122 g (47%)의 표제 화합물을 노란색 분말로 수득하였다. HCl 추출을 하여 원하지 않는 N-1 알킬화된 헤테로사이클을 모두 효과적으로 제거하였다. 추가 정제를 위하여, 표제 화합물을 대략 25배 부피의 디이소프로필 에테르로부터 재결정할 수도 있다. 표제 화합물의 α:β 아노머 비율은 1:100 미만이었다.

mp = 143.0-144.1°C. $[\alpha]_D$: -77.2 (c 1.0, CH_3COCH_3).

^1H NMR (300 MHz, d_6 -DMSO) : δ 1.33 (s, 3), 1.51 (s, 3), 4.08 (d, 1, J=10.6), 4.20 (dd, 1, J=3.7, 10.7), 5.29 (dd, 1, J=3.4, 5.8), 5.42 (d, 1, J=5.9), 6.32 (s, 1), 7.12-7.20 (m, 2), 7.40-7.47 (m, 1), 7.51-7.65 (m, 8), 8.39 (s, 1).

^{13}C NMR (75 MHz, d_6 -DMSO) : 24.79, 26.47, 74.38, 81.11, 84.47, 90.08, 101.93, 112.10, 115.40 (d, $J=22$), 116.21, 123.34 (d, $J=8$), 123.71, 127.47, 128.91, 129.23, 134.17, 135.80, 150.48, 151.41, 153.95, 158.06 (d, $J=238$).

원소 분석 $\text{C}_{25}\text{H}_{23}\text{N}_4\text{O}_3\text{F}$ 의 계산치 : C, 67.25; H, 5.19; N, 12.55.

측정치 : C, 67.11; H, 5.17; N, 12.60.

질량 분석 : $\text{AP}^+=447.2$, $\text{AP}^-=445.2$.

실시예 3 : 4-N-(4-플루오로페닐)아미노-5-페닐-1-(2,3-O-이소프로필리덴-β-D-에리트로푸라노실)피롤로-(2,3-d)피리미딘 (CJ-19039)의 합성 - 파일럿 공장 규모

5-페닐-4-N-(4-플루오로페닐)아미노피롤로(2,3-d)피리미딘을 약 2 kg 사용하는 수준으로 이 반응의 규모를 키우기에 앞서 약 500 g 수준의 파일럿 반응을 행하였다. 파일럿에서 얻은 순수한 생성물을 하기에 기재된 반응물과 혼합하고 다량의 반응물을 최종 정제하여 한 무더기의 생성물을 수득하였다. 수율은 500 g 및 2 kg 반응의 조합을 반영하여 조정하였다. 두 반응의 조건은 규모를 제외하고는 동일하였다. 따라서, 2 kg을 사용한 반응만 하기에 상세하게 기재한다.

중간체 1 : 2,3-O-이소프로필리덴-D-에리트로즈

2,3-O-이소프로필리덴-D-에리트로즈를 실시예 1에 기재된 방법에 따라 제조하였다.

중간체 2 : 2,3-O-이소프로필리덴-β-D-에리트로푸라노실 클로라이드 (10a)

테트라히드로푸란 (THF) (19 L) 및 피리딘 (1.1 L) 중의 2,3-O-이소프로필리덴-D-에리트로즈 (2 kg, 12.5 mol)의 용액을 0 내지 5°C로 냉각시켰다. 이 혼합물에 SOCl_2 (960 mL, 13.1 mol)을 내부 온도가 15°C 이하로 유지되는 속도로 서서히 가하였다. 이 첨가는 50분 걸렸다. SOCl_2 의 첨가가 완료된 후 10분 후에 반응의 분취량을 취하고 분취량을 ^1H NMR로 확인함으로써 출발 물질이 사라짐을 확인하였다. 그런 다음 용액을 0.5 kg의 셀라이트 상에서 여과하고 THF로 행구었다. 하기에 기재한 바와 같이, 이 표제 화합물의 THF 용액을 CJ-19039를 합성하기 위한 커플링 반응에 그대로 사용하였다.

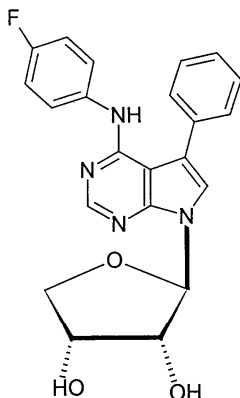
중간체 3 : 5-페닐-4-N-(4-플루오로페닐)아미노피롤로(2,3-d)-피리미딘

5-페닐-4-N-(4-플루오로페닐)아미노피롤로(2,3-d)-피리미딘의 합성을 미국 특허 제5,674,998호의 방법에 따라 수행하였다.

표제 화합물

DMSO (20 L) 중의 5-페닐-4-N-(4-플루오로페닐)아미노피롤로(2,3-d)-피리미딘 (2.2 kg, 7.23 mol)의 용액에 소듐 t-부톡사이드 (3.6 kg, 37.5 mol)를 가하였더니, 5°C의 발열반응을 일으켰다. 반응 용액에 2,3-O-이소프로필리덴-β-D-에리트로푸라노실 클로라이드 (상기에서 얻은 것, 이론치 2.2 kg, 12.5 mol)의 THF 용액을 45분에 걸쳐 가하였다. 반응물을 밤새 교반시킨 후, 물 (100 L) 및 메틸 t-부틸 에테르 (100 L)에 부어 킨칭시켰다. 상을 분리하고, 유기층을 1M HCl (3×25 L)로 추출하고, 유기층을 4 kg 실리카겔 패드 상에서 여과하였다. 여과액을 대기압하에서 약 15 L로 농축시키고, 디이소프로필에테르 (70 L)를 가하고, 계속하여 농축시켜 최종 부피가 약 30 L가 되게 하였다. 이 시점에서, 약 500 g 파일럿 수행으로부터 얻은 325 g의 순수한 표제 화합물을 조-표제 화합물과 함께 블렌딩하여 최종 결정화하였다. 용액을 0 내지 5°C로 냉각시켜 과립화하고, 여과하여 1.87 kg의 표제 화합물 (약 500 g 파일럿 수행에서 얻은 325 g의 표제 화합물을 가한 것을 뺀 후 48%)을 수득하였다. 여과액을 농축시키고, 메틸 t-부틸 에테르 (18 L)를 가 하였다. 이 유기층을 1 M HCl (4×3 L)로 추출하고 나서 대기압하에서 2 L로 농축시켰다. 이 혼합물에 디이소프로필 에테르 (6 L)를 가하고 용액의 부피를 4 L로 농축시켰다. 0°C에서 2시간 동안 과립화한 후에, 고상물을 여과하여 198 g (6%)의 표제 화합물을 2차로 수득하여, 약 2 kg 수행에서 표제 화합물의 합친 수율이 54%가 되었다. HCl 추출하여 원하지 않는 N1-알킬화된 헤테로사이클을 모두 효과적으로 제거하였다.

실시예 4 : 4-N-(4-플루오로페닐)아미노-5-페닐-1-(β-D-에리트로푸라노실)피롤로-(2,3-d)피리미딘의 합성



이소프로판올 (15 mL) 중의 CJ-19039 (실시예 3) (2.6680 g, 5.975 mmol)의 용액에 0.5 M HCl (15 mL)을 가하였다. 불균질 용액을 80°C로 가열하였다. 50분 후에, 이 용액은 균질하게 되었다. 80°C에서 총 3시간 후에, 다르코 (Darco) 활성화된 목탄 (360 mg)을 가하고 가열을 중지하였다. 목탄 첨가 후 1.75 시간 동안 교반시킨 후에 용액을 셀라이트를 통하여 여과시키고, 고상물을 1:1 이소프로판올:H₂O (15 mL)로 행구었다. 빠르게 교반시키면서 1 M NaOH (7.5 mL)를 가하여 모은 여과액으로부터 생성물을 침전시키고, H₂O (20 mL)를 가하여 슬러리를 교반시키기 쉽게 하였다. 그런 다음, 고상물을 여과하고 고상물을 H₂O (15 내지 20 mL)로 행구었다. 연한 분홍색의 분말에 50 m

L의 무수 EtOH를 가하고, 이 용액을 가열하여 환류시켰다. 고상물이 모두 용해될 때까지 고온의 에탄올을 몇 번에 걸쳐서 가하였다 (15분에 걸쳐서 총 15 mL의 EtOH를 가하였다). 교반을 중단하고, 이 용액을 서서히 실온으로 냉각시켰다. 실온으로 냉각시킨 후, 플라스크를 냉장고 (약 0°C)에 밤새 보관하여 결정을 얻었다. 그런 다음 여과하여 결정을 수거하고, 고상물을 차가운 EtOH (20 mL)로 헹구어 2.1044 g (87%)의 표제 화합물을 약간 분홍색의 결정으로 수득하였다.

mp = 194.8-195.2°C. $[\alpha]_D^{25}$: -91.7 (c 1.0, CH₃COCH₃).

¹H NMR (300 MHz, d₆-DMSO) : δ 3.82 (d, 1, J=9.2), 4.24-4.31 (m, 1), 4.38 (dd, 1, J=3.7, 9.4), 4.70-4.78 (m, 1), 5.23 (d, 1, J=3.9), 5.44 (d, 1, J=6.7), 6.20 (d, 1, J=6.9), 7.15 (ap. t, 2, J=8.7), 7.42 (app t, 1, J=7.2), 7.50-7.66 (m, 7), 7.76 (s, 1), 8.40 (s, 1).

¹³C NMR (75 MHz, d₆-DMSO) : δ 70.56, 73.47, 74.99, 87.16, 102.03, 115.41 (d, J=22), 116.36, 122.17 (d, J=8), 122.74, 127.38, 128.88, 129.23, 134.38, 136.01, 151.27, 151.54, 153.92, 158.01 (d, J=240).

원소 분석 C₂₂H₁₉N₄O₃F의 계산치 : C, 65.02; H, 4.71; N, 13.79.

측정치 : C, 64.96; H, 4.64; N, 13.92.

질량 분석 : AP+=407.1, AP-=405.2.

본 발명은 본 발명의 한 측면을 설명하기 위한 의도로 예시한 실시태양에 의해 범위가 제한되지 않으며, 기능적으로 대등한 임의의 화합물 및 그의 사용 방법은 본 발명의 범위 내에 속한다. 실제로, 상기 기재 및 그에 수반된 도면으로부터, 본 명세서에 기재한 것에 추가하여 본 발명을 다양하게 변형할 수 있음은 당업자에게는 명백할 것이다. 그와 같은 변형은 본 발명의 첨부된 청구항의 범위에 속하는 것이다. 특별한 지시사항이 없는 한, 입체 화학에 대한 언급은 모두 엄밀하게 누클레오시드 및(또는) 푸라노실 할라이드의 α 및 β 아노머에 대한 언급이다.

본 명세서에 인용된 모든 참고문헌 및 특허는 그 내용을 모두 본 발명에 참고로 포함한다.

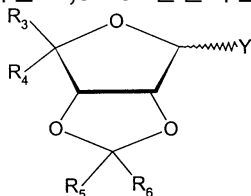
발명의 효과

본 발명은 당을 헤테로사이클과 커플링시켜 β-누클레오시드 및(또는) β-누클레오시드 유사체를 입체 선택적으로 형성시키는 개선된 방법을 제공한다. 본 발명의 방법에서, β-누클레오시드 또는 β-누클레오시드 유사체는 친핵성 극성 용매 중에서 강염기 존재하에 헤테로사이클을 푸라노실 할라이드와 커플링시킴으로써 선택적으로 합성된다. 본 발명의 커플링 반응은 α-푸라노실 할라이드가 필요 없고, 반응 결과 β 선택성이 높은 누클레오시드 및 누클레오시드 유사체를 형성시키기 때문에 유리하다. 본 발명의 방법에서 사용되는 시약이 안정하고 중금속을 사용하지 않기 때문에, 이 방법은 용이하게 대량화하여 관심있는 β-누클레오시드 유사체를 킬로그램 단위로 제공할 수 있다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

극성 용매 중에서 강염기 존재하에, 하기 화학식의 2',3'-O-알킬리덴 푸라노실 할라이드를 푸라노스 또는 푸라노스 유사체의 아노머 탄소와 공유 결합을 형성할 수 있는 고리 내 질소가 존재하는 헤테로사이클과 반응시키는 것을 포함하는 2',3'-O-알킬리덴 β-누클레오시드 유사체의 제조 방법.



상기 식에서,

R₃ 및 R₄는 서로 독립적으로 수소, (C₂-C₆)알케닐 및 (CH₂)_nQ (여기에서, n은 1 내지 6의 정수임)로 구성된 군에서 선택된 것이거나,

R₃와 R₄가 함께, 3 내지 6개의 탄소로 이루어진 고리를 형성하고, 이 고리가 산소 또는 질소로부터 선택된 0 내지 3개의 헤테로원자를 포함하고 경우에 따라 하나 이상의 Q로 치환되고,

R₅ 및 R₆은 서로 독립적으로 수소, Q, (C₁-C₆)알킬 및 하나 이상의 Q로 치환된 (C₁-C₆)알킬로 구성된 군에서 선택된 것이고,

Q는 수소, -NO₂, -N₃, -CN, -SR₇, -CX₃, -CF₃, -X, -OR₇, -C(O)OR₇, -C(O)R₇, -NR₇R₇, -NH-SO₂-R₇ 및 -SO₂R₇으로 구성된 군에서 선택된 것이고,

각 R₇은 서로 독립적으로 수소, (C₁-C₆)알킬, (C₂-C₆)알케닐, (C₅-C₂₀)아릴, 치환된 (C₅-C₂₀)아릴, 5 내지 20원의 헤테로아릴, 치환된 5 내지 20원의 헤테로아릴로 구성된 군에서 선택된 것이거나,

R₇은 보호기이고,

X는 할로젠이고,

Y는 클로로 또는 브로모이다.

청구항 2.

제1항에 있어서, 2',3'-O-알킬리덴 푸라노실 할라이드 대 헤테로사이클의 몰비가 약 1:1 내지 약 3:1의 범위인 방법.

청구항 3.

제1항에 있어서, 강염기 대 헤테로사이클의 몰비가 약 1:1 내지 약 8:1인 방법.

청구항 4.

제1항에 있어서, 강염기가 수소화 나트륨, 수소화 칼륨, 수산화 나트륨, 수산화 칼륨, 소듐 t-부톡사이드, 소듐 t-펜톡사이드, 포타슘 t-부톡사이드 및 포타슘 t-펜톡사이드로 구성된 군에서 선택된 것인 방법.

청구항 5.

제1항에 있어서, 강염기가 소듐 t-부톡사이드 또는 포타슘 t-부톡사이드인 방법.

청구항 6.

제1항에 있어서, 극성 용매가 친핵성 극성 용매인 방법.

청구항 7.

제6항에 있어서, 친핵성 극성 용매가 헤테로사이클, 2',3'-O-알킬리덴 푸라노실 할라이드 및 강염기를 용해시킬 수 있는 용매인 방법.

청구항 8.

제7항에 있어서, 친핵성 극성 용매가 N,N-디메틸포름아미드 (DMF), 아세토니트릴, 테트라히드로푸란 (THF), DMSO 및 그의 혼합물로 구성된 군에서 선택된 것인 방법.

청구항 9.

제8항에 있어서, 친핵성 극성 용매가 DMSO인 방법.

청구항 10.

제7항에 있어서, 친핵성 극성 용매가 DMSO:용매 혼합물인 방법.

청구항 11.

제10항에 있어서, 친핵성 극성 용매가 DMSO와 DMF, 아세토니트릴, THF 및 MTBE로 구성된 군에서 선택된 용매와의 혼합물인 방법.

청구항 12.

제10항에 있어서, DMSO:용매 혼합물 중의 DMSO의 퍼센트 부피가 약 15% 이상인 방법.

청구항 13.

제8항에 있어서, 친핵성 극성 용매가 DMF, 아세토니트릴, THF 및 MTBE로 구성된 군에서 선택된 하나 이상의 용매를 포함하는 약 0 내지 3부의 용액과 혼합된 1부의 DMSO인 방법.

청구항 14.

제8항에 있어서, 친핵성 극성 용매가 DMSO, DMF, 아세토니트릴, THF, 1:1 (부피비) DMSO:아세토니트릴, 1:1 DMSO:THF, 1:1 DMSO:MTBE, 및 1:3 DMSO:MTBE로 구성된 군에서 선택된 것인 방법.

청구항 15.

제1항에 있어서, 2',3'-O-알킬리덴을 제거하여 β-뉴클레오사이드 유사체를 수득하는 단계를 더 포함하는 방법.

청구항 16.

제15항에 있어서, 2',3'-O-알킬리덴기가 히드록실 용매 존재하에 산을 사용하여 β-2',3'-O-알킬리덴 뉴클레오사이드 유사체로부터 제거되는 방법.

청구항 17.

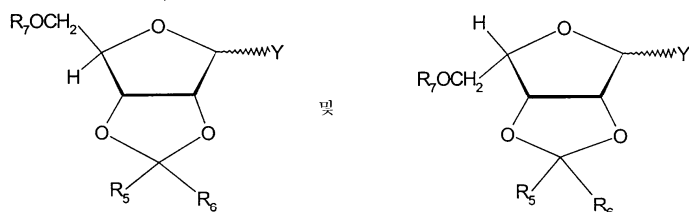
삭제

청구항 18.

제1항에 있어서, R₃ 및 R₄가 각각 수소인 방법.

청구항 19.

제1항에 있어서, 2',3'-O-알킬리덴 푸라노실 할라이드가 하기의 화학식으로 구성된 군에서 선택된 화학식을 갖는 방법.



상기 식에서, R₅ 및 R₆은 제1항에서 정의한 바와 같고, R₇은 보호기이다.

청구항 20.

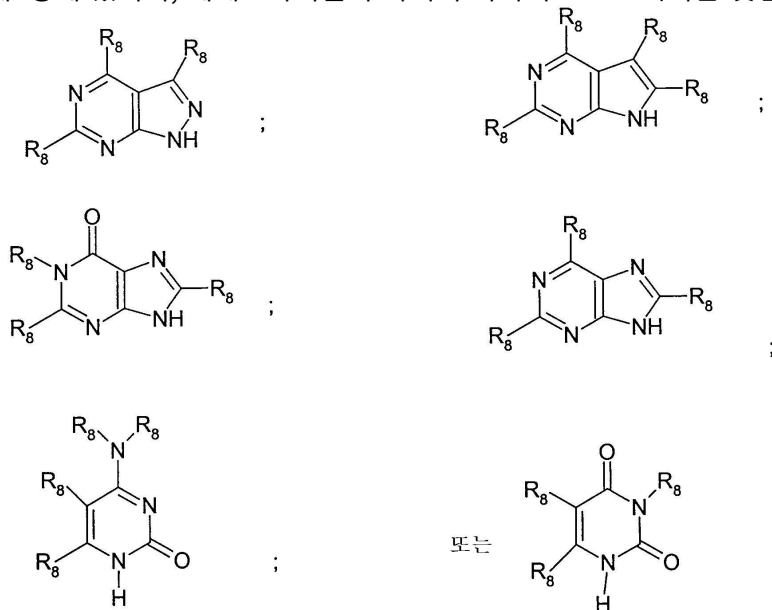
제1항에 있어서, R₅ 및 R₆가 각각 메틸인 방법.

청구항 21.

제1항에 있어서, 2',3'-O-알킬리덴 푸라노실 할라이드가 2,3-O-이소프로필리덴-β-D-에리트로푸라노실 클로라이드인 방법.

청구항 22.

제1항에 있어서, 헤테로사이클이 하기의 화학식으로 표시되는 것인 방법.



상기 식에서,

각 R_8 은 서로 독립적으로 Q, ($C_1 - C_6$)알킬, 하나 이상의 Q로 치환된 ($C_1 - C_6$)알킬, ($C_5 - C_{20}$)아릴, 하나 이상의 Q로 치환된 ($C_5 - C_{20}$)아릴, 5 내지 20원의 헤테로아릴, 하나 이상의 Q로 치환된 5 내지 20원의 헤테로아릴, ($C_6 - C_{26}$)알크아릴, 하나 이상의 Q로 치환된 ($C_6 - C_{26}$)알크아릴, 6 내지 26원의 알크헤테로아릴, 및 하나 이상의 Q로 치환된 6 내지 26원의 알크헤테로아릴로 구성된 군에서 선택된 것이고,

Q는 수소, $-NO_2$, $-N_3$, $-CN$, $-SR_7$, $-CX_3$, $-CF_3$, $-X$, $-OR_7$, $-C(O)OR_7$, $-C(O)R_7$, $-NR_7R_7$, $-NH-SO_2-R_7$ 및 $-SO_2R_7$ 으로 구성된 군에서 선택된 것이고,

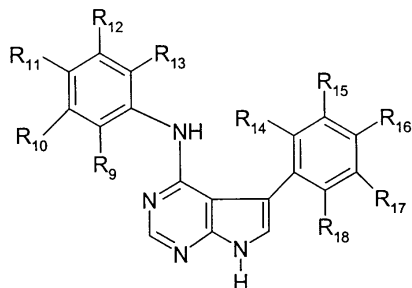
각 R_7 은 서로 독립적으로 수소, ($C_1 - C_6$)알킬, ($C_2 - C_6$)알케닐, ($C_5 - C_{20}$)아릴, 치환된 ($C_5 - C_{20}$)아릴, 5 내지 20원의 헤테로아릴, 치환된 5 내지 20원의 헤테로아릴로 구성된 군에서 선택된 것이거나,

R_7 은 보호기이고,

X는 할로겐이다.

청구항 23.

제1항에 있어서, 헤테로사이클이 하기 화학식으로 표시되는 것인 방법.



상기 식에서,

R_9 , R_{10} , R_{11} , R_{12} , R_{13} , R_{14} , R_{15} , R_{16} , R_{17} 및 R_{18} 은 서로 독립적으로 Q, ($C_1 - C_6$)알킬, 하나 이상의 Q로 치환된 ($C_1 - C_6$)알킬, ($C_5 - C_{20}$)아릴, 하나 이상의 Q로 치환된 ($C_5 - C_{20}$)아릴, 5 내지 20원의 헤테로아릴, 하나 이상의 Q로 치환된 5 내지 20원의 헤테로아릴, ($C_6 - C_{26}$)알크아릴, 하나 이상의 Q로 치환된 ($C_6 - C_{26}$)알크아릴, 6 내지 26원의 알크헤테로아릴, 및 하나 이상의 Q로 치환된 6 내지 26원의 알크헤테로아릴로 구성된 군에서 선택된 것이고,

Q는 수소, $-NO_2$, $-N_3$, $-CN$, $-SR_7$, $-CX_3$, $-CF_3$, $-X$, $-OR_7$, $-C(O)OR_7$, $-C(O)R_7$, $-NR_7R_7$, $-NH-SO_2-R_7$ 및 $-SO_2R_7$ 으로 구성된 군에서 선택된 것이고,

각 R_7 은 서로 독립적으로 수소, ($C_1 - C_6$)알킬, ($C_2 - C_6$)알케닐, ($C_5 - C_{20}$)아릴, 치환된 ($C_5 - C_{20}$)아릴, 5 내지 20원의 헤테로아릴 및 치환된 5 내지 20원의 헤테로아릴로 구성된 군에서 선택된 것이거나,

R_7 은 보호기이고,

X는 할로겐이다.

청구항 24.

제23항에 있어서, R_9 , R_{10} , R_{11} , R_{12} 및 R_{13} 이 서로 독립적으로 수소, 할로겐, $-NH_2$, $-NO_2$, $-CN$, $-CF_3$ 및 $-OCH_3$ 로 구성된 군에서 선택된 것이고, R_{14} , R_{15} , R_{16} , R_{17} 및 R_{18} 은 각각 수소인 방법.

청구항 25.

제23항에 있어서, R_{11} 이 플루오로이고, R_9 , R_{10} , R_{12} 및 R_{13} 이 각각 수소인 방법.

청구항 26.

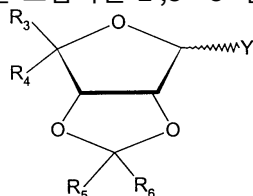
제1항에 있어서, 헤테로사이클이 5-페닐-4-N-(4-플루오로페닐)아미노피롤로 (2,3-d)피리미딘인 방법.

청구항 27.

제1항에 있어서, 2',3'-O-알킬리덴 푸라노실 할라이드가 2,3-O-이소프로필리덴-β-D-에리트로푸라노실 클로라이드이고, 헤테로사이클이 5-페닐-4-N-(4-플루오로페닐)아미노피롤로(2,3-d)피리미딘이고, 친핵성 극성 용매가 DMSO인 방법.

청구항 28.

친핵성 극성 용매 중에서 강염기 존재하에, 하기 화학식의 2',3'-O-알킬리덴 푸라노실 할라이드를 푸라노스 또는 푸라노스 유사체의 아노머 탄소와 공유 결합을 형성할 수 있는 고리 내 질소가 존재하는 헤테로사이클과 반응시키는 것을 포함하는 2',3'-O-알킬리덴 β-뉴클레오시드 유사체의 제조 방법.



상기 식에서,

R₃ 및 R₄는 서로 독립적으로 수소, (C₂-C₆)알케닐 및 (CH₂)_nQ (여기에서, n은 1 내지 6의 정수임)로 구성된 군에서 선택된 것이거나,

R₃와 R₄가 함께, 3 내지 6개의 탄소로 이루어진 고리를 형성하고, 이 고리가 산소 또는 질소로부터 선택된 0 내지 3개의 헤테로원자를 포함하고 경우에 따라 하나 이상의 Q로 치환되고,

R₅ 및 R₆은 서로 독립적으로 수소, Q, (C₁-C₆)알킬 및 하나 이상의 Q로 치환된 (C₁-C₆)알킬로 구성된 군에서 선택된 것이고,

Q는 수소, -NO₂, -N₃, -CN, -SR₇, -CX₃, -CF₃, -X, -OR₇, -C(O)OR₇, -C(O)R₇, -NR₇R₇, -NH-SO₂-R₇ 및 -SO₂R₇으로 구성된 군에서 선택된 것이고,

각 R₇은 서로 독립적으로 수소, (C₁-C₆)알킬, (C₂-C₆)알케닐, (C₅-C₂₀)아릴, 치환된 (C₅-C₂₀)아릴, 5 내지 20원의 헤테로아릴, 치환된 5 내지 20원의 헤테로아릴로 구성된 군에서 선택된 것이거나,

R₇은 보호기이고,

X는 할로겐이고,

Y는 클로로 또는 브로모이다.

청구항 29.

제28항에 있어서, 강염기 대 헤테로사이클의 몰비가 약 1:1 내지 약 8:1인 방법.

청구항 30.

제28항에 있어서, 친핵성 극성 용매가 DMSO이거나 DMF, 아세토니트릴, THF, 및 MTBE로 구성된 군에서 선택된 하나 이상의 용매를 포함하는 약 0 내지 3 부피의 용액과 혼합한 DMSO인 방법.

청구항 31.

제28항에 있어서, 2',3'-O-알킬리덴기를 제거하여 β-뉴클레오시드 유사체를 수득하는 단계를 더 포함하는 방법.