(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년08월16일
(11) 등록번호 10-2695300
(24) 등록일자 2024년08월09일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07H 1/02 (2006.01) *C07H 19/10* (2006.01)
C07H 19/20 (2006.01) *C07H 19/207* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07H 1/02 (2013.01)
C07H 19/10 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2019-7036989
(22) 출원일자(국제) 2018년06월14일
심사청구일자 2021년06월04일
(85) 번역문제출일자 2019년12월13일
(65) 공개번호 10-2020-0016864
(43) 공개일자 2020년02월17일
(86) 국제출원번호 PCT/GB2018/051638
(87) 국제공개번호 WO 2018/229493
국제공개일자 2018년12월20일
(30) 우선권주장
1709471.5 2017년06월14일 영국(GB)
(56) 선행기술조사문헌
KR1020170046736 A*
WO2016098123 A2*
KR101885940 B1
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
뉴카나 피엘씨
영국, 이에이치12 9디티 에든버러 로치사이드 웨이 3
(72) 발명자
그리피스 휴
영국 스코틀랜드 이에이치12 9디티 에든버러 로치사이드 웨이 3 뉴카나 피엘씨 사내
켄노빈 고든
영국 스코틀랜드 이에이치12 9디티 에든버러 로치사이드 웨이 3 뉴카나 피엘씨 사내
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
권혁수, 송윤호

전체 청구항 수 : 총 16 항 심사관 : 류동언

(54) 발명의 명칭 **인산염 유도체의 합성**

(57) 요 약

본 발명은 특정 인산염 부분 입체 이성질체들로 항암 화합물을 제조하는 방법에 관련된다.

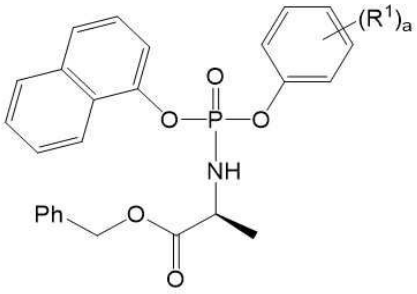
(52) CPC특허분류
C07H 19/20 (2013.01)
C07H 19/207 (2013.01)
(72) 발명자
담말라파티 벤카타 락쉬미 나라시하 라오
인도 텔랑가나 주 500 078 하이데라바드 털카팔리 쉘어펫 만달 게놈 밸리 아이케이피 놀리지 파크 로러스 랩스 프라이벳 엘티디 사내
코탈라 마니 부샨
인도 텔랑가나 주 500 078 하이데라바드 털카팔리 쉘어펫 만달 게놈 밸리 아이케이피 놀리지 파크 로러스 랩스 프라이벳 엘티디 사내

명 세 서

청구범위

청구항 1

화학식 IIa의 화합물의 부분 입체 이성질체를 풍부하게 하는 방법으로,



화학식 IIa

R^1은 전자 끄는 기(electron withdrawing group)를 나타내고 a는 1 내지 5의 정수이며,

상기 방법은:

a) 상기 화학식 IIa의 화합물의 Y-부분 입체 이성질체를 또는 상기 화학식 IIa의 화합물의 Y-부분 입체 이성질체 및 X-부분 입체 이성질체의 혼합물을 용매(S2)에 현탁(suspending) 또는 용해시키는 단계;

b) 상기 현탁(suspending) 또는 용해에 의한 용액 또는 현탁액을 염기(B2)로 처리하여 실질적으로 부분 입체 이성질체가 풍부한 형태의 상기 X-부분 입체 이성질체를 수득하는 단계; 및

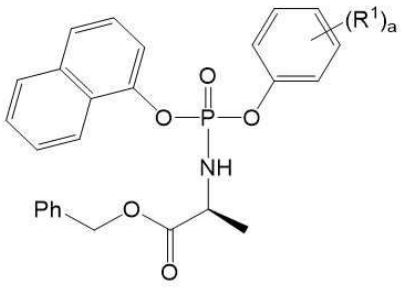
c) 상기 화학식 IIa의 상기 X-부분 입체 이성질체를 분리하는 단계를 포함하며,

$OPh(R^1)_a$ 이탈기(leaving group)가 칸-인골드-프리로그(Cahn-Ingold-Prelog) 규칙 하에서 나프틸옥시기보다 우선 할당 순위가 낮은 경우(low priority assignment)(이 경우에는 상기 화학식 IIa의 상기 X-부분 입체 이성질체가 (Rp)-부분 입체 이성질체이고, 상기 화학식 IIa의 상기 Y-부분 입체 이성질체가 (Sp)-부분 입체 이성질체임)를 제외하고는 상기 화학식 IIa의 상기 X-부분 입체 이성질체는 (Sp)-부분 입체 이성질체이고, 상기 화학식 IIa의 상기 Y-부분 입체 이성질체는 (Rp)-부분 입체 이성질체인,

방법.

청구항 2

화학식 IIa의 화합물의 부분 입체 이성질체를 풍부하게 하는 방법으로,



화학식 IIa

R^1은 전자 끄는 기(electron withdrawing group)를 나타내고 a는 1 내지 5의 정수이며,

상기 방법은:

a) 상기 화학식 IIa의 화합물의 빠른 용리 부분 입체 이성질체를 또는 상기 화학식 IIa의 화합물의 빠른 용리 부분 입체 이성질체 및 느린 용리 부분 입체 이성질체의 혼합물을 용매(S2)에 현탁(suspending) 또는 용해시키는 단계;

b) 상기 현탁(suspending) 또는 용해에 의한 용액 또는 현탁액을 염기(B2)로 처리하여 실질적으로 부분 입체 이성질체가 풍부한 형태의 상기 느린 용리 부분 입체 이성질체를 수득하는 단계; 및

c) 상기 화학식 IIa의 상기 느린 용리 부분 입체 이성질체를 분리하는 단계를 포함하며,

상기 느린 용리 부분 입체 이성질체는 역상 HPLC에서 상기 빠른 용리 부분 입체 이성질체보다 더 느리게 용리하는 이성질체인,

방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 염기(B2)는 3차 아민인,

방법.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 염기(B2)는 트리에틸아민인,

방법.

청구항 5

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 용매(S2)는 탄화수소 또는 탄화수소를 포함하는 혼합물인,

방법.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 용매(S2)는 헥산 또는 헵탄과 극성 유기 용매의 혼합물이고, 상기 혼합물은 헥산 또는 헵탄을 50부피% 이상 포함하는,

방법.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 용매(S2)는 헵탄 또는 헥산과 t-부틸메틸에테르의 혼합물이고, 상기 혼합물은 헵탄 또는 헥산을 50부피%이상 포함하는,

방법.

청구항 8

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 단계 b)는 상기 화학식 IIa의 화합물과 상기 염기(B2)의 혼합물을 24시간 이상 교반함을 포함하는,

방법.

청구항 9

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 단계 b)는 상기 화학식 IIa의 화합물과 상기 염기(B2)의 혼합물을 0 내지 60℃의 온도에서 교반함을 포함하는,

방법.

청구항 10

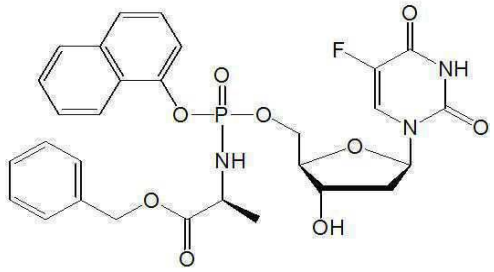
제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 화학식 IIa의 화합물은  인,

방법.

청구항 11

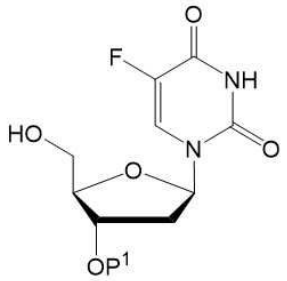
실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태의 NUC-3373 (화학식 Ia)의 제조 방법으로서,



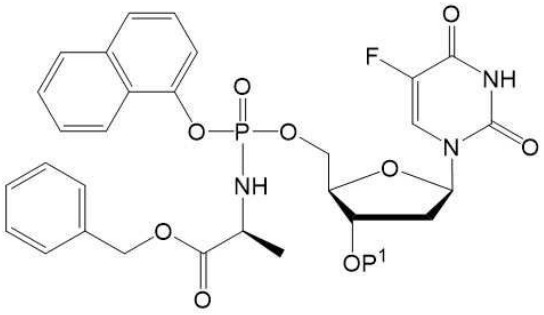
화학식 Ia

상기 방법은, 제1항 또는 제2항의 방법의 단계들, 다음의 단계 d) 및 다음의 단계 e)(이 단계에서 P^1이 보호기임)를 포함한다:

d) 염기(B1)의 존재하에 제1항 또는 제2항의 상기 단계 c)에서 분리된 화화물 IIa의 부분 입체 이성질체를 하기 화학식 IIIa의 화합물과 반응시켜 실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태의 하기 화학식 IVa의 화합물을 제공하는 단계, 이 단계에서 P^1은 수소 및 보호기(protecting group)에서 독립적으로 선택됨;



화학식 IIIa



화학식 IVa

e) 상기 화학식 IVa의 화합물로부터 상기 보호기 P^1을 제거하여 실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태의 NUC-3373을 제공하는 단계.

청구항 12

제11항에 있어서,

P^1은 -C(O)O^{t}Bu인,

방법.

청구항 13

제11항에 있어서,

상기 염기(B1)는 그리냐르 시약인,

방법.

청구항 14

제13항에 있어서,

상기 염기(B1)는 ^{t}BuMgCl인,

방법.

청구항 15

제11항에 있어서,

상기 단계 d)는 에테르 용매에서 수행되는,

방법.

청구항 16

제15항에 있어서,

상기 단계 d)는 THF에서 수행되는,

방법.

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

발명의 설명

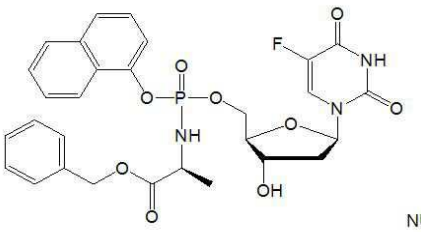
기 술 분 야

[0001] 본 발명은 일반적으로 특정 인산염(phosphate) 부분 입체 이성질체로서 특정 프로타이드를 제조하기 위한 신규한 방법에 관한 것이다. 특정 프로타이드는 예컨대 NUC-3373 (5-플루오로-2'-데옥시우리딘-5'-O-[1-나프틸 (벤질옥시-L-알라닌일)]인산염), NUC-7738 (3'- 데옥시아데노신-5'-O-[페닐(벤질옥시-L-알라닌일)]인산염) 및 NUC-9701 (8-클로로아데노신-5'-O-[나프틸(벤질옥시-L-알라닌일)]인산염)와 같이 암 치료에 유용한 것들을 포함한다.

배 경 기 술

[0002] 프로타이드(ProTide)는 뉴클레오시드의 보호된(masked) 인산염(인산염, phosphate) 유도체이다. 이들은 항바이러스 및 종양학 분야에서 특히 강력한 치료제인 것으로 밝혀졌다. 보다 구체적으로, 프로타이드는 일인산화(monophosphorylated) 뉴클레오시드의 전구약물이다. 이러한 화합물은 모 뉴클레오시드의 유용성을 제한하는 고유하고 획득된 많은 저항 메커니즘을 피하는 것으로 보인다(예를 들어, '*Application of ProTide Technology to Gemcitabine: A Successful Approach to Overcome the Key Cancer Resistance Mechanisms Leads to a New Agent (NUC-1031) in Clinical Development*'; Slusarczyk et al; *J. Med. Chem.*; **2014**, 57, 1531-1542).

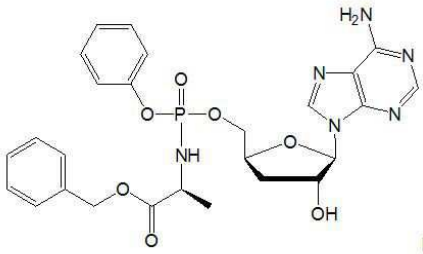
[0003] NUC-3373 (5-플루오로-2'-데옥시우리딘-5'-O- [1-나프틸(벤즈옥시-L-알라닌일)]인산염)(5-fluoro-2'-deoxyuridine-5'-*O*-[1-naphthyl(benzoxy-L-alaninyl)] phosphate)은, 대장암(colorectal cancer)에 대한 현재의 기초 치료인, 5FU/FUDR의 프로타이드 적응이다. NUC-3373 및 다양한 관련 화합물은 다양한 암 모델에 대해 심험관 내 활성을 보여주었으며 많은 경우 특히 NUC-3373은 5-플루오로우라실로 얻은 결과보다 두드러지고 훨씬 우수한 활성을 보여 주었다. 5-플루오로우라실/FUDR 분자에 프로타이드 포스포르아미데이트(phosphoramidate) 모이어티(moiety) 첨가는 주요 활성화된 형태의 작용제 (FdUMP)를 종양 세포 내로 전달하는 특정한 이점을 부여한다. 비 임상 연구는 NUC-3373이 5-FU 및 그의 경구 전구-약물 카페시타빈(capecitabine)과 관련된 주요 암세포 저항 메커니즘을 극복하여, 활성 FdUMP 대사 산물의 높은 세포 내 수준을 생성하여 종양 세포 성장을 훨씬 더 크게 억제함을 입증하였다. 또한, 공식적인 개 독성 연구에서, NUC-3373은 5-FU보다 상당히 내약성이 우수하다(WO2012/117246; McGuigan *et al.*; *Phosphoramidate ProTides of the anticancer agent FUDR successfully deliver the preformed bioactive monophosphate in cells and confer advantage over the parent nucleoside*; *J. Med. Chem.*; **2011**, 54, 7247-7258; 및 Vande Voorde *et al.*; *The cytostatic activity of NUC-3073, a phosphoramidate prodrug of 5-fluoro-2'-deoxyuridine, is independent of activation by thymidine kinase and insensitive to degradation by phosphorolytic enzymes*; *Biochem. Pharmacol.*; **2011**, 82, 441-452).



NUC-3373

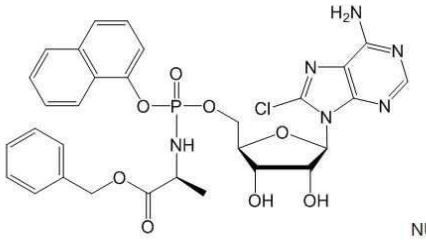
[0004]

[0005] 8-클로로아데노신 및 3'-데옥시아데노신과 같은 퓨린 뉴클레오시드의 프로타이드 유도체 및 관련 화합물은 또한 다양한 고형 종양, 백혈병 및 림프종에 대해 시험관내에서 우수한 활성을 나타냈다 (WO2016/083830 및 GB1609602.6 참조). 3'-데옥시아데노신 자체는 특히 강력한 항암제가 아니다.



NUC-7738

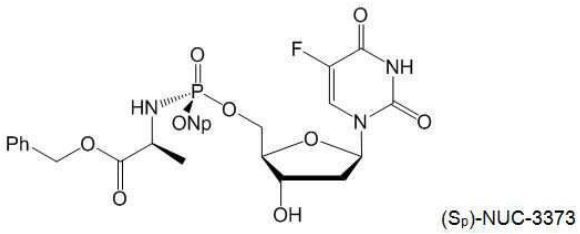
[0006]



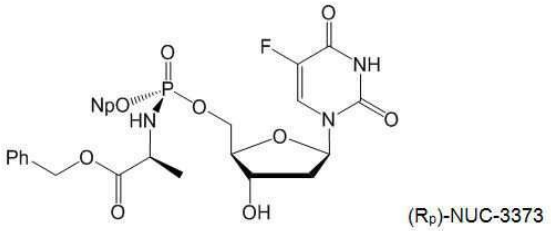
NUC-9701

[0007]

[0008] 프로타이드는 전형적으로 인산염 중심에서 에피머인 2개의 부분 입체 이성질체(diastereoisomer)의 혼합물로서 제조된다. 예를 들어, NUC-3373의 부분 입체 이성질체는 다음 구조를 갖는다 (Np는 1-나프틸임):



(S_P)-NUC-3373



(R_P)-NUC-3373

[0009]

[0010] WO 2014/076490에는, $Cu(OTf)_2$, CuCl, CuBr, CuI, $Cu(OAc)_2$, $CuSO_4$, $Cu(OC(O)CF_3)_2$, $Cu(OTf)_2$, $Yb(OTf)_3$, $Fe(OTf)_3$, $La(OTf)_3$ 같은 금속염을 포함하는 촉매의 존재하에 포스포클로리데이트(phosphochloridate)들의 부분 입체 이성질체 혼합물과 젬시타빈 또는 그 구조적 변이체(structual variant)들을 반응시켜 ~45%의 수율로 젬시타빈-[페닐(벤즈옥시-L-알라닌일)]인산염 같은 뉴클레오시드 전구약물을 제조하는 방법이 개시되어있다.

[0011] 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태의 NUC-1031의 합성 방법은 WO2017/098252(PCT/GB2016/053875)에 개시되

어 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0012] 본 발명의 특정 구체 예들의 목적은 실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태로 NUC-3373, NUC-7738 및/또는 NUC-9701을 제공하는 방법을 제공하는 것이다.

[0013] 본 발명의 특정 구체 예들의 목적은 실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태로 NUC-3373, NUC-7738 및/또는 NUC-9701의 (Sp)-에피머 및/또는 (Rp)-에피머를 제공하는 방법을 제공하는 것이며 이 방법은 HPLC를 사용한 방법보다 더 확장성이 있고, 더 경제적 및/또는 효율적이다. 따라서, 본 발명의 특정 구체 예들의 목적은 대규모 제조에 적합한 실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태(들)로 (Sp)-에피머 및/또는 (Rp)-에피머를 제공하는 방법을 제공하는 것이다.

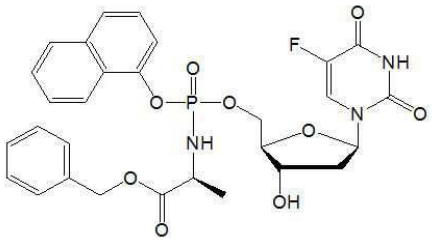
[0014] 본 발명의 특정 구체 예들의 목적은 간단한 방법, 즉 최소수의 공정 단계 및/또는 반응물로서 실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태의 (Sp)-에피머 및/또는 (Rp)-에피머를 제공하는 방법을 제공하는 것이다.

[0015] 본 발명의 특정 구체 예들의 또 다른 목적은 실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태의 분리된 (Sp)-에피머 또는 (Rp)-에피머가 제공되고 동시에 합성 및 분리에서 발생하는 불순물의 양 및 성질에 관련하여 US FDA 같은 조직에 의해 규정된 필요한 기준을 충족 시키거나 초과하는 방법을 제공하는 것이다.

[0016] 본 발명의 특정 구체 예들은 상기 목적 중 일부 또는 전부를 만족시킨다.

과제의 해결 수단

[0017] 본 발명의 제 1 측면에 따르면, 실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태의 NUC-3373 (화학식 Ia)의 제조 방법이 제공된다:

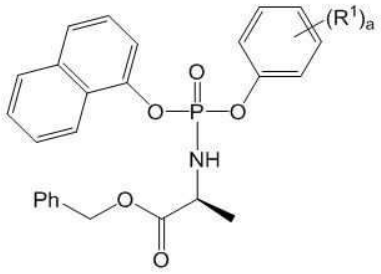


[0018]

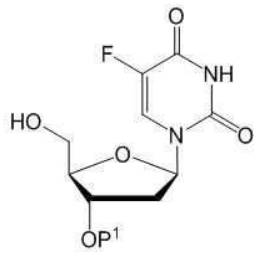
[0019] 화학식 Ia

[0020] 상기 방법은 다음의 단계 a) 및 옵션으로(optionally) 단계 b)를 포함한다;

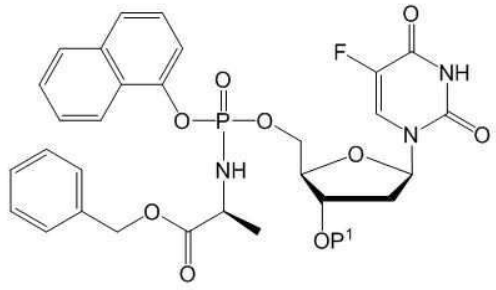
[0021] a) 염기(B1)의 존재하에 화학식 IIa의 화합물을 화학식 IIIa의 화합물과 반응시켜 실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태의 화학식 IVa의 화합물을 제공하는 단계, 상기 화학식 IIa에서 R^1은 전자 끄는 기(electron withdrawing group)를 나타내고, a는 1 내지 5의 정수이며, 상기 화학식 IIIa 및 IVa에서 P^1은 수소 및 보호기(protecting group)로부터 독립적으로 선택되고, 상기 화학식 IIa의 화합물은 실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태임:



화학식 IIa



화학식 IIIa

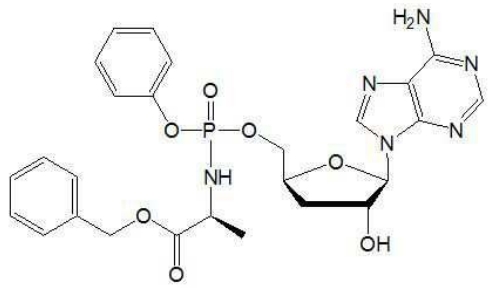


화학식 IVa

[0022]

[0023] b) P^1이 보호기인 경우, 옵션으로 화학식 IVa의 화합물로부터 보호기 P^1을 제거하여 실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태의 NUC-3373을 제공하는 단계.

[0024] 본 발명의 제 2 측면에 따르면, 실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태의 NUC-7738 (화학식 Ib)의 제조 방법이 제공된다:

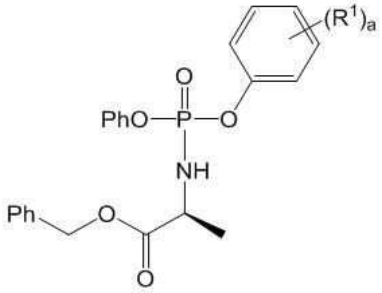


화학식 Ib

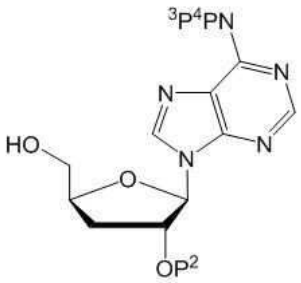
[0025]

[0026] 상기 방법은 단계 a) 및 옵션으로 단계 b)를 포함한다:

[0027] a) 화학식 IIb의 화합물을 염기 (B1)의 존재하에 화학식 IIIb의 화합물과 반응시켜 실질적으로 부분 입체 이성질체 적으로 순수한 형태의 화학식 IVb의 화합물을 제공하는 단계, 상기 화학식 IIb에서 R^1은 전자 끄는 기 (electron withdrawing group)를 나타내고, a는 1 내지 5의 정수이며, 상기 화학식 IIIb 및 IVb에서 P^2, P^3 및 P^4은 수소 및 보호기(protecting group)로부터 독립적으로 선택되고, 상기 화학식 IIb의 화합물은 실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태임:

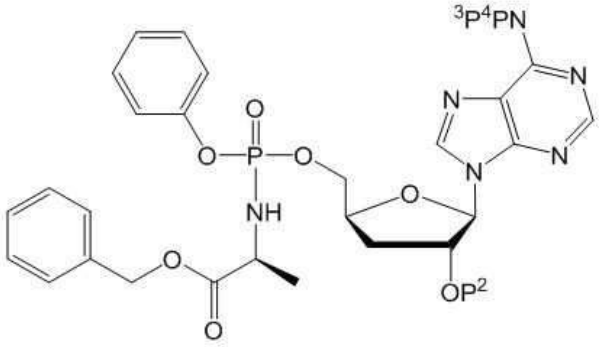


화학식 IIb



화학식 IIIb

[0028]

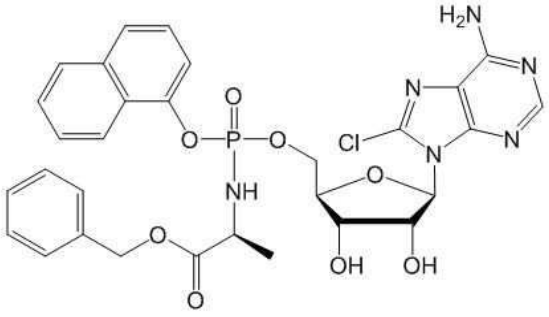


화학식 IVb

[0029]

[0030] b) P^2, P^3 및 P^4 중 어느 하나 이상이 보호기인 경우, 옵션으로 화학식 IVb의 화합물로부터 보호기 P^2, P^3 및 P^4를 제거하여 실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태의 NUC-7738을 제공하는 단계.

[0031] 본 발명의 제 3 측면에 따르면, 실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태의 NUC-9701 (화학식 Ic)의 제조 방법이 제공된다:

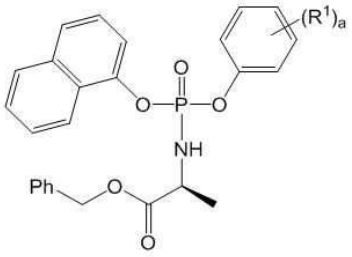


화학식 Ic

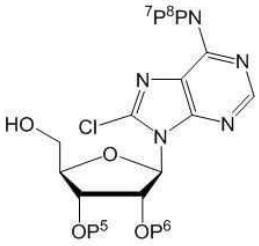
[0032]

[0033] 상기 방법은 단계 a) 및 옵션으로 단계 b)를 포함한다:

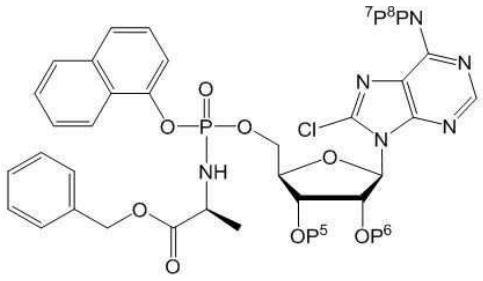
[0034] a) 화학식 IIa의 화합물을 염기 (B1)의 존재하에 화학식 IIIc의 화합물과 반응시켜 실질적으로 부분 입체 이성질체 적으로 순수한 형태의 화학식 IVc의 화합물을 제공하는 단계, 상기 화학식 IIa에서 R^1은 전자 끄는 기(electron withdrawing group)를 나타내고, a는 1 내지 5의 정수이며, 상기 화학식 IIIc 및 IVc에서 $P^{5,}$ P^6, P^7 및 P^8은 수소 및 보호기(protecting group)로부터 독립적으로 선택되고, 상기 화학식 IIa의 화합물은 실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태임:



화학식 IIa



화학식 IIIc



화학식 IVc

[0035]

[0036] b) P^5, P^6, P^7 및 P^8 중 어느 하나 이상이 보호기인 경우, 옵션으로 화학식 IVc의 화합물로부터 보호기 P^5, P^6, P^7 및 P^8를 제거하여 실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태의 NUC-9701을 제공하는 단계.

[0037] R^1은 할로기(halo group) (예: 플루오로(fluoro), 브로모(bromo), 클로로(chloro) 또는 요오도(iodo)에서 선택됨); 트리플루오로메틸(trifluoromethyl), 시아노(cyano) 및 니트로(nitro)로 이루어진 그룹에서 선택된다. a는 1 내지 5의 정수이다. R^1은 각각의 경우 할로 즉 플루오로일 수 있다. a는 5 일 수 있다.

[0038] 치환된 펜옥시기(phenoxy group)의 치환은 인산염 입체 중심(phosphate stereocentre)의 역전으로 선택적으로 일어난다.

[0039] 전형적으로, 전구체 (화학식 IIa 또는 IIb의 화합물)의 (Sp)-부분 입체 이성질체는 프로타이드의 (Sp)-부분 입체 이성질체를 제공하고 전구체의 (Rp)-부분 입체 이성질체는 프로타이드의 (Rp)-부분 입체 이성질체를 제공한다. 이에 대한 예외는 $OPh(R^1)_a$ 이탈기(leaving group)가 나프틸기(예를 들어 $OPh(R^1)_a$는 파라니트로펜옥시이다)보다 칸-인골드-프리로그(Cahn-Ingold-Prelog) 규칙 하에서 우선 순위가 낮은 경우이다. 이러한 경우에, 전구체 (화학식 IIa의 화합물)의 (Rp)-부분 입체 이성질체는 프로타이드의 (Sp)-부분 입체 이성질체를 제공하고 전구체의 (Sp)-부분 입체 이성질체는 프로타이드의 (Rp)-부분 입체 이성질체를 제공한다. 본 명세서 전체에서, 프로타이드의 (Sp)-이성질체를 제공하는 화학식 IIa 화합물의 이성질체는 X-부분 입체 이성질체라고 하고, 프로타이드의 (Rp)-이성질체를 제공하는 화학식 IIa 화합물의 이성질체는 Y-부분 입체 이성질체라고 한다. 화합물 IIb의 경우, 전구체(화학식 IIb 화합물)의 (Sp)-부분 입체 이성질체는 항상 프로타이드의 (Sp)-부분 입체 이성질체를 제공하고 전구체의 (Rp)-부분 입체 이성질체는 항상 프로타이드의 (Rp)-부분 입체 이성질체를 제공한다.

[0040] 따라서, 제 1, 제 2 또는 제 3 측면의 방법은 부분 입체 이성질체가 풍부한 형태로 프로타이드의 (Sp)-부분 입체 이성질체를 제조하는 방법 일 수 있고 화학식 IIa 또는 IIb의 화합물은 부분 입체 이성질체가 풍부한 형태일 수 있다.

[0041] 제 1, 제 2 또는 제 3 측면의 방법은 부분 입체 이성질체가 풍부한 형태로 프로타이드의 (Rp)-부분 입체 이성질체를 제조하는 방법 일 수 있고 화학식 IIa 또는 IIb의 화합물은 부분 입체 이성질체가 풍부한 형태 일 수 있다.

[0042] 염기 (B1)는 질소 염기 일 수 있다. 질소 염기는 N- 알킬이미다졸(예를 들어 N-메틸 이미다졸(NMI)), 이미다졸, 옵션으로 치환된 피리딘(예를 들어, 콜리딘, 피리딘, 2,6-루티딘) 및 트리알킬아민(예를 들어, 트리에틸아민 및 디이소프로필 에틸아민)을 포함한다. 대안적으로, 염기 (B1)는 유기 금속 염기 또는 금속 수소화물 염기(metal hydride base) (예를 들어 NaH)일 수 있다. 따라서, 염기는 그리냐르 시약(Grignard reagent) (즉, 할로겐화 알킬마그네슘(alkylmagnesium halide))일 수 있다. 예시적인 그리냐르 시약은 tBuMgCl, tBuMgBr과 같은 할로겐

화 t-부틸마그네슘을 포함한다. 바람직하게는, 염기는 tBuMgCl이다.

[0043] 단계 a)는 용매 S1에서 수행될 수 있다.

[0044] 본 발명의 제 4 측면에서, 화학식 IIa의 화합물의 부분 입체 이성질체를 풍부하게 하는 방법이 제공되며, 이 방법은:

[0045] c) 화학식 IIa의 화합물의 X- 부분 입체 이성질체를 또는 화학식 IIa의 화합물의 Y- 부분 입체 이성질체 및 X- 부분 입체 이성질체의 혼합물을 용매(S2)에 현탁(suspending) 또는 용해시키는 단계,

[0046] d) 용액 또는 현탁액을 염기(B2)로 처리하여 실질적으로 부분 입체 이성질체가 풍부한 형태의 X- 부분 입체 이성질체를 수득하는 단계, 및

[0047] e) 화학식 IIa의 X- 부분 입체 이성질체를 분리하는 단계를 포함한다. 일반적으로, X- 부분 입체 이성질체는 (S)-부분 입체 이성질체이고 Y- 부분 입체 이성질체는 (R)-부분 입체 이성질체이다.

[0048] 본 발명자들은 놀랍게도 화학식 IIa의 화합물을 염기로 처리할 때, 이성질체화되며 Y- 부분 입체 이성질체에 비해 X- 부분 입체 이성질체를 우선적으로(preferentially) 형성한다는 것을 알아내었다. 따라서, Y- 부분 입체 이성질체는 X- 부분 입체 이성질체로 전환될 수 있거나 Y- 부분 입체 이성질체 및 X- 부분 입체 이성질체의 에피머 혼합물(epimeric mixture)가 X- 부분 입체 이성질체로 변환될 수 있다. 이것은, 화학식 IIa의 모든 화합물을, 심지어 원래 Y- 부분 입체 이성질체로 형성된 것의 일부를 사용할 수 있다는 것을 의미하기 때문에, 제 1 또는 제 3 측면의 방법을 포함하는 NUC-3373 또는 NUC-9701의 X- 부분 입체 이성질체를 제조하기 위한 임의의 합성 순서의 순 효율을 증가 시킨다. 일반적으로, X- 부분 입체 이성질체는 (Sp)-부분 입체 이성질체이고 Y- 부분 입체 이성질체는 (Rp)-부분 입체 이성질체이다.

[0049] 상기 방법은 다음을 포함할 수 있다:

[0050] Y- 부분 입체 이성질체 및 X- 부분 입체 이성질체의 혼합물로서 화학식 IIa의 화합물을 형성하는 단계; 그리고, 상기 단계 c)는 화학식 IIa의 화합물의 Y- 부분 입체 이성질체 및 X- 부분 입체 이성질체의 혼합물을 용매 (S2)에 현탁 또는 용해시키는 단계를 포함한다. 일반적으로, X- 부분 입체 이성질체는 (Sp)-부분 입체 이성질체이고 Y- 부분 입체 이성질체는 (Rp)-부분 입체 이성질체이다.

[0051] 제 1 또는 제 3 측면의 방법에서 사용되는 화학식 IIa의 화합물은 제 4 측면의 방법에 따라 형성된 X- 부분 입체 이성질체 일 수 있다. 일반적으로, X- 부분 입체 이성질체는 (Sp)-부분 입체 이성질체이고 Y- 부분 입체 이성질체는 (Rp)-부분 입체 이성질체이다.

[0052] 본 발명의 제 2 측면의 방법은 다음을 포함한다:

[0053] c) 화학식 IIb의 화합물의 Rp- 부분 입체 이성질체 또는 화학식 IIb의 화합물의 (Rp)- 부분 입체 이성질체 및 (Sp)-부분 입체 이성질체의 혼합물을 용매 (S2)에 현탁 또는 용해시키는 단계,

[0054] d) 용액 또는 현탁액을 염기 (B2)로 처리하여 실질적으로 부분 입체 이성질체가 풍부한 형태의 (Sp)-부분 입체 이성질체를 수득하는 단계, 및

[0055] e) 화학식 IIb의 (Sp)-부분 입체 이성질체를 분리하는 단계.

[0056] 따라서, 본 발명의 제 2 측면의 방법은:

[0057] (Rp)-부분 입체 이성질체 및 (Sp)-부분 입체 이성질체의 혼합물로서 화학식 IIb의 화합물을 형성하는 단계; 그리고 단계 c)는 화학식 IIb의 화합물의 (Rp)-부분 입체 이성질체 및 (Sp)-부분 입체 이성질체의 혼합물을 용매 (S2)에 현탁 또는 용해시키는 단계를 포함한다.

[0058] 염기 (B2)는 유기 아민 염기 (예를 들어, 1 차, 2 차, 3 차 아민, 환상 아민: 예를 들어 유기 아민 염기는 N-알킬이미다졸 (예를 들어 N- 메틸 이미다졸 (NMI)), 이미다졸, 옵션으로 치환된 피리딘(예를 들어 콜리딘, 피리딘, 2,6- 루티딘) 및 트리알킬아민 (예를 들어 트리에틸아민 및 디이소프로필에틸아민) 또는 무기 염기 (예를 들어 알칼리 금속 수산화물(alkali metal hydroxide), 알칼리 금속 카보네이트, 알칼리 금속 알콕시드, 알칼리 금속 아릴옥사이드)로 이루어진 군에서 선택돌 수 있다. 바람직하게는, 염기 (B2)는 3 차 아민(tertiary amine)이다. 따라서 염기 (B2)는 트리알킬아민 일 수 있다. 가장 바람직하게는 염기 (B2)는 트리에틸 아민이다.

[0059] 용매(S2)는 아미드, 에테르, 에스테르, 케톤, 방향족 탄화수소, 할로겐화 용매, 니트릴, 술폭시드, 술폰 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 용매(S2)는 유기 용매 일 수 있다. 유기 용매는 이에 한정

되는 것은 아니지만 에테르(예: 테트라히드로푸란, 디옥산, 디에틸 에테르, t-부틸메틸에테르); 케톤(예: 아세톤 및 메틸 이소부틸 케톤); 할로겐화 용매(예: 디클로로메탄, 클로로포름 및 1,2- 디클로로에탄); 탄화수소(예: 시클로헥산, 펜탄, 헥산, 헵탄), 방향족 용매(예: 벤젠 및 톨루엔), 에스테르(예: 에틸 아세테이트) 및 아미드(예: DMF, NMP); 또는 이들의 혼합물을 포함한다. 바람직하게는, S2는 탄화수소 또는 탄화수소를 포함하는 혼합물이다. S2가 혼합물인 경우, 탄화수소를 50% 이상(예를 들어, 70% 이상) 포함하는 혼합물일 수 있다. 탄화수소는 헥산 일 수 있다. 탄화수소는 헵탄 일 수 있다. S2는 헥산 또는 헵탄과 극성 유기 용매(예: 에테르, 에스테르, 알코올 또는 할로겐화 용매)의 혼합물 일 수 있다. S2는 헥산 또는 헵탄과 극성 유기 용매의 혼합물 일 수 있고, 이 혼합물은 50 부피% (예를 들어, 70 부피%) 이상의 헥산 또는 헵탄을 포함한다. S2는 헥산 또는 헵탄과 에틸 아세테이트의 혼합물 일 수 있다. S2는 헵탄과 에틸 아세테이트의 혼합물 일 수 있다. S2는 헥산 또는 헵탄과 에틸 아세테이트의 혼합물일 수 있고 이 경우 이 혼합물은 헥산 또는 헵탄을 50 부피% (예를 들어, 70 부피%) 이상 포함한다. S2는 헵탄과 에틸 아세테이트의 혼합물 일 수 있으며, 이 경우 이 혼합물은 50 부피% (예를 들어, 70 부피%) 이상의 헵탄을 포함한다. S2는 헥산 또는 헵탄 및 메틸-t-부틸에테르의 혼합물 일 수 있다. S2는 헥산과 메틸-t-부틸에테르의 혼합물 일 수 있다. S2는 헥산 또는 헵탄 및 메틸-t-부틸 에테르의 혼합물 일 수 있으며, 이 경우 상기 혼합물은 50 부피% (예를 들어, 70 부피%) 이상의 헥산 또는 헵탄을 포함한다. S2는 헥산 및 메틸-t-부틸에테르의 혼합물 일 수 있으며, 이 경우 상기 혼합물은 50 부피% (예를 들어, 70 부피%) 이상의 헥산을 포함한다.

[0060] 단계 d)는 화학식 IIa의 화합물 및 염기 (B2)의 혼합물을 24시간 이상 동안 교반하는 것을 포함할 수 있다. 단계 d)는 화학식 IIa의 화합물 및 염기 (B2)의 혼합물을 48시간 이상 동안 교반하는 것을 포함할 수 있다. 단계 b)는 화학식 IIa의 화합물 및 염기 (B2)의 혼합물을 60시간 이상 동안 교반하는 것을 포함할 수 있다. 단계 d)는 화학식 IIa의 화합물 및 염기 (B2)의 혼합물을 72시간 이상 동안 교반하는 것을 포함할 수 있다. 단계 d)는 화학식 IIa의 화합물 및 염기 (B2)의 혼합물을 최대 100 시간 동안 교반하는 것을 포함 할 수 있다.

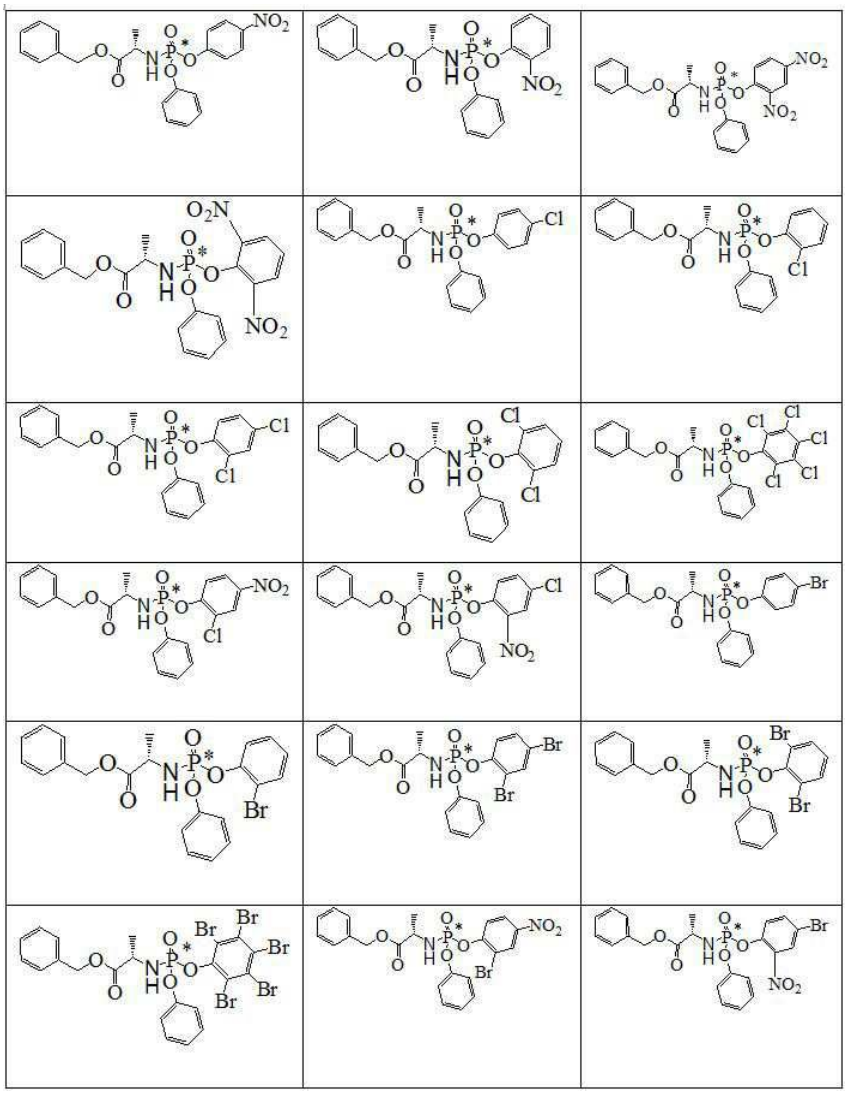
[0061] 단계 d)는 화학식 IIa의 화합물 및 염기 (B2)의 혼합물을 0 내지 60℃의 온도에서 교반하는 것을 포함할 수 있다. 단계 d)는 화학식 IIa의 화합물 및 염기 (B2)의 혼합물을 20 내지 40℃의 온도에서 교반하는 것을 포함 할 수 있다.

[0062] 단계 d)는 화학식 IIb의 화합물 및 염기 (B2)의 혼합물을 2시간 이상 교반하는 것을 포함할 수 있다. 단계 d)는 화학식 IIb의 화합물 및 염기 (B2)의 혼합물을 6시간 이상 동안 교반하는 것을 포함할 수 있다. 단계 b)는 화학식 IIb의 화합물 및 염기 (B2)의 혼합물을 10시간 이상 교반하는 것을 포함할 수 있다. 단계 d)는 화학식 IIb의 화합물 및 염기 (B2)의 혼합물을 16시간 이상 동안 교반하는 것을 포함할 수 있다. 단계 d)는 화학식 IIb의 화합물 및 염기 (B2)의 혼합물을 최대 36시간 동안 교반하는 것을 포함 할 수 있다.

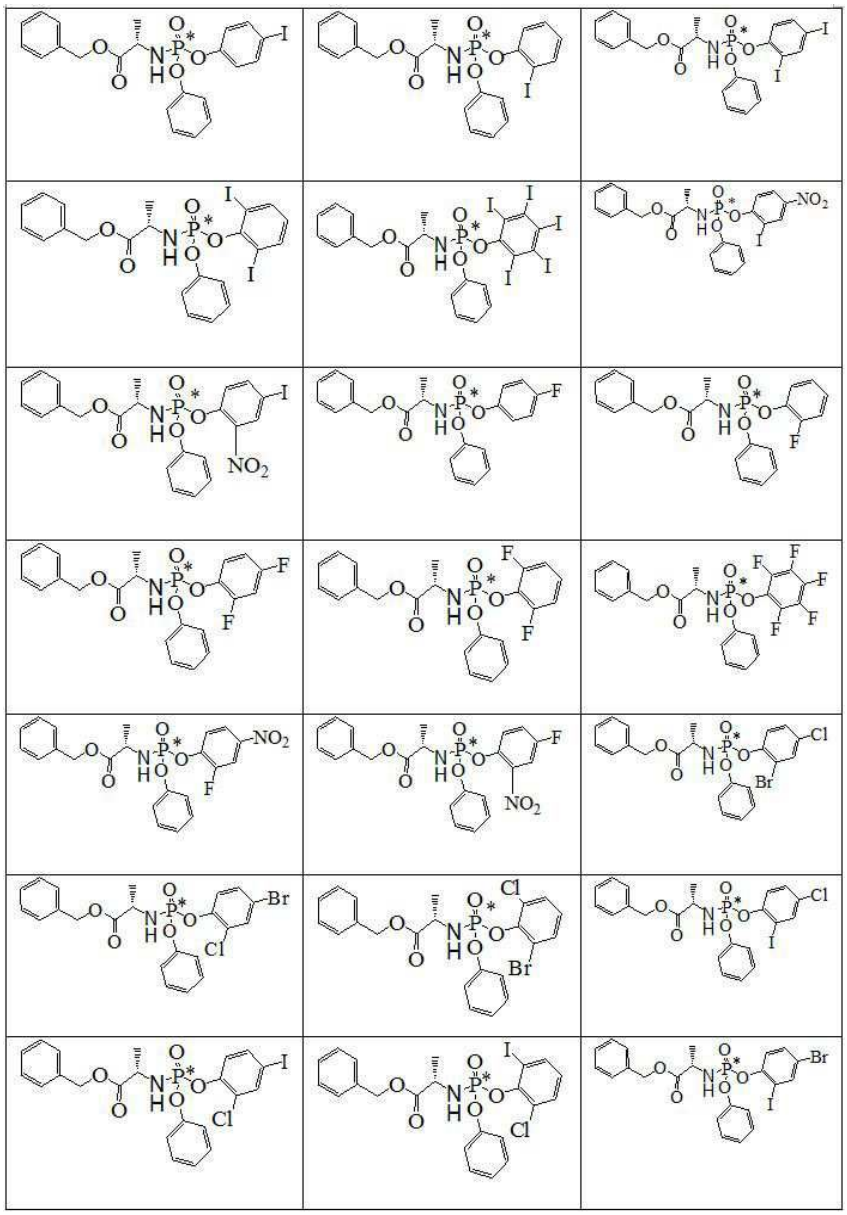
[0063] 단계 d)는 화학식 IIb의 화합물 및 염기 (B2)의 혼합물을 0 내지 50℃의 온도에서 교반하는 것을 포함할 수 있다. 단계 d)는 화학식 IIb의 화합물 및 염기 (B2)의 혼합물을 10 내지 35℃의 온도에서 교반하는 것을 포함 할 수 있다.

[0064] 본 발명의 제 2 측면의 특정 구체 예들에서, 화학식 IIb의 화합물은 하기로부터 선택된 화합물이다:

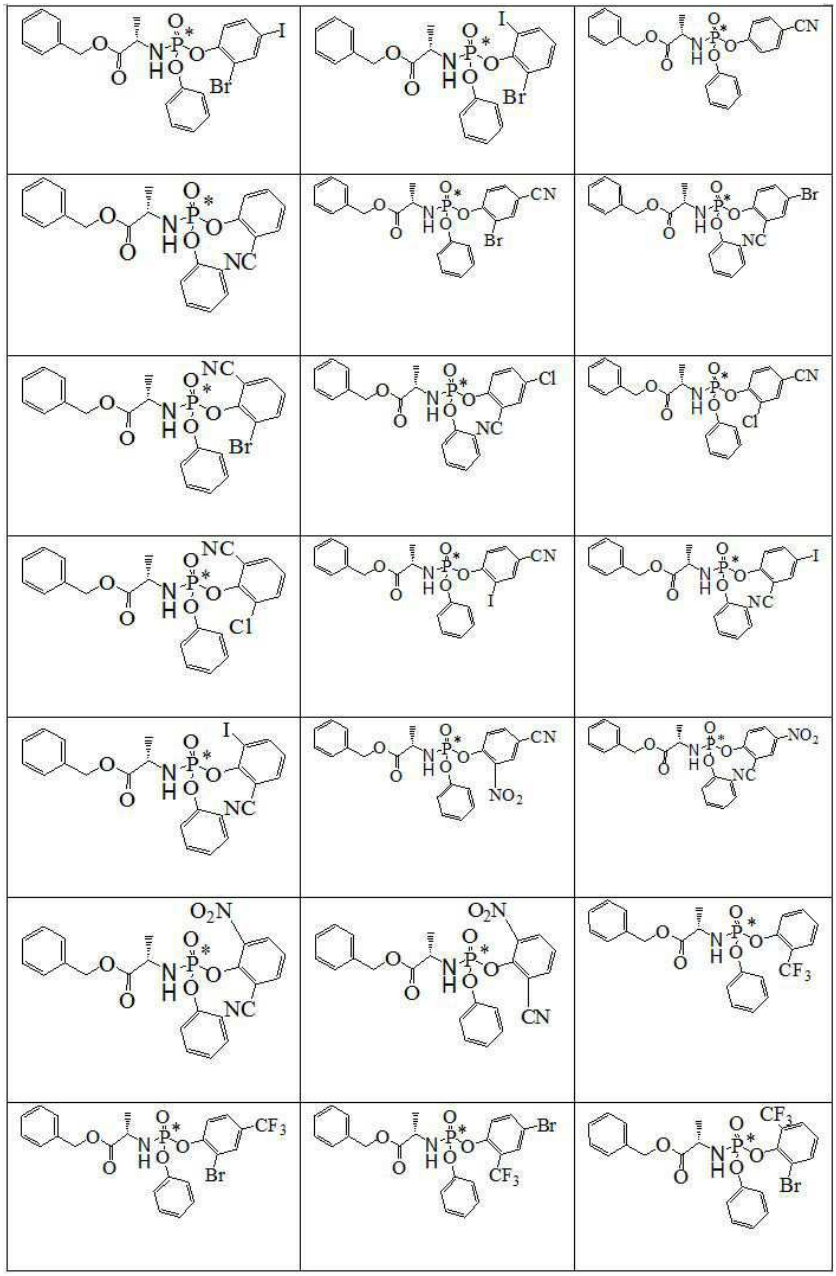
[0065]



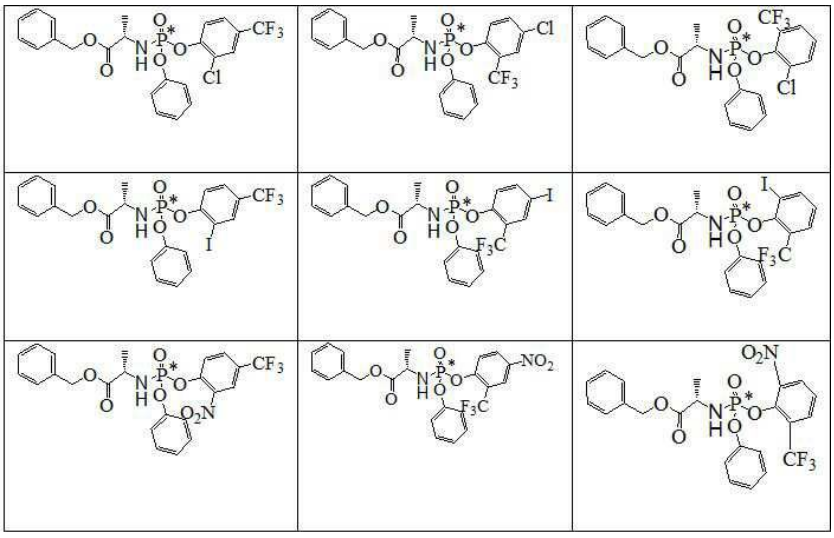
[0066]



[0067]

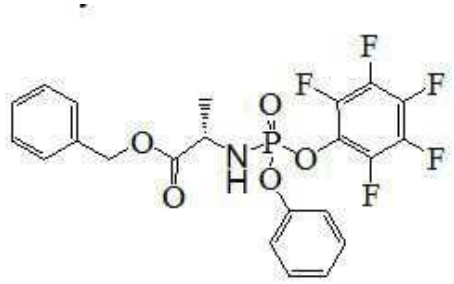


[0068]



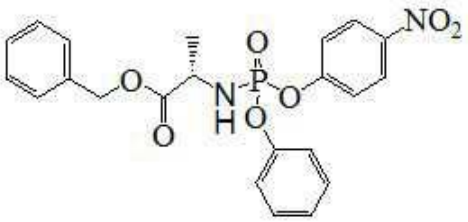
[0069] *는 인(phosphorous)의 키랄 중심(chiral centre)을 나타낸다.

[0070] 화학식 IIb의 화합물은 다음과 같을 수 있다:



[0071]

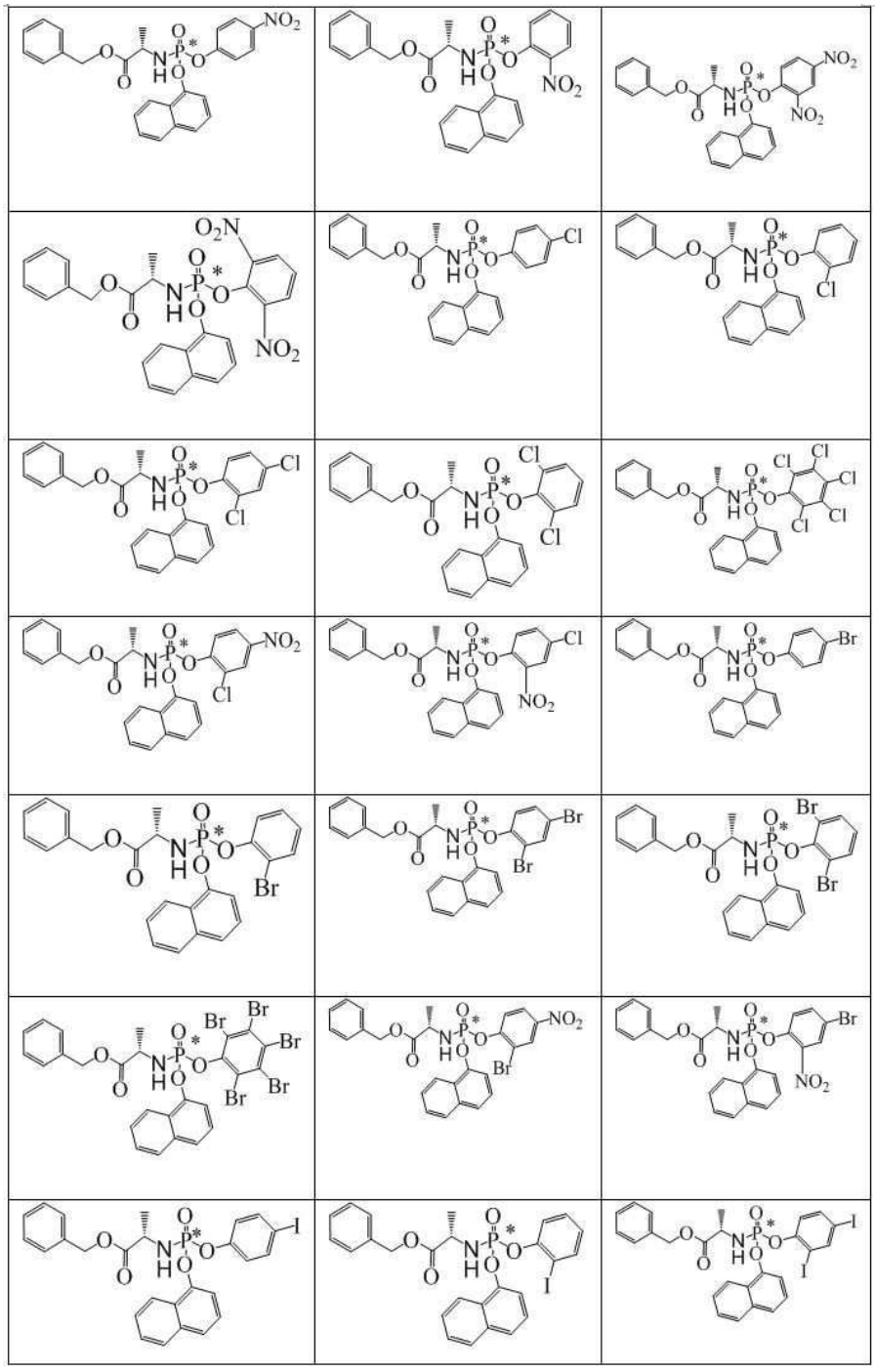
[0072] 화학식 IIb의 화합물은 다음과 같을 수 있다:



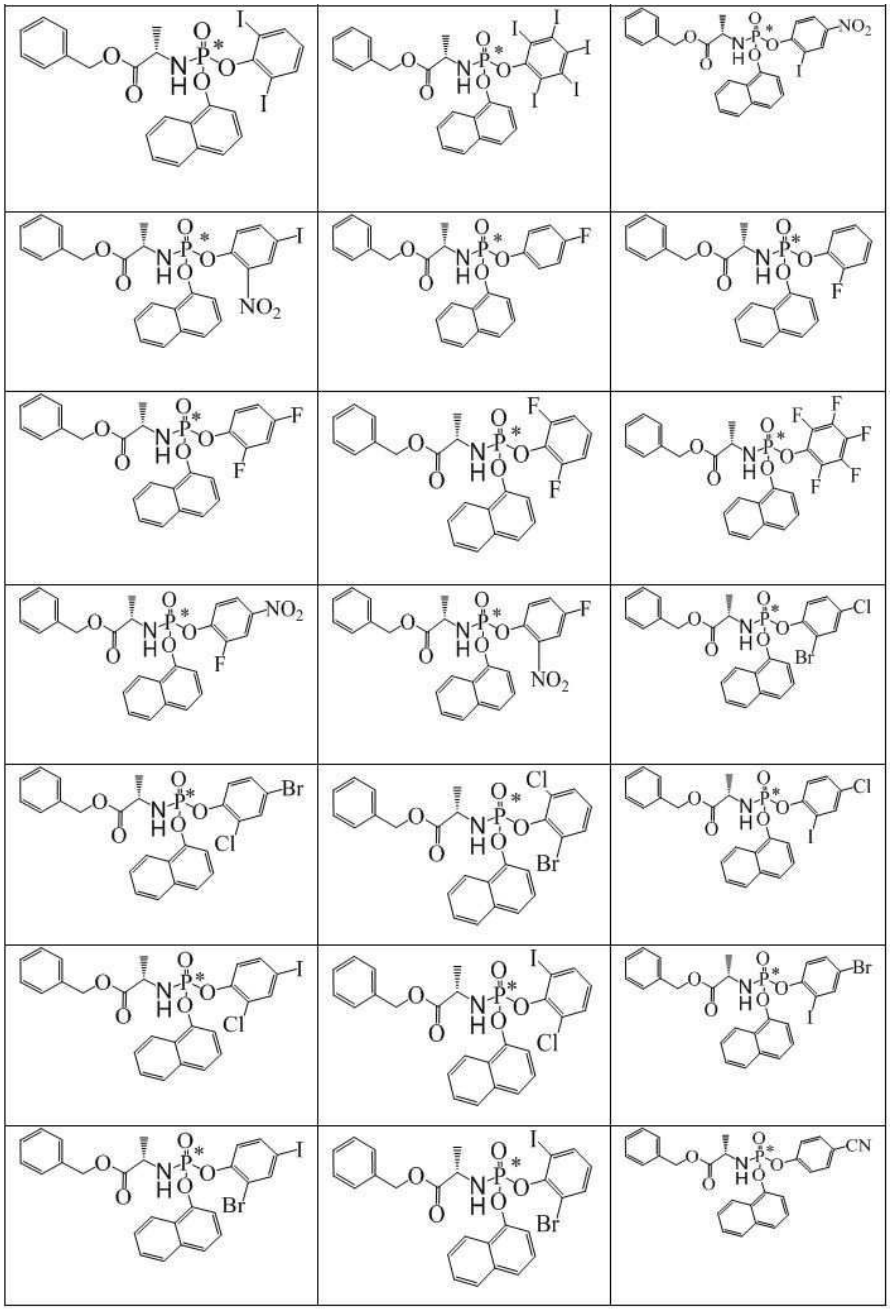
[0073]

[0074] 본 발명의 제 1, 제 3 및 제 4 측면의 특정 구체 예들에서, 화학식 IIa의 화합물은 하기로부터 선택된 화합물이다:

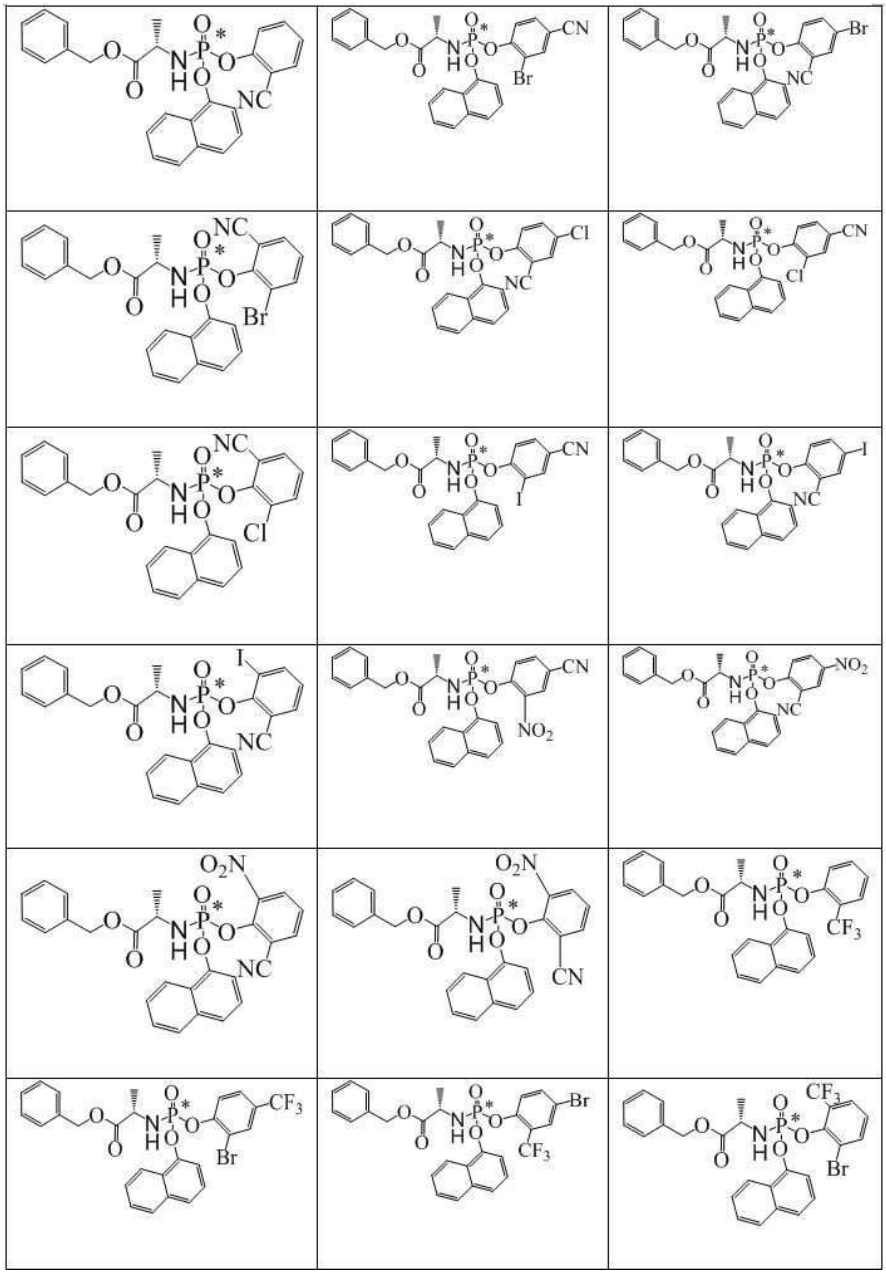
[0075]



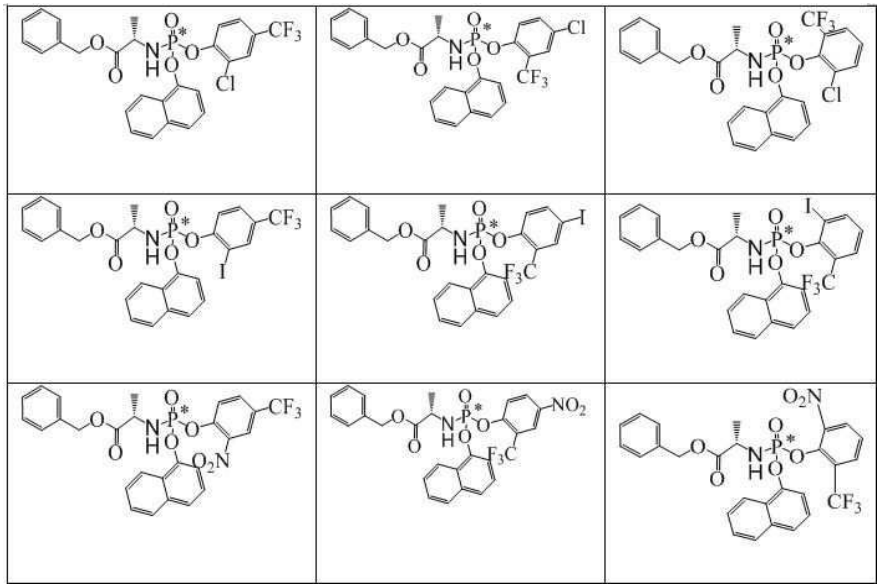
[0076]



[0077]

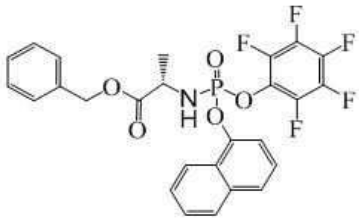


[0078]



[0079] *은 인의 키랄 중심을 나타냄

[0080] 화학식 IIa의 화합물은 화합물 12일 수 있다:

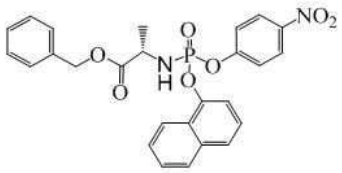


[0081] 화합물 12

[0082] 화학식 IIa의 화합물은 실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태의 (Rp)-화합물 12일 수 있다. 상기 화합물은 실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태로 화합물 12의 빠른 용리 이성질체(fast eluting isomer) 일 수 있다. 따라서, 상기 화합물은 $CDCl_3$의 202 MHz NMR 기계에서 NMR 스펙트럼이 얻어졌을 때 -1.41 ±0.02에서 ^{31}P NMR 피크를 갖는 화합물 12의 이성질체 일 수 있으며, 이때 상기 이성질체는 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태이다. 상기 화합물은 Varian Pursuit XRs 5 C18 150x4.6mm 에서, 1mL/min, 35분, 20/80의 H_2O/MeOH로 용리하는 분석적 HPLC를 수행할 때 12.96±0.20 분의 체류 시간(retention time)을 갖는 화합물 12의 이성질체 일 수 있으며 이때, 상기 이성질체는 실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태이다.

[0083] 화학식 IIa의 화합물은 실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태의 (Sp)-화합물 12일 수 있다. 상기 화합물은 실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태의 화합물 12의 느린 용리 이성질체(slow eluting isomer)일 수 있다. 따라서, 상기 화합물은 $CDCl_3$의 202 MHz NMR 기계에서 NMR 스펙트럼이 얻어졌을 때 -1.36 ± 0.02에서 ^{31}P NMR 피크를 갖는 화합물 12의 이성질체 일 수 있으며, 이때 상기 이성질체는 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태이다. 상기 화합물은 Varian Pursuit XRs 5 C18 150x4.6mm 에서, 1mL/min, 35분, 20/80의 H_2O/MeOH로 용리하는 분석적 HPLC를 수행할 때 14.48±0.20 분의 체류 시간(retention time)을 갖는 화합물 12의 이성질체 일 수 있으며 이때, 상기 이성질체는 실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태이다.

[0084] 화학식 IIa의 화합물은 다음과 같을 수 있다:



[0085]

[0086] NUC-3373은 실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태인 NUC-3373의 빠른 용리 이성질체 일 수 있다. 따라서, NUC-3373은 CD_3OD의 202MHz NMR 기계에서 NMR 스펙트럼이 얻어졌을 때 4.27 ± 0.10에서 ^{31}P NMR 피크를 갖는 NUC-3373의 이성질체 일 수 있으며, 상기 이성질체는 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태이다. NUC-3373은 Varian Pursuit XRs 5 C18 150x4.6mm 에서, 1mL/min, 35분, 100/10 에서 0/100의 H_2O/CH_3CN으로 용리하는 분석적 HPLC를 수행할 때 16.03±0.20 분의 체류 시간(retention time)을 갖는 NUC-3373의 이성질체 일 수 있으며 이때, 상기 이성질체는 실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태이다.

[0087] NUC-3373은 실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태인 NUC-3373의 느린 용리 이성질체 일 수 있다. 따라서, NUC-3373은 CD_3OD의 202MHz NMR 기계에서 NMR 스펙트럼이 얻어졌을 때 4.62 ± 0.10에서 ^{31}P NMR 피크를 갖는 NUC-3373의 이성질체 일 수 있으며, 상기 이성질체는 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태이다. NUC-3373은 Varian Pursuit XRs 5 C18 150x4.6mm 에서, 1mL/min, 35분, 90/10 에서 0/100의 H_2O/CH_3CN으로 용리하는 분석적 HPLC를 수행할 때 16.61±0.20 분의 체류 시간(retention time)을 갖는 NUC-3373의 이성질체 일 수 있으며 이때, 상기 이성질체는 실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태이다.

[0088] NUC-9701은 실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태인 NUC-9701의 빠른 용리 이성질체 일 수 있다.

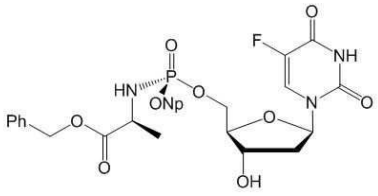
따라서, NUC-9701은 CD_3OD의 202MHz NMR 기계에서 NMR 스펙트럼이 얻어졌을 때 3.93 ± 0.04에서 ^{31}P NMR 피크를 갖는 NUC-9701의 이성질체 일 수 있으며, 상기 이성질체는 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태이다. NUC-9701은 Varian Pursuit XRs 5 C18 150x4.6mm 에서, 1mL/min, 30분, 90/10 에서 0/100의 H_2O/CH_3CN으로 용리하는 분석적 HPLC를 수행할 때 16.43±0.10 분의 체류 시간(retention time)을 갖는 NUC-3373의 이성질체 일 수 있으며 이때, 상기 이성질체는 실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태이다.

[0089] NUC-9701은 실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태인 NUC-9701의 느린 용리 이성질체 일 수 있다. 따라서, NUC-9701은 CD_3OD의 202MHz NMR 기계에서 NMR 스펙트럼이 얻어졌을 때 3.83 ± 0.04에서 ^{31}P NMR 피크를 갖는 NUC-9701의 이성질체 일 수 있으며, 상기 이성질체는 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태이다. NUC-9701은 Varian Pursuit XRs 5 C18 150x4.6mm 에서, 1mL/min, 30분, 100/10 에서 0/100의 H_2O/CH_3CN으로 용리하는 분석적 HPLC를 수행할 때 16.59±0.10 분의 체류 시간(retention time)을 갖는 NUC-9701의 이성질체 일 수 있으며 이때, 상기 이성질체는 실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태이다.

[0090] 화학식 IIa의 화합물은 본 발명의 제 4 측면에 따라 제조할 수 있다.

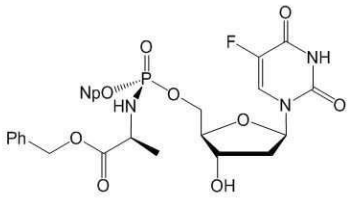
[0091] 본 발명의 제 5 측면에서, 화학식 IIa의 화합물이 제공된다. 상기 화합물은 화학식 IIa의 화합물의 Sp 이성질체 일 수 있다. 상기 화합물은 하기 화학식 IIa의 화합물의 Rp 이성질체일 수 있다.

[0092] 본 발명의 제 6 측면에서 실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태의 (Sp)-NUC-3373:



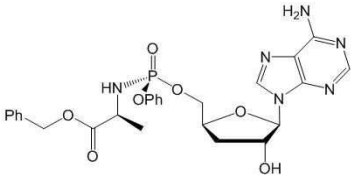
이 제공된다. 화학식 IIa의 화합물의 X- 부분 입체 이성질체가 우선적으로 형성되는 이성질체화는 NUC-3373의 Sp 이성질체가 Rp 이성질체보다 더 쉽게 생성된다는 것을 의미한다.

[0093] 본 발명의 제 7 측면에서 실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태의 (Rp) -NUC-3373:



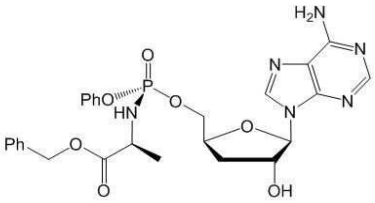
이 제공된다.

[0094] 본 발명의 제 8 측면에서 실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태의 (Sp)-NUC-7738:



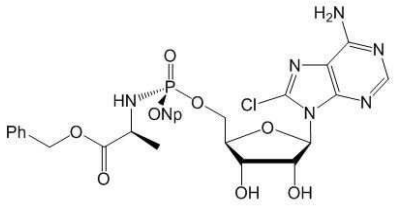
이 제공된다. 화학식 IIb의 화합물의 (S)-부분 입체 이성질체가 우선적으로 형성되는 이성질체화는 NUC-7738의 Sp 이성질체가 Rp 이성질체보다 더 쉽게 생성된다는 것을 의미한다.

[0095] 본 발명의 제 9 측면에서 실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태의 (Rp) -NUC-7738



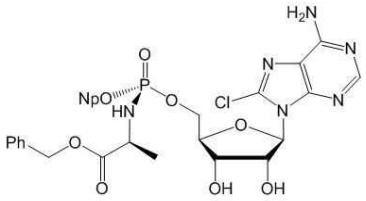
이 제공된다.

[0096] 본 발명의 제 10 측면에서 실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태의 (Sp) -NUC-



9701 이 제공된다. 화학식 IIa의 화합물의 X- 부분 입체 이성질체가 우선적으로 형성되는 이성질체화는 NUC-9701의 Sp 이성질체가 Rp 이성질체보다 생성하기 쉽다는 것을 의미한다.

[0097] 본 발명의 제 11 측면에서 실질적으로 부분 입체 이성질체적으로 순수한 형태의 (Rp) -NUC-



9701: 이 제공된다.

[0098] 본 발명의 제 5, 제 6, 제 7, 제 8, 제 9, 제 10 및 제 11 측면의 화합물은 본 발명의 제 1, 제 2 및 제 3 측면에 대해 상술한 부분 입체 이성질체일 수 있다.

[0099] 본 발명은 또한 본 발명의 제 6, 제 7, 제 8, 제 9, 제 10 및 제 11 측면의 화합물 및 약제학적으로 허용되는 부형제(excipient)를 포함하는 약제학적 조성물을 제공할 수 있다.

[0100] 본 발명은 또한 암 (예를 들어, 고형 종양 또는 백혈병)을 치료하는 방법을 제공할 수 있으며, 이 방법은 치료 유효량의 제 6, 제 7, 제 8, 제 9, 제 10 및 제 11 측면의 화합물을 투여하는 것을 포함하는 방법을 제공 할 수 있다.

[0101] 본 발명의 제 6, 제 7, 제 8, 제 9, 제 10 및 제 11 측면의 화합물은 의료용 일 수 있다. 본 발명의 제 6, 제 7, 제 8, 제 9, 제 10 및 제 11 측면의 화합물은 암 (예를 들어, 고형 종양 또는 백혈병)의 치료에 사용하기위한 것일 수 있다.

[0102] 본 발명의 제 6, 제 7, 제 8, 제 9, 제 10 및 제 11 측면의 산물(product)은 본 발명의 제 1, 제 2 또는 제 3 측면에 의해 얻어 질 수 있다.

[0103] 히드록시기에 대한 보호기(예: P^1, P^2, P^5, 또는 P^6)는 옵션으로 치환된 $-Si(C_1-C_6-알킬)_3$, 옵션으로 치환된 $-C(O)-C_1-C_6-$알킬, 옵션으로 치환된 -C(O)-아릴, 옵션으로 치환된 $-C(O)-OC_1-C_6-$알킬, -C(O)-O-알릴, $-C(O)-O-CH_2-$플루오렌일, 옵션으로 치환된 $-CH(아릴)_3$, 옵션으로 치환된 $-(C_1-C_3-알킬렌)-$아릴, 옵션으로 치환된 $-C(O)OCH_2-$아릴 및 $-C_1-C_4-알킬-O-C_1-C_4-$알킬로 이루어진 군에서 독립적으로 선택될 수 있다. 두 개의 히드록시기가 이웃하는 탄소 원자에 부착된 경우(예를 들어 P^5 및 P^6), 이들은 옵션으로 치환된 $C(C_1-C_4-알킬)_2-$기로 보호될 수 있다.

[0104] 아미노기에 대한 보호기(예: P^3, P^4, P^7, 또는 P^8)는 각 경우에 $-C(O)OC_1-C_6-$알킬, 옵션으로 치환된 $-C(O)OCH_2-$아릴, -C(O)-O-알릴, $-C(O)-O-CH_2-$플루오렌일, 옵션으로 치환된 $-C(아릴)_3$, 옵션으로 치환된 $-(C_1-C_3-알킬렌)-$아릴, 옵션으로 치환된 $-C(O)-C_1-C_6-$알킬, 옵션으로 치환된 -C(O)-아릴, $-S(O)_2-C_1-C_6-$알킬, 옵션으로 치환된 $-S(O)_2-$아릴 및 옵션으로 치환된 $-Si(C_{1-6}$ 알킬$)_3$ 으로 이루어진 군에서 독립적으로 선택될 수 있다.

[0105] 화학식 IIIa, IIIb, 또는 IIIc의 다수의 보호된 출발 화합물은 당 업계에 공지되어 있고 그리고/또는 공지된 방법으로 제조될 수 있다. 예를 들어, 화학식 IIIa, IIIb, 및 IIIc의 출발 화합물은 적절한 보호기로 히드록시기 및/또는 아미노기를 보호함으로써 모 뉴클레오시드로부터 합성될 수 있다. 보호기는 예를 들어 "Protective Groups in Organic Chemistry", J W F McOmie 편집 (1973); "Protective Groups in Organic Synthesis", 제2판, T W Greene (1991); 및 "Protecting Groups", 제3판 추가 P. J Koscienski (1995)에 개시된 바와 같이, 통상의 보호기 기법을 사용하여 전형적으로 첨가 및 제거될 수 있다.

[0106] 일반적으로 3'-히드록시기 및/또는 2'-히드록시기 및/또는 아미노기를 보호하기 위해 사용되는 것들과 직교하는 보호기(즉, 원하는 3'-히드록시기, 2'-히드록시기 및 아미노기를 제거하지 않으면서 제거될 수 있는 기)로 모뉴클레오시드의 5'-히드록시기를 먼저 보호함으로써 화학식 IIIa, IIIb 및 IIIc의 화합물을 준비할 필요가 있을 것이다. 동시에 또는 후속하여, 3'-히드록시기, 2'-히드록시기 및 아미노기는 원하는 보호기(들)로 보호되고 5'-히드록실 보호기는 제거되어 화학식 IIIa, IIIb 또는 IIIc의 화합물을 생성할 수 있다. 어떤 보호기들은 3'-히드록시 및/또는 2'-히드록시기 그리고 5'-히드록시기 상에 그리고 옵션으로 아미노기 상에 동시에 도입될 수 있고, 이어서 3'-히드록시기 및/또는 2'-히드록시기로부터 그리고 옵션으로 아미노기로부터는 제거되지 않고 5'-히드록시기로부터 선택적으로(selectively) 제거될 수 있다.

[0107] 일부 구체 예에 따르면, P^1은 옵션으로 치환된 -Si(C_{1-6} 알킬)$_3$, 옵션으로 치환된 -C(O)-C_1-C_6-알킬, 옵션으로 치환된 -C(O)-아릴, 옵션으로 치환된 -C(O)-OC_1-C_6-알킬, -C(O)-O-알릴, -C(O)-O-CH_2-플루오렌일, 옵션으로 치환된 -CH (아릴)$_3$, 옵션으로 치환된 -(C_1-C_3-알킬렌)-아릴, 옵션으로 치환된 -C(O)OCH_2-아릴 및 -C_1-C_4-알킬-O-C_1-C_4-알킬로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다.

[0108] P^1은 옵션으로 치환된 -Si(C_{1-6} 알킬)$_3$, 옵션으로 치환된 -C(O)-OC_1-C_6-알킬, 옵션으로 치환된 -C(O)OCH_2-아릴, -C(O)-O-알릴으로 이루어진 군에서 독립적으로 선택된다. 바람직하게 P^1은 -C(O)O-tBu, -C(O)O-벤질 및 -C(O)OCH_2-알릴에서 선택된다. 따라서 P^1은 -C(O)OCH_2-아릴일 수 있다. P^1은 -C(O)O-tBu 일 수 있다.

[0109] 대안적으로, P^1은 옵션으로 치환된 -C(O)-C_1-C_6-알킬 및 옵션으로 치환된 -C(O)-아릴로부터 독립적으로 선택될 수 있다. 예를 들어 P^1은 벤조일 및 아세틸로부터 독립적으로 선택될 수 있다.

[0110] 추가의 대안에서, P^1은 옵션으로 치환된 -Si(C1-C_6-알킬)$_3$ 일 수 있다. P^1은 -Si(C_1-C_4-알킬)$_3$ 일 수 있다. 알킬기는 비-치환된 것일 수 있다. P^1은 t-부틸디메틸실일(t-butyldimethylsilyl) 일 수 있다.

[0111] 일부 구현 예에 따르면, P^2는 -Si(C_1-C_6-알킬)$_3$, 옵션으로 치환된 -C(O)-C_1-C_6-알킬, 옵션으로 치환된 -C(O)-아릴, 옵션으로 치환된 -C(O)OC_1-C_6-알킬, -C(O)-O-알릴, -C(O)-O-CH_2-플루오렌일, 옵션으로 치환된 -C(아릴)$_3$, 옵션으로 치환된 -(C_1-C_3-알킬렌)-아릴, 옵션으로 치환된 -C(O)OCH_2-아릴 및 -C_1-C_4-알킬-O-C_1-C_4-알킬로 이루어진 군에서 독립적으로 선택될 수 있다.

[0112] P^2는 옵션으로 치환된 -Si(C_1-C_6-알킬)$_3$, 옵션으로 치환된 -C(O)-OC_1-C_6-알킬 및 옵션으로 치환된 -C(O)OCH_2-아릴, -C(O)-O-알릴로부터 독립적으로 선택될 수 있다. 바람직하게는 P^2는 -C(O)O-tBu, -C(O)O-벤질 및 -C(O)OCH_2-알릴에서 선택된다. 따라서 P^2은 -C(O)OCH_2-아릴일 수 있다. P^2은 -C(O)O-tBu일 수 있다.

[0113] 대안적으로 P^2는 옵션으로 치환된 -C(O)-C_1-C_6-알킬 및 옵션으로 치환된 -C(O)-아릴에서 독립적으로 선택되며 예를 들어 P^2는 벤조일 및 아세틸에서 독립적으로 선택될 수 있다.

[0114] 추가의 대안에서, P^2는 옵션으로 치환된 -Si(C_1-C_6-알킬)$_3$ 일 수 있다. P^2는 -Si(C_1-C_4-알킬)$_3$ 일 수 있다. 알킬기는 비치환된 것일 수 있다. P^2는 t-부틸디메틸실일 일 수 있다.

[0115] P^3는 -C(O)OC_1-C_6-알킬, 옵션으로 치환된 -C(O)OCH_2-아릴, -C(O)-O-알릴, -C(O)-O-CH_2-플루오렌일, 옵션으로 치환된 -C(아릴)$_3$, 옵션으로 치환된 -(C_1-C_3-알킬렌)-아릴, 옵션으로 치환된 -C(O)-C_1-C_6-알킬, 옵션으로 치환된 -C(O)-아릴, -S(O)$_2$-C_1-C_6-알킬, 옵션으로 치환된 -S(O)$_2$-아릴 및 옵션으로 치환된 -Si(C_1-C_6-알킬)$_3$ 으로 이루어진 군에서 독립적으로 선택될 수 있다.

[0116] P^3는 -C(O)OC_1-C_6-알킬, 옵션으로 치환된 -C(O)OCH_2-아릴, -C(O)-O-알릴, 옵션으로 치환된 -C(아릴)$_3$ 및 옵션으로 치환된 -Si(C_1-C_6-알킬)$_3$ 으로 이루어진 군에서 독립적으로 선택될 수 있다. 바람직하게는 P^3는 -C(O)O-tBu, -C(O)O-벤질 및 -C(O)OCH_2-알릴에서 선택된다. 따라서 P^3은 -C(O)OCH_2-아릴일 수 있다.

[0117] 대안적으로, P^3은 옵션으로 치환된 -C(O)-C_1-C_6-알킬 및 옵션으로 치환된 -C(O)-아릴로부터 독립적으로 선택될 수 있으며, 예를 들어 P^3은 벤조일 및 아세틸로부터 독립적으로 선택 될 수 있다.

[0118] 다른 대안에서, P^3은 H이다.

[0119] P^4는 H, -C(O)OC_1-C_6-알킬, 옵션으로 치환된 -C(O)OCH_2-아릴, -C(O)-O-알릴, -C(O)-O-CH_2-플루오렌일, 옵션으로 치환된 -C(아릴)$_3$, 옵션으로 치환된 -(C_1-C_3-알킬렌)-아릴, 옵션으로 치환된 -C(O)-C_1-C_6-알킬, 옵션으로 치환된 -C(O)-아릴, -S(O)$_2$-C_1-C_6-알킬, 옵션으로 치환된 -S(O)$_2$-아릴 및 옵션으로 치환된 -Si(C_1-C_6-알킬)$_3$ 으로 이루어진 군에서 독립적으로 선택될 수 있다.

[0120] 바람직하게는, P^4는 H이다.

[0121] P3 및 P^4는 각각 H 일 수 있다. P^3 및 P^4는 각각 H이고 P^2는 -C(O)O-tBu 일 수 있다. P^3 및 P^4는 각각 H이고 P^2는 t-부틸디메틸실일 일 수 있다.

[0122] 일부 구현 예에서 P^5 및 P^6는 각각 옵션으로 치환된 -Si(C_1-C_6-알킬)$_3$, 옵션으로 치환된 -C(O)-C_1-C_6-알킬, 옵션으로 치환된 -C(O)-아릴, 옵션으로 치환된 -C(O)-OC_1-C_6-알킬, -C(O)-O-알릴, -C(O)-O-CH_2-플루오렌일, 옵션으로 치환된 -C(아릴)$_3$, 옵션으로 치환된 -(C_1-C_3-알킬렌)-아릴, 옵션으로 치환된 -C(O)OCH_2-아릴 및 -C_1-C_4-알킬-O-C_1-C_4-알킬로 이루어진 군에서 독립적으로 선택될 수 있다; 또는 P^5 및 P^6는 함께 옵션으로 치환된 -C(C_1-C_4-알킬)$_2$-기를 형성한다. P^5 및 P^6는 동일할 수 있다.

[0123] P^5 및 P^6는 옵션으로 치환된 -Si(C_1-C_6-알킬)$_3$, 옵션으로 치환된 -C(O)-OC_1-C_6-알킬, 옵션으로 치환된 -C(O)-OC_1-C_6-알킬 및 옵션으로 치환된 -C(O)OCH_2-아릴, -C(O)-O-알릴로부터 독립적으로 선택될 수 있다. 바람직하게는 P^5 및 P^6는 -C(O)O-tBu, -C(O)O-벤질 및 -C(O)OCH_2-알릴에서 선택된다. 따라서 P^5 및 P^6는 각각 -C(O)O-tBu일 수 있다.

[0124] 대안적으로 P^5 및 P^6는 옵션으로 치환된 -C(O)-C_1-C_6-알킬 및 옵션으로 치환된 -C(O)-아릴에서 독립적으로 선택되며 예를 들어 P^5 및 P^6는 각각 벤조일 및 아세틸에서 독립적으로 선택될 수 있다.

[0125] 추가의 대안에서, P^5 및 P^6는 옵션으로 치환된 -Si(C_1-C_6-알킬)$_3$ 일 수 있다. P^2는 -Si(C_1-C_4-알킬)$_3$ 일 수 있다. 알킬기는 비치환된 것일 수 있다. P^5 및 P^6는 t-부틸디메틸실일 일 수 있다.

[0126] 그러나 바람직하게는 P^5 및 P^6는 함께 옵션으로 치환된 -C(C_1-C_4-알킬)2-기를 형성한다. P^5 및 P^6는 함께 -C(Me)$_2$-기를 형성하는 것일 수 있다.

[0127] P^7는 -C(O)OC_1-C_6-알킬, 옵션으로 치환된 -C(O)OCH_2-아릴, -C(O)-O-알릴, -C(O)-O-CH_2-플루오렌일, 옵션으로 치환된 -C(아릴)$_3$, 옵션으로 치환된 -(C_1-C_3-알킬렌)-아릴, 옵션으로 치환된 -C(O)-C_1-C_6-알킬, 옵션으로 치환된 -C(O)-아릴, -S(O)$_2$-C_1-C_6-알킬, 옵션으로 치환된 -S(O)$_2$-아릴 및 옵션으로 치환된 -Si(C_1-C_6-알킬)$_3$ 으로 이루어진 군에서 독립적으로 선택될 수 있다.

[0128] P^7는 -C(O)OC_1-C_6-알킬, 옵션으로 치환된 -C(O)OCH_2-아릴, -C(O)-O-알릴, 옵션으로 치환된 -C(아릴)$_3$ 및 옵션으로 치환된 -Si(C_1-C_6-알킬)$_3$ 으로 이루어진 군에서 독립적으로 선택될 수 있다. 바람직하게는 P^7은 -C(O)O-tBu, -C(O)O-벤질 및 -C(O)OCH_2-알릴에서 선택된다. 따라서 P^7는 -C(O)OCH_2-아릴일 수 있다.

[0129] 대안적으로, P^7는 옵션으로 치환된 -C(O)-C_1-C_6-알킬 및 옵션으로 치환된 -C(O)-아릴로부터 독립적으로 선택될 수 있으며, 예를 들어 P^7는 벤조일 및 아세틸로부터 독립적으로 선택 될 수 있다.

[0130] 다른 대안에서, P^7는 H이다.

[0131] 마찬가지로, P^8은 H, -C(O)OC_1-C_6-알킬, 옵션으로 치환된 -C(O)OCH_2-아릴, -C(O)-O-알릴, -C(O)-O-CH_2-플루오렌일, 옵션으로 치환된 -C(아릴)$_3$, 옵션으로 치환된 -(C_1-C_3-알킬렌)-아릴, 옵션으로 치환된 -C(O)-C_1-C_6-알킬, 옵션으로 치환된 -C(O)-아릴, -S(O)$_2$-C_1-C_6-알킬, 옵션으로 치환된 -S(O)$_2$-아릴 및 옵션으로 치환된 -Si(C_1-C_6-알킬)$_3$ 으로 이루어진 군에서 독립적으로 선택될 수 있다.

[0132] 바람직하게는, P^8은 H이다.

[0133] P^7 및 P^8은 각각 H 일 수 있다. P^7 및 P^8은 H이고 및 P^5 및 P^6은 함께 -C(Me)$_2$-기를 형성 할 수 있다.

[0134] 옵션으로 치환된 -Si(C_1-C_6-알킬)$_3$ 기는 -Si(C_1-C_4-알킬)$_3$ 기일 수 있다. 상기 기는 (즉, 알킬기들은) 바람직하게는 치환되지 않는다. 예로서 트리에틸실일(triethylsilyl) 및 t-부틸-디메틸실일(*t*-butyl-dimethylsilyl)을 포함한다.

[0135] 옵션으로 치환된 -C(O)-C_1-C_6-알킬기는 -C(O)-C_1-C_6-알킬기일 수 있다. 상기 기 (즉, 알킬기)는 바람직하게는 치환되지 않는다. 예시적인 예는 아세틸 및 프로피오닐을 포함한다.

[0136] 옵션으로 치환된 -C(O)-아릴기는 -C(O)-페닐기일 수 있다. 상기 기 (즉, 페닐기)는 비치환된 것이 바람직하다. 예시적인 예는 벤조일을 포함한다.

[0137] 옵션으로 치환된 -C(O)-OC_1-C_6-알킬기는 -C(O)-OC_1-C_4-알킬기 일 수 있다. 상기 기 (즉, 알킬기)는 비치환된 것이 바람직하다. 예시적인 예는 -C(O)-O-메틸 및 -C(O)-O-에틸을 포함한다. 특히 바람직한 예는 C(O)OtBu이다.

[0138] 옵션으로 치환된 - (C_1-C_3-알킬렌)-아릴기는 바람직하게는 선택적으로 치환된 벤질기이다. 예시적인 예는 벤질, 펜에틸, 4-메톡시벤질, 4-니트로벤질, 4-브로모벤질, 2,3-디메톡시벤질 및 2,4-디메톡시벤질을 포함한다.

[0139] 옵션으로 치환된 -C(O)OCH_2-아릴기는 바람직하게는 선택적으로 치환된 -C(O)O-벤질기이다. 예시적인 예는 -C(O)O벤질 및 -C(O)O-(4-메톡시벤질)을 포함한다.

[0140] 옵션으로 치환된 -C_1-C_4-알킬-O-C_1-C_4-알킬은 -C_1-C_2-알킬-O-C_1-C_2-알킬일 수 있다. 상기 기는 (즉 알킬기들은) 바람직하게는 치환되지 않는다. 예시적인 예는 메톡시-메틸(MOM) 및 2-메톡시-에톡시-메틸(MEM)을 포함한다.

[0141] 옵션으로 치환된 -S(O)$_2$-C_1-C_6-알킬기는 -S(O)$_2$-C_1-C_4-알킬기일 수 있다. 상기 기 (즉, 알킬기)는 비치환된 것이 바람직하다. 예시적인 예는 메탄술포네이트(methanesulfonate)를 포함한다.

[0142] 옵션으로 치환된 -S(O)$_2$-아릴기는 -S(O)$_2$-페닐기 일 수 있다. 예시적인 예는 페닐술포네이트, 4-메틸페닐술포네이트 및 4-니트로페닐술포네이트를 포함한다.

[0143] 옵션으로 치환된 -CH(아릴)$_3$ 기는 -CH(페닐)$_3$ 기일 수 있다. 예시적인 예는 트리틸(trityl)을 포함한다.

[0144] P^2, P^3 및 P^4 또는 P^5, P^6, P^7 및 P^8 중 2개 이상이 보호기인 경우, 탈보호(deprotection) 단계는 2개 또는 3개의 개별적인 탈보호 반응을 포함할 수 있다. 이것은 2개 또는 3개의 상이한 보호기가 사용되는 경우 및 2개 또는 3개의 보호기가 동일한 조건하에서 제거될 수 없는 경우이다.

[0145] 그러나 탈보호 단계는 모든 보호기가 제거되는 단일 탈보호 반응을 포함할 수 있다. 따라서, P^2 및 P^3은 동일한 조건하에서 제거될 수 있는 보호기이다. P^2와 P^3이 동일할 수도 있다. 마찬가지로 P^5 및 P^6는 동일한 조건하에서 제거될 수 있는 보호기이다. P^5와 P^6이 동일 할 수도 있다.

[0146] 본 명세서 전체에서, '부분 입체 이성질체적으로 풍부한 형태' 및 '실질적으로 부분 입체 이성질체 적으로 순수한 형태'는 95% 초과의 부분 입체 이성질체 순도를 의미한다. '부분 입체 이성질체 적으로 풍부한 형태' 및 '실질적으로 부분 입체 이성질체 적으로 순수한 형태'는 98% 초과, 99% 초과 또는 99.5% 초과의 부분 입체 이성질체 순도를 의미할 수 있다.

[0147] 전술한 알킬기 및 아릴기(예를 들어, 벤질기들의 페닐기들을 포함하여, 페닐)는 화학적으로 가능한 경우 1 내지 3개의 치환체로 옵션으로 치환되며, 여기서 치환체는 각 경우에 옥소(oxo), $=NR^a$, $=NOR^a$, 할로(halo), 니트로(nitro), 시아노(cyano), NR^aR^a, $NR^aS(O)_2R^a$, $NR^aCONR^aR^a$, $NR^aCO_2R^a$, OR^a, SR^a, SOR^a, SO_3R^a, SO_2R^a, $SO_2NR^aR^a$, $C(O)_2R^aC(O)R^a$, $CONR^aR^a$, C_1-C_4-알킬, C_2-C_4-알케닐, C_2-C_4-알케닐 및 C_1-C_4 할로알킬로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 여기서 R^a는 각 경우 독립적으로 H, C_1-C_4 알킬 및 C_1-C_4 할로알킬로부터 선택된다.

[0148] 상기 알킬기들 중 임의의 알킬기는 비치환된 것 일 수 있다.

[0149] 전술한 아릴기(예를 들어, 벤질기들에 페닐기들을 포함하여, 페닐)는 화학적으로 가능한 경우, 1개 내지 3개의 치환체에 의해 옵션으로 치환되며, 여기서 치환체는 각각의 경우 독립적으로 할로, 니트로, 시아노, NR^aR^a, $NR^aS(O)_2R^a$, $NR^aCONR^aR^a$, $NR^aCO_2R^a$, OR^a, SR^a, SOR^a, SO_3R^a, SO_2R^a, $SO_2NR^aR^a$, $C(O)_2R^aC(O)R^a$, $CONR^aR^a$, C_1-C_4-알킬, C_2-C_4-알케닐, C_2-C_4-알케닐 및 C_1-C_4 할로알킬로 이루어진 군으로부터 선택되며, 이때 R^a는 각 경우 독립적으로 H, C_1-C_4 알킬 및 C_1-C_4 할로알킬로부터 선택된다.

[0150] 전술한 아릴기(예를 들어, 벤질기들에 페닐기들을 포함하여, 페닐)는 1개 내지 3개의 치환체에 의해 옵션으로 치환되며, 여기서 치환체는 각각의 경우 독립적으로 할로, 니트로, OR^a, C_1-C_4-알킬, 및 C_1-C_4 할로알킬로 이루어진 군으로부터 선택되며, 이때 R^a는 각 경우 독립적으로 H, C_1-C_4 알킬 및 C_1-C_4 할로알킬로부터 선택된다.

[0151] 아릴기는 원자가 조건을 충족시키기에 적절하게 6개 내지 20개의 탄소 원자를 갖는다. 아릴기는 허켈 규칙(Huckel rule)을 만족시키는 탄소고리기(carbocyclic group)이다 (즉, $2(2n+1)\pi$ 전자를 함유하는 탄소고리식 고리 시스템을 함유한다). 아릴기는 옵션으로 치환된 페닐기, 옵션으로 치환된 비페닐기(biphenyl group), 옵션으로 치환된 나프탈렌일기(naphthalenyl group) 또는 옵션으로 치환된 안트라센일기(anthracenyl group) 일 수 있다. 마찬가지로, 아릴기는 비-방향족 탄소고리 부분을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 아릴기는 옵션으로 치환된 페닐기 이다.

[0152] 알킬기는 직쇄 또는 측쇄 일 수 있다. 따라서, 예를 들어, C_4 알킬기는 n- 부틸, i-부틸 또는 t-부틸 일 수 있다.

[0153] 본 발명의 제 1 측면, 제 2 측면 및 제 3 측면의 단계 a)는 유기 용매(S1) 중에서 수행될 수 있다. 유기 용매는 이에 한정되는 것은 아니지만 에테르(예: 테트라히드로푸란, 디옥산, 디에틸에테르, 메틸-t-부틸에테르); 케톤(예: 아세톤 및 메틸 이소부틸 케톤); 할로겐화 용매(예: 디클로로메탄, 클로로포름 및 1,2-디클로로에탄); 및 아미드 (예: DMF, NMP); 또는 이들의 혼합물을 포함한다. 단계 a)가 그리냐르 시약(Grignard reagent)의 존재하에 수행되는 경우, 유기 용매는 바람직하게는 에테르이다. 가장 바람직하게는 용매는 테트라히드로푸란이다.

[0154] 제 1 측면의 단계 a)가 질소 염기(nitrogen base)의 존재하에서 수행되는 경우, 유기 용매는 할로겐화 용매 또는 아미드인 것이 가장 바람직하다.

[0155] 반응은 전형적으로 적합한 온도, 예를 들어 약 -5℃ 내지 약 40℃에서 수행된다. 바람직하게는, 반응 온도는 약 25℃ 내지 약 30℃이다. 반응은 약 15분 내지 약 16시간, 바람직하게는 약 30분 내지 약 60분의 시간 동안 교반되도록 허용될 수 있다.

[0156] 본 발명의 방법은 또한 히드록시 보호기 및 아미노 보호기의 탈보호를 포함 할 수 있다.

[0157] 탈보호 단계 (단계 b)는 단계 a)의 생성물을 정제하지 않고 수행될 수 있다.

[0158] 보호기가 산 민감성인 경우(예를 들어, 트리틸, C(O)OtBu, MOM, MEM, 2,4-디메톡시벤질, 2,3-디메톡시벤질, $-C(Me)_2-$), 탈보호 단계는 적합한 산을 사용하여 수행될 수 있다. 산은 브뢴스테드 산(예 : TFA, 인산, HCl 또는 포름산) 또는 루이스 산(예: $ZnBr_2$, $CeCl_3$) 일 수 있다. 루이스 산(예: $ZnBr_2$)은 덜 바람직하다. HCl도 마찬가지로 덜 바람직하다. 바람직하게는, 산은 TFA이다.

[0159] 보호기가 염기에 민감한 경우, 예를 들어. 아세틸, 벤조일인 경우, 탈보호 단계는 적합한 염기, 예를 들어 수성 NH_3 또는 수성 NaOH를 사용하여 수행될 수 있다. 염기에 민감한 기는 덜 바람직하다.

[0160] 보호기가 실일기(silyl group)(예: 트리에틸실일 또는 t-부틸디메틸실일) 인 경우, 탈보호 단계는 적절한 산(예를 들어, TFA)을 사용하거나 적절한 불소 소스(예를 들어, 테트라부틸 암모늄 플루오라이드, 플루오르화규소산(fluorosilicic acid), HF)를 사용하여 수행 할 수 있다.

[0161] 보호기가 벤질기 또는 C(O)O벤질기인 경우, 탈보호 단계는 H_2 및 적절한 촉매(예: Pd/C)를 사용하여 수행할 수 있다. 이러한 보호기는 덜 바람직 할 수 있다.

[0162] 보호기가 4-메톡시벤질, 2,3-디메톡시벤질, 2,4-디메톡시벤질 또는 C(O)O-(4-메톡시벤질) 인 경우, 탈보호 단계는 적합한 산화제(예: 메타-클로로 과벤조산(chloroperbenzoic acid))을 사용하여 수행될 수 있다.

[0163] 보호기가 -C(O)-O-알릴 인 경우, 탈보호 단계는 $(PPh_3)_4Pd$를 사용하여 수행할 수 있다.

[0164] 보호기가 $-C(O)-O-CH_2-$플루오렌일 인 경우, 피페리딘을 사용하여 탈보호 단계를 수행할 수 있다.

[0165] 탈보호 단계는 유기 용매 또는 유기 용매들의 혼합물 중에서 수행될 수 있다. 예시적인 유기 용매는, 여기에 한정되는 것은 아니며, 할로겐화 용매(예를 들어, 디클로로메탄, 클로로포름, 디클로로에탄); 알코올(예: 메탄올, 에탄올, 이소프로판올) 및 에테르(예: 테트라히드로푸란, 디에틸 에테르)를 포함한다.

[0166] 탈보호 단계가 산(예: TFA)의 존재하에 수행되는 경우, 유기 용매는 바람직하게는 할로겐화 용매, 예를 들어 디클로로메탄이다.

[0167] 탈보호 반응은 예를 들어 -10℃ 내지 30℃ 범위의 온도에서 -10℃ 내지 10℃에서 수행될 수 있다. 반응을 수행하기에 편리한 온도는 -5℃ 내지 5℃이다. 반응은 약 15분 내지 약 16시간, 바람직하게는 약 1시간 내지 약 4시간, 보다 바람직하게는 약 2시간 내지 약 3시간 동안 교반 되도록 허용될 수 있다.

[0168] 단계 b)가 C_1-C_4-알코올 그리고/또는 물 (예를 들어, 이소프로필 알코올(IPA) 및 물의 혼합물)을 사용하여 달성되는 경우, 반응 혼합물은 가열될 수 있다. 예를 들어 반응 혼합물은 30℃ 내지 90℃의 온도 또는 60℃ 내지 85℃의 온도로 가열될 수 있다.

[0169] 탈보호가 산(예, TFA)의 존재하에 수행되는 경우, 탈보호 후에 수득 된 생성물의 분리는 탈보호 단계에서 사용된 과량의 산을 급랭(quenching)시키고 생성물을 물에 혼합되지 않는(water immiscible) 유기 용매로 추출하고 유기 용매의 증발에 의해 생성물을 회수하는 것에 의해 이루어 진다.

[0170] 추출에 유용한 물에 혼합되지 않는 유기 용매의 예는, 에틸 아세테이트, 메틸 아세테이트, 이소프로필 아세테이트 등과 같은 에스테르; 디클로로메탄, 클로로포름 등과 같은 염소화 용매; 톨루엔, 크실렌 등과 같은 방향족 탄화수소 용매; 바람직하게는 에틸 아세테이트를 포함한다.

[0171] 어떤 구체 예들에서, 본 발명의 제 1 측면의 방법으로부터 수득한 프로타이드를 정제하는 것이 여전히 바람직할 수 있다. 마찬가지로, 본 발명의 제 4 측면의 방법으로부터 수득한 화학식 IIa의 화합물을 정제하는 것이 여전히 바람직할 수 있다. 정제 방법은 통상의 기술자에게 잘 알려져 있으며 크로마토그래피(예: 컬럼 크로마토그래피), 재결정 및 증류를 포함한다. 다른 구체 예들에서, 어떠한 정제도 필요하지 않다.

[0172] 본 명세서에 개시된 실시 예들에 대해 다양한 수정이 이루어질 수 있다는 것이 이해될 것이다. 따라서, 상기 설명은 제한적인 것으로 해석되어서는 안 되고, 단지 바람직한 구체 예들의 예시로서 해석되어야 한다. 예를 들어, 위에서 설명되고 본 발명을 동작시키기 위한 최상의 모드로서 구현된 기능들은 단지 설명을 위한 것이다. 다른 배열 및 방법은 본 발명의 범위 및 사상을 벗어나지 않고 통상의 기술자자에 의해 구현될 수 있다. 또한,

통상의 기술자는 여기에 첨부된 명세서의 범위 및 사상 내에서 다른 변형을 예상 할 것이다.

[0173] 다음 약어가 본 명세서 전체에서 사용된다.

[0174] ACN - 아세토니트릴(acetonitrile)

[0175] AIBBr - 아세톡시 이소부티릴 브로미드(acetoxy isobutyryl bromide)

[0176] BOC - t-부틸카보네이트(t-butylcarbonate)

[0177] DCM - 디클로로메탄(dichloromethane)

[0178] DMA - N,N-디메틸-4-아미노피리딘(N,N-dimethyl-4-aminopyridine)

[0179] DMF - N,N-디메틸포름아미드(N,N-dimethylformamide)

[0180] eq. - 몰당량(molar equivalent)

[0181] FUDR - 5-플로오-2'-데옥시우리딘(5-fluoro-2'-deoxyuridine)

[0182] IPA - 이소프로필 알코올(isopropyl alcohol)

[0183] MEM - 2-메톡시에톡시메틸(2-methoxyethoxymethyl)

[0184] MOM - 메톡시메틸(methoxymethyl)

[0185] MTBE - 메틸-t-부틸에테르(methyl-*t*-butylether)

[0186] NMP - N-메틸-2-피롤리돈(N-methyl-2-pyrrolidone)

[0187] Np - 1-나프틸(1-naphthyl)

[0188] PTSA - 파라-톨루엔 술폰산(토식산)(para-toluene sulfonic (tosic) acid)

[0189] RT - 상온(실온)

[0190] TBAF - 테트라부틸암모늄 플루오라이드(tetrabutylammonium fluoride)

[0191] TBDMS - tert-부틸디메틸실일(*tert*-butyldimethylsilyl)

[0192] TEA - 트리에틸아민(triethylamine)

[0193] Tf - 트리플루오로메틸술포네이트(트리플레이트)(trifluoromethylsulfonate (triflate))

[0194] TFA - 트리플루오로아세트산(trifluoroacetic acid)

[0195] THF - 테트라히드로푸란(tetrahydrofuran)

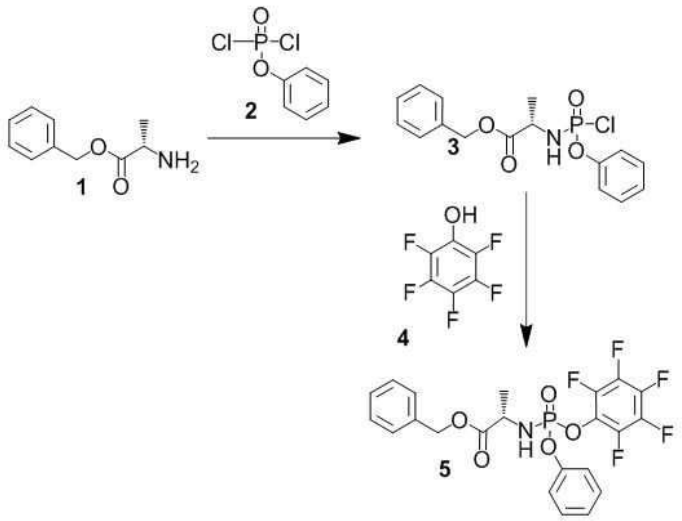
[0196] V는 출발 물질의 중량(g) 당 부피(mL)를 나타내는데 사용된다. 따라서 1g의 출발 물질이 있다면, 10V는 지시된 액체의 10 mL를 의미 할 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0197] 실시 예들

[0198] 본 발명은 하기의 실시 예들에 의해 더 설명되며, 이들 실시 예는 단지 설명을 위한 예로서 제공되며 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다.

[0199] **실시 예 1: 2-[(2,3,4,5,6- 펜타플루오로펜옥시)-펜옥시-포스포릴 아미노] 프로피온산 벤질 에스테르 5 (2-[(2,3,4,5,6-pentafluorophenoxy)-phenoxy-phosphoryl amino] propionic acid benzyl ester 5)**의 부분 입체이성질체 혼합물의 제조 (화학식 IIb의 화합물의 예시적인 예)



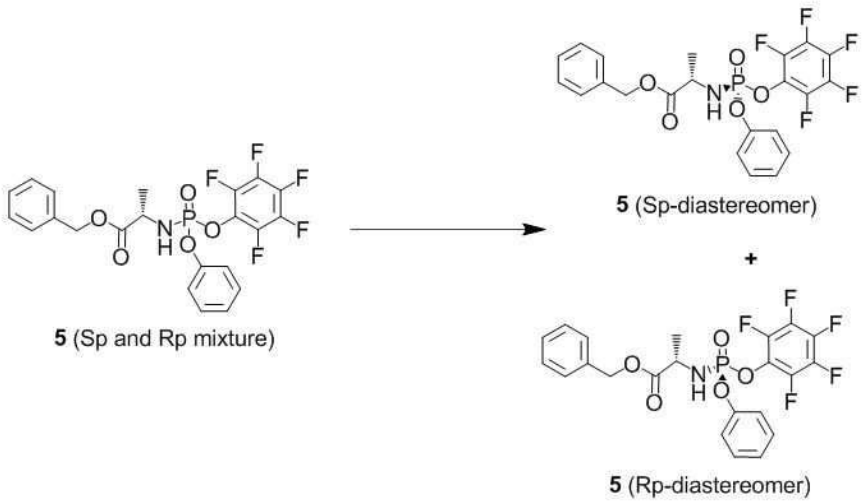
[0200]

[0201] 염화 메틸렌(methylene chloride) (1 L) 중의 L-알라닌 벤질 에스테르 히드로클로라이드 1 (L-alanine benzyl ester hydrochloride)(100 g)의 교반된 혼합물에 25-35℃에서 페닐 디클로로포스페이트 2(phenyl dichlorophosphate)(77 mL)를 첨가하고, 그 결과 생성된 혼합물을 -70℃ 내지 -78℃로 냉각시키고, 트리에틸 아민(triethyl amine)(130.5 mL)을 첨가하고 동일한 온도에서 1시간 동안 교반 하였다. 반응물(reaction mass) 온도를 25 내지 35℃로 상승시키고 2시간 동안 교반 하였다. 반응 완료 후, 반응물을 진공하에 35℃ 이하에서 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 수득 된 잔류물에 디이소프로필 에테르(diisopropyl ether) (2 L)를 25-35℃에서 첨가하고, 동일한 온도에서 30분 동안 교반 하였다. 반응물을 여과하고 디이소프로필 에테르 (500 mL)로 세척한 후 여과액을 35℃ 이하에서 진공하에 농축시켜 페닐-(벤즈옥시-L-알라닌일)-포스포로클로리데이트 3 (phenyl-(benzoxy-L-alaninyl)-phosphorochloridate 3)를 수득하였다. 수득 된 화합물을 염화 메틸렌 (1 L)에 25-35℃에서 용해시키고 -5℃ 내지 -10℃로 냉각시켰다. 반응물에 펜타플루오로페놀(pentafluorophenol) 4 (85.5 g), 트리에틸 아민(65.2 mL)을 동일 온도에서 첨가하고 2시간 동안 교반 하였다. 반응 완결 후, 반응물을 진공하에 35℃ 이하에서 농축시키고, 25-35℃에서 에틸 아세테이트(ethyl acetate)(1 L)를 장입(charge)하고, 동일한 온도에서 30분 동안 교반 하였다. 고형물을 여과하고 에틸 아세테이트(1 L)로 세척하였다. 여과물에 물 (1 L), 10% 탄산나트륨(sodium carbonate)(2 x 1 L), 브라인(brine)(1 L) 세척액들을 투입하고 유기층을 무수 황산나트륨(anhydrous sodium sulphate)으로 건조 시키고 진공하에 35-45℃에서 농축하여 백색인 반고형의 표제 화합물 5의 부분입체 이성질체 혼합물을 수득하였다.

[0202] 수율 : 210 g

[0203] HPLC에 의한 키랄 순도 (% 면적): 33.74:66.26% (R_P:S_P)

[0204] **실시 예 2 : 2-[(2,3,4,5,6- 펜타플루오로 펜옥시)-펜옥시-포스포릴 아미노] 프로피온산 벤질 에스테르 5 (2-[(2,3,4,5,6-pentafluorophenoxy)-phenoxy-phosphoryl amino] propionic acid benzyl ester 5)**의 Sp- 부분 입체 이성질체의 분리 (화학식 IIb의 화합물의 예시적인 예)



[0205]

[0206] 화합물 5의 부분 입체 이성질체 혼합물 (210 g; R_P:S_P - 33.74:66.26%)에 25-35℃에서 헥산 중 20% 에틸 아세테이트(1.2 L)를 채우고 1시간 동안 교반 하였다. 고형물을 여과하고, 헥산 중 20% 에틸 아세테이트(300 mL)로 세척하여 화합물 5의 부분 입체 이성질체 혼합물을 수득하였다.

[0207] 수율: 112 g

[0208] HPLC에 의한 키랄 순도 (% 면적): 22.13:77.87% (R_P:S_P)

[0209] 여과물을 진공하에 농축시켜 화합물 5의 부분입체 이성질체 혼합물(75g; R_P:S_P - 65.43:34.57%)을 수득 하였다.

[0210] 상기 수득 된 화학식 IIb의 화합물의 부분입체 이성질체 혼합물 (112g; R_P:S_P- 22.13:77.87%)에 25-35℃에서 헥산 중 20% 에틸 아세테이트 (1.2L)를 채우고 1시간 동안 교반 하였다. 고형물 여과하고 헥산 중 20% 에틸 아세테이트(300 ml)로 세척하여 화합물 5의 실질적으로 순수한 Sp-부분 입체 이성질체를 수득하였다.

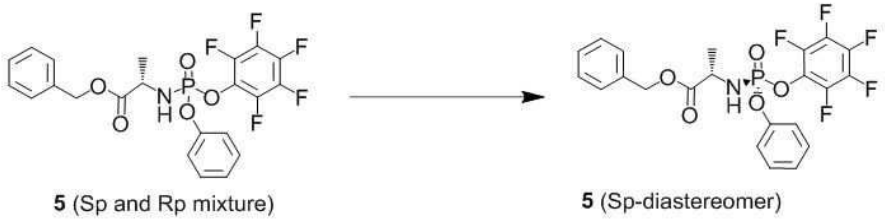
[0211] 수율: 80 g

[0212] HPLC에 의한 키랄 순도 (% 면적): 0.20:99.80% (R_P:S_P)

[0213] ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): 7.18-7.41(m, 10H), 6.91-6.99(d, 1H), 5.10(s, 2H), 4.01-4.11(m, 1H), 1.30-1.32(d, 3H)
ESI-MS (m/z): 524 (M+1)

[0214] 여과물을 진공하에 농축시켜 화합물 5의 부분 입체 이성질체 혼합물(28g; R_P:S_P - 80.77:19.23%)을 수득하였다.

[0215] **실시 예 3 : 2-[(2,3,4,5,6- 펜타 플루오로 펜옥시)-펜옥시-포스포릴 아미노] 프로피온산 벤질 에스테르 5 (2-[(2,3,4,5,6-pentafluorophenoxy)-phenoxy-phosphoryl amino] propionic acid benzyl ester 5) S-이성질체**의 풍부화 (화학식 IIb의 화합물의 예시적인 예)



[0216]

[0217] 헥산 중 20% 에틸 아세테이트(1.1L)와 2-[(2,3,4,5,6- 펜타플루오로 펜옥시)-펜옥시-포스포릴 아미노] 프로피온산 벤질 에스테르 5 (75 g; Rp : Sp - 65.43:34.57%)의 교반된 용액에 트리에틸 아민 (7.5mL)을 25-35℃에서 첨가하고 동일한 온도에서 6시간 동안 교반 하였다. 반응 완료 후, 반응물을 물(750 mL)에 넣어 급랭하고 에틸 아세테이트 (750 mL)로 추출하였다. 유기 층을 무수 황산나트륨으로 건조시키고 진공하에 농축시켜 표제 화합물

을 고체로서 수득 하였다.

[0218] 수율: 45g

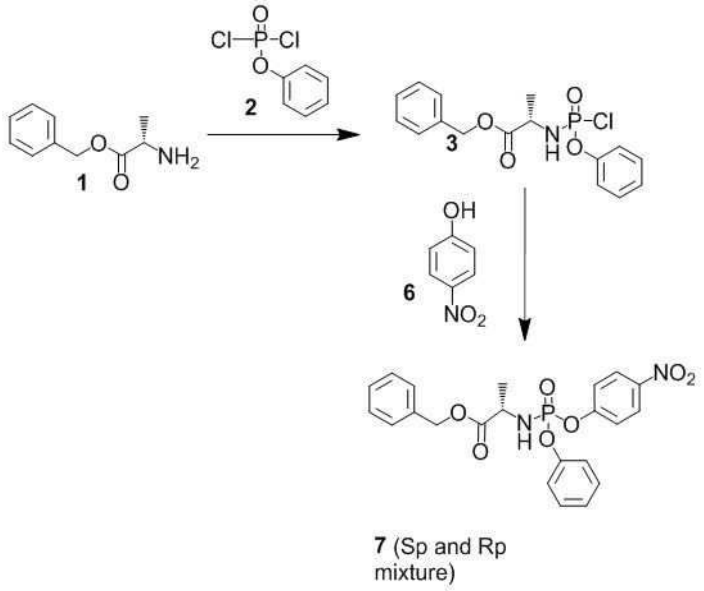
[0219] HPLC에 의한 키랄 순도 (% 면적) : 91.29:8.71% (Sp : Rp)

[0220] 상기 수득 된 2-[(2,3,4,5,6- 펜타 플루오로 펜옥시)-펜옥시-포스포릴 아미노] 프로피온산 벤질 에스테르 5의 Rp 및 Sp- 부분 입체 이성질체 혼합물 (45 g; Rp : Sp - 8.71 : 91.29%)를 25-30℃에서 헥산 (1.1 L) 중 20% 에틸 아세테이트에서 슬러리화하고(slury) 동일한 온도에서 1 시간 동안 교반 하였다. 고체를 여과하고 헥산 (225 ml) 중 20 % 에틸 아세테이트로 세척하여 표제 화합물의 Sp- 부분 입체 이성질체를 고체로서 수득 하였다.

[0221] 수율 : 19g

[0222] HPLC에 의한 키랄 순도 (% 면적) : 99.92 : 0.08% (Sp : Rp)

[0223] **실시 예 4 : 2-[(4- 니트로 펜옥시)-펜옥시-포스포릴 아미노] 프로피온산 벤질 에스테르 7 (2-[(4-nitrophenoxy)-phenoxy-phosphorylamino] propionic acid benzyl ester 7)**의 부분 입체 이성질체 혼합물의 제조 (화학식 IIb의 화합물의 예시적인 예)



[0224]

[0225] 염화 메틸렌 (500 mL) 중 L-알라닌 벤질 에스테르 히드로클로라이드 1 (50g)의 교반 된 혼합물에 25-35℃에서 페닐 디클로로포스페이트 2(54g)를 첨가하고 그 결과 생성된 혼합물을 -70℃ 내지 -78℃로 냉각시켰고, 트리에틸 아민 (65.2 mL)을 가하고 같은 온도에서 1시간 교반 하였다. 반응물 온도를 25-35℃로 상승시키고 2시간 동안 교반하였다. 반응 완료 후, 반응물을 진공하에 35℃ 이하에서 농축시켜 잔류물을 수득하였다. 수득 된 잔류물에 디이소프로필 에테르 (1 L)를 25-35℃에서 첨가하고, 동일한 온도에서 30분 동안 교반하였다. 반응물을 여과하고 디이소프로필 에테르(250 mL)로 세척한 후 여과물을 35℃ 이하에서 진공 농축시켜 페닐-(벤즈옥시-L-알라닌일)-포스포로클로리데이트 3을 수득하였다. 수득 된 화합물을 25-35℃에서 염화 메틸렌(500 mL)에 용해시키고 -5℃ 내지 -10℃로 냉각시켰다. 반응물에 동일한 온도에서 4-니트로페놀 6 (27.5 g), 트리에틸아민 (65.2 mL)을 가하고 2시간 동안 교반 하였다. 반응 완결 후, 반응물을 진공하에 35℃ 이하에서 농축시키고, 25-35℃에서 에틸 아세테이트 (500mL)를 충전시키고, 동일한 온도에서 30분 동안 교반하였다. 고형물을 여과하고 에틸 아세테이트(500mL)로 세척하였다. 여과물을 물(500 mL), 10% 탄산나트륨 (2 x 500 mL), 브라인(500 mL)로 세척을 하고 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 35-40℃에서 진공하에 농축시켜 표제 화합물 7의 부분 입체 이성질체 혼합물을 두꺼운 오일성 액체(thick oily liquid)로서 수득하였다.

[0226] 수율: 90g

[0227] HPLC에 의한 키랄 순도 (% 면적) : 45.6:54.94% (R_P:S_P)

[0228] 상기에서 얻은 2-[(4-니트로펜옥시)-펜옥시-포스포릴 아미노] 프로피온산 벤질 에스테르 7의 부분입체 이성질체

혼합물(40g, Rp:Sp- 45.6: 54.94%)이 분취용(preparative) HPLC에 의해 순수한 Sp 부분 입체 이성질체 및 순수한 Rp 부분 입체 이성질체로 분리되었고 분리된 순수한 분획들을 진공하에 농축시켜 Sp 부분 입체 이성질체 및 Rp 부분 입체 이성질체를 개별적으로 수득하였다.

[0229] 수율: Sp- 부분입체 이성질체: 8g,

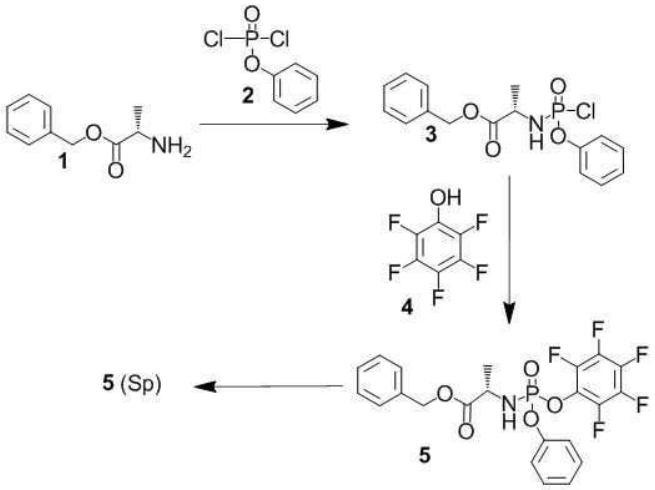
[0230] ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): 8.15-8.19 (d, 2H), 7.15-7.37 (m, 12H), 5.12 (s, 2H), 4.02-4.24 (m, 2H), 1.39-1.42 (d, 3H)
ESI-MS (m/z): 479 (M+Na)

[0231] Rp 부분 입체 이성질체 : 6g,

[0232] ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): 8.08-8.13 (d, 2H), 7.15-7.34 (m, 12H), 5.10 (s, 2H), 4.48-4.56 (m, 1H), 4.11-4.20 (m, 1H), 1.39-1.41 (d, 3H)
ESI-MS (m/z): 457 $(M+1)^+$

[0233] Sp 및 Rp 부분 입체 이성질체 혼합물 : 20g

[0234] **실시 예 5-(Sp) -2-[(2,3,4,5,6- 펜타 플루오로 펜옥시)-펜옥시-포스포릴 아미노] 프로피온산 벤질 에스테르 5 ((Sp)-2-[(2,3,4,5,6-pentafluorophenoxy)-phenoxy-phosphoryl amino] propionic acid benzyl ester 5)**의 제조 (화학식 IIb의 화합물의 예시적인 예)



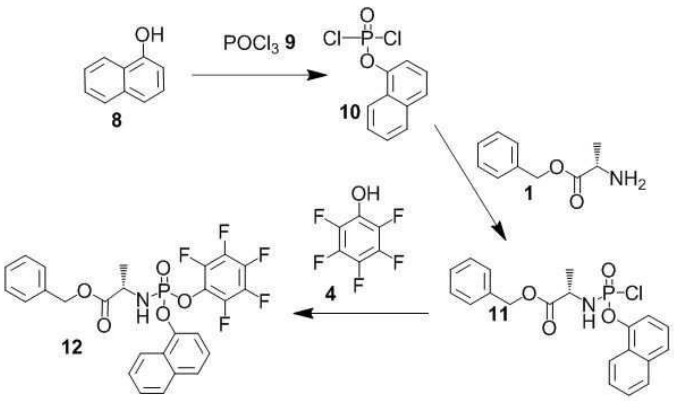
[0235]

[0236] 이염화 메틸렌 1000 mL 중의 L- 알라닌 벤질 에스테르 HCl 1(100g)의 교반 된 혼합물에 페닐디클로로 포스페이트 2(97.8 g)를 30℃에서 반응물에 첨가하였다. 반응 혼합물을 -20℃로 냉각시키고, 트리에틸 아민 (93.8g)을 온도를 -20℃로 유지하면서 천천히 첨가하였다. 반응물을 -20℃에서 1시간 동안 교반한 다음 10℃ (10±5)로 가온하고 추가로 1.5 시간 동안 교반하였다.

[0237] 100 mL 이염화 메틸렌 중의 펜타플루오로페놀 4 (85.3 g) 용액을 10℃에서 서서히 첨가 한 다음 온도를 10℃로 유지하면서 트리메틸 아민 (46.8 g)을 서서히 첨가하였다. 질소 분위기 하에서 10C℃(10±5)에서 반응물에 트리에틸 아민 46.9g을 서서히 첨가하였다. 혼합물을 10℃에서 2시간 동안 교반 한 후 온도를 10℃로 유지하면서 0.5N HCl 용액을 서서히 첨가하여 급랭시켰다. 실온으로 가온한 후, 혼합물을 분리하고, 유기물을 포화 중탄산염(saturated bicarbonate) 용액, 증류수 및 브라인으로 세척한 후, 진공하에 농축시켰다.

[0238] 조 혼합물(crude mixture)이 25℃에서 1500mL의 n-헵탄 중 20% 에틸 아세테이트에 현탁되었다. 트리에틸 아민 (12.2g)을 첨가하고 혼합물을 25℃에서 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 고형물을 2500 mL의 에틸 아세테이트에 용해시키고, 물 및 브라인으로 세척하고 진공 농축시켰다. 고형물을 n-헵탄 중 20% 에틸 아세테이트 1200 mL에 현탁시키고, 45-60분 동안 교반하고 여과하였다. 결과물을 진공하에 건조시켜 목적하는 생성물 5-(Sp)을 수득하였다. 수율은 40 내지 80%이고 부분입체 이성질체 순도는 99% 이상이다.

[0239] **실시 예 6 : 2-[(2,3,4,5,6- 펜타 플루오로 펜옥시)-나프트-1-옥시-포스포릴 아미노] 프로피온산 벤질 에스테르 12 (2-[(2,3,4,5,6-pentafluorophenoxy)-naphth-1-oxy-phosphoryl amino] propionic acid benzyl ester 12)**의 부분 입체 이성질체 혼합물의 제조 (화학식 IIa의 화합물의 예시적인 예)



[0240]

[0241] 알파-나프톨 8 (100 g)을 25℃에서 DCM (1 L)에 용해시키고 $POCl_3$ 9 (1.1 eq.)를 25℃에서 첨가하고 10 분 동안 교반 한 후 혼합물을 -70℃로 냉각시키고 10분 동안 교반 하였다. 온도를 -70℃ 아래로 유지하면서 트리에틸아민 (1.1 eq.)을 서서히 첨가하고, 혼합물을 -70℃에서 1 시간 동안 교반 하였다. 혼합물을 25℃로 가온하고 1 시간 동안 교반 한 후 -50℃로 냉각시켰다. L- 알라닌 벤질 에스테르 1 (HCl 염; 1 eq.)을 혼합물에 첨가한 후 10분 동안 교반 하고 그 후 DCM (200 mL) 중 트리에틸아민 (2.2 eq.)을 -50℃에서 30분에 걸쳐 첨가하였다. 혼합물을 -50℃에서 1 시간 동안 교반 한 후 25℃로 가온하고 추가로 1 시간 동안 교반 하였다. 혼합물을 -10℃로 냉각하고 10분 동안 교반 한 후 DCM (200 mL) 중 펜타플루오로페놀 4를 -10℃ 미만에서 천천히 반응물에 첨가하였다. 혼합물을 -10℃에서 10분 동안 교반 한 후, 트리에틸아민 (1.1 eq.)을 -10℃에서 30 분에 걸쳐 첨가하였다. 혼합물을 -10℃에서 1시간 동안 교반 한 후에 혼합물을 0℃로 가온하였다. 물 (1 L)을 첨가하고 혼합물을 30분 동안 0℃에서 교반 하였다. 혼합물을 25℃로 가온하고 5-10분 동안 교반한 후 유기층을 분리하였다. 수성층(aqueous layer)을 DCM (500 mL)으로 추출 하였다. 합한 유기 층(combined organic layer)을 7% 중탄산 나트륨 용액 (2X1 L)으로 세척하고 유기 층을 무수 황산나트륨 상에서 건조시킨 후 진공에서 농축시켰다.

[0242] 5 % IPA/물 (2.4 L)을 조 화합물(crude compound)에 첨가하고 25℃에서 1 시간 동안 교반 하였다. 고형 화합물(solid compound)을 여과하고 습윤 케이크(wet cake)를 50% IPA/물 (500 mL)로 세척한 후 진공에서 건조시켰다. 다시 50% IPA/물 (2.4L)을 조 화합물에 첨가하고 25℃에서 1 시간 동안 교반 한 후 여과하고 습윤 케이크를 다시 50% IPA/물 (500mL)로 세척한 후 진공에서 건조하였다. 반 건조된 화합물을 25-30℃에서 1시간 동안 시클로헥산 (10v/w)으로 세척한 후, 고형 화합물을 시클로헥산 (2L)으로 세척하고 습윤 화합물 12를 55-60℃에서 12시간 동안 진공 건조시켰다.

[0243] 결과:

[0244] 화합물의 무게 : 252g

[0245] 전체 수율 : 66%

[0246] HPLC 순도 : 98.31% (부분 입체 이성질체 비율은 1 : 1)

[0247] ^{31}P NMR (202 MHz, $CDCl_3$): δ_P -1.35, -1.41; ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ_H 8.13 – 8.10 (1H, m, *H*-Ar), 7.90 – 7.88 (1H, m, *H*-Ar), 7.73 (1H, apparent d, *J* = 8.5 Hz, *H*-Ar), 7.62 – 7.55 (3H, m, *H*-Ar), 7.45 – 7.41 (1H, m, *H*-Ar), 7.36 – 7.28 (5H, m, *H*-Ar), 5.01 (1H, apparent s, CH_2Ph), 5.12 (1H, q, *J* = 12.5 Hz, CH_2Ph), 4.38 – 4.31 (1H, m, NHC*H*CH_3), 4.17 – 4.08 (1H, m, N*H*$CHCH_3$), 1.49, 1.47 (3H, 2 x d, *J* = 3.5 Hz, $NHCHCH_3$); MS (ES+) *m/z*: 574 ($M + Na^+$, 100%), Accurate mass: $C_{26}H_{19}F_5NO_5P$ required 551.40 found 574.05 ($M + Na^+$); Reverse-phase HPLC, eluting with H_2O/MeOH in 20/80 in 35 min, F = 1 mL/min, λ = 254, two peaks for two diastereoisomers with t_R = 12.96, 14.48 min.

[0248] 화합물 12의 부분 입체 이성질체를 용리액으로서 MeOH/H_2O (70%/30%)의 혼합물, C18 SNAP Ultra (30g) 카트리지를 사용하여 Biotage Isolera를 갖는 HPLC로 분리하여 다음과 같은 결과를 얻었다: 빠른 용리 이성질체(fast eluting isomer) (Rp 부분 입체 이성질체인 것으로 판단됨) 및 느린 용리 이성질체(slow eluting isomer) (Sp

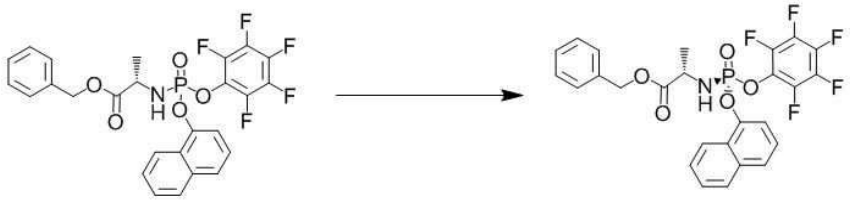
부분 입체 이성질체인 것으로 판단됨).

[0249] 노트: 이성질체는 C18 (역상) 카트리지 및 HPLC 분석 컬럼의 체류 시간을 기준으로 빠른 용리 (FE) 및 느린 용리 (SE)로 명명된다.

[0250] Fast eluting isomer (believed to be the Rp diastereoisomer)(빠른 용리 이성질체 (Rp 부분 입체 이성질체로 여겨짐): ^{31}P NMR (202 MHz, $CDCl_3$): δ_P – 1.41; ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ_H 8.02 (1H, dd, *J* = 7.0, 2.0 Hz, *H*-Ar), 7.79 (1H, dd, *J* = 6.5, 3.0 Hz, *H*-Ar), 7.64 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, *H*-Ar), 7.53 – 7.45 (3H, m, *H*-Ar), 7.33 (1H, t, *J* = 8.0 Hz, *H*-Ar), 7.28 – 7.23 (5H, m, *H*-Ar), 5.09 (s, 2H, CH_2Ph), 4.29 – 4.21 (1H, m, NHC*H*CH_3), 4.02 – 3.97 (1H, m, N*H*CHCH$_3$), 1.38 (3H, d, *J* = 7.0 Hz, NHCHC*H*$_3$); MS (ES+) *m/z*: MS (ES+) *m/z*: 574 (M + Na^+, 100%), Accurate mass: $C_{26}H_{19}F_5NO_5P$ required 551.40 found 574.05 (M + Na^+); Reverse-phase HPLC, eluting with H_2O/MeOH in 20/80 in 35 min, F = 1 mL/min, λ = 254, t_R = 12.96.

[0251] Slow eluting isomer (believed to be the Sp diastereoisomer)(느린 용리 이성질체(Sp 부분 입체 이성질체로 여겨짐)): ^{31}P NMR (202 MHz, $CDCl_3$): δ_P – 1.36; ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ_H 8.14 – 8.11 (1H, m, *H*-Ar), 7.90 – 7.87 (1H, m, *H*-Ar), 7.74 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, *H*-Ar), 7.60 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, *H*-Ar), 7.58 – 7.55 (2H, m, *H*-Ar), 7.44 (1H, t, *J* = 8.0 Hz, *H*-Ar), 7.34 – 7.30 (5H, m, *H*-Ar), 5.12 (2H, q, *J* = 12.5 Hz, CH_2Ph), 4.35 – 4.29 (1H, m, NHC*H*CH_3), 4.04 – 4.00 (1H, m, N*H*CHCH$_3$), 1.48 (3H, d, *J* = 7.0 Hz, NHCHC*H*$_3$); MS (ES+) *m/z*: MS (ES+) *m/z*: 574 (M + Na^+, 100%), Accurate mass: $C_{26}H_{19}F_5NO_5P$ required 551.40 found 574.05 (M + Na^+); Reverse-phase HPLC, eluting with H_2O/MeOH in 20/80 in 35 min, F = 1 mL/min, λ = 254, t_R = 14.48.

[0252] **실시 예 7 : 2-[(2,3,4,5,6- 펜타 플루오로 펜옥시)-나프트-1-옥시-포스포릴 아미노] 프로피온산 벤질 에스테르 12 (2-[(2,3,4,5,6-pentafluorophenoxy)- naphth-1-oxy-phosphoryl amino] propionic acid benzyl ester 12)** Sp 이성질체의 Sp-부분 입체 이성질체의 풍부화(화학식 IIb의 화합물의 예시식인 예)



12 (Sp and Rp mixture) **12** (Sp-diastereomer)

[0253]

[0254] 화합물 12 (25 g)의 1 : 1 부분 입체 이성질체 혼합물을 10% MTBE/n- 헥산 (500 mL)에 용해시키고 트리에틸아민 (2.5 mL)을 25℃에서 반응물에 첨가 하였다. 혼합물을 30℃에서 80 시간 동안 교반 하였다. 혼합물을 여과하고 습윤 케이크를 10% MTBE/n-헥산 (75 mL)으로 세척한 후 진공에서 30분 동안 건조시켰다. 50% IPA/물 (200 mL)을 상기 조 화합물에 첨가하고 25-35℃에서 1 시간 동안 교반 한 후 여과 하였다. 습윤 케이크를 50% IPA/물 (100 mL)로 세척한 후 진공에서 55-60℃에서 12시간 동안 건조시켰다.

[0255] 결과:

[0256] Wt. 화합물의 : 17g

[0257] 수율 : 68%

[0258] HPLC 순도 : 97.66 %

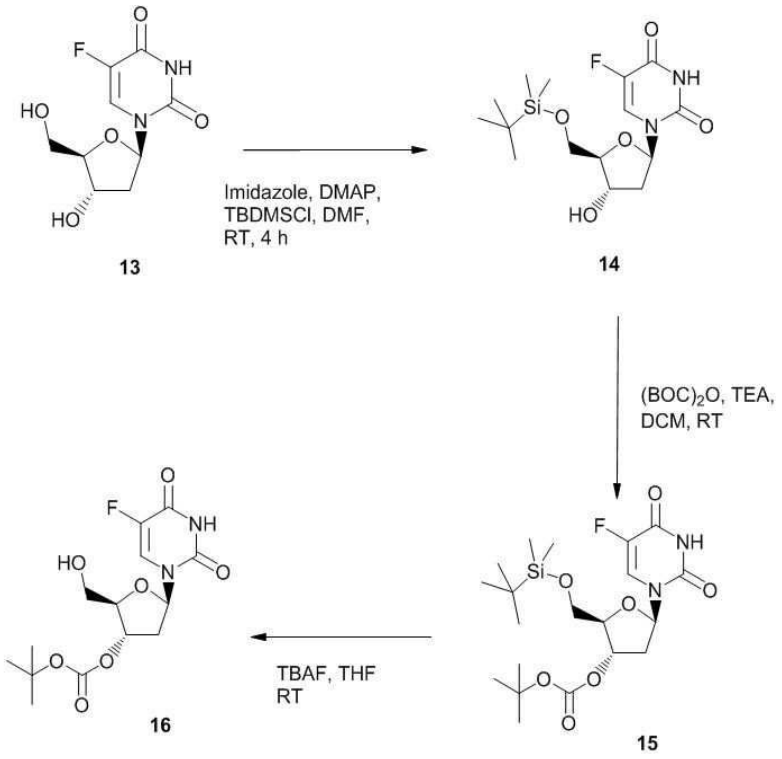
Slow eluting isomer (believed to be Sp-diastereoisomer): ^{31}P NMR (202 MHz, $CDCl_3$): δ_P – 1.36; ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ_H 8.14 – 8.11 (1H, m, *H*-Ar), 7.90 – 7.87 (1H, m, *H*-Ar), 7.74 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, *H*-Ar), 7.60 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, *H*-Ar), 7.58 – 7.55 (2H, m, *H*-Ar), 7.44 (1H, t, *J* = 8.0 Hz, *H*-Ar), 7.34 – 7.30 (5H, m, *H*-Ar), 5.12 (2H, q, *J* = 12.5 Hz, CH_2Ph), 4.35 – 4.29 (1H, m, NHC*H*CH_3), 4.04 – 4.00 (1H, m, N*H*CHCH$_3$), 1.48 (3H, d, *J* = 7.0 Hz, NHCHC*H*$_3$); MS (ES+) *m/z*: MS (ES+) *m/z*: 574 (M + Na^+, 100%), Accurate mass: $C_{26}H_{19}F_5NO_5P$ required 551.40 found 574.05 (M + Na^+); Reverse-phase HPLC, eluting with H_2O/MeOH in 20/80 in 35 min, F = 1 mL/min, λ = 254, t_R = 14.48.

[0259]

[0260] 상기 기술된 2개의 화합물 12 이성질체들의 입체 화학 (Rp vs Sp)은, 화합물 12 이성질체들을 사용하여 만들어진 NUC-3373의 HPLC 유지 시간, ^{31}P 화학적 이동(chemical shift), ^{1}H NMR 스펙트럼을 문헌에서 알려진 다른 프로타이드들의 그것들과 비교한 것에 근거하여 시험적으로(tentatively) 부여되었다. 상기 언급한 바와 같이, 인산염 입체 중심(phosphate stereocentre)의 입체 화학은 본 발명의 방법 동안 반전되어 화학식 12의 화합물의 (Sp)-부분 입체 이성질체는 NUC-3373의 (Sp)-부분 입체 이성질체를 형성할 것이고 마찬가지로 화학식 12의 화합물의 (R)-부분 입체 이성질체는 NUC-3373의 (R)-부분 입체 이성질체를 형성할 것이다. 입체 화학적 할당(stereochemical assignment)은 2개의 화합물 12 이성질체들에서 수행 된 분말 X-선 회절 및 시차주사 열량 측정법에 의해 지지되지만, 그 자체가 결정적인 것은 아니다.

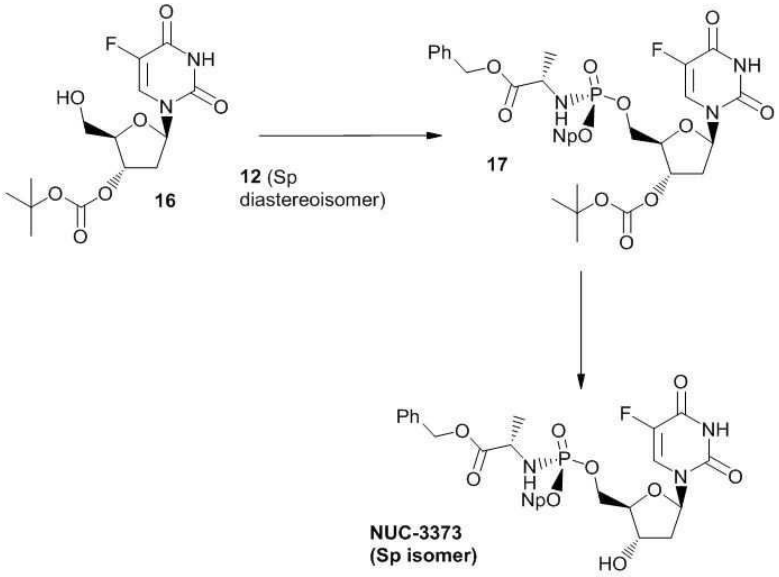
[0261] **실시 예 8 - NUC-3373의 Sp 이성질체 및 Rp 이성질체의 형성**

[0262] 3'-BOC 보호 FUDR 16은 다음 공정에 따라 제조될 수 있다.



[0263]

[0264] 화합물 16은 이어서 화학식 IIa의 화합물과 결합(couple)될 수 있다.



[0265]

[0266] 화합물 16 (1g) 및 화합물 12의 Sp 이성질체 (1.2 eq.)를 THF (10 mL)에 용해시키고 혼합물을 0℃로 냉각시켰다. t-부틸 염화 마그네슘 (2.5 eq., THF 중 2.0M)을 15분에 걸쳐 혼합물에 첨가 하였다. 혼합물을 가온하고 25℃에서 4 시간 동안 교반 하였다. 혼합물을 10℃로 냉각시키고 포화 염화 암모늄 용액 (10 mL)을 첨가하였다. 에틸 아세테이트 (10 mL)를 혼합물에 첨가하고 유기 층을 분리 하였다. 수성 층을 에틸 아세테이트 (5 mL)로 추출 하였다. 합한 유기 층들을 탈이온수 (5 mL)에 이어서 20% 염화나트륨 용액 (5 mL)으로 세척 하였다. 유기 층들을 무수 황산나트륨상에서 건조시킨 후 진공에서 농축시켜 2.16 g의 화합물 17 (100% 조 수율(crude yield))을 수득하였다.

[0267] 조 화합물 17 (1g)을 DCM (5 mL)에 용해시키고 10℃로 냉각시켰다. 온도를 20℃ 미만으로 유지하면서 TFA (2 mL)를 혼합물에 천천히 첨가 하였다. 혼합물을 30℃로 가온하고 6시간 동안 교반 하였다. 혼합물을 10℃로 냉각시키고 온도를 20℃ 미만으로 유지시키면서 탈이온수 (5mL)를 천천히 첨가하였다. 10분 동안 교반 한 후, 유기 층을 분리하고 수성 층을 DCM (5 mL)으로 추출 하였다. 합한 유기 층들을 탈이온수 (2 x 5 mL), 7% 중탄산 나트륨 용액 (2 x 5 mL) 및 20% 염화나트륨 용액 (5 mL)으로 세척 한 후 무수 황산나트륨 (1w/w)으로 건조하고 진공 농축하였다. 조 화합물을 실리카 겔 (100-200메시)을 사용하여 에틸 아세테이트/DCM에서 컬럼 크로마토 그래피로 정제 하였다. 순수한 화합물을 50% 에틸 아세테이트/DCM에서 100% 에틸 아세테이트에서 용리시켰다. 합한 순수한 분획들을 진공에서 농축 한 후에 화합물 슬러리를 시클로헥산 (5 mL)으로 세척 하였다.

[0268] 결과:

[0269] NUC-3373 (Sp 이성질체)의 무게 : 9.3g

[0270] 전체 수율 : 70%

[0271] HPLC 순도 : 96.86%

^{1}H-NMR (500 MHz, MeOD): δ_H 8.16 – 8.14 (m, 1H, *H*-Ar), 7.90 – 7.80 (m, 1H, *H*-Ar), 7.72 – 7.70 (m, 2H, *H*-Ar), 7.54 – 7.49 (m, 3H, *H*-Ar, *H*-6), 7.43 (apparent t, 1H, *J* = 8.0 Hz, *H*-Ar), 7.35 – 7.27 (m, 5H, *H*-Ar), 6.16 – 6.13 (m, 1H, *H*-1'), 5.11 (AB system, *J* = 12.0 Hz, 2H, OC*H*$_2$Ph), 4.35 – 4.33 (m, 2H, 2 x *H*-5'), 4.30 – 4.28 (m, 1H, *H*-3'), 4.14 – 4.08 (m, H, C*H*CH$_3$), 4.07 – 4.04 (m, 1H, *H*-4'), 2.14 – 2.09 (m, 1H, *H*-2'), 1.74 – 1.68 (m, 1H, *H*-2'), 1.35 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, CHC*H*$_3$);

^{13}C-NMR (125 MHz, MeOD): δ_C 174.92 (d, $^3J_{C\text{-}P}$ = 3.75 Hz, *C*=O, ester), 159.37 (d, $^2J_{C\text{-}F}$ = 25.9 Hz, *C*=O, base), 150.54 (d, $^4J_{C\text{-}F}$ = 4.0 Hz, *C*=O, base), 147.99 (d, $^2J_{C\text{-}P}$ = 7.1 Hz, *C*-Ar, Naph), 141.75 (d, $^1J_{C\text{-}F}$ = 232.1 Hz, *C*F-base), 137.18, 136.29 (*C*-Ar), 129.59, 129.36, 128.90, 127.91 (*C*H-Ar), 127.83 (d, $^3J_{C\text{-}P}$ = 5.4 Hz, *C*-Ar, Naph), 127.59, 126.52, 126.50, 126.18 (*C*H-Ar), 125.54 (d, $^2J_{C\text{-}F}$ = 34.1 Hz, *C*H-base), 122.64 (CH-Ar), 116.29 (d, $^3J_{C\text{-}P}$ = 2.75 Hz, *C*H-Ar, Naph), 86.95 (*C*-1'), 86.67 (d, $^3J_{C\text{-}P}$ = 8.1 Hz, *C*-4'), 72.12 (*C*-3'), 68.05 (OCH$_2$Ph), 67.85 (d, $^2J_{C\text{-}P}$ = 5.3 Hz, *C*-5'), 51.96 (*C*HCH$_3$), 40.84 (*C*-2'), 20.52 (d, $^3J_{C\text{-}P}$ = 7.5 Hz, CH*C*H$_3$).

^{31}P-NMR (202 MHz, MeOD): δ_P 4.62;

^{19}F NMR (470 MHz, MeOD): δ_F -167.19;

(ES+) m/z: Found: (M + Na$^+$) 636.1520. $C_{29}H_{29}N_3O_9FNaP$ required: (M$^+$), 613.15.
Reverse HPLC (Varian Pursuit XRs 5 C18, 150 x 4.6 mm) eluting with (H_2O/AcCN from 90/10 to 0/100) in 35 min., t_R 16.61 min.

[0272]

[0273] NUC-3373의 Rp 이성질체는 상기 공정에 의해 그렇지만 화합물 12의 Rp 부분 입체 이성질체를 출발 물질로하여 제조할 수 있다:

^{1}H-NMR (500 MHz, MeOD): δ_H 8.17 – 8.15 (m, 1H, *H*-Ar), 7.91 – 7.88 (m, 1H, *H*-Ar), 7.72 – 7.69 (m, 2H, *H*-Ar), 7.56 – 7.52 (m, 2H, *H*-Ar, *H*-6), 7.50 – 7.48 (m, 1H, *H*-Ar), 7.39 (apparent t, *J* = 8.0 Hz, 1H, *H*-Ar), 7.35 – 7.28 (m, 5H, *H*-Ar), 6.16 – 6.09 (m, 1H, *H*-1'), 5.13 (s, 2H, OC*H*$_2$Ph), 4.35 – 4.25 (m, 3H, 2 x *H*-5', *H*-3'), 4.14 – 4.08 (m, 1H, C*H*CH$_3$), 4.05 – 4.03 (m, 1H, *H*-4'), 2.15 – 2.10 (m, 1H, *H*-2'), 1.74 – 1.68 (m, 1H, *H*-2'), 1.36 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, CHC*H*$_3$);

^{13}C-NMR (125 MHz, MeOD): δ_C 174.58 (d, $^3J_{C\text{-}P}$ = 5.0 Hz, *C*=O, ester), 159.38 (d, $^2J_{C\text{-}F}$ = 26.3 Hz, *C*=O), 150.48 (*C*=O base), 147.80 (d, $^2J_{C\text{-}P}$ = 6.5 Hz, *C*-Ar, Naph), 141.67 (d, $^1J_{C\text{-}F}$ = 232.5 Hz, *C*F-base), 137.15, 136.26 (*C*-Ar), 129.62, 129.40, 129.36, 128.96, 127.89 (*C*H-Ar), 127.84 (d, $^3J_{C\text{-}P}$ = 5.5 Hz, *C*-Ar, Naph), 127.59, 126.57, 126.55, 126.21 (*C*H-Ar), 125.61 (d, $^2J_{C\text{-}F}$ = 34.0 Hz, *C*H-base), 122.62 (*C*H-Ar), 116.55 (d, $^3J_{C\text{-}P}$ = 3.75 Hz, *C*H-Ar, Naph), 86.97 (*C*-1'), 86.66 (d, $^3J_{C\text{-}P}$ = 7.5 Hz, *C*-4'), 72.01 (*C*-3'), 68.07 (OCH$_2$Ph), 67.84 (d, $^2J_{C\text{-}P}$ = 5.0 Hz, *C*-5'), 51.83 (*C*HCH$_3$), 40.89 (*C*-2'), 20.42 (d, $^3J_{C\text{-}P}$ = 7.5 Hz, CH*C*H$_3$).

^{31}P-NMR (202 MHz, MeOD): δ_P 4.27;

^{19}F NMR (470 MHz, MeOD): δ_F -167.27;

(ES+) m/z: Found: (M + Na$^+$) 636.1520. $C_{29}H_{29}N_3O_9FNaP$ required: (M$^+$), 613.15.

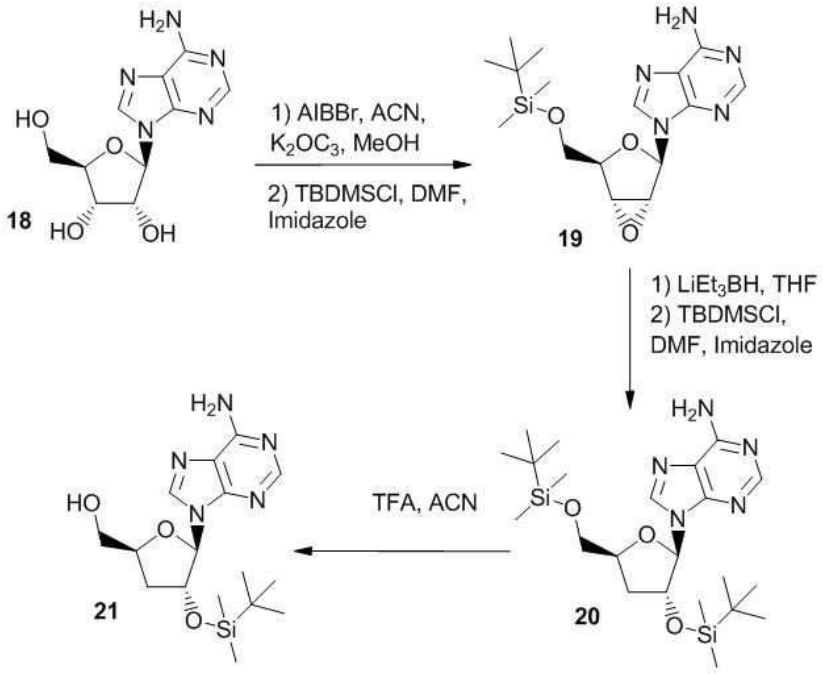
Reverse HPLC (Varian Pursuit XRs 5 C18, 150 x 4.6 mm) eluting with (H_2O/MeOH from 90/10 to 0/100) in 35 min., t_R 16.03 min.

[0274]

[0275] 상기 기술된 2개의 NUC-3373 이성질체들의 입체 화학 (Rp 대 Sp)은 HPLC 유지 시간, ^{31}P 화학적 이동(chemical shift), ^{1}H NMR 스펙트럼을 문헌에서 알려진 다른 프로타이드들의 그것들과 비교한 것에 근거하여 시험적으로(tentatively) 부여되었다. 화합물 12의 입체 화학은 화합물 12의 이성질체가 형성하는 NUC-3373의 이성질체에 기초하여 잠정적으로 할당되었다.

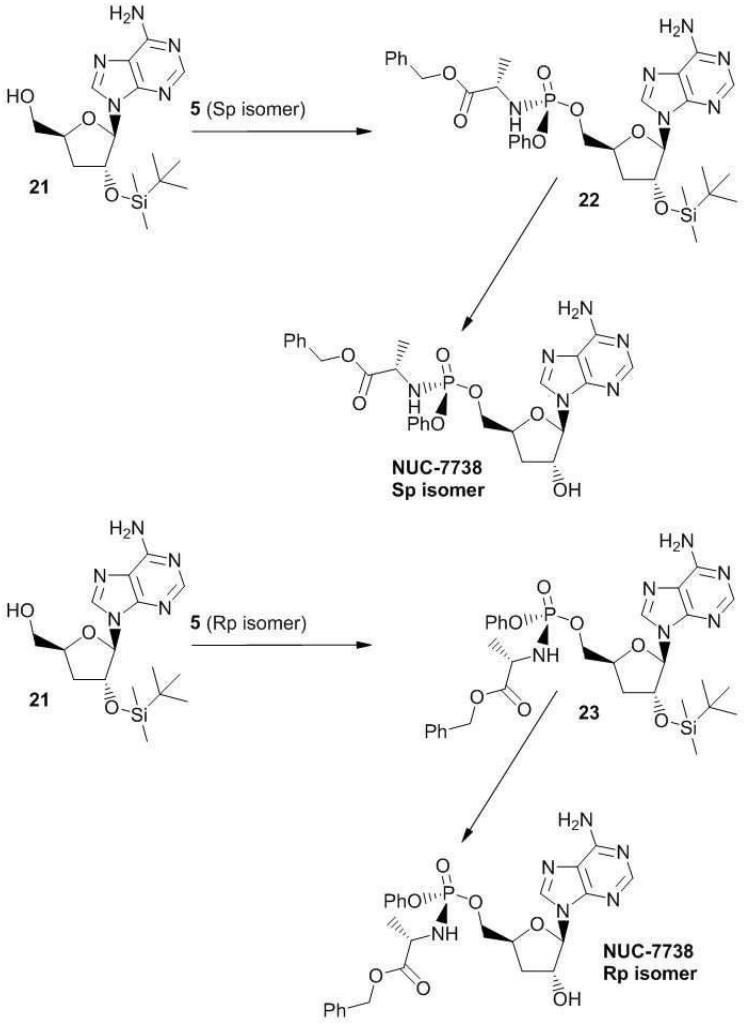
[0276] **실시 예 9 - NUC-7738의 Sp 및 Rp 이성질체의 형성**

[0277] 2'-TBDMS 보호 3'-데옥시 아데노신 21은 다음과 같은 공정에 따라 만들 수 있다.



[0278]

[0279] 화합물 21은 이어서 실시 예 8에 기재된 결합 공정 조건(coupling process condition)을 사용하여 화학식 IIb의 화합물과 결합될 수 있다. NUC-7738을 형성하기 위해, TBDMS 기는 THF 중의 TFA를 사용하여 제거 될 수 있다.



[0280]

[0281] **아데노신(18)을 에폭시드 19로**

[0282] 1 당량의 아데노신 (18)을 10V 아세토니트릴에 용해시키고 혼합물을 15℃로 냉각시켰다. 3.0 몰당량 아세톡시 이소부티릴 브로미드(acetoxy isobutyryl bromide)를 15℃에서 천천히 첨가 하였다. 혼합물을 실온으로 가온하고 8시간 동안 교반 하였다. 반응을 중탄산 나트륨 용액으로 급랭하고 에틸아세테이트로 추출 하였다. 합한 유기 층들을 5% 염화나트륨 용액으로 세척하고 유기 층들을 진공에서 농축시켰다.

[0283] 생성물을 15V 메탄올에 용해시키고 1 중량 당량(weight equivalent)의 탄산 칼륨을 첨가하여 2시간 동안 교반 하였다. 혼합물을 진공에서 농축시키고 생성물을 물로 세척 한 후 생성물을 60℃에서 진공 건조하여 2',3'- 무수 아데노신을 70-85%의 수율로 수득하였다.

[0284] 2',3'- 무수 아데노신 1 당량 및 1.6 당량 이미다졸을 5V DMF에 용해시켰다. 혼합물을 15℃로 냉각시키고 0.8 당량의 TBDMSCl을 첨가 하였다. 혼합물을 30℃에서 1 내지 2시간 동안 교반 한 후 추가의 0.4 당량의 이미다졸 및 0.4 당량의 TBDMSCl을 첨가 하였다. 혼합물을 30℃에서 1 내지 2시간 더 교반 한 후 물(5V)을 첨가하였다. 혼합물을 에틸 아세테이트로 추출 하였다. 합한 유기 층들을 7% 중탄산 나트륨 용액, 물 및 5% 염화나트륨 용액으로 순차적으로 세척 한 후 진공에서 농축시켰다. 생성물을 헵탄으로 세척 한 후 진공하에 50℃에서 건조시켜 에폭시드 19를 75-90% 수율로 수득 하였다.

[0285] **에폭시드 19 를 5'-실일 코디세핀 21(5'-silyl cordycepin 21)로**

[0286] 1 당량의 에폭시드 19를 DMSO(5V) 및 THF 5V)의 혼합물에 용해시켰다. 혼합물을 0℃로 냉각시키고 혼합물을 질소 기체로 퍼지 하였다. THF 중 1M 리튬 트리 에틸보로하이드라이드 (1 당량)를 1-2시간에 걸쳐 0(±5)℃에서 첨가 하였다. 혼합물을 0℃에서 30분 동안 교반하고, 30℃로 가온하고, 2시간 동안 교반 한 후 메탄올 (10V)을 5℃에서 천천히 첨가 하였다. 10V 10% 수산화 나트륨 및 이어서 10V 10% 과산화수소 용액을 5℃에서 적하 첨가 하였다. 혼합물을 에틸 아세테이트로 추출하고, 합한 유기 층들을 10% 메타중아황산나트륨(sodium metabisulfite) 용액, 반응기 내로의 물, 7% 중탄산 나트륨 용액 및 10% 염화나트륨 용액으로 순차적으로 세척

한 후 진공에서 농축시켰다. 생성물을 헵탄으로 세척 한 후 진공하에 50℃에서 건조시켜 70-100% 수율로 2'- 실일 코디세핀을 수득 하였다.

[0287] 2'- 실일 코디세핀, 2.5 당량 이미다졸 및 0.15 당량 DMAP를 5V DMF에 용해시켰다. 혼합물을 15℃로 냉각시킨 후 2.5 당량의 TBDMSCl을 조금씩(portionwise) 첨가하였다. 반응물을 30℃에서 4시간 동안 교반 한 후 15℃로 냉각하였다. 10V 물을 첨가하고 혼합물을 에틸 아세테이트로 추출 하였다. 유기 층들을 7% 중탄산 나트륨 용액, 물 및 5 % 염화나트륨으로 세척 한 후 진공에서 농축시켰다.

[0288] 혼합물을 8V에 용해시키고 2V 물을 첨가 한 후 혼합물을 0℃로 냉각시켰다. 2.5 eq. 트리플루오로 아세트산을 30 내지 60분에 걸쳐 0℃에서 반응 혼합물에 첨가 하였다. 혼합물을 10℃로 가온하고 10℃에서 4 내지 6시간 동안 교반 하였다. 물을 첨가하고 혼합물을 에틸 아세테이트로 추출 하였다. 합한 유기 층들을 7% 중탄산 나트륨 용액, 물 (2회) 및 5% 염화나트륨 용액으로 세척 한 후 진공에서 농축시켰다. 생성물을 헵탄으로 세척하고 진공하에 건조시켜 5'-실일 코디세핀 21을 40-70% 수율로 수득 하였다.

[0289] **5'-실일 코디세핀 21을 Sp-NUC-7738로**

[0290] 5'- 실일 코디세핀 21을 10V THF에 용해시키고 0℃로 냉각시켰다. 2.0M t-BuMgCl (2.5 당량)을 첨가하고 혼합물을 15분 동안 교반 하였다. 화합물 5의 Sp 이성질체 (2.5 당량)를 5V THF에 용해시키고 0℃에서 반응에 첨가 하였다. 혼합물을 0℃에서 15분 동안 교반 한 후 25℃로 가온하고 추가 2시간 동안 교반 하였다. 반응물을 10% 염화 암모늄 용액 (10 vol)으로 급랭하고 에틸 아세테이트로 추출 하였다. 합한 유기 층들을 물 및 10% 염수 용액으로 세척 한 후 진공에서 농축시켰다.

[0291] 생성물을 THF (10V)에 용해시킨 후 0℃로 냉각시켰다. 10 V TFA 및 물 (1 : 1) 혼합물을 30분에 걸쳐 반응에 첨가 한 후, 혼합물을 45분 동안 교반하고 30℃로 가온 한 후 추가 16시간 동안 교반 하였다. 반응물을 0℃에서 7% $NaHCO_3$ 용액 (90V)으로 급랭한 후 에틸 아세테이트로 추출 하였다. 합한 유기 층들을 물, 7% 중탄산 나트륨 용액 및 10% 염수 용액으로 세척 한 후 진공에서 농축시켰다.

[0292] 생성물을 실리카 겔 (100-200 메시)을 사용하여 컬럼 크로마토 그래피로 정제하고, 컬럼을 DCM에서 2 내지 10% MeOH로 용리시켜 40% 수율로 Sp-NUC-7738을 얻었다. 생성물의 HPLC 순도는 99.50% 였고 키랄 HPLC는 Sp 이성질체가 99.90%로 존재하고 Rp 이성질체가 0.10%로 존재 함을 보여 주었다.

[0293] 동일한 공정에 의해 Rp-NUC-7738을 제공할 수 있다.

Rp-NUC-7738:

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ_H 8.26 (s, 1H, H8), 8.22 (s, 1H, H2), 7.37-7.25 (m, 7H, Ar), 7.22-7.12 (m, 3H, Ar), 6.01 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H, H1'), 5.12 (AB q, J_{AB} = 12.0 Hz, $\Delta\delta_{AB}$ = 0.04, 2H, CH_2Ph), 4.74-4.70 (m, 1H, H2'), 4.69-4.62 (m, 1H, H4'), 4.44-4.38 (m, 1H, H5'), 4.28-4.21 (m, 1H, H5'), 3.99-3.90 (m, 1H, CHCH$_3$ L-Ala), 2.35-2.27 (m, 1H, H3'), 2.09-2.02 (m, 1H, H3'), 1.29 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, CHCH_3 L-Ala).

^{31}P NMR (202 MHz, CD_3OD) δ_P 3.91.

MS (ES^+) m/z found 569.2 [M+H$^+$], 591.2 [M+Na$^+$], 1159.4 [2M+Na$^+$] $C_{26}H_{29}N_6O_7P$ required m/z 568.2 [M].

HPLC Reverse-phase HPLC (Varian Pursuit XRs 5 C18, 150 x 4.6 mm) eluting with H_2O/CH_3CN from 90/10 to 0/100 in 30 minutes, F: 1 mL/min, λ = 200 nm, shows one peak with t_R 14.02 min.

Sp-NUC-7738:

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ_H 8.24 (s, 1H, H8), 8.22 (s, 1H, H2), 7.36-7.26 (m, 7H, Ar), 7.22-7.13 (m, 3H, Ar), 6.01 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H, H1'), 5.08 (AB q, J_{AB} = 12.0 Hz, $\Delta\delta_{AB}$ = 0.01, 2H, CH_2Ph), 4.70-4.67 (m, 1H, H2'), 4.66-4.60 (m, 1H, H4'), 4.41-4.35 (m, 1H, H5'), 4.26-4.19 (m, 1H, H5'), 4.02-3.94 (m, 1H, CHCH$_3$ L-Ala), 2.36-2.27 (m, 1H, H3'), 2.08-2.01 (m, 1H, H3'), 1.34-1.30 (m, 3H, CHCH_3 L-Ala).

^{31}P NMR (202 MHz, CD_3OD) δ_P 3.73. MS (ES^+) m/z found 569.2 [M+H$^+$], 591.2 [M+Na$^+$], 1159.4 [2M+Na$^+$] $C_{26}H_{29}N_6O_7P$ required m/z 568.2 [M].

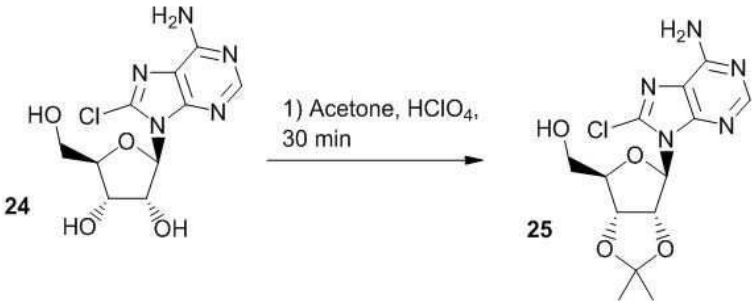
HPLC Reverse-phase HPLC (Varian Pursuit XRs 5 C18, 150 x 4.6 mm) eluting with H_2O/CH_3CN from 90/10 to 0/100 in 30 minutes, F: 1 mL/min, λ = 200 nm, shows one peak with t_R 14.26 min.

[0294]

[0295] 상술 한 2개의 NUC-7738 이성질체들의 입체 화학 (Rp vs Sp)은 종래의 X-선 결정학적 분석에 의해 확인되었다.

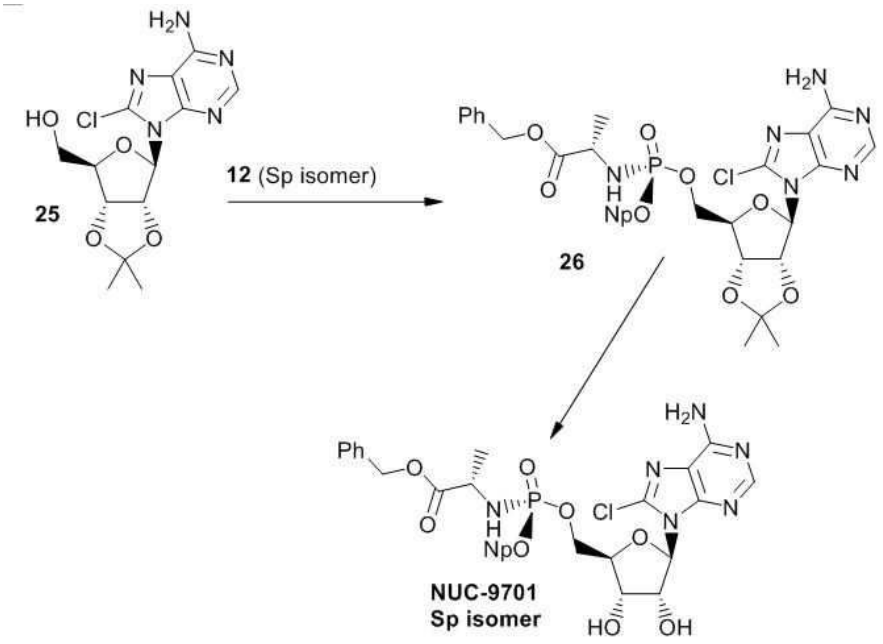
[0296] **실시 예 10 - NUC-9701의 형성**

[0297] 8- 클로로-아데노신 24의 디메틸 아세탈 25는 하기 공정에 따라 제조 될 수 있다 (WO2017/207989에도 기재됨).



[0298]

[0299] 화합물 25를 이어서 실시 예 8에 기재된 결합 공정 조건을 사용하여 화학식 IIa의 화합물과 결합시킬 수 있다. NUC-9701을 형성하기 위해, 디메틸 아세탈을 0℃에서 5시간 동안 1 : 1의 TFA : 물을 사용하여 제거 할 수 있다.



[0300]

[0301] 화합물 25 (30g; 1 당량) 및 화합물 12의 원하는 이성질체 (58.08g; 1.2 당량)를 300 ml (10 V)의 THF에 용해시켰다. 혼합물을 0℃로 냉각시킨 후 온도를 0℃로 유지하면서 t- 부틸 염화 마그네슘 (THF 중 2.0 M, 76.8 ml; 1.75 당량)을 천천히 첨가하고, 혼합물을 4시간 동안 교반 하였다. 온도를 15℃ 미만으로 유지하면서 300mL (10V)의 10% 염화 암모늄 용액을 반응 혼합물에 첨가 하였다. 혼합물을 에틸 아세테이트로 추출하고, 합한 유기층들을 7% 중탄산 나트륨 용액 (2 회), 물 (2 회) 및 20% 염화나트륨으로 세척 한 후 무수 황산나트륨으로 건조시키고 여과 하였다. 에틸 아세테이트를 진공에서 제거 하였다.

[0302] 물 중의 60% 포름산 600ml (20V)를 첨가한 생성물을 25℃에서 65-70시간 동안 교반 한 후 에틸 아세테이트 (600mL; 20V)를 서서히 첨가하였다. 600ml (20V)의 20% 염화나트륨 용액을 첨가하고 층들을 분리 하였다. 수성층을 에틸 아세테이트로 추출한 후 600 ml (20V) 10% 암모니아 용액을 합한 유기 층들에 적하 첨가하고 층들을 분리 하였다. 유기층을 물 (3 회) 및 20% 염화나트륨 용액으로 세척하고, 무수 황산나트륨 30g (1w/w)으로 건조시키고 여과한 후 진공에서 농축 하였다. 조 생성물을 컬럼 크로마토 그래피로 정제하여 20-45g의 NUC-9701을 수득 하였다.

Sp - NUC-9701:

^{1}H-NMR (500 MHz; MeOD-*d4*): δ_H 8.07 (1H, d *J*= 8.5Hz, *H*-Napht), 8.05 (1H, s, 2-H), 7.87 (1H, d *J*= 8.5Hz, *H*-Napht), 7.67 (1H, d *J*= 8.5Hz, *H*-Napht) 7.54-7.48 (2H, m, *H*-Napht), 7.41-7.30 (1H, m, *H*-Napht), 7.36-7.33 (1H, m, *H*-Napht), 7.26-7.22 (5H, m, -CH_2*Ph*), 6.03 (1H, d *J* = 5.0 Hz, H-1'), 5.33 (1H, t *J*= 5.0Hz, H-2'), 5.01, 4.98 (AB, J_{AB} = 12.3 Hz, C*H*$_2$Ph), 4.65 (1H t *J*= 5.5Hz, H-3'), 4.49-4.45 (1H, m, H_a-5'), 4.41-4.36 (1H, m, H_b-5'), 4.22-4.20 (1H, m, H-4'), 3.94-3.90 (1H, m, -C*H*CH_3), 1.17 (1H, d *J* = 7.0 Hz, CH_3).

^{31}P NMR (202 MHz, MeOD-*d4*): δ_P 3.93 (1P, s).

Reverse-phase HPLC, eluting with H_2O/ CH_3CN from 90/10 to 0/100 in 30 min; 1 mL/min, λ = 254 nm, showed a peak with t_R = 16.43 min

Rp - NUC-9701:

^{1}H-NMR (500 MHz; MeOD-*d4*): δ_H 8.10 (1H, s, H-2), 8.08 (1H, d *J*= 8.5Hz, *H*-Napht), 7.87 (1H, d *J*= 8.5Hz, *H*-Napht),7.67 (1H, d *J*= 8.5Hz, *H*-Napht), 7.53-7.50 (1H, m, *H*-Napht), 7.48-7.44 (1H, m, *H*-Napht), 7.40-7.38 (1H, m, *H*-Napht), 7.33-7.27 (6H, m, *H*-Napht and -CH_2*Ph*), 6.02 (1H, d *J* = 5.0 Hz, H-1'), 5.28 (1H, t *J*= 5.0Hz, H-2'), 5.04, 5.02 (AB, J_{AB} = 12.2 Hz, C*H*$_2$Ph), 4.63 (1H t *J*= 5.5Hz, H-3'), 4.48-4.46 (1H, m, H_a-5'), 4.38-4.35 (1H, m, H_b-5'), 4.23-4.20 (1H, m, H-4'),4.05-4.01 (1H, m, -C*H*CH_3), 1.17 (1H, d *J* = 7.0 Hz, CH_3).

^{31}P NMR (202 MHz, MeOD-*d4*): δ_P 3.83 (1P, s).

Reverse-phase HPLC, eluting with H_2O/CH_3CN from 90/10 to 0/100 in 30 min; 1 mL/min, λ = 254 nm, showed a peak with t_R = 16.59 min

[0303]

[0304] 상기 기술된 2개의 NUC-9701 이성질체들의 입체 화학 (Rp vs Sp)은 HPLC 유지 시간, ^{31}P 화학적 이동(chemical shift), ^{1}H NMR 스펙트럼을 문헌에서 알려진 다른 프로타이드들의 그것들과 비교한 것에 근거하여 시험적으로 (tentatively) 부여되었다.