

(19)대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) 。 Int. Cl. A61K 31/7052 (2006.01)	(45) 공고일자 (11) 등록번호 (24) 등록일자	2006년04월07일 10-0568035 2006년03월30일
---	-------------------------------------	--

(21) 출원번호	10-2005-7009515(분할)	(65) 공개번호	10-2005-0062664
(22) 출원일자	2005년05월26일	(43) 공개일자	2005년06월23일
(62) 원출원	특허10-2001-7001758		
	원출원일자 : 2001년02월09일	심사청구일자	2003년03월27일
번역문 제출일자	2005년05월26일		
(86) 국제출원번호	PCT/US1999/018149	(87) 국제공개번호	WO 2000/09531
국제출원일자	1999년08월10일	국제공개일자	2000년02월24일

(81) 지정국

국내특허 : 아랍에미리트, 알바니아, 아르메니아, 오스트리아, 오스트레일리아, 아제르바이잔, 보스니아 헤르체고비나, 바르바도스, 불가리아, 브라질, 벨라루스, 캐나다, 스위스, 중국, 쿠바, 체코, 독일, 덴마크, 에스토니아, 스페인, 핀란드, 영국, 그라나다, 그루지야, 가나, 감비아, 크로아티아, 헝가리, 인도네시아, 이스라엘, 인도, 아이슬란드, 일본, 케냐, 키르키즈스탄, 북한, 대한민국, 카자흐스탄, 세인트루시아, 스리랑카, 리베이라, 레소토, 리투아니아, 룩셈부르크, 라트비아, 몰도바, 마다가스카르, 마케도니아공화국, 몽고, 말라위, 멕시코, 노르웨이, 뉴질랜드, 폴란드, 포르투갈, 루마니아, 러시아, 수단, 스웨덴, 싱가포르, 슬로베니아, 슬로바키아, 시에라리온, 타지키스탄, 투르크멘, 터키, 트리니다드토바고, 우크라이나, 우간다, 미국, 우즈베키스탄, 베트남, 세르비아 앤 몬테네그로, 남아프리카, 짐바브웨,

AP ARIPO특허 : 가나, 감비아, 케냐, 레소토, 말라위, 수단, 시에라리온, 스와질랜드, 우간다, 짐바브웨,

EA 유라시아특허 : 아르메니아, 아제르바이잔, 벨라루스, 키르키즈스탄, 카자흐스탄, 몰도바, 러시아, 타지키스탄, 투르크멘,

EP 유럽특허 : 오스트리아, 벨기에, 스위스, 사이프러스, 독일, 덴마크, 스페인, 핀란드, 프랑스, 영국, 그리스, 아일랜드, 이탈리아, 룩셈부르크, 모나코, 네덜란드, 포르투갈, 스웨덴,

OA OAPI특허 : 부르키나파소, 베닌, 중앙아프리카, 콩고, 코트디부아르, 카메룬, 가봉, 기니, 기니 비사우, 말리, 모리타니, 니제르, 세네갈, 차드, 토고,

(30) 우선권주장	60/096,110	1998년08월10일	미국(US)
	60/131,352	1999년04월28일	미국(US)

(73) 특허권자

이데닉스(케이만)리미티드
케이만군도 그랜드 케이만 워커 하우스 워커 세크레테리즈

썬트르 나쉬오날 드 라 르쥬르스 쉬앙티피끄
프랑스, 에프-75794 파리 세데 16, 뤼 미셀-양주, 3

고슬랭 질
프랑스 에프-34080 몽펠리에 400 아방뉴 폴 랭보우 뤼 칼뱅 82

앵바흐 장-루이

프랑스 에프-34000 몽펠리에 앵과쎄 데 루페소 뒤 라 소르베 1108

브라이언 마틴 엘.

미국 매사추세츠 01741 칼리슬 학코리 레인 65

(72) 발명자

고슬랭 질

프랑스 에프-34080 몽펠리에 400 아방뉴 폴 랭보우 뒤 칼뱅 82

앵바흐 장-루이

프랑스 에프-34000 몽펠리에 앵과쎄 데 루페소 뒤 라 소르베 1108

브라이언 마틴 엘.

미국 매사추세츠 01741 칼리슬 학코리 레인 65

(74) 대리인

최규팔

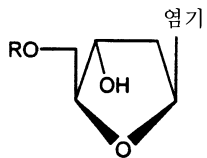
이은선

심사관 : 임혜준

(54) B형 간염의 치료용 β -L-2'-데옥시-뉴클레오시드

요약

본 발명은 다음 화학식을 가진, 항-HBV 생물학적 활성의 2'-데옥시- β -L-에리트로-펜토피라노뉴클레오시드 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염 또는 프로드럭(prodrug)의 유효량을 투여하는 것을 특징으로 하여 B형 간염 바이러스에 감염된 숙주를 치료하는 방법에 관한 것이다:



상기 식에서,

R은 H, 직쇄, 측쇄 또는 시클릭 알킬, CO-알킬, CO-아릴, CO-알콕시알킬, CO-아릴옥시알킬, CO-치환된 아릴, 알킬설폰, 아릴설폰, 아르알킬설폰, 아미노산 잔기, 모노, 디, 또는 트리포스페이트, 및 포스페이트 유도체로 구성된 그룹 중에서 선택되며;

염기는 임의로 치환될 수 있는 퓨린 또는 피리미딘 염기이다.

2'-데옥시- β -L-에리트로-펜토피라노뉴클레오시드 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염 또는 프로드럭은 단독으로 또는 다른 2'-데옥시- β -L-에리트로-펜토피라노뉴클레오시드와 병행하여 또는 다른 항-B형 간염제와 병행하여 투여될 수 있다.

대표도

도 1

명세서

도면의 간단한 설명

도 1은 출발물질로서 L-리보스 또는 L-크실로스를 사용하여 β -L-에리트로-펜타푸라노뉴클레오시드(β -L-dN)를 얻는 일반적인 방법을 도시한다.

도 2는 인체 Hep G2 세포에서 L-dA, L-dC, 및 L-dT의 누적과 감소에 관한 대사작용을 도시하는 그래프이다. 세포를 화합물 10 μ M로 배양하였다.

도 3은 우드척(woodchuck) 만성 간염 모델에서 β -L-dA, β -L-dT 및 β -L-dC의 항바이러스 효과를 도시하는 그래프이다.

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 본 발명에서 개시된 하나 이상의 활성 화합물, 또는 이들 화합물중 하나의 약제학적으로 허용되는 프로드럭(prodrug) 또는 염의 유효량을 치료가 필요한 숙주에, 단독으로 또는 병행하여 투여하는 것을 포함하는 B형 간염 바이러스(또한 "HBV"로서 지칭함)의 치료방법에 관한 것이다.

HBV는 인체의 암의 원인으로서 담배에 이어 두 번째이다. HBV가 직접적으로 종양 발생을 유발할 수 있거나, 감염과 연관된 만성 염증, 경변(cirrhosis), 및 세포 재생을 통해 간접적으로 종양 발생을 유발할 수 있다고 추정되고 있지만, HBV가 암을 유발하는 메카니즘(mechanism)이 알려져 있지 않다.

B형 간염 바이러스는 전 세계적으로 전염병 수준에 도달되어 있다. 숙주가 감염을 알지 못하는 2 내지 6개월의 잠복기 후에, HBV 감염은 급성 간염과 간 손상을 유발할 수 있으며, 이것은 복부 통증, 황달, 및 일정한 효소의 혈액 수준 상승을 야기한다. HBV는 극발성(fulminant) 간염, 즉 간의 대부분이 파괴되는 급속 진행성의, 때로 치명적인 형태의 질병을 야기시킬 수 있다.

환자는 전형적으로 급성 간염으로부터 회복된다. 그러나, 몇몇 환자에서, 높은 수준의 바이러스 항원이 연장되거나, 무한정의 기간 동안 혈액에 남아 있어서, 만성 감염을 야기시킨다. 만성 감염은 지속성 만성 간염을 유발할 수 있다. 지속성 만성 HBV에 감염된 환자는 개발도상국에 가장 보편적이다. 1991년 중반경에, 아시아 단독으로 HBV 만성 보균자는 약 225 백만명이었고, 전 세계적으로, 보균자는 거의 300 백만이었다. 지속성 만성 간염은 피로, 간의 경변, 및 원발성 간암인 간세포암을 야기시킬 수 있다.

서양의 산업국가에서, HBV 감염에 대한 위험성이 높은 그룹은 HBV 보균자 또는 그들의 혈액 샘플과 접촉하는 사람들을 포함한다. HBV의 역학은 후천성 면역 결핍 증후군(AIDS)의 역학과 매우 유사하며, 이것은 HBV 감염이 AIDS 또는 AIDS 관련 복합증을 가진 환자중에서 통상적이라는 이유를 설명하고 있다. 그러나, HBV는 HIV보다 전염성이 크다.

그러나, 보다 최근에, 유전공학을 통해 백신이 또한 생산된 바 있으며 현재 광범위하게 사용되고 있다. 불행히도, 백신은 HBV에 이미 감염된 사람을 도울 수 없다. 유전 공학 처리 단백질인, α -인터페론으로 매일 치료하면 또한 가망성을 보여주었지만, 이러한 치료법은 단지 치료 환자의 약 1/3이 성공하고 있다. 또한, 인터페론은 경구로 제공될 수 없다.

HBV에 대해 활성을 나타내는 많은 합성 뉴클레오시드가 확인된 바 있다. Liotta, et al.의 미국특허 제 5,539,116 호에서 청구된, 3TC로서 알려진, BCH-189의 (-)-에난티오머는 B형 간염 치료용으로 미국 식품의약청에서 승인된 바 있다(참조 또한 BioChem Pharma, Inc.에 의해 출원된 EPA 0 494 119 A1).

시스-2-히드록시메틸-5-(5-플루오로시토신-1-일)-1,3-옥사티올란("FTC")은 HBV에 대해 활성을 나타낸다(참조 WO 92/15308; Furman, et al., "The Anti-Hepatitis B Virus Activities, Cytotoxicities, and Anabolic Profiles of the (-) and (+) Enantiomers of cis-5-Fluoro-1-[2-(Hydroxymethyl)-1,3-oxathiolane-5-yl]-Cytosine" Antimicrobial Agents and Chemotherapy, December 1992, page 2686-2692; and Cheng, et al., Journal of Biological Chemistry, Volume 267(20), 13938-13942 (1992)).

폰 얀타-리핀스키(von Janta-Lipinski et al.)는 B형 간염 폴리머라제의 억제를 위해 3'-플루오로-변형된 β -2'-데옥시리보뉴클레오시드 5'-트리포스페이트의 L-에난티오머의 용도를 개시하고 있다. 특히, 3'-데옥시-3'-플루오로- β -L-티미딘(β -L-FTTP), 2',3'-디데옥시-3'-플루오로- β -L-시티딘(β -L-FdCTP), 및 2',3'-디데옥시-3'-플루오로- β -L-5-메틸시티딘(β -L-FMethCTP)의 5'-트리포스페이트가 HBV DNA 폴리머라제의 유효 억제제로서 개시되었다.

Genencor International, Inc.와 Lipitek, Inc.의 WO 96/13512호에서는 일정한 L-리보푸라노실 뉴클레오시드가 암과 바이러스의 치료에 유용할 수 있다고 개시하고 있다. 특히 암과 HIV의 치료용으로 이러한 부류의 화합물의 용도가 개시되어 있다.

미국특허 제 5,565,438호, 5,567,688호 및 5,587,362호(Chu, et al.)에서는 B형 간염과 엡스타인 바르(Epstein Barr) 바이러스의 치료용의 2'-플루오로-5-메틸- β -L-아라비노푸라노실우리딘(L-FMAU)의 용도를 개시하고 있다.

예일 유니버시티(Yale University)와 유니버시티 오브 조지아 리서치 파운데이션, 인코포레이티드(University of Georgia Research Foundation, Inc.)는 WO 92/18517호에서 B형 간염의 치료용의 L-FddC (β -L-5-플루오로-2',3'-디데옥시시티딘)의 용도를 개시하고 있다.

합성 뉴클레오시드 β -L-2'-데옥시시티딘(β -L-2'-dC), β -L-2'-데옥시티미딘(β -L-dT) 및 β -L-2'-데옥시아데노신(β -L-2'-dA)는 본 기술에서 알려져 있다. 안토닌 홀리(Antonin Holy)는 처음으로 1972년에 β -L-dC와 β -L-dT를 개시하였다(참조 "Nucleic Acid Components and Their Analogs. CLIII. Preparation of 2'-deoxy-L-Ribonucleosides of the Pyrimidine Series," Collect. Czech. Chem. Commun. (1972), 37(12), 4072-87). 모리스 에스. 제덱(Morris S. Zedeck et al.)은 처음으로 유도된 효소의 합성 억제용 β -L-dA를 개시하였다(참조 Pseudomonas testosteroni, Mol. Phys. (1967), 3(4), 386-95).

어떤 2'-데옥시- β -L-에리트로-펜토파라노뉴클레오시드는 항신생물질과 선택된 항바이러스 활성을 가지고 있다고 알려져 있다. 베리(Verri et al.)는 항신생물질제로서 그리고 항헤르페스제로서 2'-데옥시- β -L-에리트로-펜토파라노뉴클레오시드의 용도를 개시하고 있다(Mol. Pharmacol. (1997), 51(1), 132-138 및 Biochem. J. (1997), 328(1), 317-20). 사네요시(Saneyoshi et al.)는 레트로바이러스(retroviruse)의 억제용 그리고 AIDS의 치료용의 리버스 트랜스크립타제 (I) 억제제로서 2'-데옥시-L-리보뉴클레오시드의 용도를 개시하고 있다(Jpn. Kokai Tokyo Koho JP06293645 (1994)).

지오반니(Giovanni et al.)는 부분 가성광견병 바이러스(PRV)에 대해 2'-데옥시- β -L-에리트로-펜토파라노뉴클레오시드를 시험하였다(Biochem. J. (1993), 294(2), 381-5).

2'-데옥시- β -L-에리트로-펜토파라노뉴클레오시드의 화학요법적 용도는 티르스테드(Tyrsted et al.)에 의해 연구되었다(Biochim. Biophys. Acta (1968), 155(2), 619-22) 및 Bloch, et al.(J. Med. Chem. (1967), 10(5), 908-12)).

β -L-2'-데옥시티미딘(β -L-dT)은 본 기술에서 헤르페스 심플렉스 바이러스 1형(HSV-1) 티미딘 키나제(TK)를 억제한다고 알려져 있다. 이오티(Iotti et al.)는 WO 92/08727호에서 β -L-dT가 HSV-1 TK에 의해 D-티미딘의 포스포릴화를 선택적으로 억제하나, 인체의 TK에 의해서는 그렇지 않다고 교시하고 있다. 스팔다리(Spaldari et al.)는 L-티미딘이 헤르페스 심플렉스 바이러스 1형 티미딘 키나제에 의해 포스포릴화 되고 바이러스 성장을 억제한다고 보고하였다(J. Med. Chem. (1992), 35(22), 4214-20).

B형 간염 바이러스가 전 세계적으로 전염병 수준에 도달되었고, 감염된 환자에게 심각하고 때로 비극적인 작용을 가지고 있다는 사실에 비추어, 숙주에 대해 저독성을 가진, 바이러스로 감염된 인체를 치료하는데 효과적인 새로운 의약 제제를 제공하는데 강한 필요성이 남아 있다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

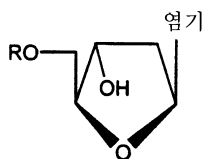
따라서, 본 발명의 목적은 B형 간염 바이러스로 감염된 환자 또는 다른 숙주의 치료를 위한 새로운 방법과 조성물을 제공하는 것이다.

발명의 구성 및 작용

인체와 다른 숙주 동물에서 B형 간염 감염의 치료방법이 개시되어 있으며, 이 방법은 생물학적으로 활성인 2'-데옥시-β-L-에리트로-펜토푸라노뉴클레오시드(본 발명에서 별도로 β-L-d-뉴클레오시드 또는 β-L-2'-d-뉴클레오시드로 지칭함) 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염 또는 프로드럭의 유효량을 단독으로 또는 임의로 약제학적으로 허용되는 담체와 함께 투여하는 것을 포함한다. 본 명세서에서 사용된, 2'-데옥시란 2'-위치에 치환체가 없는 뉴클레오시드를 뜻한다.

개시된 2'-데옥시-β-L-에리트로-펜토푸라노뉴클레오시드, 약제학적으로 허용되는 프로드럭 또는 염 또는 이들 화합물을 함유한 약제학적으로 허용되는 제제는 B형 간염 감염증 및 항-HBV 항체 양성 및 HBV-양성 증상, HBV에 의해 야기된 만성 간염증, 경변, 급성 간염, 극발성 간염, 지속성 만성 간염, 및 피로와 같은 다른 관련 증상의 예방 및 치료에 유용하다. 이들 화합물 또는 제제는 또한 항-HBV 항체 또는 HBV-항원 양성인 환자 또는 HBV에 노출된 환자의 임상적 질병의 진행을 예방학적으로 예방하거나 지연시키는데 사용될 수 있다.

본 발명의 구체적인 일예에서, 2'-데옥시-β-L-에리트로-펜토푸라노뉴클레오시드 유도체는 다음 식의 화합물이다:

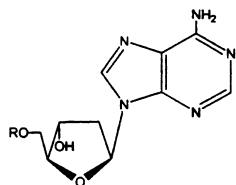


상기 식에서,

R은 H, 직쇄, 측쇄 또는 시클릭 알킬, CO-알킬, CO-아릴, CO-알콕시알킬, CO-아릴옥시알킬, CO-치환된 아릴, 알킬설폰, 아릴설폰, 아르알킬설폰, 아미노산 잔기, 모노, 디, 또는 트리포스페이트, 또는 포스페이트 유도체로 구성된 그룹중에서 선택되며;

염기는 임의로 치환될 수 있는 퓨린 또는 피리미딘 염기이다.

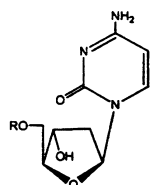
또다른 구체예에서, 2'-데옥시-β-L-에리트로-펜토푸라노뉴클레오시드 유도체는 다음 식의 β-L-2'-데옥시아데노신 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염 또는 프로드럭이다:



상기 식에서,

R은 H, 모노, 디 또는 트리 포스페이트, 아실, 또는 알킬, 또는 안정화된 포스페이트 유도체(안정화된 뉴클레오타이드 프로드럭을 형성함)이다.

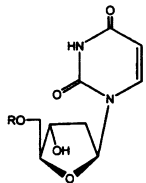
또다른 구체예에서, 2'-데옥시-β-L-에리트로-펜토푸라노뉴클레오시드 유도체는 다음 식의 β-L-2'-데옥시시티딘 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염 또는 프로드럭이다:



상기 식에서,

R은 H, 모노, 디 또는 트리 포스페이트, 아실, 또는 알킬, 또는 안정화된 포스페이트 유도체(안정화된 뉴클레오타이드 프로드럭을 형성함)이다.

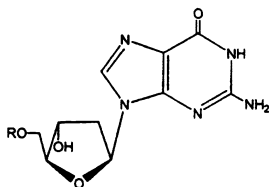
또다른 유도체에서, 2'-데옥시- β -L-에리트로-펜토포라노뉴클레오시드 유도체는 다음 식의 β -L-2'-데옥시우리딘 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염 또는 프로드럭이다:



상기 식에서,

R은 H, 모노, 디 또는 트리 포스페이트, 아실, 또는 알킬, 또는 안정화된 포스페이트 유도체(안정화된 뉴클레오타이드 프로드럭을 형성함)이다.

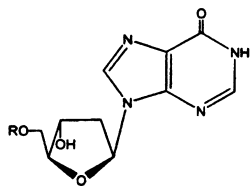
또다른 유도체에서, 2'-데옥시- β -L-에리트로-펜토포라노뉴클레오시드 유도체는 다음 식의 β -L-2'-데옥시구아노신 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염 또는 프로드럭이다:



상기 식에서,

R은 H, 모노, 디 또는 트리 포스페이트, 아실, 또는 알킬, 또는 안정화된 포스페이트 유도체(안정화된 뉴클레오타이드 프로드럭을 형성함)이다.

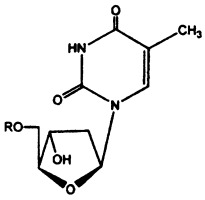
또다른 구체예에서, 2'-데옥시- β -L-에리트로-펜토포라노뉴클레오시드 유도체는 다음 식의 β -L-2'-데옥시이노신 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염 또는 프로드럭이다:



상기 식에서,

R은 H, 모노, 디 또는 트리 포스페이트, 아실, 또는 알킬, 또는 안정화된 포스페이트 유도체(안정화된 뉴클레오타이드 프로드럭을 형성함)이다.

또다른 구체예에서, 2'-데옥시- β -L-에리트로-펜토포라노뉴클레오시드 유도체는 다음 식의 β -L-티미딘 또는 약제학적으로 허용되는 그의 염 또는 프로드럭이다:



상기 식에서,

R은 H, 모노, 디 또는 트리 포스페이트, 아실, 또는 알킬, 또는 안정화된 포스페이트 유도체(안정화된 뉴클레오타이드 프로드럭을 형성함)이다.

또다른 구체예에서, 2'-데옥시-β-L-에리트로-펜토피라노뉴클레오시드는 하나 이상의 다른 2'-데옥시-β-L-에리트로-펜토피라노뉴클레오시드 또는 B형 간염 바이러스에 대해 활성을 나타내는 하나 이상의 다른 화합물과 교대로 또는 병행하여 투여된다. 일반적으로, 교대 치료중에, 제제 각각의 유효 투여량이 연속적으로 투여되며, 반면에 병행 치료에서, 2개 이상의 제제의 유효 투여량이 함께 투여된다. 투여량은 약물의 흡수율, 비활성화, 및 배출을 및 본 기술의 숙련자에게 알려진 다른 요인에 좌우될 것이다. 또한 투여량 값은 경감될 증상의 중증도에 따라 달라질 것이라고 알려져 있다. 또한 특정 환자에 대해, 특정 투여량 요법과 스케줄이 환자의 필요성과 조성물을 투여하거나 조성물 투여를 감독하는 사람의 직업적인 판단에 따라 시간을 초과하여 조정되어야 한다는 사실이 이해될 것이다.

또다른 구체예에서, 본 발명은 개시된 2'-데옥시-β-L-에리트로-펜토피라노뉴클레오시드 유도체의 프로드럭의 HBV 치료량을 투여하는 것을 포함하는 HBV에 감염된 인체의 치료방법을 포함한다. 본 발명에서 사용된 프로드럭은 생체내에서 투여시 뉴클레오시드로 전환되는 화합물을 뜻한다. 비제한적인 실시예는 활성 화합물의 약제학적으로 허용되는 염(별도로 "생리적으로 허용되는 염"으로 지칭함), 5' 및 N⁴(시티딘) 또는 N⁶(아데노신) 아실화되거나 알킬화된 유도체, 또는 활성 화합물의 5'-포스포리피드 또는 5'-에테르 리피드를 포함한다.

본 발명에서 사용된, "실질적으로 단일 이성체의 형태로" 또는 분리된 형태로"란 지정된 입체 형태로 적어도 약 95%인 2'-데옥시-β-L-에리트로-펜토피라노뉴클레오시드를 뜻한다. 바람직한 구체예에서, 활성 화합물을 치료가 필요한 숙주에 적어도 이러한 수준의 순도로 투여한다.

본 발명에서 사용된, B형 간염 및 관련된 증상이란 항-HBV 항체 양성 및 HBV-양성 증상, HBV에 의해 야기된 만성 간염 증, 경변, 급성 간염, 극발성 간염, 지속성 만성 간염, 및 피로와 같은 B형 간염 및 관련 증상을 뜻한다. 본 발명의 방법은 항-HBV 항체 또는 HBV-항원 양성이거나 HBV에 노출되었던 환자의 임상적 질병의 진행을 예방적으로 예방하거나 지연시키도록 2'-데옥시-β-L-에리트로-펜토피라노뉴클레오시드 유도체의 사용을 포함한다.

본 발명에서 사용된, 알킬이란, 달리 특정되지 않는다면, 전형적으로는 C₁ 내지 C₁₈, 바람직하게는 C₁ 내지 C₆의 포화 직쇄, 측쇄, 또는 시클릭, 1급, 2급, 또는 3급 탄화수소를 뜻하며 구체적으로는 메틸, 에틸, 프로필, 부틸, 펜틸, 헥실, 이소프로필, 이소부틸, sec-부틸, t-부틸, 이소펜틸, 아밀, t-펜틸, 시클로펜틸, 및 시클로헥실을 포함하나 이들에 한정되지 않는다.

본 발명에서 사용된, 아실이란 식 -C(O)R'의 부분(moiety)을 뜻하며, 여기서 R'은 알킬; 아릴, 알크아릴, 아르알킬, 헤테로아로마틱, 메톡시메틸을 포함한 알콕시알킬; 벤질을 포함한 아릴알킬; 페녹시메틸과 같은 아릴옥시알킬; 할로젠, C₁ 내지 C₄ 알킬 또는 C₁ 내지 C₄ 알콕시, 또는 아미노산의 잔기로 임의로 치환된 페닐을 포함한 아릴이다. 아실은 구체적으로 아세틸, 프로피오닐, 부티릴, 펜타노일, 3-메틸부티릴, 히드로젠 석시네이트, 3-클로로벤조에이트, 벤조일, 아세틸, 피발로일, 메실레이트, 프로피오닐, 발레릴, 카프로익, 카프릴릭, 카프릭, 라우릭, 미리스틱, 팔미틱, 스테아릭, 및 올레익을 포함하나 이들에 한정되지 않는다.

본 발명에서 사용된, 퓨린 또는 피리미딘 염기란 6-알킬퓨린 및 N⁶-알킬퓨린, N⁶-아실퓨린, N⁶-벤질퓨린, 6-할로퓨린, N⁶-비닐퓨린, N⁶-아세틸레닉 퓨린, N⁶-아실 퓨린, N⁶-히드록시알킬 퓨린, N⁶-티오알킬 퓨린, N²-알킬퓨린, N⁴-알킬피리미딘, N⁴-아실피리미딘, 4-벤질피리미딘, N⁴-할로피리미딘, N⁴-아세틸레닉 피리미딘, 4-아실 및 N⁴-아실 피리미딘, 4-히드록시알킬 피리미딘, 4-티오알킬 피리미딘, 티민, 시토신, 6-아자시토신을 포함하여, 6-아자피리미딘, 2- 및/또는

4-머캅토피리미딘, 우라실, C⁵-알킬피리미딘, C⁵-벤질피리미딘, C⁵-할로피리미딘, C⁵-비닐피리미딘, C⁵-아세틸레닉 피리미딘, C⁵-아실 피리미딘, C⁵-히드록시알킬 퓨린, C⁵-아미도피리미딘, C⁵-시아노피리미딘, C⁵-니트로피리미딘, C⁵-아미도피리미딘, N²-알킬퓨린, N²-알킬-6-티오펜, 5-아자시티디닐, 5-아자우라실릴, 트리아졸로피리디닐, 이미다졸로피리디닐, 피롤로피리미디닐, 및 피라졸로피리미디닐을 포함하나, 이들에 한정되지 않는다. 염기상의 작용성 산소와 질소 그룹은 필요하거나 원한다면 보호될 수 있다. 적합한 보호 그룹은 본 기술의 숙련가에게 잘 알려져 있으며, 트리메틸실릴, 디메틸헥실실릴, t-부틸디메틸실릴, 및 t-부틸디페닐실릴, 트리틸, 알킬 그룹, 아세틸 및 프로피오닐과 같은 아실 그룹, 메탄설폰, 및 p-톨루엔설폰을 포함한다.

본 발명에서 사용된, 생물학적 활성 뉴클레오시드란 간염 비리온으로 트랜스펙트된(transfected) 2.2.15 세포에서 시험할 때 15 마이크로몰 또는 그 이하의 EC₅₀을 나타내는 뉴클레오시드를 뜻한다.

바람직한 염기는 시토신, 5-플루오로시토신, 5-브로모시토신, 5-요오도시토신, 우라실, 5-플루오로우라실, 5-브로모우라실, 5-요오도우라실, 5-메틸우라실, 티민, 아데닌, 구아닌, 이노신, 크산틴, 2,6-디아미노퓨린, 6-아미노퓨린, 6-클로로퓨린 및 2,6-디클로로퓨린, 6-브로모퓨린, 2,6-디브로모퓨린, 6-요오도퓨린, 2,6-디-요오도퓨린, 5-브로모비닐시토신, 5-브로모비닐우라실, 5-브로모에테닐시토신, 5-브로모에테닐우라실, 5-트리플루오로메틸시토신, 5-트리플루오로메틸우라실을 포함한다.

2'-데옥시-β-L-에리트로-펜토피라노뉴클레오시드는 다음 문헌에 기재된 바와 같이, 5'-포스포리피드 또는 5'-에테르 리피드로서 제공될 수 있다:

Kucera, L.S., N. Lyer, E. Leake, A. Raben, Modest E.J., D. L. W., 및 C. Piantadosi. 1990. Novel membrane-inteactive ether lipid analogs that inhibit infectious HIV-1 production and induce defective virus formation. AIDS Res Hum Retroviruses. 6:491-501; Piantadosi, C., J. Marasco C.J., S.L. morris-Natschke, K.L. Meyer, F. Gumus, J.R. Surles, K.S. Ishaq, L.S. Kucera, N. lyer, C.A. Wallen, S. Piantadosi, and E.J. Modest. 1991-Synthesis and evaluation of novel ether lipid nucleoside conjugates for anti-HIV activity. J Med Chem. 34:1408-1414; Hostetler, K.Y., D.D. Richman, D.A. Carson, L.M. Stuhmiller, G.M. T. van Wijk, and H. van den Bosch. 1992. Greatly enhanced inhibition of human immunodeficiency virus type 1 replication in CEM and HT4-6C cells by 31-deoxythymidine. Antimicrob Agents Chemother. 36:2025-2029; Hostetler, K.Y., L.M. Stuhmiller, H.B. Lenting, H. van den Bosch, and D.D. Richman. 1990. Synthesis and antiretroviral activity of phospholipid analogs of azidothymidine and other antiviral nucleosides. J. Biol Chem. 265:6112-7.

2'-데옥시-β-L-에리트로-펜토피라노뉴클레오시드를 적합한 에스테르화제, 예를들어 산 할라이드 또는 무수물과 반응시켜 약제학적으로 허용되는 에스테르로 전환시킬 수 있다. 뉴클레오시드 또는 약제학적으로 허용되는 그의 프로드럭을 종래의 방법으로, 예를들어 적합한 염기 또는 산으로 처리하여 약제학적으로 허용되는 그의 염으로 전환시킬 수 있다. 에스테르 또는 염은 예를들어 가수분해에 의해 모체 뉴클레오시드로 전환될 수 있다.

본 발명에서 사용된, 약제학적으로 허용되는 염 또는 착체란 모체 화합물의 원하는 생물학적 활성을 보유하고 어쨌든 원하지 않는 최소의 독성 효과를 나타내는 2'-데옥시-β-L-에리트로-펜토피라노뉴클레오시드의 염 또는 착체를 뜻한다. 이러한 염의 제한되지 않는 일에는 (a) 무기산(예를들어, 염산, 브롬화수소산, 황산, 인산, 질산, 등)으로 형성된 산부가염, 및 아세트산, 옥살산, 타르타르산, 숙신산, 말산, 아스코르브산, 벤조산, 탄닌산, 팔모산, 알긴산, 폴리글루탐산, 나프탈렌설폰산, 나프탈렌디설폰산, 및 폴리갈락투론산과 같은 유기산으로 형성된 염; (b) 소듐, 포타슘, 아연, 칼슘, 비스무쓰, 바륨, 마그네슘, 알루미늄, 구리, 코발트, 니켈, 카드뮴, 소듐, 포타슘, 등과 같은 양이온으로, 또는 N,N-디벤질에틸렌-디아민, 암모늄, 또는 에틸렌디아민으로부터 형성된 유기 양이온으로 형성된 염기 부가염; 또는 (c) (a)와 (b)의 병행; 예를들어, 진크 탄네이트 염 등이다.

본 발명에서 사용된 프로드럭이란 생체내 투여시 뉴클레오시드로 전환되는 화합물을 뜻한다. 비제한적인 일에는 활성 화합물의 약제학적으로 허용되는 염(별도로 "생리적으로 허용되는 염"을 지칭함), 5' 및 N⁴ 또는 N⁶ 아실화 또는 알킬화 유도체, 및 활성 화합물의 5'-포스포리피드 및 5'-에테르 리피드 유도체이다.

활성 화합물, 특히 N⁴, N⁶ 및 5'-O 위치에서의 변형은 활성 종류(species)의 생이용성 및 대사작용에 영향을 미칠 수 있으며, 따라서 활성 종류의 분배에 대해 조절한다.

본 발명의 바람직한 구체예는 임의로 약제학적으로 허용되는 담체중에서 β -L-2'-데옥시아데노신, β -L-2'-데옥시시티딘, β -L-2'-데옥시우리딘, β -L-2'-구아노신, β -L-2'-데옥시이노신, 및 β -L-2'-데옥시티미딘으로 구성된 그룹중에서 선택된 2'-데옥시- β -L-에리트로-펜토푸라노뉴클레오시드 유도체, 또는 포스페이트, 5' 및/또는 N⁶ 알킬화 또는 아실화 유도체, 또는 생리학적으로 허용되는 그의 염을 비롯하여, 생리적으로 허용되는 그의 프로드럭의 하나 이상의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 인체 또는 다른 숙주 동물의 HBV 감염증의 치료방법이다. 본 발명의 화합물은 항-HBV 활성을 갖고 있거나, 항-HBV 활성을 나타내는 화합물 또는 화합물들로 대사작용화 된다. 바람직한 구체예에서, 2'-데옥시- β -L-에리트로-펜토푸라노뉴클레오시드를 실질적으로 단일 이성체의 형태로, 즉, 지정된 입체형태에서 적어도 약 95%의 단일 이성체의 형태로 투여한다.

뉴클레오타이드 프로드럭

본 발명에서 설명한 뉴클레오시드를 뉴클레오시드의 활성, 생이용성, 안정성을 증가시키거나 또는 달리 그의 특성을 변경하도록 안정화된 뉴클레오타이드 프로드럭으로서 투여할 수 있다. 많은 뉴클레오타이드 프로드럭 리간드가 알려져 있다. 일반적으로, 뉴클레오시드의 모노, 디 또는 트리포스페이트의 알킬화, 아실화 또는 다른 친유성 변형으로 뉴클레오타이드의 안정성을 증가시킬 것이다. 포스페이트 부분상의 하나 이상의 수소를 대체할 수 있는 구성 그룹의 일례는 알킬, 아릴, 스테로이드, 슈가를 비롯하여, 카보히드레이트, 1,2-디아실글리세롤 및 알코올이다. 대부분이 문헌[R. Jones and N. Bischofberger, Antiviral Research, 27 (1995) 1-17]에 기재되어 있다. 이들중 어떤 것은 개시된 뉴클레오시드와 병행하여 사용됨으로써 원하는 효과를 얻을 수 있다.

일 구체예에서, 2'-데옥시- β -L-에리트로-펜토푸라노뉴클레오시드를 5'-히드록실 친유성 프로드럭으로서 제공한다. 뉴클레오시드로, 바람직하게는 뉴클레오시드의 5'-OH 위치에서 공유결합될 수 있는 적합한 친유성 치환체 또는 친유성 제제를 개시하는 미국특허의 비제한적인 일례는 미국특허 제 5,149,794호(1992. 9. 22, Yatvin et al.); 5,194,654호(1993. 3. 16, Hostetler et al.); 5,223,263호(1993. 6. 29, Hostetler et al.); 5,256,641호(1993. 10. 26, Yatvin et al.); 5,411,947호(1995. 5. 2, Hostetler et al.); 5,463,092호(1995. 10. 31, Hostetler et al.); 5,543,389호(1996. 8. 6, Yatvin et al.); 5,543,390호(1996. 8. 6, Yatvin et al.); 5,543,391호(1996. 8. 6, Yatvin et al.); 및 5,554,728호(1996. 9. 10, Basava et al.)을 포함한다.

본 발명의 2'-데옥시- β -L-에리트로-펜토푸라노뉴클레오시드 유도체에 결합될 수 있는 친유성 치환체, 또는 친유성 제제를 개시하는 외국 특허출원은 WO 89/02733, WO 90/00555, WO 91/16920, WO 91/18914, WO 93/00910, WO 94/26273, WO 96/15132, EP 0 350 287, EP 93917054. 4, 및 WO 91/19721을 포함한다.

2'-데옥시- β -L-에리트로-펜토푸라노뉴클레오시드의 추가 비제한적인 일례는 다음 공개문헌에 기재된 치환체를 함유하는 것들이다. 이들 유도체화된 2'-데옥시- β -L-에리트로-펜토푸라노뉴클레오시드는 텍스트에서 기재된 징후에 대해 사용될 수 있으며 또는 달리 항-HBV제를 포함하여, 항바이러스제로서 사용될 수 있다.

공개문헌:

Ho, D. H. W. (1973) Distribution of kinase and deaminase of 1 β -D-arabinofuranosylcytosine in tissues of man and mouse. Cancer Res. 33, 2816-2820; Holy, A. (1993) Isopolar phosphorous-modified nucleotide analogues. In : De Clercq (Ed.), Advances in Antiviral Drug Design, Vol. I, JAI Press, pp. 179-231 ; Hong, C. I., Nechaev, A., and West, C. R. (1979a) Synthesis and antitumor activity of 1 \square -D-arabinofuranosylcytosine conjugates of cortisol and cortisone. Biochem. Biophys. Rs. Commun. 88, 1223-1229 ; Hong, C. I., Nechaev, A., Kirisits, A. J. Buchheit, D. J. and West, C. R. (1980) Nucleoside conjugates as potential antitumor agents. 3. Synthesis and antitumor activity of 1-(β -D-arabinofuranosyl)cytosine conjugates of corticosteroids and selected lipophilic alcohols. J. Med. Chem. 28, 171-177 ; Hostetler, K. Y., Stuhmiller, L. M., Lenting, H. B. M. van den Bosch, H. and Richman, D. D. (1990) Synthesis and antiretroviral activity of phospholipid analogs of azidothymidine and other antiviral nucleosides. J. Biol. Chem. 265, 6112-6117 ; Hostetler, K. Y., Carson, D. A. and Richman, D. D. (1991) ;

Phosphatidylazidothymidine : mechanism of antiretroviral action in CEM cells. J. Biol. Chem. 266, 11714-11717 ; Hostetler, K. Y., Korba, B. Sridhar, C., Gardener, M. (1994a) Antiviral activity of phosphatidyl-dideoxycytidine in hepatitis B-infected cells and enhanced hepatic uptake in mice. Antiviral Res. 24, 59-67 ; Hostetler, K. Y., Richman, D. D., Sridhar, C. N. Felgner, P. L, Felgner, J., Ricci, J., Gardener, M. F. Selleseth, D. W. and Ellis, M. N.

(1994b) Phosphatidylazidothymidine and phosphatidyl-ddC : Assessment of uptake in mouse lymphoid tissues and antiviral activities in human immunodeficiency virus-infected cells and in raucher leukemia virus-infected mice. *Antimicrobial Agents Chemother.* 38, 2792-2797 ;

Hunston, R. N., Jones, A. A. McGuigan, C., Walker, R. T., Balzarini, J., and De Clercq, E. (1984) Synthesis and biological properties of some cyclic phosphotriesters derived from 2'-deoxy-5-fluorouridine. *J. Med. Chem.* 27, 440-444 ; Ji, Y. H., Moog, C., Schmitt, G., Bischoff, P. and Luu, B. (1990) ; Monophosphoric acid diesters of 7 β -hydroxycholesterol and of pyrimidine nucleosides as potential antitumor agents : synthesis and preliminary evaluation of antitumor activity. *J. Med. Chem.* 33, 2264-2270; Jones, A. S., McGuigan, C., Walker, R. T., Balzarini, J. and DeClercq, E. (1984) Synthesis, properties, and biological activity of some nucleoside cyclic phosphoramidates. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 1471-1474 ;

Juodka, B. A. and Smart, J. (1974) Synthesis of ditribonucleoside a(P \rightarrow N) amino acid derivatives. *Coll. Czech. Chem. Comm.* 39, 363-968 ; Kataoka, S., Imai, J., Yamaji, N., Kato, M., Saito, M., Kawada, T. and Imai, S. (1989) Alkylated cAMP derivatives ; selective synthesis and biological activities. *Nucleic Acids Res. Sym. Ser.*, 21, 1-2 ; Kataoka, S., Uchida, R. and Yamaji, N. (1991) A convenient synthesis of adenosine 3',5' cyclic phosphate (cAMP) benzyl and methyl triesters. *Heterocycles* 32, 1351-1356 ; Kinchington, D., Harvey, J. J., O'Connor, T. J., Jones, B. C. N. M., Devine, K. G., Taylor-Robinson, D., Jeffries, D. J. and McGuigan, C. (1992) Comparison of antiviral effects of zidovudine phosphoramidate and phosphorodiamidate derivatives against HIV and MuLV in vitro. *Antiviral Chem.*

Chemother. 3, 107-112 ; Kodama, K., Morozumi, M., Saitoh, K. I., Kuninaka, H., Yoshino, H. and Saneyoshi, M. (1989) Antitumor activity and pharmacology of 1- β -D-arabinofuranosylcytosine-5'-stearylphosphate ; an orally active derivative of 1- β -Darabinofuranosylcytosine. *Jpn. J. Cancer Res.* 80, 679-685 ; Korty, M. and Engels, J. (1979)

The effects of adenosine- and guanosine 3',5'-phosphoric and acid benzyl esters on guineapig ventricular myocardium. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 310, 103-111 ;

Kumar, A., Goe, P. L., Jones, A. S. Walker, R. T. Balzarini, J. and De Clercq, E. (1990) Synthesis and biological evaluation of some cyclic phosphoramidate nucleoside derivatives.

J. Med. Chem. 33, 2368-2375 ; LeBec, C., and Huynh-Dinh, T. (1991) Synthesis of lipophilic phosphate triester derivatives of 5-fluorouridine and arabinocytidine as anticancer prodrugs.

Tetrahedron Lett. 32, 6553-6556 ; Lichtenstein, J., Barner, H. D. and Cohen, S. S. (1960) The metabolism of exogenously supplied nucleotides by *Escherichia coli.*, *J. Biol. Chem.* 235, 457-465 ; Luthy, J., Von Daeniken, A., Friederich, J. Manthey, B., Zweifel, J., Schlatter, C. and Benn, M. H. (1981) Synthesis and toxicological properties of three naturally occurring cyanoepithioalkanes. *Mitt. Geg. Lebensmittelunters. Hyg.* 72,131-133 (Chem. Abstr. 95, 127093) ; McGuigan, C. Tollerfield, S. M. and Riley, P. A. (1989) Synthesis and biological evaluation of some phosphate triester derivatives of the anti-viral drug Ara. *Nucleic Acids Res.* 17, 6065-6075 ; McGuigan, C., Devine, K. G., O'Connor, T. J., Galpin, S. A., Jeffries, D. J. and Kinchington, D. (1990a) Synthesis and evaluation of some novel phosphoramidate derivatives of 3'-azido-3'-deoxythymidine (AZT) as anti-HIV compounds. *Antiviral Chem. Chemother.* 1, 107-113 ; McGuigan, C., O'Connor, T. J., Nicholls, S. R. Nickson, C. and Kinchington, D. (1990b) Synthesis and anti-HIV activity of some novel substituted dialkyl phosphate derivatives of AZT and ddCyd. *Antiviral Chem. Chemother.* 1, 355-360 ;

McGuigan, C., Nicholls, S. R., O'Connor, T. J., and Kinchington, D. (1990c) Synthesis of some novel dialkyl phosphate derivative of 3'-modified nucleosides as potential anti-AIDS drugs. *Antiviral Chem. Chemother.* 1, 25-33 ; McGuigan, C., Devine, K. G., O'Connor, T. J., and Kinchington, D. (1991) Synthesis and anti-HIV activity of some haloalkyl phosphoramidate derivatives of 3'-azido-3'-deoxythymidine (AZT) ; potent activity of the trichloroethyl methoxyalaninyl compound. *Antiviral Res.* 15, 255-263; McGuigan, C., Pathirana, R.N., Mahmood, N., Devine, K.G. and Hay, A.J. (1992) Aryl phosphate derivatives of AZT retain activity against HIV-1 in cell

lines which are resistant to the action of AZT. *Antiviral Res.* 17, 311-321; McGuigan, C., Pathirana, R.N., Choi, S.M., Kinchington, D. and O'Connor, T.J. (1993a) Phosphoramidate derivatives of AZT as inhibitors of HIV; studies on the carboxyl terminus. *Antiviral Chem. Chemother.* 4, 97-101;

McGuigan, C., Pathirana, R.N., Balzarini, J. and De Clercq, E. (1993b) Intracellular delivery of bioactive AZT nucleotides by aryl phosphate derivatives of AZT. *J. Med. Chem.* 36, 1048-1052.

The question of chair-twist equilibria for the phosphate rings of nucleoside cyclic 3',5'-monophosphates. ¹HNMR and x-ray crystallographic study of the diastereomers of thymidine phenyl cyclic 3',5'-monophosphate. *J. Am. Chem. Soc.* 109, 4058-4064; Nerbonne, J.M., Richard, S., Nargeot, J. and Lester, H.A. (1984) New photoactivatable cyclic nucleotides produce intracellular jumps in cyclic AMP and cyclic GMP concentrations.

Nature 301, 74-76; Neumann, J.M., Herve, M., Debouzy, J.C., Guerra, F.I., Gouyette, C., Dupraz, B. and Huynh-Dinh, T. (1989) Synthesis and transmembrane transport studies by NMR of a glucosyl phospholipid of thymidine. *J. Am. Chem. Soc.* 111, 4270-4277; Ohno, R., Tatsumi, N., Hirano, M., Imai, K., Mizoguchi, H., Nakamura, T., Kosaka, M., Takatuski, K., Yamaya, T., Toyama, K., Yoshida, T., Masaoka, T., Hashimoto, S., Ohshima, T., Kimura, I., Yamada, K. and Kimura, J. (1991) Treatment of myelodysplastic syndromes with orally administered 1-β-D-rabinofuraosylcytosine-5'-stearylphosphate. *Oncology* 48, 451-455.

Palomino, E., Kessle, D. and Horwitz, J.P. (1989) A dihydropyridine carrier system for sustained delivery of 2',3'-dideoxynucleosides to the brain. *J. Med. Chem.*, 32, 622-625; Perkins, R.M., Barney, S., Wittrock, R., Clark, P.H., Levin, R. Lambert, D.M., Petteway, S.R., Seraffinowska, H.T., Bailey, S.M., Jackson, S., Harnden, M.R. Ashton, R., Sutton, D., Harvey, J. J. and Brown, A. G. (1993) Activity of BRL47923 and its oral prodrug, SB203657A against a rauscher murine leukemia virus infection in mice. *Antiviral Res.* 20 (Suppl. D). 84 ; Piantadosi, C., Marasco, C. J., Jr., Morris-Natschke, S. L., Meyer, K. L., Gumus, F., Surles, J. R., Ishaq, K. S., Kucera, L. S. Iyer, N., Wallen, C. A., Piantadosi, S. and Modest, E. J. (1991) Synthesis and evaluation of novel ether lipid nucleoside conjugates for anti-HIV-1 activity.

J. Med. Chem. 34, 1408-1414 ; Pompon, A., Lefebvre, I., Imbach, J. L., Kahn, S. and Farquhar, D. (1994) Decomposition pathways of the mono- and bis (pivaloyloxymethyl) esters of azidothymidine-5'-monophosphate in cell extract and in tissue culture medium ; an application of the on-line ISRP-cleaning HPLC technique. *Antiviral Chem. Chemother.* 5, 91-98 ; Postemark, T. (1974) Cyclic AMP and cyclic GMP. *Annu. Rev. Pharmacol.* 14, 23-33 ;

Prisbe, E. J., Martin, J. C. M., McGee, D. P. C., Barker, M. F., Smees, D. F. Duke, A. E., Matthews, T. R. and Verheyden, J. P. J. (1986) Synthesis and antiherpes virus activity of phosphate and phosphonate derivatives of 9-[(1,3-dihydroxy-2-propoxy)methyl] guanine. *J. Med. Chem.* 29, 671-675 ; Puech, F., Gosselin, G., Lefebvre, I., Pompon, A., Aubertin, A. M. Dirn, A. and Imbach, J. L. (1993) Intracellular delivery of nucleoside monophosphate through a reductase-mediated activation process. *Antiviral Res.* 22, 155-174 ; Pugaeva, V. P., Klochkeva, S.I., Mashbits, F. D. and Eizengart, R. S. (1969). Robins, R. K. (1984) The potential of nucleotide analogs as inhibitors of retroviruses and tumors. *Pharm. Res.* 11-18;

Rosowsky, A., Kim, S. H., Ross and J. Wick, M. M. (1982) Lipophilic 5'- (alkylphosphate) esters of 1-β-D-arabinofuranosylcytosine and its N⁴-acyl and 2,2'-anhydro-3'-O-acyl derivatives as potential prodrugs. *J. Med. Chem.* 25, 171-178 ; Ross, W. (1961) Increased sensitivity of the walker turnout towards aromatic nitrogen mustards carrying basic side chains following glucose pretreatment. *Biochem. Pharm.* 8, 235-240 ; Ryu, E. K., Ross, R. J. Matsushita, T., MacCoss, M., Hong, C. I. and West, C. R. (1982). Phospholipid-nucleoside conjugates. 3. Synthesis and preliminary biological evaluation of 1-β-Darabinofuranosylcytosine 5'diphosphate [-], 2-diacylglycerols. *J. Med. Chem.* 25, 1322-1329;

Saffhill, R. and Hume, W. J. (1986) The degradation of 5-iododeoxyuridine and 5-bromodeoxyuridine by serum from different sources and its consequences for the use of these compounds for incorporation into DNA. *Chem.*

Biol. Interact. 57, 347-355 ; Saneyoshi, M., Morozumi, M., Kodama, K., Machida, J., Kuninaka, A. and Yoshino, H. (1980) Synthetic nucleosides and nucleotides. XVI. Synthesis and biological evaluations of a series of 1-β-D-arabinofuranosylcytosine 5'-alkyl or arylphosphates. Chem. Pharm. Bull. 28, 2915-2923 ;

Sastry, J. K., Nehete, P. N., Khan, S., Nowak, B. J., Plunkett, W., Arlinghaus, R. B. and Farquhar, D. (1992) Membrane-permeable dideoxyuridine 5'-monophosphate analogue inhibits human immunodeficiency virus infection. Mol. Pharmacol. 41, 441-445 ; Shaw, J. P., Jones, R. J. Arimilli, M. N., Louie, M. S., Lee, W. A. and Cundy, K. C. (1994) Oral bioavailability of PMEA from PMEA prodrugs in male Sprague-Dawley rats. 9th Annual AAPS Meeting. San Diego, CA (Abstract). Shuto, S., Ueda, S., Imamura, S., Fukukawa, K. Matsuda, A. and Ueda, T. (1987) A facile one-step synthesis of 5'-phosphatidyl nucleosides by an enzymatic two-phase reaction. Tetrahedron Lett. 28, 199-202 ; Shuto, S., Itoh, H., Ueda, S., Imamura, S., Kukukawa, K., Tsujino, M., Matsuda, A. and Ueda, T. (1988) A facile enzymatic synthesis of 5'-(3-sn-phosphatidyl) nucleosides and their antileukemic activities. Chem. Pharm. Bull. 36,209-217.

하나의 바람직한 포스페이트 프로드럭 그룹은 또한 "SATE"로서 지칭된, S-아실-2-티오에틸 그룹이다.

병행 또는 교대 치료법

항바이러스제로 지속적인 치료후에는 HBV의 내약성 변이체가 출현할 수 있다고 인정되어 왔다. 내약성은 가장 전형적으로는 바이러스 라이프 사이클(life cycle)에서 사용된 효소, 및 가장 전형적으로는 HBV의 경우, DNA 폴리머라제를 코팅하는 유전자의 변이에 의해 일어난다. 최근에, HBV 감염에 대한 약물의 효능은 주 약물에 의해 야기된 변이와 다른 변이를 유발하는 제 2, 및 아마도 제 3의, 항바이러스 화합물과 병행하거나 교대하여 이 화합물을 투여함으로써 지속되고, 증대되거나, 보존될 수 있다는 사실이 알려진 바 있다. 별도로, 약물의 약동학, 생체내 분포(biodistribution), 또는 다른 변수가 이러한 병행 또는 교대 치료법에 의해 변경될 수 있다. 일반적으로, 병행 치료법은 전형적으로 교대 치료법에 비해 바람직하다. 그 이유는 병행 치료법이 바이러스에 대해 복수의 동시 스트레스를 유발하기 때문이다.

본 발명에서 제공된 β-L-2'-dA, β-L-2'-dC, β-L-2'-dU, β-L-2'-dG, β-L-2'-dT, β-L-dI, 또는 다른 β-L-2'-뉴클레오시드, 또는 이들 화합물의 프로드럭, 포스페이트, 또는 염의 항-B형 간염 바이러스 활성은 2개 이상의 이들 뉴클레오시드를 병행하거나 교대로 투여함으로써 증가될 수 있다. 별도로, 예를들어, 본 발명에서 제공된 β-L-2'-dA, β-L-2'-dC, β-L-2'-dU, β-L-2'-dG, β-L-2'-dT, β-L-dI, 또는 다른 β-L-2'-뉴클레오시드 하나 이상을 3TC, FTC, L-FMAU, DAPD, 팜시클로비르(famciclovir), 펜시클로비르(penciclovir), BMS-200475, 비스 폼(bis pom) PMEA(아데포비르(adeфовir), 디피복실(dipivoxil)); 로부카비르(lobucavir), 간시클로비르(ganciclovir), 또는 리바비린(ribavirin)과 병행하거나 교대하여 투여할 수 있다.

본 발명에서 설명한 어느 하나의 구체예에서, 본 발명의 β-L-2'-뉴클레오시드가 활성 형태로 포스포릴화되는 제 2의 뉴클레오시드 또는 비뉴클레오시드 리버스 트랜스크립타제(reverse transcriptase) 억제제와 병행하거나 교대로 투여된다면, 제 2의 화합물이 본 발명의 선택된 β-L-2'-뉴클레오시드를 생체내에서 포스포릴화하는 효소와 다른 효소에 의해 포스포릴화되는 것이 바람직하다.

활성 화합물의 제조

본 발명의 2'-데옥시-β-L-에리트로-펜토폰라노뉴클레오시드 유도체는 본 기술에서 공지되어 있으며 문헌[Holy, Collect. Czech. Chem. Commun. (1972), 37(12), 4072-87 및 Mol. Phys. (1967), 3(4), 386-95]에 개시된 방법에 따라 제조될 수 있다.

L-리보스 또는 L-크실로스를 출발물질로서 사용하여, β-L-에리트로-펜타푸라노뉴클레오시드(β-L-dN)을 얻기 위한 일반적인 방법이 도 1에 제시되어 있다.

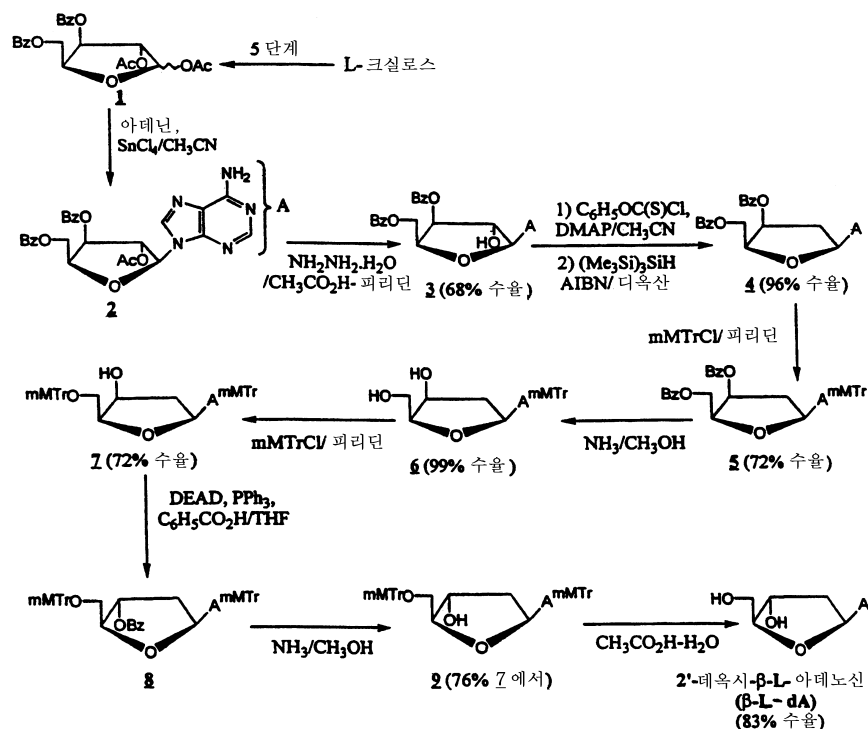
활성 뉴클레오시드의 모노, 디, 및 트리포스페이트 유도체는 공개된 방법에 따라 기재된 바와 같이 제조될 수 있다. 모노포스페이트는 이마이(Imai et al.)의 공정[J. Org. Chem., 34(6), 1547-1550 (1969년 6월)]에 따라 제조될 수 있다. 디포스페이트는 문헌[Davisson et al., J. Org. Chem., 52(9), 1794-1801 (1987)]의 공정에 따라 제조될 수 있다. 트리포스페이트는 문헌[Hoard et al., J. Am. Chem. Soc., 87(8), 1785-1788 (1965)]에 따라 제조될 수 있다.

실험 프로토콜

갈렌캄프(Gallenkamp) MFB-595-010 M 장치의 개방된 모세관에서 용점을 측정하고 보정하지 않았다. UV 흡수 스펙트럼을 에탄올내 우비콘(Uvikon) 931(KONTRON) 스펙트로포토미터상에 기록하였다. ^1H -NMR 스펙트럼을 DMSO-d_6 내에 실온에서 브루커(Bruker) AC 250 또는 400 스펙트로미터에 의해 가동하였다. 화학적 전이는 ppm으로 제공되며, DMSO-d_6 를 기준으로서 2.49 ppm에 설정하였다. 프로톤 할당을 확인하기 위해 중수소 교환, 탈커플링 실험 또는 2D-COSY를 수행하였다. 시그널 다중도는 s(단일선), d(이중선), dd(이중선의 이중선), t(삼중선), q(사중선), br(넓은), m(다중선)으로 표시한다. 모든 J-값은 Hz 단위이다. FAB 질량 스펙트럼을 JEOL DX 300 질량 스펙트로미터상에 양성-(FAB>0) 또는 음성-(FAB<0) 이온 모드로 기록하였다. 매트릭스는 3-니트로벤질 알코올(NBA) 또는 글리세롤 및 티오글리세롤(GT)의 혼합물(50:50, v/v)이었다. 고유 광회전도를 퍼킨-엘머(Perkin-Elmer) 241 스펙트로폴라리미터에서 측정하고(경로 길이 1 cm) $10^{-1} \text{ deg cm}^2 \text{ g}^{-1}$ 의 단위로 제공된다. 원소분석은 "Service de Microanalyses du CNRS, Division de Vernaison"(Farance)에 의해 수행되었다. 원소기호 또는 함수에 의해 제시된 분석치는 이론치의 $\pm 0.4\%$ 이내이었다. 박층 크로마토그래피를 실리카 겔 60 F₂₅₄(Merck, Art. 5554)의 예비코팅된 알루미늄 시트상에서 수행하고, UV 흡수처리 이어서 10% 에탄올성 황산으로 채우고 가열하여 생성물을 가시화하였다. 대기압에서 실리카 겔 60(Merck, Art. 9385) 위에서 칼럼 크로마토그래피를 수행하였다.

실시예

실시예 1 2'-데옥시- β -L-아데노신의 입체 특이적 합성



9-(3,5-디-O-벤조일- β -L-크실로푸라노실)아데닌(3)

피리딘/빙초산 혼합물(4/1, v/v, 170ml)내에서 9-(2-O-아세틸-3,5-디-O-벤조일- β -L-크실로푸라노실)아데닌 2[참조: Gosselin, G.; Bergogne, M.-C.; Imbach, J.-L., "Synthesis and Antiviral Evaluation of β -L-Xylofuranosyl Nucleosides of the Five Naturally Occuring Nucleic Acid Bases", *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 1993, **30** (Oct.-Nov.), 1229~1233](8.30g, 16.05mmol) 및 히드라진 수화물 98%(234ml, 48.5mmol)의 용액을 실온에서 22시간 동안 교반하였다. 아세톤(40ml)을 가하여 반응을 중단시키고 추가로 1 시간동안 계속 교반하였다. 반응 혼합물을 그 부피의 반으로 줄이고, 물(250ml)로 희석한 후 클로로포름($2 \times 150\text{ml}$)으로 추출하였다. 유기층을 포화 탄산수소나트륨 수용액($3 \times 100\text{ml}$)과 물($3 \times 100\text{ml}$)로 연속 세척하고, 건조, 여과 및 농축시킨 후 톨루엔과 메탄올로 공-증발시켰다. 잔류물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(디클로로메탄 중의 0~3% 메탄올)로 정제하여 표제 화합물 3을 얻은 후(5.2g, 68%), 디이소프로필에테르로 침전시켰다: ^1H NMR (DMSO-d_6): δ 4.5-4.9 (m, 4H, H-2', H-4', H-5' 및 H-5"), 5.64(t, 1H, H-

3', $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 3.5$ Hz), 6.3(br s, 1H, OH-2'), 6.45 (d, 1H, H-1', $J_{1',2'} = 4.6$ Hz), 7.3(br s, 2H, NH₂-6), 7.4-7.9 (m, 10H, 2 벤조일), 8.07 및 8.34 (2s, 2H, H-2 및 H-8); ms : 매트릭스 G/T, (FAB⁺) m/z 476 [M+H]⁺, 136[BH₂]⁺, (FAB⁻) m/z 474 [M-H]⁻, 134[B]⁻; UV (95% 에탄올): λ_{\max} 257 nm (ϵ 16400), 230 nm (ϵ 29300), λ_{\min} 246 nm (ϵ 14800); $[\alpha]_D^{20} = -64$ (c 1.07, CHCl₃). C₂₄H₂₁N₅O₄ (M = 475.45)에 대한 이론치 : C, 60.43; H, 4.45; N, 14.73. 실측치 : C, 60.41; H, 4.68; N, 14.27.

9-(3,5-디-O-벤조일-2-데옥시-β-L-트레오-펜토피라노실)아데닌(4)

무수 아세트니트릴(65ml) 중의 화합물 **3** (1.00g, 2.11mmol)의 용액에 4-(디메틸아미노)피리딘(0.77g, 6.32mmol) 및 페녹시티오카보닐 클로라이드(0.44ml, 3.16mmol)을 가하였다. 혼합물을 실온에서 2 시간동안 교반하였다. 농축시킨 후, 잔류물을 디클로로메탄(50ml)에 용해시키고, 물(2 × 30ml), 0.5N 염산 수용액(30ml) 및 물(3 × 30ml)로 연속 세척하였다. 유기층을 건조, 여과 및 농축시켜 건조 상태로 하였다. 생성된 티오카보닐화 조중간체를 무수 디옥산(17ml)내에서 트리스-(트리메틸실릴)실란 하이드라이드(0.78ml, 5.23mmol) 및 α,α'-아조이소부티로니트릴(AIBN, 0.112g, 0.69mmol)로 환류 상태에서 2 시간동안 직접 처리하였다. 용매를 진공하에서 제거시킨 후, 잔류물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(디클로로메탄 중의 0~5% 메탄올)로 정제하여 포움으로 순수한 표제 화합물 **4**를 얻었다(0.93g, 96%): ¹H NMR (DMSO-d₆): δ 2.9-3.1 (m, 2H, H-2' 및 H-2''), 4.6-4.7 (m, 3H, H-4', H-5' 및 H-5''), 5.8(br s, 1H, H-3'), 6.43 (dd, 1H, H-1', $J_{1',2'} = 3.1$ Hz, $J_{1',2''} = 7.6$ Hz), 7.3 (br s, 2H, NH₂-6), 7.4-7.9 (m, 10H, 2 벤조일), 8.05 및 8.33 (2s, 2H, H-2 및 H-8); ms : 매트릭스 G/T, (FAB⁺) m/z 460 [M+H]⁺, 325[S]⁺, 136[BH₂]⁺, (FAB⁻) m/z 458 [M-H]⁻, 134 [B]⁻; UV (95% 에탄올): λ_{\max} 261 nm (ϵ 14400), 231 nm (ϵ 26300), λ_{\min} 249 nm (ϵ 12000); $[\alpha]_D^{20} = -38$ (c 1.04, DMSO).

6-N-(4-모노메톡시트리틸)-9-(3,5-디-O-벤조일-2-데옥시-β-L-트레오-펜토피라노실)아데닌(5)

무수 피리딘(40ml) 중의 화합물 **4** (0.88g, 1.92mmol)의 용액에 4-모노메톡시트리틸 클로라이드(1.18g, 3.84mmol)를 가하였다. 혼합물을 60℃에서 24시간동안 교반하였다. 메탄올(5ml)을 첨가한 후, 용액을 농축시켜 건조 상태로 한 후, 잔류물을 디클로로메탄(50ml)에 용해시키고, 물(30ml), 포화 탄산수소나트륨 수용액(30ml) 및 물(30ml)로 연속 세척하였다. 유기층을 건조, 여과 및 농축시킨 후 톨루엔으로 공-증발시켜 포움으로 순수한 표제 화합물 **5**를 얻었다(1.01g, 72%): ¹H NMR (CDCl₃): δ 2.9-3.0 (m, 2H, H-2' 및 H-2''), 3.62 (s, 3H, OCH₃), 4.6-4.8 (m, 3H, H-4', H-5' 및 H-5''), 5.85 (pt, 1H, H-3'), 6.44(dd, 1H, H-1', $J_{1',2'} = 3.1$ Hz, $J_{1',2''} = 7.3$ Hz), 6.9 (br s, 1H, NH-6), 6.7-6.8 및 7.2-7.2 (2m, 24H, 2 벤조일 및 MMTr), 7.97 및 8.13 (2s, 2H, H-2 및 H-8); ms : 매트릭스 G/T, (FAB⁺) m/z 732 [M+H]⁺, (FAB⁻) m/z 730 [M-H]⁻; UV (95% 에탄올): λ_{\max} 274 nm (ϵ 12100), 225 nm (ϵ 24200), λ_{\min} 250 nm (ϵ 5900); $[\alpha]_D^{20} = -16$ (c 1.12, DMSO).

6-N-(4-모노메톡시트리틸)-9-(2-데옥시-β-L-트레오-펜토피라노실)아데닌(6)

화합물 **5** (0.95g, 1.30mmol)를 메탄올 암모니아(40ml) 용액(-10℃에서 포화됨)으로 실온에서 밤새 처리하였다. 농축시킨 후, 잔류물을 디클로로메탄(60ml)에 용해시키고, 물(30ml)로 세척하였다. 수성층을 디클로로메탄(10ml)으로 두 번 추출하였다. 유기층을 모아 건조, 여과 및 농축시켰다. 잔류물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(디클로로메탄 중의 0~5% 메탄올)로 정제하여 포움으로 순수한 표제 화합물 **6**를 얻었다(0.67g, 98%): ¹H NMR (CDCl₃): δ 2.6-2.9 (m, 2H, H-2' 및 H-2''), 3.5 (br s, 1H, OH-5'), 3.55 (s, 3H, OCH₃), 3.9-4.0 (m, 3H, H-4', H-5' 및 H-5''), 4.5-4.6 (m, 1H, H-3'), 6.03 (dd, 1H, H-1', $J_{1',2'} = 4.0$ Hz, $J_{1',2''} = 8.8$ Hz), 7.0 (br s, 1H, NH-6), 6.7-6.8 및 7.1-7.4 (2m, 14H, MMTr), 7.40 (d, 1H, OH-3', $J_{H,OH} = 10.6$ Hz), 7.80 및 7.99 (2s, 2H, H-2 및 H-8); ms: 매트릭스 G/T, (FAB⁺) m/z 524 [M+H]⁺, 408 [BH₂]⁺, (FAB⁻) m/z 1045 [2M-H]⁻, 522 [M-H]⁻, 406 [B]⁻; UV(95% 에탄올): λ_{\max} 275 nm (ϵ 12300), λ_{\min} 247 nm (ϵ 3600); $[\alpha]_D^{20} = +28$ (c 0.94, DMSO).

6-N-(4-모노메톡시트리틸)-9-(2-데옥시-5-O-(4-모노메톡시트리틸)-β-L-트레오-펜토피라노실)아데닌(7)

무수 피리딘(25mℓ) 중의 화합물 **6** (0.62g, 1.24mmol)을 4-모노메톡시트리틸 클로라이드(0.46g, 1.49mmol)로 실온에서 16 시간동안 처리하였다. 메탄올(5mℓ)을 가한 후, 혼합물을 농축시켜 건조 상태로 하였다. 잔류물을 디클로로메탄(60mℓ)에 용해시키고, 물(40mℓ), 포화 탄산수소나트륨 수용액(40mℓ) 및 물(3 × 40mℓ)로 연속 세척하였다. 유기층을 건조, 여과 및 농축시킨 후 톨루엔과 메탄올로 공증발시켰다. 잔류물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(디클로로메탄 중의 0~10% 메탄올)로 정제하여 포음으로 표제 화합물 **7** 을 얻었다(0.71g, 72%): ^1H NMR (DMSO- d_6): δ 2.21 (d, 1H, H-2' $J_{2',2''}$ = 14.3 Hz), 2.6-2.7 (m, 1H, H-2''), 3.1-3.3 (2m, 2H, H-5' 및 H-5''), 3.64 및 3.65 (2s, 6H, 2 × OCH₃), 4.1-4.2 (m, 1H, H-4'), 4.2-4.3 (m, 1H, H-3'), 5.68 (d, 1H, OH-3', $J_{\text{H,OH}}$ = 5.2 Hz), 6.24 (d, 1H, H-1', $J_{1',2''}$ = 7.0 Hz), 6.7-6.8 및 7.1-7.3 (2m, 29H, 2 MMTr 및 NH-6), 7.83 및 8.21 (2s, 2H, H-2 및 H-8); ms : 매트릭스 G/T, (FAB⁺) m/z 796 [M+H]⁺, 408 [BH₂]⁺, (FAB⁻) m/z 794 [M-H]⁻, 406 [B]⁻; UV (95% 에탄올): λ_{max} 275 nm (ϵ 30900), λ_{min} 246 nm (ϵ 12800); $[\alpha]_D^{20}$ = + 14 (c 1.03, DMSO).

6-N-(4-모노메톡시트리틸)-9-(3-O-벤조일-2-데옥시-5-O-(4-모노메톡시트리틸)- β -L-에리트로-펜토피라노실)아데닌(**8**)

무수 테트라하이드로푸란(20mℓ) 중의 디에틸아조디카복실레이트 용액(0.38mℓ, 2.49mmol)을 무수 THF(20mℓ) 중의 뉴클레오시드 **7** (0.66g, 0.83mmol), 트리페닐포스핀(0.66g, 2.49mmol) 및 벤조산(0.30g, 2.49mmol)의 냉각 용액(0℃)에 적가하였다. 혼합물을 실온에서 18 시간동안 교반한 후, 메탄올(1mℓ)를 가하였다. 용매를 감압하에서 제거한 후, 조생성물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(디클로로메탄 중의 0~5% 메탄올)로 정제하여 트리페닐포스핀 옥사이드에 의해 약간 오염된 표제 화합물 **8** 을 얻었다.

6-N-(4-모노메톡시트리틸)-9-(2-데옥시-5-O-(4-모노메톡시트리틸)- β -L-에리트로-펜토피라노실)아데닌(**9**)

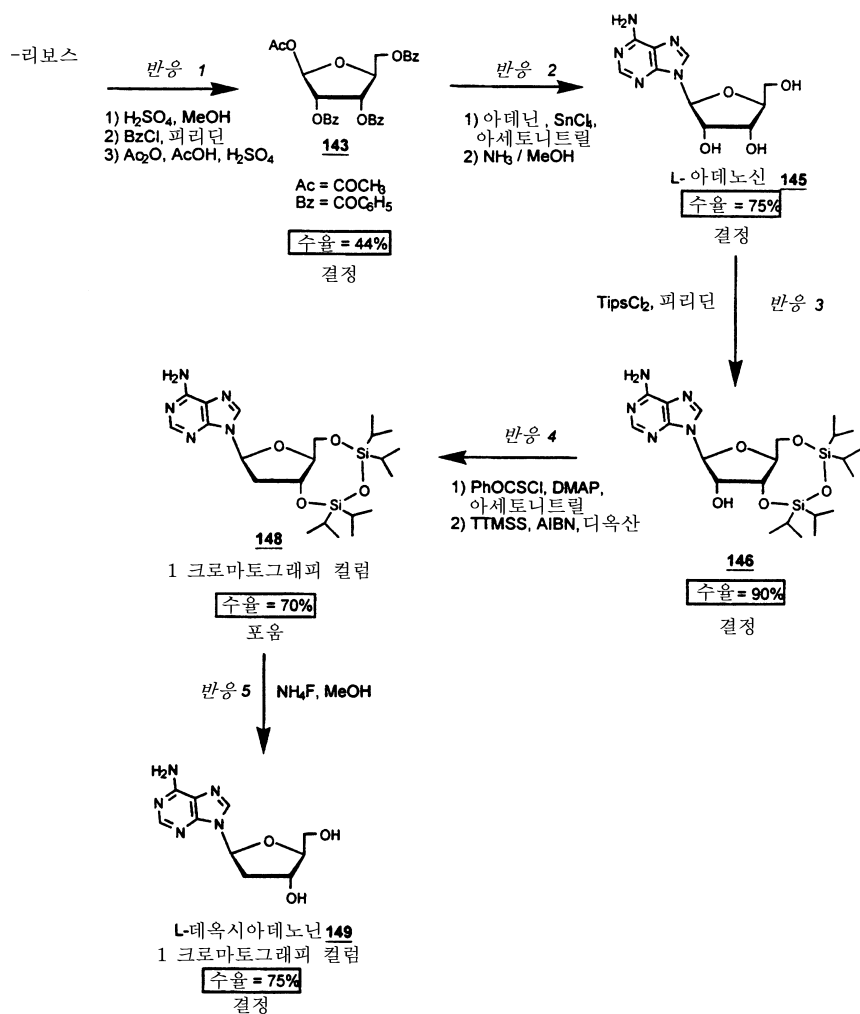
화합물 **8** 을 메탄올 암모니아(20mℓ) 용액(-10℃에서 포화)으로 실온에서 24 시간동안 처리한 후, 반응 혼합물을 농축시켜 건조 상태로 하였다. 잔류물을 디클로로메탄(30mℓ)에 용해시키고, 물(20mℓ)로 세척하였다. 수성층을 디클로로메탄(2 × 20 mℓ)으로 추출하고, 유기층을 모아 건조, 여과 및 농축시켰다. 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(디클로로메탄 중의 0~2% 메탄올)로 정제하여 포음으로 순수한 표제 화합물 **9** 를 얻었다(0.50g, 화합물 **7**로부터 76%): ^1H NMR (DMSO- d_6): δ 2.2-2.3 (m, 1H, H-2'), 2.8-2.9 (m, 1H, H-2''), 3.1-3.2 (m, 2H, H-5' 및 H-5''), 3.64 및 3.65 (2s, 6H, 2 × OCH₃), 3.97 (pq, 1H, H-4'), 4.4-4.5(m, 1H, H-3'), 5.36 (d, 1H, OH-3', $J_{\text{H,OH}}$ = 4.5 Hz), 6.34 (t, 1H, H-1', $J_{1',2'}$ = $J_{1',2''}$ = 6.4 Hz), 6.8-6.9 및 7.1-7.4 (2m, 29H, 2 MMTr 및 NH-6), 7.81 및 8.32 (2s, 2H, H-2 및 H-8); ms : 매트릭스 G/T, (FAB⁺) m/z 796 [M+H]⁺, 408 [BH₂]⁺, (FAB⁻) m/z 794 [M-H]⁻, 406 [B]⁻; UV (95% 에탄올): λ_{max} 276 nm (ϵ 42600), λ_{min} 248 nm (ϵ 23300); $[\alpha]_D^{20}$ = + 29 (c 1.05, DMSO).

2'-데옥시- β -L-아데노신(β -L-dA)

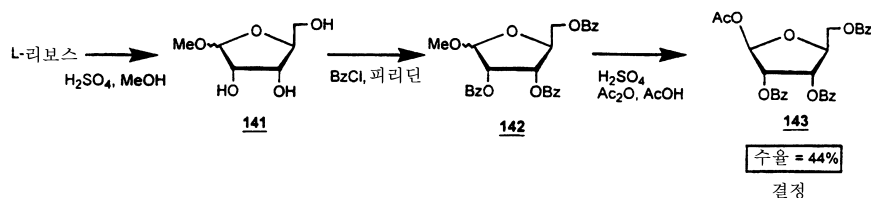
화합물 **9** (0.44g, 0.56mmol)을 80% 아세트산 수용액(17 ml)으로 실온에서 5 시간동안 처리하였다. 혼합물을 건조 상태로 농축시킨 후, 잔류물을 물(20mℓ)에 용해시키고, 디에틸 에테르(2 × 15mℓ)로 세척하였다. 수성층을 농축시키고, 톨루엔 및 메탄올로 공-증발시켰다. 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(디클로로메탄 중의 0~12% 메탄올)로 정제하고, Millex HV-4 장치(0.45 μ , Millipore)을 통하여 여과시켜 목적하는 2'-데옥시- β -L-아데노신(**β -L-dA**)(0.12g, 83%)을 얻었다: 용점 193~194℃(물로부터 결정됨)(Lit. L-에난티오머에 대하여 184~195℃ [참조: Robins, M. J.; Khwaja, T.A.; Robins, R. K. *J. Org. Chem.* 1970, 35, 636~639] 및 D-에난티오머에 대하여 187~189℃ [참조 Ness, R. K. *in Synthetic Procedures in Nucleic Acid Chemistry*; Zorbach, W. W., Tipson, R. S., Eds.; J. Wiley and sons : New York, 1968; Vol 1, pp 183~187): ^1H NMR (DMSO- d_6): δ 2.2-2.3 및 2.6-2.7 (2m, 2H, H-2' 및 H-2''), 3.4-3.6 (2m, 2H, H-5' 및 H-5''), 3.86 (pq, 1H, H-4'), 4.3-4.4 (m, 1H, H-3'), 5.24 (t, 1H, OH-5', $J_{\text{H,OH}}$ = 5.8 Hz), 5.30 (d, 1H, OH-3', $J_{\text{H,OH}}$ = 4.0 Hz), 6.32 (dd, 1H, H-1', $J_{1',2'}$ = 6.2 Hz, $J_{1',2''}$ = 7.8 Hz), 7.3 (br s, 2H, NH₂-6), 8.11 및 8.32 (2s, 2H, H-2 및 H-8); ms : 매트릭스 G/T, (FAB⁺) m/z 252 [M+H]⁺, 136 [BH₂]⁺, (FAB⁻) m/z 250 [M-H]⁻, 134 [B]⁻; UV

(95% 에탄올) : λ_{\max} 258 nm (ϵ 14300), λ_{\min} 226 nm (ϵ 2100); $[\alpha]_D^{20} = +25$ (c 1.03, H₂O), (L-에난티오머에 대해 Lit. $[\alpha]_D^{20} = +23$ (c 1.0, H₂O)[Ref.: Robins, M. J.; Khwaja, T. A.; Robins, R. K. J. Org. Chem. 1970, 35, 636-639] 및 D-에난티오머에 대해 $[\alpha]_D^{20} = -25$ (c 0.47, H₂O)[Ref.: Ness, R. K. in Synthetic Procedures in Nucleic Acid Chemistry; Zorbach, W.W., Tipson, R. S., Eds.: J. Wiley and sons : New York, 1968; Vol 1, pp 183-187]). C₁₀H₁₃N₅O₃ + 1.5 H₂O (M = 278.28)에 대한 이론치 : C, 43.16; H, 5.80; N, 25.17. 실측치 : C, 43.63; H, 5.45; N, 25.33.

실시예 2: 2'-데옥시-β-L-아데노신의 입체 특이적 합성



반응 1 :



전구체 : L-리보오스

(Cultor Science Food, CAS[24259-59-4], batch RIB9711013

반응물 : 95~97% 황산(Merck; ref 1.00731.1000);

벤조일 클로라이드(Fluka; ref 12930);

황산나트륨(Prolabo; ref 28111.365)

용 매 : 메탄올 P.A. (Prolabo; ref 20847.295);

피리딘 99%(Acros; ref 131780025)

디클로로메탄 P.A.(Merck; ref 1.06050.6025)

아세트산 P.A.(carlo erba; ref 20104298);

아세트산 무수물(Fluka; ref 45830);

에탄올 95(Prolabo; ref 20823.293)

참고문헌 : Recondo, E. F., 및 Rinderknecht, H., Eine neue, Eihfache

Synthese des 1-O-Acetyl-2,3,5-Tri-O-β-D-Ribofuranosides.

Helv. Chim. Acta, 1171~1173(1959).

메탄올(2ℓ) 중의 L-리보오스 **140** 용액(150 g, 1 mol)을 황산(12mℓ)으로 처리하고, + 4℃에서 12 시간동안 방치한 후, 피리딘(180mℓ)으로 중화시켰다. 증발시켜 시럽 형태의 메틸 리보푸라노시드의 α,β혼합물 **141** 을 얻었다. 피리딘(1.3ℓ) 중의 이 아노머 혼합물 용액을 냉각 및 기계적 교반하면서 벤조일 클로라이드(580mℓ, 5mol)로 처리하였다. 이 용액을 실온에서 12 시간동안 방치한 후, 교반하면서 아이스(약 10ℓ)상에 부었다. 이 혼합물(수중유)을 셀라이트 베드(cellite bed)상에 여과하였다. 셀라이트 베드상에 생성된 오일을 물(3×3ℓ)로 세척한 후, 에틸아세테이트(3ℓ)로 용해시켰다. 유기상을 5% 탄산수소나트륨 용액(2ℓ) 및 물(2ℓ)로 세척하고, 황산 나트륨상에서 건조시킨 후, 여과 및 증발시켜 걸쭉한 시럽 형태의 1-O-메틸-2,3,5-트리-O-벤조일-α/β-L-리보푸라노스 **142** 를 얻었다. 오일을 무수 아세트산(560mℓ) 및 아세트산(240mℓ)로 용해시켰다. 농축 황산(80mℓ)을 적가시킨 후, 이 용액을 기계적 교반하에 10 시간동안 차게(+ 4℃) 두었다. 이어, 계속 교반하면서 아이스(약 10ℓ)상에 부었다. 혼합물(수중 유성 화합물)을 셀라이트 베드 상에 여과시켰다. 셀라이트 베드 상에 생성된 고무상 고체를 물(3×3ℓ)로 세척한 후, 디클로로메탄(2.5ℓ)로 용해시켰다. 유기상을 5% 탄산수소나트륨(1ℓ) 및 물(2×2ℓ)로 세척하고 황산 나트륨상에서 건조시킨 후 여과 및 증발시켜 고무상 고체 **143** 을 얻었고, 에탄올 95 로 결정화시켰다(수율 225g, 44%).

1-O-아세틸-2,3,5-트리-O-벤조일-β-L-리보푸라노스 143 에 대한 분석:

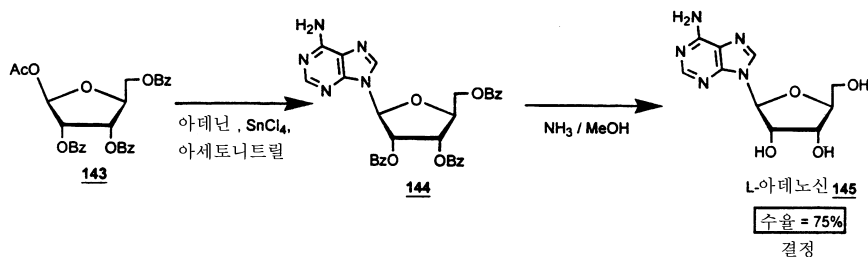
m.p. 129-130℃ (에탄올 95)(lit.(1) m.p.130-131℃)

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ8.09-7.87 (m, 6H, H_{Arom}), 7.62-7.31 (m, 9H, H_{Arom}) 6.43 (s, 1H, H₁), 5.91 (dd, 1H, H₃, J_{3,4} 6.7 Hz; J_{3,2} 4.9 Hz), 5.79 (pd, 1H, H₂, J_{2,3} 4.9 Hz; J_{1,2} <1), 4.78 (m, 2H, H₄ 및 H₅), 4.51 (dd, 1H, H₅, J_{5,5'} 13.1 Hz, J_{5',4} 5.5 Hz), 2.00 (s, 3H, CH₃CO); (상용 1-O-아세틸-2,3,5-트리-O-벤조일-β-D-리보푸라노스와 동일)

질량 분석 (FAB+, GT) m/z 445 (M-OAc)+

C₂₈H₂₄O₉ 에 대한 원소 분석 이론치 C 66.66 H 4.79; 실측치 C H

반응 2 :



전구체 : 아데닌(Pharma-Waldhof; ref 400134.001 lot 45276800)

반응물 : 발연 염화주석(IV)(Fluka; ref 96558);

NH₃/메탄올(NH₃로 포화된 메탄올; 참조 page5(명세서 원문 기준);

황산나트륨(Prolabo; ref 28111.365)

용 매 : 아세토니트릴(Riedel-de Hean; ref 33019; CaH₂ 로 증류시킴);

클로로포름 Pur(Acros; ref 22706463);

에틸아세테이트 Pur(Carlo erba; ref 528299)

참고문헌 : Saneyoshi, M., and Satoh, E., Synthetic Nucleosides and Nucleotides. XIII. Stannic Chloride Catalyzed Ribosylation of Several 6-Substituted Purines. *Chem. Pharm. Bull.* **27**, 2518~2521 (1979).; Nakayama, C., and Saneyoshi, M., Synthetic Nucleosides and Nucleotides. XX. Synthesis of Various 1-β-Xylofuranosyl-5-Alkyluracils and Related Nucleosides. *Nucleosides, Nucleotides*, 1, 139~146 (1982).

아데닌(19.6g, 144mmol)을 아세토니트릴(400ml)내에서 1-O-아세틸-2,3,5-트리-O-벤조일-β-L-리보푸라노스 **143** (60g, 119mmol)과 함께 현탁시켰다. 이 현탁액에 발연 염화주석(IV)(22ml, 187mmol)을 가하였다. 12 시간후, 적은 부피 (약 100ml)로 농축시키고, 탄산수소나트륨(110g) 및 물(120ml)를 가하였다. 생성된 백색 고체(주석염)를 뜨거운 클로로포름(5 × 200ml)로 추출하였다. 추출물을 모아 셀라이트 베드 상에 여과시켰다. 유기상을 5% 탄산수소나트륨 용액 및 물로 세척하고 황산나트륨 상에서 건조시킨 후, 여과 및 증발시켜 화합물 **144** (60g, 무색 포움)를 얻었다. 포움을 암모니아(220 ml)로 포화시킨 메탄올로 밀봉용기내에서 실온하 교반하에 4 일동안 처리하였다. 용매를 감압하에 증발시키고, 생성된 분말을 환류에서 1시간동안 에틸아세테이트(400ml)에 현탁시켰다. 여과시킨 후, 분말을 물(220 ml)로 재결정화시켜 L-아데노신 **145** 를 얻었다(24g, 결정, 75%).

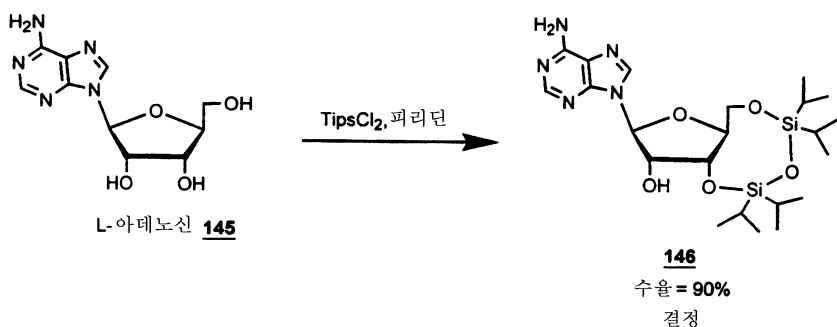
β-L-아데노신에 대한 분석 :

m.p. 233-234 °C (물) (lit.(4) m.p. 235°-238 °C)

¹H NMR (200 MHz, DMSO-D₆): δ 8.34 및 8.12 (2s, 2H, H₂ 및 H₈), 7.37 (1s, 2H, NH₂), 5.86 (d, 1H, H_{1'}, J_{1',2'} 6.2 Hz), 5.43 (m, 2H, OH_{2'} 및 OH_{5'}), 5.19 (d, 1H, OH_{3'}, J 3.7 Hz), 4.60 (m, H_{2'}), 4.13 (m, 1H, H_{3'}), 3.94 (m, 1H, H_{4'}), 3.69-3.49 (m, 2H, H_{5'a} 및 H_{5'b}), (상용 D-아데노신과 동일)

질량 분석 (FAB⁺, GT) m/z 268 (M+H)⁺, 136(BH₂)⁺

반응 3 :



반응물 : 1,3-디클로로-1,1,3,3-테트라이소프로필디실록산

(Fluka; ref 36520); 황산나트륨(Prolabo; ref 28111.365)

용 매 : 피리딘 99%(Acros; ref 131780025);

에틸아세테이트 Pur(Carlo erba; ref 528299);

아세토니트릴(Riedel-de Haen; ref 33019)

참고문헌 : Robins, M. J., et al., Nucleic Acid Related Compounds. 42. A General Procedure for the Efficient Deoxygenation of Secondary Alcohols. Regiospecific and Stereoselective Conversion of Ribonucleosides to 2'-Deoxynucleosides. *J. Am. Chem. Soc.* **105**, 4059~4065 (1983).

피리딘(320ml)내에 현탁시킨 L-아데노신 **145** (47.2g, 177mmol)에 1,3-디클로로-1,1,3,3-테트라이소프로필디실록산 (63ml, 201mmol)을 가한 후, 이 혼합물을 실온에서 12 시간동안 교반하였다. 피리딘을 증발시킨 후 잔류물을 에틸아세테이트(1ℓ) 및 5% 탄산수소나트륨 용액(600ml)으로 분배하였다. 유기상을 0.5N 염산 용액(2 × 500ml) 및 물(500ml)로 세척하고 황산나트륨 상에서 건조시킨 후, 여과 및 증발시켜 건조 상태로 하였다. 생성된 고체를 아세토니트릴로부터 결정화시켜 화합물 **146** 을 얻었다(81g, 90%).

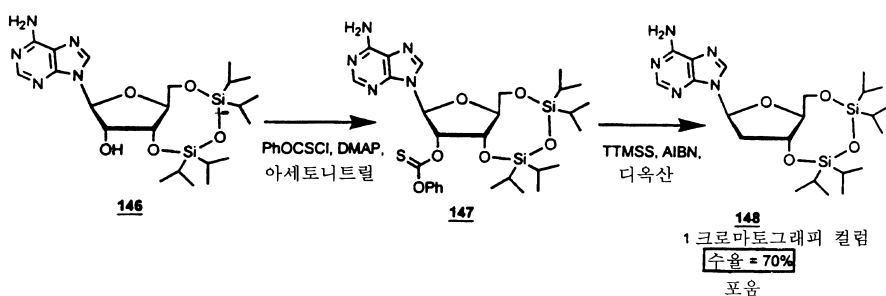
3',5'-O-(1,1,3,3-테트라이소프로필-1,3-디실록사닐)-β-L-아데노신 **146** 에 대한 분석 :

m.p. 97-98℃ (아세토니트릴) (lit. (5) D-에난티오머 m.p. 98℃)

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) : δ 8.28 및 7.95 (2s, 2H, H₂ 및 H₈), 5.96 (d, 1H, J_{1',2'} 1.1Hz), 5.63 (s, 2H, NH₂), 5.10 (dd, 1H, H_{3'}, J_{3',4'} 7.6 Hz, J_{3',2'} 5.5 Hz), 4.57 (dd, 1H, H_{2'}, J_{2',1'} 1.2 Hz; J_{2',3'} 7.6 Hz), 4.15-3.99 (m, 3H, H_{4'}, H_{5'a} 및 H_{5'b}), 3.31 (s1, 1H, OH_{2'}), 1.06 (m, 28H, 이소프로필 프로톤)

질량 분석 (FAB⁻, GT) m/z 508 (M-H)⁻, 134 (B)⁻; (FAB⁺, GT) m/z 510 (m+H)⁺, 136 (BH₂)⁺

반응 4 :



반응물 : 디메틸아미노피리딘 99% (Acros; ref 1482702050);

페닐클로로티오노카보네이트 99% (Acros; ref 215490050);

트리스(트리메틸실릴)실란 "TTMSS" (Fluka; ref 93411);

α, α' -아조이소부티로니트릴 "AIBN"(Fluka, ref 11630);

황산나트륨(Prolabo; ref 28111.365)

용 매 : 아세토니트릴(Riedel-de Haen; ref 33019);

에틸아세테이트 Pur(Carlo erba; ref 528299);

디옥산 P.A.(Merck; ref 1.09671.1000);

디클로로메탄(Merck; ref 1.06050.6025);

메탄올(Carlo erba; ref 309002);

참고문헌 : Robins, M. J., Wilson, J.S., and Hansske, F., Nucleic Acid Related Compounds. 42. A General Procedure for the Efficient Deoxygenation of Secondary Alcohols. Regiospecific and Stereoselective Conversion of Ribonucleosides to 2'-Deoxynucleosides. *J. Am. Chem. Soc.* **105**, 4059~4065 (1983).

화합물 **146** (34g, 67mmol)에 아세토니트릴(280ml), DMAP(16.5g, 135mmol) 및 페닐클로로티오노카보네이트(10.2ml, 73mmol)를 가하였다. 이 용액을 실온에서 12 시간동안 교반하였다. 용매를 증발시키고 잔류물을 에틸아세테이트(400ml)와 0.5N 염산 용액(400ml)으로 분배하였다. 유기층을 0.5N 염산 용액(400ml) 및 물(2×400ml)로 세척하고 황산나트륨 상에서 건조시킨 후, 여과 및 증발시켜 건조 상태로 하여 담황색 고체의 중간체를 얻었다. 이 조생성물 **147** 을 디옥산(ml) 및 AIBN(3.3g, 20mmol)로 용해시키고, TTMSS(33ml, 107mmol)을 가하였다. 이 용액을 환류될 때까지 점차 가열한 후, 2 시간동안 교반하였다. 크로마토그래피(용리제: 디클로로메탄/메탄올 95/5)에 의해 분리된 황색 오일로 농축시켜, 화합물 **148** 을 얻었다(23g, 무색 포움, 70%). 부분표본을 에탄올/석유 에테르로 결정화시켰다.

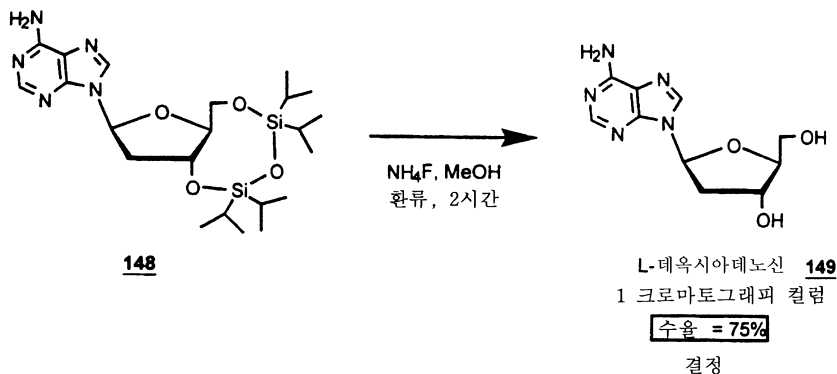
3',5'-O-(1,1,3,3-테트라이소프로필-1,3-디실록사닐)-2'-데옥시-β-L-아데노신 148 에 대한 분석 :

m.p. 110-111°C (에탄올/석유 에테르) (Lit.(5) m.p. 113-114°C (에탄올))

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 8.33 및 8.03 (2s, 2H, H₂ 및 H₈), 6.30 (dd, 1H, H_{1'}, J 2.85 Hz, J 7.06 Hz), 5.63 (s1, 2H, NH₂), 4.96 (m, 1H, H_{3'}), 4.50 (m, 2H, H_{5'a} 및 H_{5'b}), 2.68 (m, 2H, H_{2'a} 및 H_{2'b}), 1.08 (m, 28H, 이소프로필 프로톤)

질량 분석 (FAB+, GT) m/z 494 (M+H)⁺, 136 (BH₂)⁺

반응 5 :



반응물 : 플루오르화암모늄(Fluka; ref 09742);

실리카겔(Merck; ref 1.07734.2500)

용 매 : 메탄올 P.A.(Prolabo; ref 20847.295);

디클로로메탄 P.A.(Merck; ref 1.06050.6025);

에탄올 95 (Prolabo; ref 20823.293)

참고문헌 : Zhang, W., and Robins, M.J., Removal of Silyl Protecting Groups from Hydroxyl Functions with Ammonium Fluoride in Methanol. *Tetrahedron Lett.*, 33, 1177~1180 (1992).

메탄올 중의 3',5'-O-(1,1,3,3-테트라이소프로필-1,3-디실록사닐)-2'-데옥시-L-아데노신 **148** (32g, 65mmol) 및 암모늄 플루오라이드 (32g, mmol)의 용액을 환류에서 2 시간동안 교반하였다. 실리카겔을 가한 후, 이 혼합물을 주의하여 증발시켜 백색 분말을 얻었다. 이 분말을 실리카겔 컬럼 상부에 가하고, 9/1의 디클로로메탄/메탄올로 용리시켰다. 적당한 분획을 혼합시키고 증발시켜 백색 분말을 수득하고, 에탄올 95로 결정화시켰다(12.1g, 75%).

2'-데옥시-β-L-아데노신 149 에 대한 분석 :

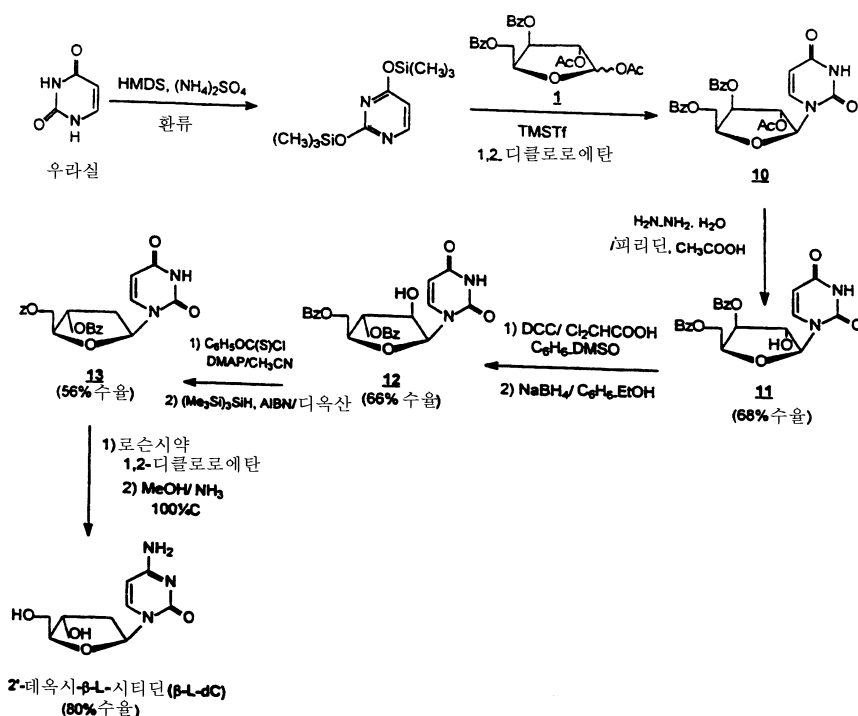
m.p. 189-190°C (에탄올 95) (상용 2'-데옥시-D-아데노신과 동일)

^1H NMR (200 MHz, DMSO- D_6): δ8.35 및 8.14 (2s, 2H, H_2 및 H_8), 7.34 (s1, 2H, NH_2), 6.35 (dd, 1H, $\text{H}_{1'}$, J 6.1 Hz, J 7.85 Hz), 5.33 (d, 1H, $\text{OH}_{2'}$, J 4.0 Hz), 5.28 (dd, 1H, $\text{H}_{3'}$, J 4.95 Hz; J 6.6 Hz), 4.42 (m, 1H, $\text{OH}_{5'}$), 3.88 (m, 1H, $\text{H}_{4'}$), 3.63-3.52 (m, 2H, $\text{H}_{5'a}$ 및 $\text{H}_{5'b}$), 2.71 (m, 1H, $\text{H}_{2'a}$), 2.28 (m, 1H, $\text{H}_{2'b}$). (상용 2'-데옥시-D-아데노신과 동일)
 $\alpha_{\text{D}} + 26^\circ$ (c 0.5 물) (상용 2'-데옥시-D-아데노신과 동일 -25°(c 0.5 물))

UV λ_{max} 260 nm (ϵ 14100) (H_2O).

질량 분석 (FAB+, GT) m/z 252 ($\text{M} + \text{H}$) $^+$, 136 (BH_2) $^+$

실시예 3 2'-데옥시-β-L-시티딘의 입체 특이적 합성



1-(3,5-디-O-벤조일-β-L-크실로푸라노실)우라실 (11)

히드라진 수화물(1.4ml, 28.7mmol)을 피리딘(60ml) 및 아세트산(15ml) 중의 1-(2-O-아세틸-3,5-디-O-벤조일-β-L-크실로푸라노실)우라실 **10** [참조: Gosselin, G.; Bergogne, M.-C.; Imbach, J.-L., "Synthesis and Antiviral Evaluation of β-L-Xylofuranosyl Nucleosides of the Five Naturally Occurring Nucleic Acid Bases", *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 1993, **30**(Oct.-Nov.), 1229~1233](4.79g, 9.68mmol)의 용액에 가하였다. 이 용액을 실온에서 밤새 교반하였다. 아세톤(35ml)을 가한 후, 30 분동안 교반하였다. 이 반응 혼합물을 감압하에서 증발시켰다. 결과 잔류물을 실리카 겔 컬럼 크로마토그래피(용리제: 디클로로메탄 중 메탄올(0~4%)의 단계적 구배)로 정제하고 사이클로헥산/디클로로메탄으로 결정화시킨 표제 화합물 **11** (3.0g, 68%)을 수득하였다: m.p.= 111-114°C; ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ11.35 (br s, 1H, NH), 7.9-7.4 (m, 11H, 2 C₆H₅CO, H-6), 6.38 (d, 1H, OH-2', J_{OH-2'} = 4.2 Hz), 5.77 (d, 1H, H-1', J_{1'-2'} = 1.9 Hz), 5.55 (d, 1H, H-5, J₅₋₆ = 8 Hz), 5.54 (dd, 1H, H-3', J_{3'-2'} = 3.9 Hz 및 J_{3'-4'} = 1.8 Hz), 4.8 (m, 1H, H-4'), 4.7 (m, 2H, H-5' 및 H-5"), 4.3 (m, 1H, H-2'); MS: FAB>0 (매트릭스 GT) m/z 453 (M+H)⁺, 105 (C₆H₅CO)⁺; FAB<0 (매트릭스 GT) m/z 451 (M-H)⁻, 121 (C₆H₅CO₂)⁻, 111 (B)⁻; C₂₃H₂₀N₂O₈ · H₂O에 대한 분석. 이론치 C, 58.09; H, 4.76; N, 5.96. 실측치: C, 57.71; H, 4.42; N, 5.70.

1-(3,5-디-O-벤조일-β-L-아라비노푸라노실)우라실 (12)

무수 벤젠-DMSO 혼합물(265ml, 6:4, v/v) 중의 1-(3,5-디-O-벤조일-β-L-크실로푸라노실)우라실 **11** (8g, 17.7ml)의 용액에 무수 피리딘(1.4ml), 디사이클로헥실카보다이미드(10.9g, 53mmol) 및 디클로로아세트산(0.75ml)을 가하였다. 결과 혼합물을 실온에서 4 시간동안 교반하고, 이어 에틸아세테이트(400ml)로 희석시킨 후 메탄올(14ml) 중의 옥살산(4.8g, 53mmol) 용액을 가하였다. 1 시간동안 교반시킨 후, 이 용액을 여과하였다. 여과액을 포화 염화나트륨 용액(2 × 500ml), 3% 탄산수소나트륨 용액(2 × 500ml) 및 물(2 × 500ml)로 세척하였다. 유기상을 Na₂SO₄ 상에서 건조시킨 후, 감압하에서 증발시켰다. 결과 잔류물을 에탄올 무수-벤젠 혼합물(140ml, 2:1, v/v)로 용해시켰다. 0°C의 이 용액에 NaBH₄(0.96g, 26.5ml)를 가하였다. 1 시간동안 교반시킨 후, 에틸아세테이트(400ml)로 희석시키고 이어 여과하였다. 여과액을 포화 염화나트륨 용액(400ml) 및 물(400ml)로 세척하였다. 유기상을 Na₂SO₄ 상에서 건조시킨 후, 감압하에서 증발시켰다. 생성된 조 물질을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(용리제: 디클로로메탄 중 메탄올(0~3%)의 단계적 구배)로 정제하고 아세토니트릴로 결정화시킨 표제 화합물 **12** (5.3g, 66%)를 얻었다: m.p. = 182-183°C; ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ11.35 (br s, 1H, NH), 8.0-7.5 (m, 11H, 2 C₆H₅CO, H-6), 6.23 (br s, 1H, OH-2'), 6.15 (d, 1H, H-1', J_{1',2'} = 4 Hz), 5.54 (d, 1H,

H-5, $J_{5-6}=8.1$ Hz), 5.37 (t, 1H, H-3', $J_{3'-2'}=J_{3'-4'}=2.6$ Hz), 4.7-4.6 (m, 2H, H-5' 및 H-5"), 4.5 (m, 1H, H-4'), 4.4 (m, 1H, H-2'); MS: FAB>0 (매트릭스 GT) m/z 453 (M+H)⁺, 341 (S)⁺, 113 (BH₂)⁺, 105 (C₆H₅CO)⁺; FAB<0 (매트릭스 GT) m/z 451 (M-H)⁻, 121 (C₆H₅CO₂)⁻, 111 (B)⁻; C₂₃H₂₀N₂O₈에 대한 분석. 이론치 C, 61.06; H, 4.46; N, 6.19. 실측치: C, 60.83; H, 4.34; N, 6.25.

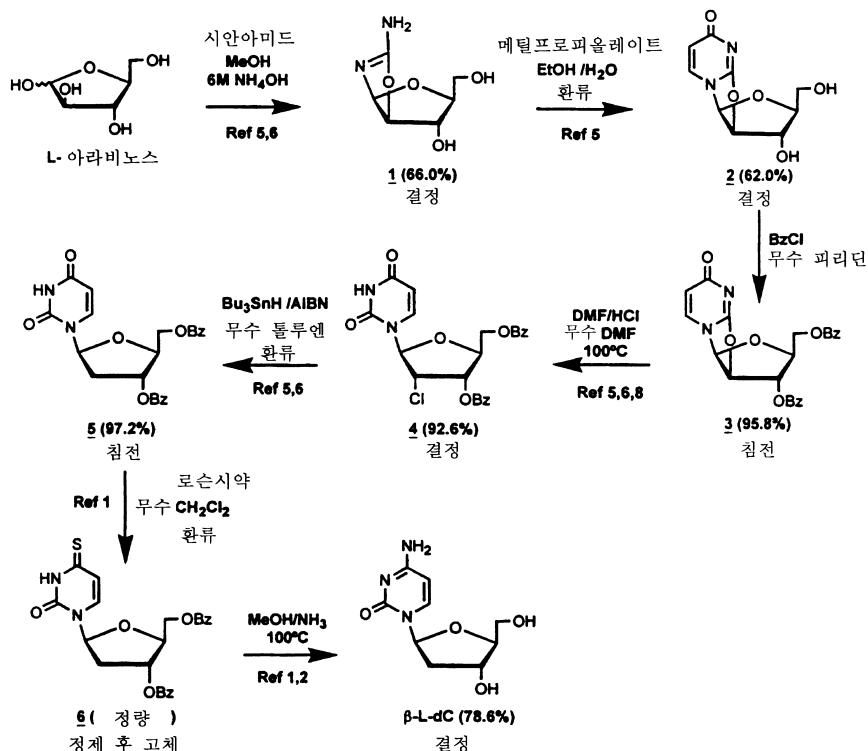
1-(3,5-디-O-벤조일-2-데옥시-β-L-에리트로-펜토푸라노실)우라실 (13)

무수 1,2-디클로로에탄(120ml) 중의 1-(3,5-디-O-벤조일-β-L-아라비노푸라노실)우라실 **12** (5.2g, 11.4 mmol)의 용액에 폐녹시티오카보닐 클로라이드(4.7ml, 34.3mmol) 및 4-(디메틸아미노)피리딘(DMAP, 12.5g, 102.6mmol)을 가하였다. 이 용액을 실온하 아르곤 대기하에서 1 시간동안 교반한 후, 감압하에 증발시켰다. 잔류물을 디클로로메탄(300ml)에 용해시키고, 이어 유기 용액을 빙냉의 0.2N 염산 용액(3×200ml) 및 물(2×200ml)로 연속 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시킨 후, 감압하에서 증발시켰다. 생성된 조 물질을 무수 디옥산으로 여러 번 공-증발시키고, 이 용매(110ml)에 용해시켰다. 생성된 용액에 아르곤 기체하에서 트리스-(트리메틸실릴)실란 하이드라이드(4.2ml, 13.7mmol) 및 α,α'-아조이소부티로 니트릴 (AIBN, 0.6g, 3.76mmol)를 가하였다. 반응 혼합물을 가열하고 아르곤 기체하 100℃에서 1 시간동안 교반한 후, 실온으로 냉각시키고, 감압하에 증발시켰다. 잔류물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(용리제: 메탄올(0~5%)의 단계적 구배)로 정제하고, 에탄올로 결정화시킨 표제 화합물 **13** (2.78g, 56%)을 얻었다: m.p. = 223-225℃; H-NMR (DMSO-d₆): δ11.4 (br s, 1H, NH), 8.0-7.5 (m, 11H, 2 C₆H₅CO, H-6), 6.28 (t, 1H, H-1', J= 7 Hz), 5.5 (m, 2H, H-1' 및 H-5), 4.6-4.4 (m, 3H, H-4', H-5' 및 H-5"), 2.6 (m, 2H, H-2' 및 H-2"); MS : FAB>0 (매트릭스 GT) m/z 437 (M+H)⁺, 3325 (S)⁺; FAB<0 (매트릭스 GT) m/z 435 (M-H)⁻, 111 (B)⁻; C₂₃H₂₀N₂O₇에 대한 분석. 이론치 C, 63.30; H, 4.62; N, 6.42. 실측치: C, 62.98; H, 4.79; N, 6.40.

2'-데옥시-β-L-시티딘(β-L-dC)

로슨(Lawesson's) 시약(1.72g, 4.26mmol)을 아르곤 대기하에서 무수 1,2-디클로로에탄(120ml) 중의 1-(3,5-디-O-벤조일-2-데옥시-β-L-에리트로-펜토푸라노실)우라실 **13** (2.66g, 6.1mmol) 용액에 가한 후, 반응 혼합물을 환류하에서 2 시간동안 교반하였다. 이어 용매를 감압하에 증발시키고, 잔류물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(용리제: 디클로로메탄 중의 에틸아세테이트(0~8%)의 단계적 구배)로 정제하여 황색 포움의 4-티오 중간체를 얻었다. 메탄올 암모니아(미리 -10℃에서 포화시키고, 완전히 밀폐함)(50ml) 중의 이 티오-중간체(1.5g, 3.31mmol)를 강철 용기내 100℃에서 3 시간동안 가열한 후, 0℃로 냉각시켰다. 이 용액을 감압하에서 증발시켰다. 생성된 조 물질을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(용리제: 디클로로메탄 중의 메탄올(0~20%)의 단계적 구배)로 정제하였다. 마지막으로, 적당한 분획을 채우고, Millex HV-4 장치(0.45μm, Millipore)을 통하여 여과시킨 후, 감압하에 증발시키고 무수 에탄올로 결정화시켜 포움으로 목적하는 2'-데옥시-β-L-시티딘(**β-L-dC**)(0.6g, 80%)을 얻었다: m.p. = 198-199℃; ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ7.77 (d, 1H, H-6, $J_{6-5}=7.4$ Hz), 7.10 (br d, 2H, NH-2), 6.13 (t, 1H, H-1', J=6.7 Hz), 5.69 (d, 1H, H-5, $J_{5-6}=7.4$ Hz), 5.19 (d, 1H, OH-3', $J_{OH-3'}=4.1$ Hz), 4.96 (t, 1H, OH-5', $J_{OH-5'}=J_{OH-5''}=5.2$ Hz), 4.1(m, 1H, H-3'), 3.75 (m, 1 H, H-4'), 3.5 (m, 2H, H-5' 및 H-5"), 2.0 (m, 1H, H-2'), 1.9 (m, 1H, H-2"); MS: FAB>0 (매트릭스 GT) m/z 228 (M+H)⁺, 112 (BH₂)⁺; FAB<0 (매트릭스 GT) m/z 226 (M-H)⁻; [α]_D²⁰ = -69 (c 0.52, DMSO)[상업적으로 입수가 가능한 D-에난티오머의 염산염에 대하여 [α]_D²⁰ = + 76 (c 0.55, DMSO)]. C₉H₁₃N₃O₄ 에 대한 분석. 이론치: C, 47.57; H, 5.77; N, 18.49. 실측치: C, 47.35; H, 5.68; N, 18.29.

실시예 4 2'-데옥시-β-L-시티딘(β-L-dC)의 입체 특이적 합성



2-아미노-β-L-아라비노푸라노[1',2': 4,5]옥사졸린(1)

L-아라비노스(170g, 1.13mol), 시안아미드(100g, 2.38mol), 메탄올(300ml) 및 6M-NH₄OH(50ml)의 혼합물을 실온에서 3 일동안 교반하고, 이어 -10℃하에 밤새 두었다. 생성물을 흡입하여 수집하고, 메탄올 및 에테르로 연속 세척한 후 진공 하에서 건조시켰다. 수율, 분석적으로 순수한 화합물 **1** 130g (66.0%), m.p. 170~172℃; ¹H NMR (DMSO-d₆) δppm 6.35 (br s, 2H, NH₂), 5.15 (d, 1H, H-1, J=5.6 Hz), 5.45 (br s, 1H, OH-3), 4.70 (br s, 1H, OH-5), 4.55 (d, 1H, H-2, J=5.6 Hz), 4.00 (br s, 1H, H-3), 3.65 (m, 1H, H-4), 3.25 (m, 2H, H-5, H-5').

시약:

L-아라비노스; Fluka, >99.5%, ref 10839

시아나미드 : Fluka, >98%, ref 28330

O^{2,2'}-안하이드로-β-L-우리딘 (2)

50% 에탄올 수용액(740ml) 중의 화합물 **1** (98.8g, 0.57mol) 및 메틸 프로피올레이트(98ml)의 용액을 5 시간동안 환류시키고, 이어 냉각 및 감압하에서 원래 부피의 반까지 농축시켰다. 아세톤(600ml)으로 침전시킨 후, 생성물을 흡입하여 수집하고, 에탄올 및 에테르로 세척한 후 건조시켰다. 모액을 일부 농축시키고, 농축액을 아세톤(1000ml)으로 침전시킨 후, 고체를 흡입하여 수집하고, 아세톤 및 에테르로 세척하여 또 다른 생성물 크롭(crop)을 얻었다. 총수율, 화합물 **2** 80g (62%), m.p. 236~240℃; ¹H NMR (DMSO-d₆) δ ppm 7.87 (d, 1H, H-6, J=7.4Hz), 6.35(d, 1H, H-1', J=5.7Hz), 5.95(d, 1H, H-5, J=7.4 Hz), 5.90 (d, 1H, OH-3'), 5.20 (d, 1H, H-2', J=5.7 Hz), 5.00 (m, 1H, OH-3'), 4.44 (br s, 1H, H-3'), 4.05 (m, 1H, H-4'), 3.25 (m, 2H, H-5, H-5').

시약:

메틸 프로피올레이트; Fluka, >97%, ref 81863

3',5'-디-O-벤조일-O^{2,2'}-안하이드로-β-L-우리딘 (3)

무수 피리딘(1200mℓ) 중의 화합물 **2** 용액(71.1g, 0.31mol)에 0℃에서 아르곤 대기하에 벤조일 클로라이드(80.4mℓ)를 가하였다. 반응 혼합물을 대기중의 습기를 없앤 상태에서 실온에서 5 시간동안 교반하고 에탄올을 가하여 반응을 중단시켰다. 용매를 감압하에서 증발시키고, 생성된 잔류물을 톨루엔 및 무수 에탄올로 공-증발시켰다. 조 혼합물을 에탄올로 희석하고, 침전물을 흡입하여 수집하고, 에탄올 및 에테르로 연속 세척하고 건조시켰다. 수율, 129g(95.8%) 화합물 **3**, m.p.

254 ℃; ¹H NMR (DMSO-d₆) δppm 8.1-7.4 (m, 11H, C₆H₅CO, H-6), 6.50 (d, 1H, H-1', J= 5.7Hz), 5.90 (d, 1H, H-5, J=7.5Hz), 5.80 (d, 1H, H-2', J=5.8 Hz), 5.70 (d, 1H, H-3') 4.90 (m, 1H, H-4'), 4.35 (m, 2H, H-5, H-5').

시약:

벤조일 클로라이드 : Fluka, p.a., ref 12930

3',5'-디-O-벤조일-2'-클로로-2'-데옥시-β,L-우리딘 (4)

디메틸포름아미드(460mℓ) 중의 화합물 **3** 용액(60.3g, 0.139mol)에 0℃에서 3.2N HCl/DMF 용액(208mℓ, 0℃에서 27.3 mℓ의 메탄올과 133.5mℓ의 디메틸포름아미드의 용액에 47.2mℓ 아세트 클로라이드를 가하여 현장 제조됨)을 가하였다. 반응 혼합물을 습윤 공기를 제거한 상태 100℃에서 1 시간동안 교반하고, 냉각시킨 후, 물(4000mℓ)에 부었다. 화합물 **4**의 침전물을 흡입하여 수집하여 물로 세척하고, 에탄올로 재결정화시켰다. 결정을 수집하고 차가운 에탄올 및 에테르로 세척한 후, 감압하에서 건조시켰다. 수율, 화합물 **4** 60.6g (92.6%), m.p. 164-165℃; ¹H NMR (DMSO-d₆) δppm 8.7 (br s, 1H, NH), 8.1-7.3 (m, 11H, C₆H₅CO, H-6), 6.15 (d, 1 H, H-1', J = 4.8 Hz), 5.5 (m, 2H, H-5, H-2'), 4.65 (m, 4H, H-3', H-4', H-5', H-5'').

시약:

아세트 클로라이드 : Fluka, p.a., ref 00990

3',5'-디-O-벤조일-2'-데옥시-β,L-우리딘 (5)

무수 톨루엔(720mℓ)중의 화합물 **4** (60.28g, 0.128mol), 트리-n-부틸틴 하이드라이드(95mℓ) 및 아자비스이소부티로니트릴(0.568g)의 혼합물을 교반하 5 시간동안 환류시키고, 냉각시켰다. 고체를 흡입하여 수집하고, 차가운 톨루엔 및 석유 에테르로 세척하였다. 여과액을 감압하에 농축하고 석유 에테르로 희석하여 화합물 **5**의 부가 크롭을 석출하였다. 수율, 화합물 **5** 54.28g(97.2%);

m.p. 220-221℃; ¹H NMR (CDCl₃) δppm 8.91 (br s, 1H, NH), 8.1-7.5 (m, 11H, C₆H₅CO 및 H-6), 6.43 (q, 1H, H-1', J_{1',2'} = 5.7 Hz 및 J_{1',2''} = 8.3 Hz), 5.7-5.6 (m, 2H, H-3' 및 H-5), 4.8-4.6 (m, 3H, H-5', H-5'' 및 H-4'), 2.8-2.7 (m, 1H, H-2'), 2.4-2.3 (m, 1H, H-2'').

시약:

트리-n-부틸틴 하이드라이드: Fluka, >98%, ref 90915

아자비스이소부티로니트릴: Fluka, >98%, ref 11630

3',5'-디-O-벤조일-2'-데옥시-β-L-4-티오-우리딘 (6)

무수 메틸렌 클로라이드(3900mℓ)중의 화합물 **5** (69g, 0.158mol) 및 로슨 시약(74g)의 용액을 아르곤 대기하에 밤새 환류시켰다. 용매를 증발시킨 후, 조 잔류물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피[용리제 : 메틸렌 클로라이드 중의 메탄올 (0~2%)의 구배]로 정제하여 정량적인 수율의 순수한 화합물 **6** (73g)을 얻었다; ¹H NMR (CDCl₃) δppm 9.5 (br s, 1H,

NH), 8.1-7.4 (m, 10H, C₆H₅CO), 7.32(d, 1H, H-6, J=7.7Hz), 6.30 (dd, 1H, H-1', J=5.6Hz 및 J=8.2Hz), 6.22 (d, 1H, H-5, J=7.7Hz), 5.6 (m, 1H, H-3'), 4.7 (m, 2H, H-5', H-5''), 4.5 (m, 1H, H 4'), 2.8 (m, 1H, H-2'), 2.3 (m, 1H, H-2'').

시약:

Lawesson's 시약: Fluka, >98%, ref 61750

2'-데옥시-β-L-시토신

암모니아(73mL)로 포화된 메탄올 중의 화합물 **6** (7.3g, 0.016mol)의 용액을 강철 실린더에서 3 시간동안 100℃로 가열하였다. 조심스럽게 냉각시킨 후, 용매를 감압하에 증발시켰다. 잔류물의 수용액을 에틸아세테이트로 세척하고 증발시켜 건조상태로 하였다.

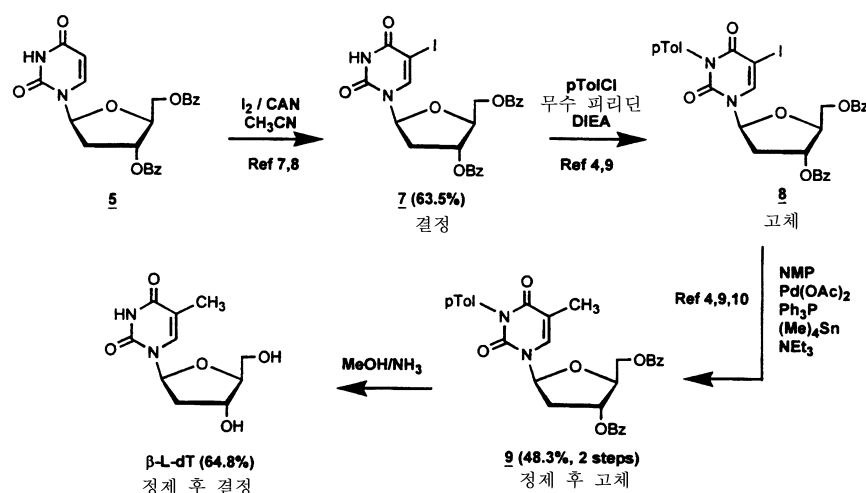
화합물 **6** (**6**의 총량 = 73g)의 9 개의 다른 샘플(각 7.3g)을 위와 같은 과정을 수행시켰다. 10 개의 잔류물을 혼합하고, 무수 에탄올로 희석한 후 냉각시켜 결정상의 화합물 **7** 을 얻었다. 고체-액체 추출 과정(solid-liquid extraction procedure, 에틸아세테이트중의 환류에서 1시간동안)을 통하여 화합물 **6** 의 결정으로부터 미량의 벤즈아미드를 제거하였다. 수율, 화합물 **6** 28.75g(78.6%);

m. p. 141-145℃ ; ¹H NMR (DMSO) δppm 8.22 및 8.00 (2 br s, 2H, NH₂), 7.98 (d, 1H, H-6, J=7.59 Hz), 6.12 (t, 1H, H-1', J=6.5 Hz 및 J=7.6 Hz), 5.89 (d, 1H, H-5, J=7.59 Hz), 5.3 (br s, 1H, OH-3'), 5.1 (br s, 1H, OH-5'), 4.2 (m, 1H, H-3'), 3.80 (q, 1H, H-4', J=3.6 Hz 및 J=6.9 Hz), 3.6-3.5 (m, 2H, H-5', H-5''), 2.2-2.0 (m, 2H, H-2', H-2''); FAB<0, (GT) m/e 226 (M-H)⁻, 110 (B)⁻; FAB>0 (GT) 228 (M+H)⁺, 112 (B+2H)⁺; [α]_D²⁰ - 56.48 (c=1.08 DMSO 내); UV (pH 7) λ_{max}=270 nm (ε= 10000).

시약:

메탄올 암모니아 : 미리 -5℃에서 포화시키고, 밀폐하여 냉동장치에 보관.

실시에 5 2'-데옥시-β-L-티미딘(β-L-dT)의 입체 특이적 합성



3',5'-디-O-벤조일-2'-데옥시-5-요오도-β-L-우리딘(7)

화합물 **5** (105.8g, 0.242mol), 요오드(76.8g), CAN(66.4g) 및 아세토니트릴(2550mL)의 혼합물을 80℃에서 3 시간동안 교반하고, 이어 반응 혼합물을 실온에서 냉각시켜 화합물 **7** 의 결정을 얻었다(86.6g, 63.5%); m.p. 192-194℃

^1H NMR (DMSO) δ ppm. 8.34 (s, 1H, NH), 8.2-7.2 (m, 11H, 2 $\text{C}_6\text{H}_5\text{CO}$, H-6), 6.31 (q, 1H, H-1', J=5.5Hz 및 J=8.7Hz), 5.5 (m, 1H, H-3'), 4.7 (m, 2H, H-5', H-5''), 4.5 (m, 1H, H-4'), 2.7 (m, 1H, H-2'), 2.3 (m, 1H, H-2''); FAB < 0, (GT) m/e 561 (M-H)⁻, 237 (B)⁻; FAB > 0 (GT) 563 (M+H)⁺; $[\alpha]_D^{20} + 39.05$ (c = 1.05 DMSO 내); UV (에탄올 95) $\nu_{\text{max}} = 281 \text{ nm}$ ($\epsilon = 9000$), $\nu_{\text{min}} = 254 \text{ nm}$ ($\epsilon = 4000$), $\nu_{\text{max}} = 229 \text{ nm}$ ($\epsilon = 31000$); $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{IN}_2\text{O}_7$ 에 대한 분석. 실측치 C, 49.13 H, 3.41 N, 4.98 I, 22.57. 실측치: C, 49.31 H, 3.53 N, 5.05 I, 22.36.

시약:

요오드 : Fluka, 99.8%, ref 57650

세륨 암모늄 니트레이트(CAN) : Aldrich, >98.5%, ref 21,547-3

3',5'-디-O-벤조일-2'-데옥시-3-N-톨루오일-β-L-티미딘 (9)

N-에틸디소프로필아민(53.6mL)을 함유하는 무수 피리딘(1530mL) 중의 화합물 **7** (86.6g, 0.154mol) 용액에 0℃에서 p-톨루오일 클로라이드(40.6mL)를 부분적으로 가하였다. 이 반응 혼합물을 실온에서 2 시간동안 교반하고, 이어 물을 첨가하여 반응을 중지시킨 후, 메틸렌 클로라이드로 추출하였다. 유기상을 물로 세척하고 황산나트륨상에서 건조시킨 후 건조 상태가 되도록 증발시키고, 추가로 정제하지 않고 다음 단계에 사용할 3',5'-디-O-벤조일-2'-데옥시-3-N-톨루오일-5-요오도-β-L-우리딘 (**8**)을 얻었다.

N-메틸피롤리디논(1375mL) 중의 생성된 조혼합물 **8**, 팔라듐 아세테이트 (3.44g), 트리페닐포스핀(8.0g) 용액을 트리에틸아민(4.3mL)과 함께 실온에서 45 분동안 교반하였다. 이어, 테트라메틸틴(42.4mL)을 아르곤 대기하 0℃에서 적가하였다. 100~110℃에서 밤새 교반한 후, 반응 혼합물을 물에 붓고, 디에틸 에테르로 추출하였다. 유기 용액을 황산 나트륨상에서 건조시키고, 감압하에 농축시켰다. 잔류물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피[용리제: 톨루엔 중의 에틸아세테이트 (0~10%)의 단계적 구배]로 정제하여 포움으로 화합물 **9** 를 얻었다(42.3g, 두 단계에 대하여 48.3%). ^1H NMR (DMSO) δ ppm. 8.3-7.2 (m, 15H, 2 $\text{C}_6\text{H}_5\text{CO}$, 1 $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{CO}$, H-6), 6.29 (t, 1H, H-1', J=7.0 Hz), 5.7 (m, 1H, H-3'), 4.7-4.5 (m, 3H, H-5', H-5'', H-4'), 2.7-2.6 (m, 2H, H-2', H-2''); FAB<0, (GT) m/e 567 (M-H)⁻, 449 (M- $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{CO}$)⁻, 243 (B)⁻, 121 ($\text{C}_6\text{H}_5\text{COO}$)⁻; FAB>0 (GT) 1137 (2M+H)⁺, 569 (M+H)⁺, 325 (M-B)⁻, 245 (B+2H)⁺, 119 ($\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{CO}$)⁺.

시약:

p-톨루오일 클로라이드, Aldrich, 98%, ref 10,663-1

디소프로필에틸아민: Aldrich, >99.5%, ref 38,764-9

N-메틸피롤리디논 : Aldrich, >99%, ref 44,377-8

팔라듐 아세테이트 : Aldrich, >99.98%, ref 37,987-5

트리페닐포스핀 : Fluka, >97%, ref 93092

테트라메틸틴 : Aldrich, >99%, ref 14,647-1

2'-데옥시-β-L-티미딘

암모니아(1850mL)로 포화된 메탄올 중의 화합물 **9** 의 용액(42.3g, 0.074mmol)을 실온에서 2 일동안 교반하였다. 용매를 증발시킨 후, 잔류물을 물로 희석하고 에틸 아세테이트로 수회 세척하였다. 수성층을 분리하여, 감압하에 증발시킨 후, 잔류물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피[용리제: 메틸렌 클로라이드 중의 메탄올(0~10%)의 단계적 구배]로 정제하고 에

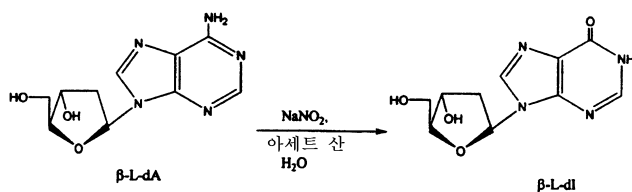
탄올로 결정화시킨 순수한 2'-데옥시- β -L-티미딘을 얻었다(11.62g, 64.8%); m.p. 185–188°C; ^1H NMR (DMSO) δ ppm 11.3 (s, 1H, NH), 7.70 (s, 1H, H-6), 6.2 (pt, 1H, H-1'), 5.24 (d, 1H, OH-3', J=4.2Hz), 5.08 (t, 1H, OH-5', J=5.1 Hz), 4.2 (m, 1H, H-3'), 3.7 (m, 1H, H-4'), 3.5–3.6 (m, 2H, H-5', H-5''), 2.1–2.0 (m, 2H, H-2', H-2''); FAB<0, (GT) m/e 483 (2M-H) $^-$, 349 (M+T-H) $^-$, 241 (M-H) $^-$, 125 (B) $^-$; FAB>0 (GT) 243 (M+H) $^+$, 127 (B+2H) $^+$; $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -13.0 (c = 1.0 DMSO 내); UV (pH 1) v_{max} = 267 nm (ϵ = 9700), v_{min} = 234 nm (ϵ = 2000).

시약:

메탄을 암모니아 : 미리 -5°C 에서 포화시키고, 밀폐하여 냉동장치에 보관.

실시예 6 2'-데옥시-β-L-이노신(β-L-dI)의 입체 특이적 합성

9-D-글루코피라노실 시리즈(참조: I. Iwai, T. Nishimura and B. Shimizu, Synthetic Procedures in Nucleic Acid Chemistry, W. W. Aorbach and R. S. Tipson, eds., John Wiley & Sons, Inc. New York, vol. 1, pp. 135-138 (1968))에 이미 제시된 과정에 따른 2'-데옥시-β-L-아데노신(β-L-dA)을 제거함으로써 β-L-dI를 합성하였다.



따라서, 아세트산(0.61ml) 및 물(19ml)의 혼합물 중의 β -L-dA(200mg)의 용액을 질산나트륨(495mg)과 함께 가열시킨 후, 이 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 이어 감압하에 증발시켜 건조 상태로 하였다. 잔류물의 수용액을 IR-120(H^+) 이온-교환수지의 컬럼에 적용시킨 후, 컬럼을 물로 용리하였다. 적당량의 분획을 수집하여, 건조 상태가 되도록 증발시키고, 메탄올로 결정화시킨 순수한 β -L-dI를 얻었다(106mg, 최적화 안됨, 수율 53%): m.p.=209-211 $^{\circ}C$; UV(H_2O), λ_{max} = 247 nm; 1H -NMR (DMSO- d_6) = 8.32 및 8.07 (2s, 1H 각각, H-2 및 H-8), 6.32 (pt, 1H, H-1 ; J=6.7 Hz), 4.4 (m, 1H, H-3'), 3.9 (m, 1H, H-4'), 3.7-3.4 (m, HOD에 의한 부분 장애 2H, H-5', 5"), 2.6 및 2.3 (2m, 1H 각각, H-2' 및 H-2") ; 질량스펙트럼 (숙성, 글리세롤-티오글리세롤, 1:1, v/v), FAB >0 : 253 (m+H) $^+$, 137 (염기 + 2H) $^+$; FAB <0 : 251 (m-H) $^-$, 135 (염기) $^-$; $[a]_D^{20}$ = + 19.3 (-c 0.88, H_2O).

약제 조성물의 제조

B형 간염을 비롯하여, 본 발명에서 설명된 어느 하나의 질병에 걸린 인체는 환자에게 β -2'-데옥시- β -L-에리트로-펜토푸라노뉴클레오시드, 예를들어 β -L-2'-데옥시아데노신, β -L-2'-데옥시시티딘, β -L-2'-데옥시우리딘, β -L-2'-데옥시구아노신 또는 β -L-2'-데옥시티미딘 또는 약제학적으로 허용되는 그의 프로드럭 또는 염의 유효량을 약제학적으로 허용되는 담체 또는 희석제의 존재하에 투여함으로써 치료될 수 있다. 활성 물질은 적합한 경로에 의해, 예를들어, 경구, 비경구, 정맥내, 피부내, 피하, 또는 국소로 액체 또는 고체 형태로 투여될 수 있다.

활성 화합물은 치료 환자에게 심각한 독성 효과를 야기함이 없이, 생체내에서 바이러스 복제를 억제하도록 환자에게 화합물의 치료 유효량을 분배하는데 충분한 양으로 약제학적으로 허용되는 담체 또는 희석제내에 포함되어 있다. "억제량"이란 예를들어 본 발명에서 설명한 것과 같은 에세이에 의해 측정된 억제 작용을 나타내는데 충분한 활성 성분의 양을 의미한다.

상기에 언급된 증상 모두에 대해 화합물의 바람직한 투여량은 1일당 약 1 내지 50 mg/kg(체중), 바람직하게는 1 내지 20 mg/kg, 보다 일반적으로는 1일당 환자의 체중 kg당 0.1 내지 약 100 mg이다. 약제학적으로 허용되는 프로드럭의 유효 투여량 범위는 분배될 모체 뉴클레오시드의 중량을 기준으로 하여 계산될 수 있다. 프로드럭 자신이 활성을 나타내면, 유효 투여량은 프로드럭의 중량을 이용하여 상기와 같이 평가될 수 있거나, 또는 본 기술의 숙련가에게 알려진 다른 수단에 의해 평가될 수 있다.

화합물은 편리하게는 단위 제형(dosage form)당 활성 성분 7 내지 3000 mg, 바람직하게는 70 내지 1400 mg를 포함하나, 이들에 한정되지 않는 적합한 제형의 단위로 투여된다. 50-1000 mg의 경구 투여량이 통상적으로 편리하다.

이상적으로 활성 성분은 약 0.2 내지 70 μM , 바람직하게는 약 1.0 내지 10 μM 의 활성 화합물의 피크 플라즈마(peak plasma) 농도를 얻도록 투여되어야 한다. 이것은 예를들어 임의로 식염수내에서 활성 성분 0.1 내지 5% 용액의 정맥 주사에 의해, 성취되거나, 또는 활성 성분의 거환(bolus)으로서 투여될 수 있다.

약물 조성물에서 활성 화합물의 농도는 약물의 흡수, 불활성화, 및 배출을 및 본 기술의 숙련가에게 알려진 다른 인자에 좌우될 것이다. 투여량 값은 또한 완화될 증상의 심각도에 따라 달라질 것임을 알아야 한다. 또한 어떤 특정 환자에 대해, 특정 투여량 요법은 횟수에 대해 환자의 필요성과 조성물을 투여하거나 투여를 감독하는 사람의 직업적인 판단에 따라 조정되어야 하며, 본 발명에서 제시된 농도 범위는 단지 일예이며 청구된 조성물의 정신 또는 실시를 한정하는 것으로 의도되지 않는다는 사실이 이해될 것이다. 활성 성분은 1회 투여될 수 있거나, 보다 적은 투여량의 횟수로 분리되어 시간 간격을 달리하면서 투여될 수 있다.

활성 화합물의 바람직한 투여 모드는 경구이다. 경구 조성물은 일반적으로 불활성 희석제 또는 식용 담체를 포함할 것이다. 이들은 젤라틴 캡슐내에서 봉입되거나 정제로 타정될 수 있다. 경구 치료 투여 목적으로, 활성 화합물을 부형제와 혼합할 수 있으며 정제, 트로치, 또는 캡슐의 형태로 사용할 수 있다. 약제학적으로 상용성 있는 결합제, 및/또는 부형약 물질은 조성물의 일부로서 함유될 수 있다.

정제, 알약, 캡슐, 트로치 등은 다음 성분, 또는 유사 특성의 화합물 중 어느 하나를 함유할 수 있다: 미정질 셀룰로스, 트라가칸트검 또는 젤라틴과 같은 결합제; 전분 또는 락토스와 같은 부형제, 알긴산, 프리모겔(Primogel), 또는 옥수수 전분과 같은 붕해제; 마그네슘 스테아레이트 또는 스테로츠(Sterotes)와 같은 윤활제; 콜로이드 실리콘 디옥사이드와 같은 활제; 슈크로스 또는 사카린과 같은 감미제; 또는 페퍼민트, 메틸 살리실레이트, 또는 오렌지 향과 같은 향미제. 투여량 단위 형태가 캡슐일 때, 상기 형태의 물질에 더하여, 지방 오일과 같은 액체 담체를 함유할 수 있다. 추가로, 투여량 단위 형태가 투여량 단위의 물리적 형태를 변형하는 다양한 다른 물질, 예를드러 슈가, 셀락, 또는 다른 장용제의 코팅을 함유할 수 있다.

화합물은 엘릭시르(elixir), 현탁액, 시럽, 웨이퍼, 츄잉검 등의 성분으로서 투여될 수 있다. 시럽은 활성 화합물에 더하여, 감미제로서 슈크로스와 어떤 보존제, 염료 및 착색제 및 향료를 함유할 수 있다.

화합물 또는 약제학적으로 허용되는 유도체 또는 그의 염이 또한 원하는 작용을 손상하지 않는 다른 활성 물질, 또는 원하는 작용을 보충하는 물질, 이를테면 항생제, 항진균제, 항염증제, 프로테아제 억제제, 또는 다른 뉴클레오시드 또는 비뉴클레오시드 항바이러스제와 혼합될 수 있다. 경구, 피부내, 피하, 또는 국소 적용에 사용된 액체 또는 현탁액은 다음 성분을 포함할 수 있다: 주사용수, 식염액, 고정유, 폴리에틸렌 글리콜, 글리세린, 프로필렌 글리콜 또는 다른 합성 용매와 같은 무균 희석제; 벤질 알코올 또는 메틸 파라벤과 같은 항균제; 아스코르브산 또는 소듐 바이설파이트와 같은 항산화제; 에틸렌 디아민테트라아세트산과 같은 킬레이트제; 아세테이트, 시트레이트 또는 포스페이트와 같은 완충제 및 소듐 클로라이드 또는 텍스트로스와 같은 강장 조절제. 비경구 제제는 앰플, 1회용 시린지 또는 유리 또는 플라스틱제 복수 투여량 바이알에 봉입될 수 있다.

정맥내로 투여되는 경우, 바람직한 담체는 생리식염수 또는 포스페이트 완충 염수(PBS)이다.

바람직한 구체예에서, 활성 화합물은 신체로부터 급속한 제거에 대해 화합물을 보호할 담체와 함께, 이를테면 임플란트(implant) 및 마이크로캡슐화 분배 시스템을 포함하여, 방출 조절 제제로 조제된다. 생분해성, 생양립성 폴리머, 이를테면 에틸렌 비닐 아세테이트, 폴리안하이드라이드, 폴리글리콜산, 콜라겐, 폴리오르토에스테르, 및 폴리아세트산이 사용될 수 있다. 이러한 제제의 제조 방법은 본 기술의 숙련가에게 명백할 것이다. 물질은 또한 알자사(Alza Corporation)로부터 상용으로 얻을 수 있다.

리포솜 현탁액(바이러스 항원에 대한 모노클로날 항체를 가진 감염 세포에 표적화된 리포솜을 포함함)은 또한 약제학적으로 허용되는 담체로서 바람직하다. 이들은 본기술의 숙련가에게 알려진 방법, 예를들어 미국특허 제 4,522,811 호에 기재된 방법에 따라 제조될 수 있다. 예를들어, 리포솜 제제는 적합한 리피드(이를테면 스테아로일 포스파티딜 에탄올아민, 스테아로일 포스파티딜 콜린, 아라카도일 포스파티딜 콜린, 및 콜레스테롤)를 그후 증발되는 무기 용매에 용해시키고, 용기 표면에 건조된 리피드의 박막을 남겨두어 제조될 수 있다. 그후 활성 화합물 또는 그의 모노포스페이트, 디포스페이트, 및/또는 트리포스페이트 유도체의 수용액을 용기로 도입한다. 그후 용기를 손으로 와류시켜 용기 측면에서 리피드 물질을 유리하고 리피드 응집체를 분산시키고, 이로서 리포솜 현탁액을 형성한다.

발명의 효과

활성 화합물의 항-HBV 활성

2.2.15 세포 배양체(간염 비리온으로 형질전환된 HepG2 세포)에서의 바이러스의 성장을 억제하는 활성 화합물의 능력을 하기에 기술된 바와 같이 측정할 수 있다.

이러한 배양 시스템에서의 항바이러스 효과에 대한 에세이 및 HBV DNA의 분석에 대한 요약 및 설명은 문헌(Korba and Milman, 1991, Antiviral Res., 15:217)에 기술되어 있다. 항바이러스성 평가는 두 개의 세포 분리 계대(separate passage)상에서 수행하였다. 모든 플레이트내의 모든 웰을 동일한 밀도 및 동일한 시간에 접종하였다.

세포내 및 세포외 HBV DNA 모두의 수준에서 고유 변화로 인해, 미처리 세포에서 이들 HBV DNA에 대한 평균 수준에서 3.5-배(HBV 비리온 DNA에 대해) 또는 3.0-배(HBV DNA 복제 중간체에 대해) 이상의 저하만이 통계적으로 의미가 있다고 생각된다($P < 0.05$). 각 세포의 DNA 제제에서 통합된 HBV DNA의 수준(이들 실험에서 세포당 기준에 일정하게 유지됨)은 세포내 HBV DNA 형태의 수준을 계산하는데 사용되며, 이로서 세포의 DNA의 동일 양이 분리 샘플 사이에서 비교하는 것이 보장된다.

미처리 세포에서 세포외 HBV 비리온 DNA에 대한 전형적인 값은 50 내지 150 pg/ml(배양 배지)(평균 약 76 pg/ml)이다. 미처리 세포에서 세포내 HBV DNA 복제 중간체는 50 내지 100 $\mu\text{g/pg}$ (세포 DNA)(평균 약 74 $\text{pg}/\mu\text{g}$ 세포 DNA)이다. 일반적으로, 항바이러스 화합물로 처리로 인한 세포내 HBV DNA의 수준 저하는 덜 현저한 것이며, HBV 비리온 DNA의 수준에서의 저하 보다 천천히 발생된다(Korba and Milman, 1991, Antiviral Res., 15:217).

이들 실험에 대해 혼성화(hybridization) 분석을 수행하는 방식은 세포내 HBV DNA의 약 1.0 pg가 세포당 2-3 게놈 카피(genomic copy)와 동일하고 세포외 HBV DNA의 1.0 pg/ml이 3×10^5 바이러스 입자/ml와 동일하다는 결과를 얻는다.

실시예 7

B형 간염을 억제하는 β -L-dA, β -L-dC, β -L-dU, β -L-2'-dG, β -L-dI 및 β -L-dT의 트리포스페이트 유도체의 능력을 시험하였다. 표 1은 우드척(woodchuck) 간염 바이러스 (WHV) DNA 폴리머라제, 인간 DNA 폴리머라제 α , β 및 γ 에 대한 β -L-dT(β -L-dT-TP), β -L-dC(β -L-dC-TP), β -L-dU(β -L-dU-TP) 및 β -L-dA(β -L-dA-TP)의 트리포스페이트의 상대 억제 활성을 나타낸다.

표 1

억제제	WHV DNA pol IC_{50}	DNA pol α K_i^b (μM)	DNA pol β K_i^b (μM)	DNA pol γ K_i^b (μM)
β -L-dT-TP	0.34	>100	>100	>100
β -L-dA-TP	2.3	>100	>100	>100
β -L-dC-TP	2.0	>100	>100	>100
β -L-dU-TP	8	>100	>100	>100

^a IC_{50} : 50% 억제 농도

^b K_i 값은 템플레이트-프라이머로서 송아지 흉선 활성 DNA와 기질로서 dATP를 사용하여 결정하였다. 억제제는 Dixon plot 분석법으로 분석하였다. 이들 조건하에서, 이론치는 약 2.6 μM 의 dATP에 대한 인간 DNA 폴리머라제 α 의 K_m 을 의미한다. 인간 DNA 폴리머라제 β 는 dATP에 대하여 3.33 μM 의 일정한 K_m 을 나타낸다. 인간 DNA 폴리머라제 γ 는 5.2 μM 의 일정한 K_m 을 나타낸다.

실시예 8

β -L-dA, β -L-dC, β -L-dU, β -L-2'-dG 및 β -L-dT의 항-B형 간염 바이러스 활성을 트랜스펙트된 Hep G-2(2.2.15) 세포에서 시험하였다. 표 2는 트랜스펙트된 Hep G-2(2.2.15) 세포에서의 B형 간염 바이러스 복제에 대한 β -L-dA, β -L-dC, β -L-dU 및 β -L-dT의 효과를 나타낸다.

표 2

화합물	HBV 비리온 ^a EC ₅₀ (μM)	HBV R _I ^b EC ₅₀ (μM)	세포독성 IC ₅₀ (μM)	선택성 지수 IC ₅₀ /EC ₅₀
β -L-dT	0.05	0.05	>200	>4000
β -L-dC	0.05	0.05	>200	>4000
β -L-dA	0.10	0.10	>200	>2000
β -L-dI	1.0	1.0	>200	>200
β -L-dU	5.0	5.0	>200	>40

^a 세포의 DNA

^b 복제중간체(세포내 DNA)

실시예 9

B형 간염의 성장에 대하여 β -L-dA, β -L-dC 및 β -L-dT 병행의 효과를 2.2.15 세포에서 측정하였다. 결과를 표 3에 나타내었다.

표 3

병행	비율	EC ₅₀
L-dC + L-dT	1:3	.023
L-dC + L-dT	1:1	.053
L-dC + L-dT	3:1	.039
L-dC + L-dA	1:30	.022
L-dC + L-dA	1:10	.041
L-dC + L-dA	1:3	.075
L-dT + L-dA	1:30	.054
L-dT + L-dA	1:10	.077
L-dT + L-dA	1:3	.035

각 병행은 항-HBV 활성을 상승시켰다. 더 나아가, L-dA + L-dC + L-dT의 병행도 또한 이러한 형태로 상승하였다.

실시예 10

2.2.15 세포에서의 β -L-dA 및 β -L-dC의 단독 또는 병행에 의한 B형 간염 복제의 억제를 측정하였다. 결과를 표 4에 나타내었다.

표 4

^a β -L-2'-데옥시-아데노신 (μM)	^b β -L-2'-데옥시-시티딘 (μM)	% 억제	^c C.I.
0.5		90	
0.05		24	
0.005		1	
	0.5	95	
	0.05	40	

	0.005	10	
0.05	0.05	80	0.34
0.05	0.005	56	0.20
0.05	0.0005	50	0.56
0.005	0.05	72	0.35
0.005	0.005	54	0.35
0.005	0.0005	30	0.16
0.0005	0.05	50	0.83
0.0005	0.005	15	0.28
0.0005	0.0005	0	N.A.

^a β -L-2'-데옥시-아데노신 : $IC_{50} = 0.09 \mu M$

^b β -L-2'-데옥시-시티딘 : $IC_{50} = 0.06 \mu M$

^c 병행 지수치는 상승효과(<1), 첨가효과(=1) 및 길항효과(>1)를 나타낸다.

실시예 11

우드척 간염 바이러스(WHV)로 만성적으로 감염된 우드척(*Marmota monax*)의 헤파드나바이러스 감염에 대한 β -L-dA, β -L-dT 및 β -L-dC의 효능을 결정하였다. 이 HBV 감염 동물 모델은 광범위하게 수용되며, HBV에 대한 직접적인 항바이러스성 시약의 평가에 대하여 유용하다.

프로토콜:

실험 그룹 (n=3 동물/투여 그룹, n=4 동물/대조군)

그룹 1 비히클 대조군

그룹 2 라미부딘(3TC)(10mg/kg/일)

그룹 3~6 L-dA(0.01, 0.1, 1.0, 10mg/kg/일)

그룹 7~10 L-dT(0.01, 0.1, 1.0, 10mg/kg/일)

그룹 11~14 L-dC(0.01, 0.1, 1.0, 10mg/kg/일)

약물을 1일 1회 경구용 케비지(gavage)로 투약하고, 혈액 샘플을 0, 1, 3, 7, 14, 21, 28 일째 및 처리후 +1, +3, +7, +14, +28 및 +56 일째에 채취하였다. 활성 및 독성에 대하여 혈청내 WHV DNA의 감소를 기준으로 하여 dot-블랏(dot-blot), 정량 PCR로 평가하였다.

결과를 표 3 및 표 5에 나타내었다.

표 5

만성 HBV 감염된 우드척 모델에서의 LdA, LdT, LdC의 항바이러스 활성

	대조군	LdA	LdT	LdC
일	혈청 ^{1,2} ml 당 WHV-DNA ng			
0	381	436	423	426
1	398	369	45	123
3	412	140	14	62
7	446	102	6	46

14	392	74	1	20
----	-----	----	---	----

¹LdA, LdT, LdC 10 mg/kg에서 1일 1회 경구 투여

²검측 한계는 혈청 ml당 1 ng/ml WHV-DNA임

테이터는 L-dA, L-dT 및 L-dC가 이러한 생체내에 모델에서 높은 활성을 가진다는 것을 나타낸다. 첫째로, 바이러스 로드(load)가 발견되지 않거나(L-dT) 거의 발견되지 않는(L-dA, L-dC) 수준으로 감소되었다. 두 번째로, L-dA, L-dT 및 L-dC는 이 모델에서 3TC(라미부딘)보다 높은 활성을 가진다. 세 번째로, 바이러스 리바운드(rebound)는 L-dT를 제거한 후 적어도 2 주동안 발견할 수 없었다. 네 번째로, 투여 반응 곡선은 L-dA 및 L-dC의 투여량을 증가시키는 방법이 L-dT와 비슷한 항바이러스 활성을 나타낸다는 것을 시사하는 것이다. 다섯 번째로, 약물이 투여된 모든 동물은 체중이 늘었고, 약물관련 독성이 발견되지 않았다.

화합물의 독성

어떤 항바이러스 작용이 세포 생존에 대하여 주된 효과를 미치는지를 평가하여 독성 분석을 행하였다. 사용된 방법은 라미부딘과 비교된 바와 같이 인간 골수 클론형성 에세이로 세포 성장에 대한 β-L-dA, β-L-dC 및 β-L-dT의 효과를 측정하는 방법이다. 결과를 표 6에 나타내었다.

표 6

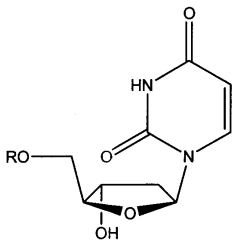
화합물	CFU-GM (μ M)	BFU-E (μ M)
β-L-dA	>10	>10
β-L-dC	>10	>10
β-L-dT	>10	>10
β-L-dU	>10	>10
라미부딘	>10	>10

본 발명은 그의 바람직한 구체예와 관련하여 설명되었다. 본 발명의 변형과 수정은 본 발명에 대한 이전의 상세한 설명으로부터 본 기술의 숙련자에게 명백할 것이다. 이들 변형과 수정 모두는 본 발명의 범위내에 포함되어 있다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

하기 화학식의 β-L-2'-데옥시뉴클레오시드 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 유효량을 포함하는 B형 간염 바이러스에 감염된 숙주용 치료제:

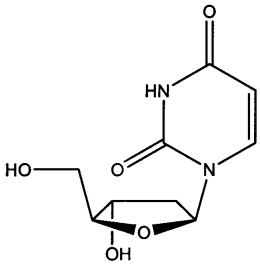


상기 식에서,

R은 H, 모노, 디 또는 트리포스페이트, 아미노산 아실 잔기, 아실 및 C₁-C₁₈알킬로 구성된 그룹중에서 선택된다.

청구항 2.

제1항에 있어서, 화합물은



또는 그의 약제학적으로 허용되는 염인 치료제.

청구항 3.

제1항에 있어서, R은 모노포스페이트인 치료제.

청구항 4.

제1항에 있어서, R은 디포스페이트인 치료제.

청구항 5.

제1항에 있어서, R은 트리포스페이트인 치료제.

청구항 6.

제1항에 있어서, R은 아미노산 아실 잔기인 치료제.

청구항 7.

제1항에 있어서, R은 아실인 치료제.

청구항 8.

제1항에 있어서, R은 C_1 - C_{18} 알킬인 치료제.

청구항 9.

제1항에 있어서, 화합물은 약제학적으로 허용되는 담체하에 투여되는 치료제.

청구항 10.

제9항에 있어서, 약제학적으로 허용되는 담체는 경구 전달용인 치료제.

청구항 11.

제9항에 있어서, 약제학적으로 허용되는 담체는 정맥내 전달용인 치료제.

청구항 12.

제9항에 있어서, 약제학적으로 허용되는 담체는 비경구 전달용인 치료제.

청구항 13.

제9항에 있어서, 약제학적으로 허용되는 담체는 피부내 전달용인 치료제.

청구항 14.

제9항에 있어서, 약제학적으로 허용되는 담체는 피하 전달용인 치료제.

청구항 15.

제9항에 있어서, 약제학적으로 허용되는 담체는 국소 전달용인 치료제.

청구항 16.

제1항에 있어서, 화합물은 제형 단위(dosage unit) 형태인 치료제.

청구항 17.

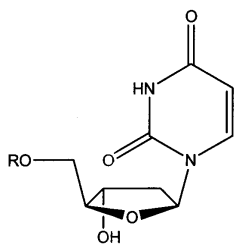
제16항에 있어서, 제형 단위는 10 내지 1500 mg의 화합물을 포함하는 치료제.

청구항 18.

제16항에 있어서, 제형 단위는 정제 또는 캡슐인 치료제.

청구항 19.

하나 이상의 다른 항 간염제와 교대로 또는 병행하여(in alternation or combination) 투여되는, 하기 화학식의 β -L-2'-데옥시뉴클레오시드 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염의 유효량을 포함하는 B형 간염 바이러스에 감염된 숙주용 치료제:



상기 식에서,

R은 H, 모노, 디 또는 트리포스페이트, 아미노산 아실 잔기, 아실 및 C₁-C₁₈알킬로 구성된 그룹중에서 선택된다.

청구항 20.

제19항에 있어서, 항 간염제는 β -L-2-히드록시메틸-5-(시토신-1-일)-1,3-옥사티오란(3TC), 시스-2-히드록시메틸-5-(5-플루오로시토신-1-일)-1,3-옥사티오란(FTC), β -L-2'-플루오로-5-메틸-아라비노후라노실우리딘(L-FMAU), β -D-2,6-디아미노퓨린 디옥솔란(DAPD), 팜시클로비르(famciclovir), 펜시클로비르(penciclovir), 2-아미노-1,9-디히드로-9-[4-히드록시-3-(히드록시메틸)-2-메틸렌사이클로펜틸]-6H-퓨린-6-온(엔테카비르, BMS-200475), 9-[2-(포스포노-메톡시)에틸]아데닌(PMEA, 아데포비르(adeфовir), 디피복실(dipivoxil)); 9-((1R,2R,3S)-2,3-비스(히드록시메틸)사이클로-부틸)구아닌(로부카비르(lobucavir)), 간시클로비르(ganciclovir) 및 리바비린(ribavirin)으로 구성된 그룹중에서 선택되는 것인 치료제.

청구항 21.

제19항에 있어서, 항 간염제는 β -L-2-히드록시메틸-5-(시토신-1-일)-1,3-옥사티오란(3TC)인 치료제.

청구항 22.

제19항에 있어서, 항 간염제는 시스-2-히드록시메틸-5-(5-플루오로시토신-1-일)-1,3-옥사티오란(FTC)인 치료제.

청구항 23.

제19항에 있어서, 항 간염제는 β -L-2'-플루오로-5-메틸-아라비노후라노실우리딘(L-FMAU)인 치료제.

청구항 24.

제19항에 있어서, 항 간염제는 β -D-2,6-디아미노퓨린 디옥솔란(DAPD)인 치료제.

청구항 25.

제19항에 있어서, 항 간염제는 팜시클로비르인 치료제.

청구항 26.

제19항에 있어서, 항 간염제는 펜시클로비르인 치료제.

청구항 27.

제19항에 있어서, 항 간염제는 2-아미노-1,9-디히드로-9-[4-히드록시-3-(히드록시메틸)-2-메틸렌사이클로펜틸]-6H-퓨린-6-온(엔테카비르, BMS-200475)인 치료제.

청구항 28.

제19항에 있어서, 항 간염제는 9-[2-(포스포노-메톡시)에틸]아데닌(PMEA, 아데포비르, 디피복실)인 치료제.

청구항 29.

제19항에 있어서, 항 간염제는 9-((1R,2R,3S)-2,3-비스(히드록시메틸)사이클로-부틸)구아닌(로부카비르)인 치료제.

청구항 30.

제19항에 있어서, 항 간염제는 간시클로비르인 치료제.

청구항 31.

제19항에 있어서, 항 간염제는 리바비린인 치료제.

청구항 32.

제19항에 있어서, 화합물은 약제학적으로 허용되는 담체하에 투여되는 치료제.

청구항 33.

제32항에 있어서, 약제학적으로 허용되는 담체는 경구 전달용인 치료제.

청구항 34.

제32항에 있어서, 약제학적으로 허용되는 담체는 정맥내 전달용인 치료제.

청구항 35.

제32항에 있어서, 약제학적으로 허용되는 담체는 비경구 전달용인 치료제.

청구항 36.

제32항에 있어서, 약제학적으로 허용되는 담체는 피부내 전달용인 치료제.

청구항 37.

제32항에 있어서, 약제학적으로 허용되는 담체는 피하 전달용인 치료제.

청구항 38.

제32항에 있어서, 약제학적으로 허용되는 담체는 국소 전달용인 치료제.

청구항 39.

제19항에 있어서, 화합물은 제형 단위 형태인 치료제.

청구항 40.

제39항에 있어서, 제형 단위는 10 내지 1500 mg의 화합물을 포함하는 치료제.

청구항 41.

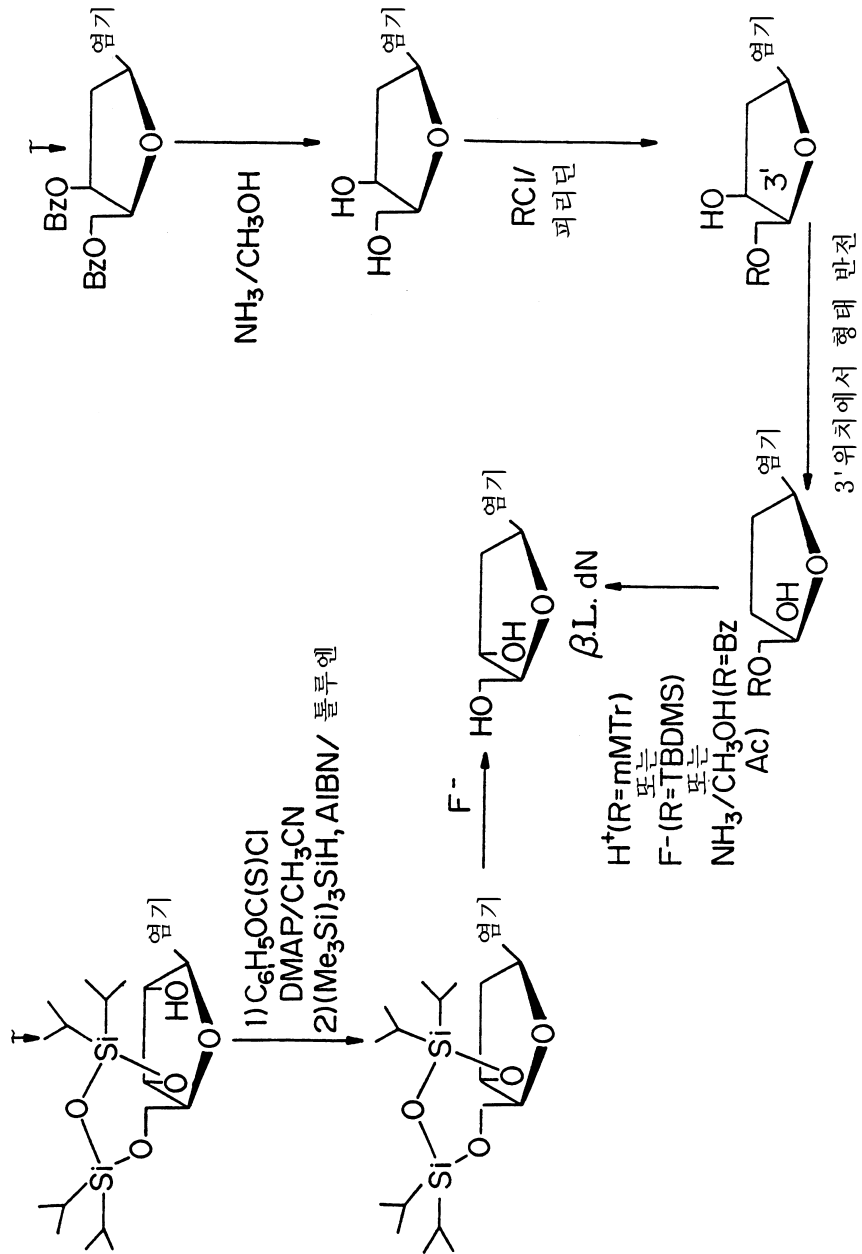
제39항에 있어서, 제형 단위는 정제 또는 캡슐인 치료제.

청구항 42.

제1항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 숙주는 인간인 치료제.

도면

도면1a



도면3

(n=3 약물 처리 그룹, n=4 플라스비오 그룹
투여량 10mg/kg 1일 1회 경구)

