

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5885659号  
(P5885659)

(45) 発行日 平成28年3月15日 (2016. 3. 15)

(24) 登録日 平成28年2月19日 (2016. 2. 19)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 H 19/10 (2006. 01)

A 6 1 P 31/14 (2006. 01)

A 6 1 P 31/16 (2006. 01)

A 6 1 P 31/12 (2006. 01)

A 6 1 K 31/7072 (2006. 01)

C O 7 H 19/10

A 6 1 P 31/14

A 6 1 P 31/16

A 6 1 P 31/12

A 6 1 K 31/7072

請求項の数 8 (全 85 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2012-512043 (P2012-512043)  
 (86) (22) 出願日 平成22年5月20日 (2010. 5. 20)  
 (65) 公表番号 特表2012-527477 (P2012-527477A)  
 (43) 公表日 平成24年11月8日 (2012. 11. 8)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2010/035641  
 (87) 国際公開番号 W02010/135569  
 (87) 国際公開日 平成22年11月25日 (2010. 11. 25)  
 審査請求日 平成25年2月1日 (2013. 2. 1)  
 (31) 優先権主張番号 61/319, 513  
 (32) 優先日 平成22年3月31日 (2010. 3. 31)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)  
 (31) 優先権主張番号 61/179, 923  
 (32) 優先日 平成21年5月20日 (2009. 5. 20)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 505442842  
 ギリアド ファーマセツト エルエルシー  
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 944  
 04, フォスターシティ レイクサイド  
 ドライブ 333, ギリアド サイエ  
 ンシズ, インク. 内  
 (74) 代理人 100078282  
 弁理士 山本 秀策  
 (74) 代理人 100113413  
 弁理士 森下 夏樹  
 (74) 代理人 100181674  
 弁理士 飯田 貴敏  
 (74) 代理人 100181641  
 弁理士 石川 大輔

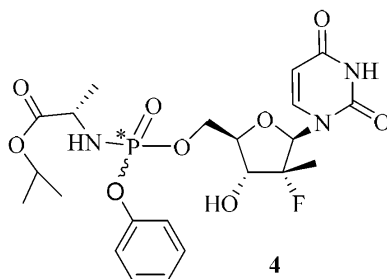
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 N - [ (2' R) - 2' - デオキシ - 2' - フルオロ - 2' - メチル - P - フェニル - 5' - ウ  
 リジリル ] - L - アラニン 1 - メチルエチルエステルおよびその製造のためのプロセス

(57) 【特許請求の範囲】

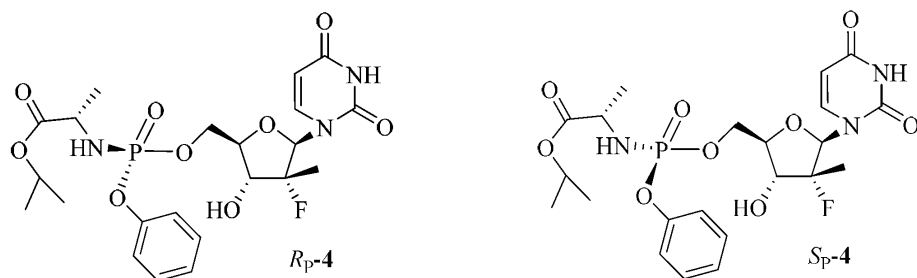
【請求項 1】

化学式 4 によって表される化合物、又はそのリンベースのジアステレオマーを調製する  
 ためのプロセスであって：



ここで、P \* はキラルリン原子を表し、

前記リンベースのジアステレオマーは化学式 R<sub>p</sub> - 4 又は S<sub>p</sub> - 4 :

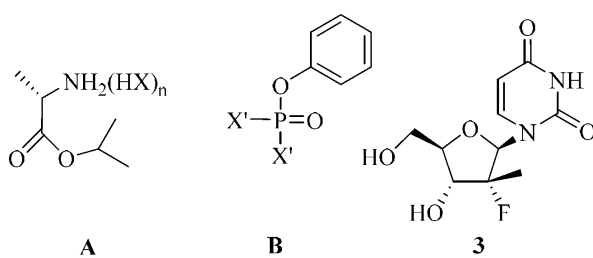


によって表され、

10

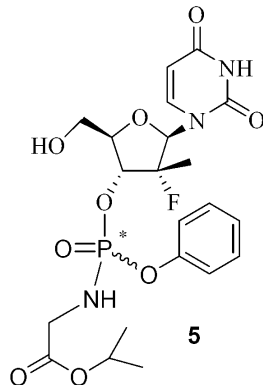
前記プロセスは：

a) 化合物 A、化合物 B、化合物 3、および塩基を反応させて、4、又はそのリンベースのジアステレオマーを含む第 1 の混合物を得ること、



20

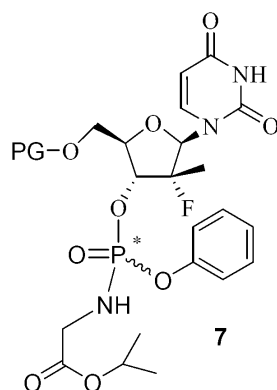
ここで、X は酸の共役塩基であり、n は 0 または 1 であり、およびそれぞれの X' は独立してハロゲンであり、第一の混合物は化合物 5：



30

を更に含み；

b) 第 1 の混合物を保護化合物と反応させて、4、又はそのリンベースのジアステレオマー及び P G が保護基である化合物 7：



10

を含む第 2 の混合物を得ること；ならびに

c) 化合物 7 を除去して、4、又はそのリンベースのジアステレオマーを得るために、  
前記第 2 の混合物を、結晶化、クロマトグラフィー、または抽出に供すること  
を包含する、プロセス。

【請求項 2】

X は塩素であり、n は 1 である、請求項 1 のプロセス。

【請求項 3】

A が実質的に無水物である、請求項 1 のプロセス。

20

【請求項 4】

塩基が N - メチルイミダゾールである、請求項 1 のプロセス。

【請求項 5】

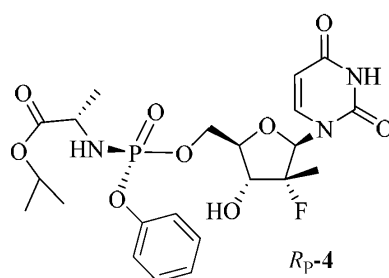
A : B : 3 のモル比が 1 : 6 : 1 : 3 : 1 である、請求項 1 のプロセス。

【請求項 6】

保護化合物が t - ブチルジメチルシリルクロリドである、請求項 1 のプロセス。

【請求項 7】

化合物が R<sub>p</sub>-4 :



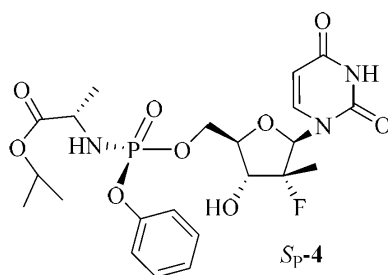
30

である、請求項 1 のプロセス。

【請求項 8】

化合物が S<sub>p</sub>-4 :

40



である、請求項 1 のプロセス。

【発明の詳細な説明】

50

## 【技術分野】

## 【0001】

本願は、米国を除くすべての国の指定のための出願人である米国の企業である *Pharmasset, Inc.*、ならびに米国のみ指定のための出願人である、両方とも米国国民である *Michael Joseph Sofia* および *Bruce S. Ross*、両方ともインド国民である *Ganapati Reddy Pamulapati* および *Suguna Rachakonda*、米国国民である *Hai-Ren Zhang*、韓国国民である *Byoung-Kwon Chun*、および中国国民である *Peiyuan Wang* の名義での *PCT* 国際特許出願として、2010年5月20日に出願されており、2009年5月20日に出願された米国仮特許出願第 61/179,923 号、および 2010年3月31日に出願された第 61/319,513 号の優先権を主張し、これらの対象はそれらの全体が参照により組み込まれる。

10

## 【0002】

## 発明の分野

ヌクレオシドホスホリアミデートおよびウイルス性疾患を治療するための薬剤としてのそれらの使用が本明細書に開示される。これらの化合物は、RNA 依存性 RNA ウイルス複製の阻害剤であり、HCV NS5B ポリメラーゼの阻害剤として、HCV 複製の阻害剤として、および哺乳動物における C 型肝炎感染の治療のために有用である。

## 【背景技術】

## 【0003】

20

## 背景

C 型肝炎ウイルス (HCV) 感染は、世界の人口の 2 ~ 15 % であると思われており、相当数の感染個体において、肝硬変および肝細胞癌などの慢性肝臓疾患をもたらす大きな健康問題である。米国疾病管理センターによると、米国だけで 450 万人の感染者が存在すると見積もられている。世界保健機関によると、世界中で 2 億人を超える感染個体が存在し、少なくとも 3 ~ 4 百万人が毎年感染している。一旦感染すると、約 20 % の人はウイルスを一掃するが、残りの人は HCV を彼らの残りの寿命に抱え得る。10 ~ 20 パーセントの慢性感染個体が、最終的に、肝臓を破壊する肝硬変または癌を発症する。ウイルス性疾患は、汚染した血液および血液製剤、汚染した針によって非経口的に、または性的に、および感染母体もしくはキャリア母体から彼女らの子孫に垂直感染される。組換えインターフェロンを単独でまたはヌクレオシドアナログであるリバビリンと組み合わせて用いる免疫療法に制限されている HCV 感染の現在の治療は、臨床的な利点が限られている。さらに、HCV のワクチンは確立されていない。結果的に、慢性 HCV 感染と効果的に戦う治療剤の改善の必要性が存在している。

30

## 【0004】

HCV ビリオンは、約 3,010 アミノ酸のポリタンパク質をコードする約 9600 塩基の単一オリゴヌクレオチドゲノム配列を有するエンベロープを持ったプラス鎖 RNA ウイルスである。HCV 遺伝子のタンパク質産物は構造タンパク質 C、E1、および E2、ならびに非構造タンパク質 NS2、NS3、NS4A、および NS4B、ならびに NS5A および NS5B からなる。非構造 (NS) タンパク質は、ウイルス複製のための触媒機構を提供すると考えられている。NS3 プロテアーゼは、ポリタンパク質鎖から、RNA 依存性 RNA ポリメラーゼである NS5B を遊離する。HCV NS5B ポリメラーゼは、HCV の複製サイクルにおけるテンプレートとして働く一本鎖ウイルス RNA からの二本鎖 RNA の合成のために必要とされる。それゆえに、NS5B ポリメラーゼは、HCV 複製複合体における必須の成分であると思われている (K. Ishii, et al, *Hepatology*, 1999, 29: 1227 - 1235; V. Lohmann, et al., *Virology*, 1998, 249: 108 - 118)。HCV NS5B ポリメラーゼの阻害は、二本鎖 HCV RNA の形成を阻害し、それゆえに、HCV 特異的抗ウイルス治療の開発に対して魅力的なアプローチを構成する。

40

## 【0005】

50

HCVは、多くの共通する特徴を共有するウイルスの非常に大きな科に属する。

【0006】

フラビウイルス科ウイルス

フラビウイルス科のウイルスは、少なくとも3つの区別できる属：ウシおよびブタにおいて疾患を引き起こすペスチウイルス；デング熱および黄熱病などの疾患の根本原因であるフラビウイルス；ならびにその唯一のメンバーがHCVであるヘパシウイルスを含む。フラビウイルス属は、血清学的関連性に基づいて分類された68より多くのメンバーを含む(Calisher et al., J. Gen. Virol., 1993, 70, 37-43)。臨床的徴候は変動し、これには、熱、脳炎、および出血熱が含まれる(Fields Virology, Editors: Fields, B.N., Knipe, D.M., and Howley, P.M., Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, PA, 1996, Chapter 31, 931-959)。ヒトの疾患と関連があるフラビウイルスの世界的懸念には、デング出血熱(DHF)ウイルス、黄熱病ウイルス、ショック症候群、および日本脳炎ウイルスが挙げられる(Halstead, S.B., Rev. Infect. Dis., 1984, 6, 251-264; Halstead, S.B., Science, 239: 476-481, 1988; Monath, T.P., New Eng. J. Med., 1988, 319, 641-643)。

10

【0007】

ペスチウイルス属には、ウシウイルス性下痢症ウイルス(BVDV)、古典的ブタ熱(swine fever)ウイルス(CSFV、ブタコレラ(hog cholera)ウイルスとも呼ばれる)、およびヒツジのボーダー病ウイルス(BDV)が含まれる(Moennig, V. et al. Adv. Vir. Res. 1992, 41, 53-98)。家畜(ウシ、ブタ、およびヒツジ)のペスチウイルス感染は、世界中で顕著な経済学的な損失を引き起こしている。BVDVは、ウシの粘膜疾患を引き起こし、家畜産業に対して顕著な経済学的な重要性がある(Meyers, G. and Thiel, H.J., Advances in Virus Research, 1996, 47, 53-118; Moennig V., et al., Adv. Vir. Res. 1992, 41, 53-98)。ヒトペスチウイルスは、動物のペスチウイルスと同程度には広範に特徴付けられてはいない。しかし、血清学的調査は、ヒトにおける考慮すべきペスチウイルスへの曝露を示している。

20

30

【0008】

ペスチウイルスおよびヘパシウイルスは、フラビウイルス科の中で、密接に関連しているウイルスグループである。この科の中で他の密接に関連しているウイルスには、GBウイルスA、GBウイルスA様因子、GBウイルスBおよびGBウイルスC(G型肝炎ウイルス、HGVとも呼ばれる)が挙げられる。ヘパシウイルスグループ(C型肝炎ウイルス；HCV)は、密接に関連するが、遺伝子型が区別できる、ヒトに感染する多数のウイルスからなる。少なくとも6種のHCV遺伝子型と50を超えるサブタイプが存在している。ペスチウイルスとヘパシウイルスの間の類似性に起因して、細胞培養中で効率的に増殖するヘパシウイルスの乏しい能力と組み合わせると、ウシウイルス性下痢症ウイルス(BVDV)は、しばしば、HCVウイルスを研究するための代理として使用される。

40

【0009】

ペスチウイルスとヘパシウイルスの遺伝的構成は非常に類似している。これらのプラス鎖RNAウイルスは、ウイルス複製のために必要なすべてのウイルスタンパク質をコードする単一の大きなオープンリーディングフレーム(ORF)を保有する。これらのタンパク質は、成熟ウイルスタンパク質を生じるために、細胞とウイルスの両方にコードされたプロテイナーゼによって、翻訳と同時にまたは翻訳後にプロセッシングされるポリタンパク質として発現される。ウイルスゲノムRNAの複製の原因であるウイルスタンパク質は、ほぼカルボキシ末端に位置している。ORFの3分の2は、非構造(NS)タンパク質と呼ばれている。ペスチウイルスとヘパシウイルスにとってのORFの非構造タンパク質部

50

分の遺伝的構成およびポリタンパク質プロセッシングは非常に類似している。ペスチウイルスとヘパシウイルスの両方にとって、成熟非構造（NS）タンパク質は、非構造タンパク質コード領域のアミノ末端から、ORFのカルボキシ末端までの配列の順序で、p7、NS2、NS3、NS4A、NS4B、NS5A、およびNS5Bからなる。

#### 【0010】

ペスチウイルスとヘパシウイルスのNSタンパク質は、特定のタンパク質機能に特徴的である配列ドメインを共有している。例えば、両方のグループのウイルスのNS3タンパク質は、セリンプロテイナーゼおよびヘリカーゼに特徴的なアミノ酸配列モチーフを保有する（Gorbalenya et al., Nature, 1988, 333, 22; Bazan and Fletterick Virology, 1989, 171, 637-639; Gorbalenya et al., Nucleic Acid Res., 1989, 17, 3889-3897）。同様に、ペスチウイルスとヘパシウイルスのNS5Bタンパク質は、RNA指向性RNAポリメラーゼに特徴的なモチーフを有する（Koonin, E.V. and Dolja, V.V., Crit. Rev. Biochem. Molec. Biol. 1993, 28, 375-430）。

#### 【0011】

ウイルスの生活環の中でのペスチウイルスとヘパシウイルスのNSタンパク質の実際の役割および機能は、直接的に類似している。両方の場合において、NS3セリンプロテイナーゼは、ORFの中でのその位置の下流のポリタンパク質前駆体のすべてのタンパク質分解性プロセッシングの原因である（Wiskerchen and Collett, Virology, 1991, 184, 341-350; Bartenschlager et al., J. Virol. 1993, 67, 3835-3844; Eckart et al. Biochem. Biophys. Res. Comm. 1993, 192, 399-406; Grakoui et al., J. Virol. 1993, 67, 2832-2843; Grakoui et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1993, 90, 10583-10587; Hijikata et al., J. Virol. 1993, 67, 4665-4675; Tome et al., J. Virol., 1993, 67, 4017-4026）。両方の場合において、NS4Aタンパク質は、NS3セリンプロテアーゼを伴うコファクターとして働く（Bartenschlager et al., J. Virol. 1994, 68, 5045-5055; Failla et al., J. Virol. 1994, 68, 3753-3760; Xu et al., J. Virol., 1997, 71: 5312-5322）。両方のウイルスのNS3タンパク質は、ヘリカーゼとしてもまた機能する（Kim et al., Biochem. Biophys. Res. Comm., 1995, 215, 160-166; Jin and Peterson, Arch. Biochem. Biophys., 1995, 323, 47-53; Warrenner and Collett, J. Virol. 1995, 69, 1720-1726）。最後に、ペスチウイルスとヘパシウイルスのNS5Bタンパク質は、推定のRNA指向性RNAポリメラーゼ活性を有する（Behrens et al., EMBO, 1996, 15, 12-22; Lechmann et al., J. Virol., 1997, 71, 8416-8428; Yuan et al., Biochem. Biophys. Res. Comm. 1997, 232, 231-235; Hagedorn, PCT WO 97/12033; Zhong et al., J. Virol., 1998, 72, 9365-9369）。

#### 【0012】

現在、C型肝炎ウイルスに感染した個体について限られた治療オプションが存在している。現在認可されている治療オプションは、組換えインターフェロンを単独でまたはヌクレオシドアナログであるリバビリンと組み合わせて用いる免疫療法の使用である。この治療は、その臨床的な有効性が限られており、治療された患者の50%のみが治療に应答する。従って、HCV感染によってもたらされた、満たされていない医学的必要性に取り

10

20

30

40

50

組むためのより有効かつ新規な治療についての顕著な必要性が存在している。

【0013】

抗HCV治療としての直接作用する抗ウイルス剤の薬剤開発のための多数の潜在的な分子標的が今日同定されており、これらには、NS2-NS3オートプロテアーゼ、NS3プロテアーゼ、NS3ヘリカーゼ、およびNS5Bポリメラーゼが含まれるがこれらに限定されない。RNA依存性RNAポリメラーゼは、一本鎖、プラスセンス、RNAゲノムの複製のために絶対的に必須であり、この酵素は、医化学者の中で顕著な関心を引き起こしている。

【0014】

HCV感染のための潜在的な治療剤としてのHCV NS5Bの阻害剤は概説されている：Tan, S.-L., et al., *Nature Rev. Drug Discov.*, 2002, 1, 867-881; Walker, M.P. et al., *Exp. Opin. Investigational Drugs*, 2003, 12, 1269-1280; Ni, Z.-J., et al., *Current Opinion in Drug Discovery and Development*, 2004, 7, 446-459; Beaulieu, P.L., et al., *Current Opinion in Investigational Drugs*, 2004, 5, 838-850; Wu, J., et al., *Current Drug Targets - Infectious Disorders*, 2003, 3, 207-219; Griffith, R.C., et al., *Annual Reports in Medicinal Chemistry*, 2004, 39, 223-237; Carroll, S., et al., *Infectious Disorders - Drug Targets*, 2006, 6, 17-29。抵抗性HCVシステムの出現の潜在能力および広範な遺伝子型の範囲を有する因子を同定する必要性は、HCV NS5B阻害剤としての新規でありかつより有効なヌクレオシドを同定するための継続する努力の必要性を支持する。

【0015】

NS5Bポリメラーゼのヌクレオシド阻害剤は、鎖終止を生じる非天然基質として、またはポリメラーゼへのヌクレオチド結合と競合する競合的阻害剤としてのいずれかで作用できる。鎖終止剤として機能するために、ヌクレオシドアナログは、細胞によって取り込まれなければならない、かつポリメラーゼヌクレオチド結合部位について競合するためにインビボで三リン酸に転換されなければならない。この三リン酸への転換は、一般的には、潜在的なヌクレオシドポリメラーゼ阻害剤上にさらなる構造的な要求性を付与する、細胞キナーゼによって媒介される。不運にも、これは、HCV複製の阻害剤としてのヌクレオシドの直接的評価を、インサイチュリン酸化を可能にする細胞ベースのアッセイに限定する。

【0016】

ある場合において、ヌクレオシドの生物学的活性は、それを活性な三リン酸型に転換するために必要とされる1種以上のキナーゼに特徴的なその乏しい基質によって妨害される。ヌクレオシドキナーゼによる一リン酸の形成は、一般的には、3つのリン酸化事象のうちの律速段階と見られている。活性三リン酸アナログへのヌクレオシドの代謝における最初のリン酸化段階の必要性を回避するために、安定なリン酸プロドラッグの調製が報告されてきた。ヌクレオシドホスホルアミデートプロドラッグは、ウイルス感染した全細胞に投与された場合に、活性なヌクレオシド三リン酸の前駆体であること、およびウイルス複製を阻害することが示されてきた(McGuigan, C., et al., *J. Med. Chem.*, 1996, 39, 1748-1753; Valette, G., et al., *J. Med. Chem.*, 1996, 39, 1981-1990; Balzarini, J., et al., *Proc. National Acad. Sci. USA*, 1996, 93, 7295-7299; Siddiqui, A.Q., et al., *J. Med. Chem.*, 1999, 42, 4122-4128; Eisenberg, E.J., et al., *Nucleosides, Nucleotides and N*

10

20

30

40

50

ucleic Acids, 2001, 20, 1091-1098; Lee, W. A., et al., Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2005, 49, 1898); US 2006/0241064; および WO 2007/095269。

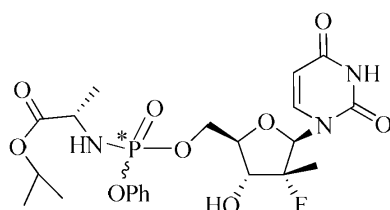
#### 【0017】

ヌクレオシドの時折乏しい物理化学的および薬物動態学的特性もまた、実行可能な治療剤としてのヌクレオシドの有用性を制限している。これらの乏しい特性は、薬剤の腸吸収を制限し、標的組織または細胞への取り込みを制限できる。これらの特性を改善するために、ヌクレオシドのプロドラッグが利用されてきた。ヌクレオシドホスホルアミデートの調製は、ヌクレオシドの全身吸収を改善し、さらに、これらの「プロヌクレオチド」のホスホルアミデート部分は、適切な分配係数を得るために中性親油性基でマスクされ、細胞への取り込みおよび輸送を最適化して、親のヌクレオシド単独を投与することと比較して、ヌクレオシドーリン酸アナログの細胞内濃度を劇的に増強することが実証されてきた。リン酸エステル部分の酵素媒介性加水分解はヌクレオシドーリン酸を生じ、ここで、律速の最初のリン酸化は不要である。この目的のために、WO 2008/121634 および US 2010/0016251 に対応する米国特許出願第 12/053,015 号は、多数のホスホルアミデートヌクレオシドプロドラッグを開示し、これらの多くが HCV アッセイにおいて活性を示す。US 2010/0016251 において開示されているいくつかの化合物は、FDA による認可のための潜在的な臨床候補として試験された。

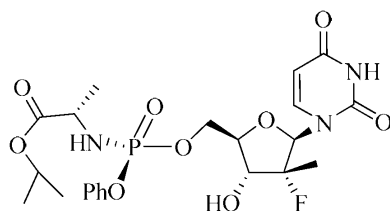
#### 【発明の概要】

#### 【0018】

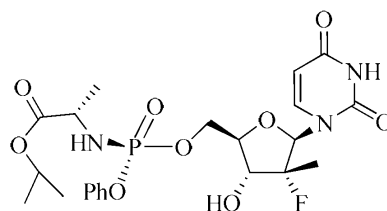
化学式 4 によって表される化合物、ならびに化学式  $S_p-4$  および  $R_p-4$  によって表されるそのそれぞれのリンベースのジアステレオマーが本明細書に開示される。



4



$S_p-4$



$R_p-4$

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0019】

【図 1】 4 の高分解能 XRD ディフラクトグラムである。

【図 2】  $R_p-4$  の高分解能 XRD ディフラクトグラムである。

【図 3】  $S_p-4$  の高分解能 XRD ディフラクトグラムである（1 型）。

【図 4】  $S_p-4$  の高分解能 XRD ディフラクトグラムである（1 型）。

【図 5】  $S_p-4 \cdot CH_2Cl_2$  の高分解能 XRD ディフラクトグラムである（2 型）。

【図 6】  $S_p-4 \cdot CHCl_3$  の高分解能 XRD ディフラクトグラムである（3 型）。

【図 7】  $S_p-4$  の高分解能 XRD ディフラクトグラムである（4 型）。

【図 8】  $S_p-4$  の高分解能 XRD ディフラクトグラムである（5 型）。



【図 9】 $S_p - 4$  の高分解能 XRD ディフракトグラムである (アモルファス)。

【図 10】 $S_p - 4$  の X 線結晶構造 (1 型)。

【図 11】 $S_p - 4 \cdot CH_2Cl_2$  の X 線結晶 (等方性) 構造 (2 型)。

【図 12】 $S_p - 4 \cdot CH_2Cl_2$  の X 線結晶 (異方性) 構造 (2 型)。

【図 13】 $S_p - 4 \cdot CHCl_3$  の X 線結晶構造 (3 型)。

【図 14】4 の FT-IR スペクトル。

【図 15】 $R_p - 4$  の FT-IR スペクトル。

【図 16】 $S_p - 4$  の FT-IR スペクトル。

【図 17】4 の TGA および DSC 分析。

【図 18】 $R_p - 4$  の TGA および DSC 分析。

10

【図 19】 $S_p - 4$  の TGA および DSC 分析。

【図 20A】8 ( $S_p$  異性体) の X 線結晶構造 (非対称単位 of 分子番号 1)。

【図 20B】8 ( $S_p$  異性体) の X 線結晶構造 (非対称単位 of 分子番号 2)。

【発明を実施するための形態】

【0020】

発明の詳細な説明

定義

本明細書で使用される、「1つの(「a」または「an」)」実体という語句は、1つ以上のその実体をいい、例えば、化合物とは、1つ以上の化合物または少なくとも1つの化合物をいう。このようなものとして、「1つの(「a」(または「an」))」、「1

20

【0021】

本明細書で使用される「任意の」または「任意に」という用語は、続けて説明される事象または状況が起こり得るが必ずしも起こらなくてもよいこと、およびその説明が、その事象または状況が起こる例とそれが起こらない例を含むことを意味する。例えば、「任意の結合」とは、その結合が存在してもよいし、存在しなくてもよいこと、およびこの説明が単結合、二重結合、または三重結合を含むことを意味する。

【0022】

「 $P^*$ 」という用語は、リン原子がキラルであること、およびこれが、受け入れられているそれらの明白な意味を有する、対応する「R」または「S」の Cahn-Ingold-Prelog (カーン-インゴルド-プレローグ) 表示を有することを意味する。

30

【0023】

本明細書に記載される「精製されている」という用語は、所定の化合物の純度をいう。例えば、所定の化合物が組成物の主要成分であるとき、すなわち、少なくとも 50 % w/w 純度であるときに、その化合物は「精製されている」。このように「精製されている」は、少なくとも 50 % w/w 純度、少なくとも 60 % w/w 純度、少なくとも 70 % 純度、少なくとも 80 % 純度、少なくとも 85 % 純度、少なくとも 90 % 純度、少なくとも 92 % 純度、少なくとも 94 % 純度、少なくとも 96 % 純度、少なくとも 97 % 純度、少なくとも 98 % 純度、少なくとも 99 % 純度、少なくとも 99.5 % 純度、および少なくとも 99.9 % 純度を包含し、ここで、「実質的に純粋」とは、少なくとも 97 % 純度、少

40

【0024】

本明細書に記載される「代謝物」という用語は、投与の必要がある被験体への投与後にインビボで産生される化合物をいう。

【0025】

「約」(～によってもまた表される)という用語は、引用される数値が標準実験誤差の範囲内で変動する範囲の一部であることを意味する。

【0026】

特定の XRPD パターンの「中に実質的に示される」という表現は、選択されたピーク

50

リスト ( $\pm 0.2^\circ 2\theta$ ) に対する目視検査または手段の中で、XRPDパターンに示されるピーク位置が実質的に同じであることを意味する。当業者は、強度がサンプルに依存して変動し得ることを理解している。

【0027】

「実質的に無水物である」という用語は、物質が最大で10重量%の水、好ましくは最大で1重量%の水、より好ましくは最大で0.5重量%の水、および最も好ましくは最大で0.1重量%の水を含むことを意味する。

【0028】

溶媒または抗溶媒（反応、結晶化など、もしくは空間格子において、および/または吸着溶媒において使用される）には、少なくとも1つのC<sub>1</sub> - C<sub>8</sub>アルコール、C<sub>2</sub> - C<sub>8</sub>エーテル、C<sub>3</sub> - C<sub>7</sub>ケトン、C<sub>3</sub> - C<sub>7</sub>エステル、C<sub>1</sub> - C<sub>2</sub>クロロカーボン、C<sub>2</sub> - C<sub>7</sub>ニトリル、多様な溶媒、C<sub>5</sub> - C<sub>12</sub>飽和炭化水素、およびC<sub>6</sub> - C<sub>12</sub>芳香族炭化水素が挙げられる。

10

【0029】

C<sub>1</sub> - C<sub>8</sub>アルコールとは、このような数の炭素有する直鎖/分枝鎖および/または環式/非環式アルコールをいう。C<sub>1</sub> - C<sub>8</sub>アルコールには、メタノール、エタノール、n - プロパノール、イソプロパノール、イソブタノール、ヘキサノール、およびシクロヘキサノールが挙げられるがこれらに限定されない。

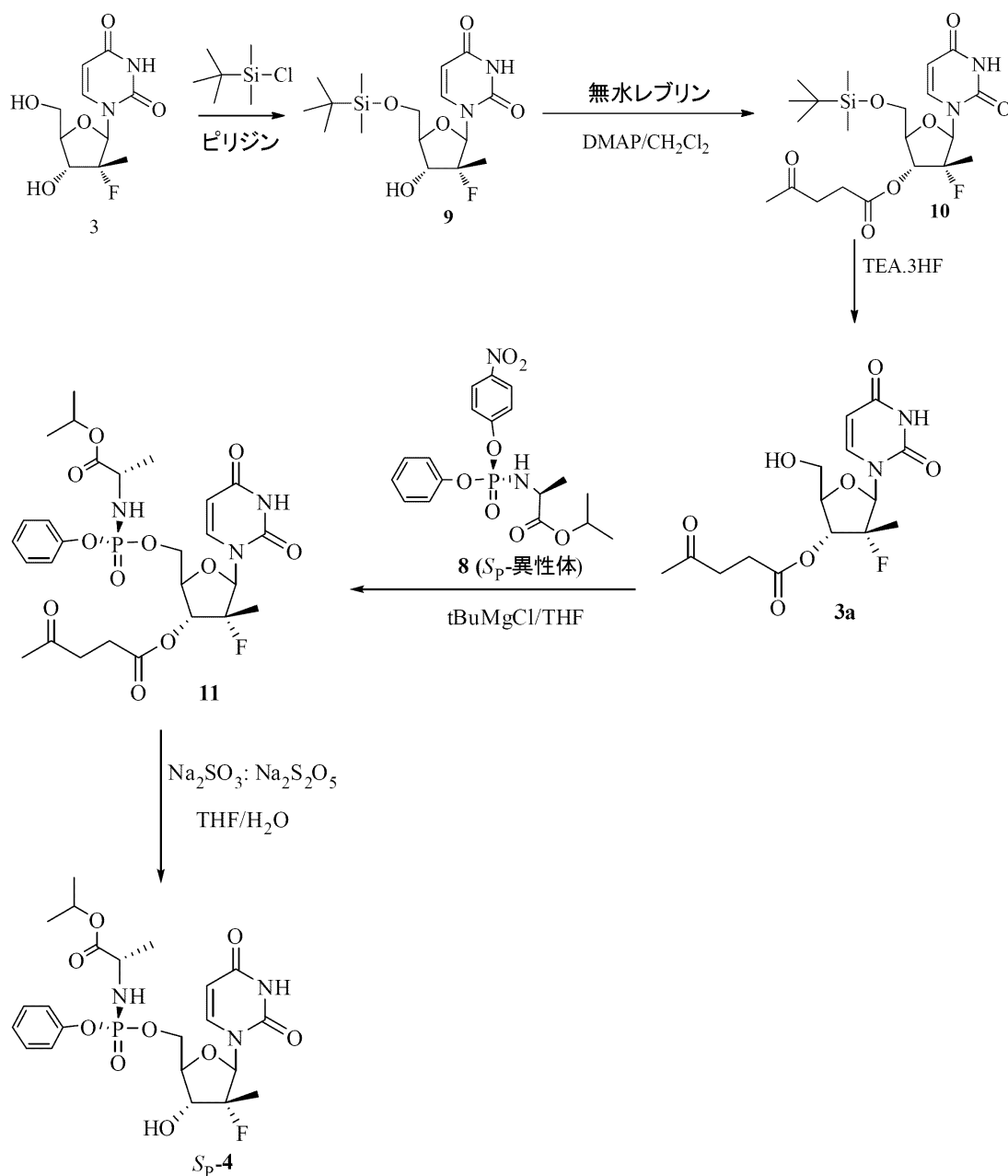
【0030】

C<sub>2</sub> - C<sub>8</sub>エーテルとは、このような数の炭素有する直鎖/分枝鎖および/または環式/非環式エーテルをいう。C<sub>2</sub> - C<sub>8</sub>エーテルには、ジメチルエーテル、ジエチルエーテル、ジ - イソプロピルエーテル、ジ - n - ブチルエーテル、メチル - t - ブチルエーテル (MTBE)、テトラヒドロフラン、およびジオキサンが挙げられるがこれらに限定されない。

20

【0031】

実施例15.3aを合成中間体として用いるS<sub>p</sub> - 4の調製



10

20

30

## 【 0 0 3 2 】

C<sub>3</sub> - C<sub>7</sub> エステルとは、このような数の炭素を有する直鎖 / 分枝鎖および / または環式 / 非環式エステルをいう。C<sub>3</sub> - C<sub>7</sub> エステルには、酢酸エチル、酢酸プロピル、酢酸 n - ブチルなどが挙げられるがこれらに限定されない。

## 【 0 0 3 3 】

C<sub>1</sub> - C<sub>2</sub> クロロカーボンとは、このような数の炭素を有するクロロカーボンをいう。C<sub>1</sub> - C<sub>2</sub> クロロカーボンには、クロロホルム、塩化メチレン ( D C M )、四塩化炭素、1, 2 - ジクロロエタン、およびテトラクロロエタンが挙げられるがこれらに限定されない。

40

## 【 0 0 3 4 】

C<sub>2</sub> - C<sub>7</sub> ニトリルとは、このような数の炭素を有するニトリルをいう。C<sub>2</sub> - C<sub>7</sub> ニトリルには、アセトニトリル、プロピオンニトリルなどが挙げられるがこれらに限定されない。

## 【 0 0 3 5 】

多様な溶媒とは、有機化学において一般的に利用されている溶媒をいい、これにはジエチレングリコール、ジグリム ( ジエチレングリコールジメチルエーテル )、1, 2 - ジメ

50

トキシ - エタン、ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド、エチレングリコール、グリセリン、ヘキサメチルホスホラミド、ヘキサメチルリントリアメ (hexamethylphosphorous triame)、N - メチル - 2 - ピロリジノン、ニトロメタン、ピリジン、トリエチルアミン、および酢酸が挙げられるがこれらに限定されない。

#### 【0036】

C<sub>5</sub> - C<sub>12</sub> 飽和炭化水素という用語は、直鎖 / 分枝鎖および / または環式 / 非環式炭化水素をいう。C<sub>5</sub> - C<sub>12</sub> 飽和炭化水素には、n - ペンタン、石油エーテル (リグロイン)、n - ヘキサン、n - ヘプタン、シクロヘキサン、およびシクロヘプタンが挙げられるがこれらに限定されない。

10

#### 【0037】

C<sub>6</sub> - C<sub>12</sub> 芳香族という用語は、それらのバックボーンとしてフェニル基を有する置換および非置換炭化水素をいう。好ましい炭化水素には、ベンゼン、キシレン、トルエン、クロロベンゼン、o - キシレン、m - キシレン、p - キシレン、キシレン類が挙げられ、トルエンがより好ましい。

#### 【0038】

本明細書で使用される「ハロ」または「ハロゲン」という用語には、クロロ、ブロモ、ヨード、およびフルオロが含まれる。

#### 【0039】

「ブロック基」という用語は、以下の特性を示す化学基をいう。この「基」は「保護化合物」から誘導される。基は、ホスホルアミデートの安定性と一致する条件下で (pH 2 - 8) 配置できる二級ヒドロキシルを超えて、一級ヒドロキシルについて選択的であり、得られる生成物に、実質的に異なる物理特性を付与し、未反応の所望の化合物から、3' - ホスホルアミデート - 5' - 新たな基の生成物のより容易な分離を可能にする。この基は、良好な収率で選択的に反応して、計画された反応に対して安定である保護された基質を与えるはずである (Protective Groups in Organic Synthesis, 3<sup>rd</sup> ed. T.W. Greene and P.G.M. Wuts, John Wiley & Sons, New York, N.Y., 1999 を参照のこと)。基の例には、ベンゾイル、アセチル、フェニル置換ベンゾイル、テトラヒドロピラニル、トリチル、DMT (4, 4' - ジメトキシトリチル)、MMT (4 - モノメトキシトリチル)、トリメトキシトリチル、ピキシル (9 - フェニルキサンテン - 9 - イル) 基、チオピキシル (9 - フェニルチオキサンテン - 9 - イル) または 9 - (p - メトキシフェニル) キサンチン - 9 - イル (MOX) など; C(O) - アルキル、C(O) Ph、C(O) アリール、CH<sub>2</sub>O - アルキル、CH<sub>2</sub>O - アリール、SO<sub>2</sub> - アルキル、SO<sub>2</sub> - アリール、tert - ブチルジメチルシリル、tert - ブチルジフェニルシリルが挙げられるがこれらに限定されない。MOMまたはTHPなどのアセタールは、可能な基と見なされている。フッ素化合物もまた、これらが化合物に結合でき、フッ素系固相抽出媒体 (Fluoro Flash (登録商標)) を通すことによって選択的に除去できる限り、意図される。特定の例には、フッ素化トリチルアナログ、トリチルアナログ 1 - [4 - (1H, 1H, 2H, 2H - パーフルオロデシル) フェニル] - 1, 1 - ジフェニルメタノールが挙げられる。トリチル、BOC、FMOC、CBzなどの他のフッ素化アナログもまた意図される。p - トルエンスルホニルクロリドのような塩化スルホニルは、5' 位で選択的に反応できる。酢酸エステルおよび安息香酸エステルなどのエステルが選択的に形成できる。無水コハク酸およびその誘導体などのジカルボン酸無水物は、遊離のカルボン酸とのエステル結合を生成するために使用でき、このような例には、オキサリル、マロニル、スクシニル、グルタリル、アジピル、ピメリル、スペリル、アゼライル、セバシル、フタリル、イソフタリル、テレフタリルなどが挙げられるがこれらに限定されない。遊離のカルボン酸は極性が劇的に増加し、炭酸水素ナトリウム溶液などの穏やかな塩基性水相に反応生成物を抽出するためのハンドルとしてもまた使用できる。ホスホルアミデート基は、酸性媒体中で比較的安定であるので、テトラヒドロピラニルなどの

20

30

40

50

酸性反応条件を必要とする基もまた使用できる。

#### 【0040】

「保護化合物」から誘導される「保護基」という用語は、その明白かつ通常の意味を有し、すなわち、少なくとも1つの保護基またはブロック基が、少なくとも1つの他の官能基の化学修飾を可能にする少なくとも1つの官能基（例えば、 $-OH$ 、 $-NH_2$  など）に結合される。保護基の例には、ベンゾイル、アセチル、フェニル置換ベンゾイル、テトラヒドロピラニル、トリチル、DMT（4, 4'-ジメトキシトリチル）、MMT（4-モノメトキシトリチル）、トリメトキシトリチル、ピキシル（9-フェニルキサンテン-9-イル）基、チオピキシル（9-フェニルチオキサンテン-9-イル）または9-（p-メトキシフェニル）キサンチン-9-イル（MOX）など； $C(O)-$ アルキル、 $C(O)Ph$ 、 $C(O)$ アリール、 $C(O)O$ （低級アルキル）、 $C(O)O$ （低級アルキレン）アリール（例えば、 $-C(O)OCH_2Ph$ ）、 $C(O)O$ アリール、 $CH_2O$ -アルキル、 $CH_2O$ -アリール、 $SO_2$ -アルキル、 $SO_2$ -アリール、少なくとも1つのケイ素原子を含む保護基、例えば、tert-ブチルジメチルシリル、tert-ブチルジフェニルシリル、 $Si$ （低級アルキル） $_2OSi$ （低級アルキル） $_2OH$ （例えば、 $-Si(iPr)_2OSi(iPr)_2OH$ ）が挙げられるがこれらに限定されない。

10

#### 【0041】

本明細書に記載され、他に規定されない限り、「保護化合物」という用語は、「保護基」を含み、保護されることが可能である官能基を含む化合物との反応が可能である化合物をいう。

20

#### 【0042】

本明細書で使用される「脱離基」という用語は、当業者に対して同じ意味を有し（Advanced Organic Chemistry: reactions, mechanisms and structure - Fourth Edition by Jerry March, John Wiley and Sons Ed.; 1992 pages 351 - 357）、基質分子の一部でありかつそれに結合している基を表し；基質分子が置換反応を受ける反応（例えば、求核試薬を用いる）において、次いで、脱離基が置き換わる。脱離基の例には、ハロゲン（F、Cl、Br、およびI）、好ましくは、Cl、Br、またはI；トシラート、メシラート、トリフラート、アセテート、カンファースルホネート、アリールオキシド、および少なくとも1つの電子求引基で置換されたアリールオキシド（例えば、p-ニトロフェノキシド、2-クロロフェノキシド、4-クロロフェノキシド、2, 4-ジニトロフェノキシド、ペンタフルオロフェノキシドなど）などが挙げられるがこれらに限定されない。「電子求引基」という用語は、本明細書でその明白な意味に従う。電子求引基の例には、ハロゲン、 $-NO_2$ 、 $-C(O)$ （低級アルキル）、 $-C(O)$ （アリール）、 $-C(O)O$ （低級アルキル）、 $-C(O)O$ （アリール）などが挙げられるがこれらに限定されない。

30

#### 【0043】

本明細書で使用される「塩基試薬」という用語は、ヒドロキシル基を脱プロトン化可能な化合物を意味する。塩基試薬の例には、アルコール性溶媒と組み合わせた（低級アルキル）オキシド（（低級アルキル）OM）が含まれるがこれらに限定されず、ここで、（低級アルキル）オキシドには、 $MeO^-$ 、 $EtO^-$ 、 $nPrO^-$ 、 $iPrO^-$ 、 $tBuO^-$ 、 $iAmO^-$ （イソ-アミルオキシド）などが含まれるがこれらに限定されず、ここで、Mは、 $Li^+$ 、 $Na^+$ 、 $K^+$ などのアルカリ金属カチオンである。アルコール性溶媒には、（低級アルキル）OH、例えば、 $MeOH$ 、 $EtOH$ 、 $nPrOH$ 、 $iPrOH$ 、 $tBuOH$ 、 $iAmOH$ などが含まれる。水素化ナトリウム、ヘキサメチルジシラザンナトリウム、ヘキサメチルジシラザンリチウム、ジイソプロピルアミドリチウム、水素化カルシウム、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、炭酸セシウム、DBU、DBN、 $MeMgCl$ 、 $MeMgBr$ 、 $tBuMgCl$ 、 $tBuMgBr$ などを含むがこれらに限定されない（低級アルキル）Mg（ハロゲン）などのグリニャール試薬などの非アルコキシ塩基もまた使用できる。

40

50

## 【 0 0 4 4 】

「塩基」という用語は「塩基試薬」という用語を包含し、プロトン含有化合物を脱プロトン化可能な化合物、すなわち、ブレンステッド塩基であることを意味する。上記に列挙された例に加えて、塩基のさらなる例には、ピリジン、コリジン、2, 6 - (低級アルキル) - ピリジン、ジメチル - アニリン、イミダゾール、N - メチル - イミダゾール、ピラゾール、N - メチル - ピラゾール、トリエチルアミン、ジ - イソプロピルエチルアミンなどが挙げられるがこれらに限定されない。

## 【 0 0 4 5 】

「電子求引基」という用語はその平易な意味に従う。電子求引基の例には、ハロゲン (F、Cl、Br、またはI)、 $-NO_2$ 、 $-C(O)$  (低級アルキル)、 $-C(O)$  (アリール)、 $-C(O)O$  (低級アルキル)、 $-C(O)O$  (アリール) などが挙げられるがこれらに限定されない。

10

## 【 0 0 4 6 】

「共結晶」という用語は、塩と組み合わせた4、 $R_p - 4$ 、または $S_p - 4$ の共結晶を含み、これには、薬学的に受容可能な塩が包含される。

## 【 0 0 4 7 】

本明細書に記載される「塩」という用語は、カチオンおよびアニオンを含む化合物をいい、これは、プロトン受容部分のプロトン化および/またはプロトン供与部分の脱プロトン化によって産生できる。プロトン受容部分のプロトン化は、その電荷が生理学的アニオンの存在によってバランスが取れているカチオン種の形成を生じるのに対して、プロトン供与部分の脱プロトン化は、電荷が生理学的カチオンの存在によってバランスが取れているアニオン種の形成を生じることが注目されるべきである。

20

## 【 0 0 4 8 】

「薬学的に受容可能な塩」という語句は、薬学的に受容可能である塩を意味する。薬学的に受容可能な塩の例には以下が挙げられるがこれらに限定されない：(1) 無機酸、例えば、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸などと形成されるか、もしくは有機酸、例えば、グリコール酸、ピルビン酸、乳酸、マロン酸、リンゴ酸、マレイン酸、フマル酸、酒石酸、クエン酸、3 - (4 - ヒドロキシベンゾイル) 安息香酸、桂皮酸、マンデル酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、1, 2 - エタン - ジスルホン酸、2 - ヒドロキシエタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、4 - クロロベンゼンスルホン酸、2 - ナフタレンスルホン酸、4 - トルエンスルホン酸、カンファースルホン酸、ラウリル硫酸、グルコン酸、グルタミン酸、サリチル酸、ムコン酸などと形成される酸付加塩、または(2) 上記に列挙された無機酸のいずれかの共役塩基と形成される塩基付加塩、ここで、この共役塩基は、 $Na^+$ 、 $K^+$ 、 $Mg^{2+}$ 、 $Ca^{2+}$ 、 $NH_4^+$ 、 $R^{g+}$  の中から選択されるカチオン性成分を含み、ここで、 $R$  は  $C_{1-3}$  アルキルであり、 $g$  は 0、1、2、3、または4の中から選択される数である。薬学的に受容可能な塩へのすべての言及には、同じ酸付加塩の、本明細書に規定されるような、溶媒付加型 (溶媒和物) または結晶型 (多形体) が含まれることが理解されるべきである。

30

## 【 0 0 4 9 】

「アルキル」という用語は、1 ~ 30 個の炭素原子を含む、非分枝鎖または分枝鎖、飽和、一価の炭化水素残基をいう。「 $C_{1-M}$  アルキル」という用語は、1 ~ M 個の炭素原子を含むアルキルをいい、ここで、M は以下の値：2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または30を有する整数である。「 $C_{1-4}$  アルキル」という用語は、1 ~ 4 個の炭素原子を含むアルキルをいう。「低級アルキル」という用語は、1 ~ 6 個の炭素原子を含む直鎖または分枝鎖炭化水素残基を示す。本明細書で使用される「 $C_{1-20}$  アルキル」は、1 ~ 20 個の炭素原子を含むアルキルをいう。本明細書で使用される「 $C_{1-10}$  アルキル」は、1 ~ 10 個の炭素を含むアルキルをいう。アルキル基の例には、メチル、エチル、プロピル、i - プロピル、n - ブチル、i - ブチル、t - ブチルまたはペンチル、イソペンチル、ネオペンチル、ヘキシル、ヘプチル

40

50

、およびオクチルが挙げられる低級アルキル基が挙げられるがこれらに限定されない。(アル)アルキルまたは(ヘテロアリール)アルキルという用語は、それぞれ、アリール基またはヘテロアリール基によって任意に置換されたアルキル基を示す。

【0050】

「アルケニル」という用語は、1個または2個のオレフィン二重結合、好ましくは、1個のオレフィン二重結合を有する2～10個の炭素原子を有する非置換炭化水素鎖基をいう。「C<sub>2</sub>～Nアルケニル」という用語は、2～N個の炭素原子を含むアルケニルをいい、ここで、Nは以下の値：3、4、5、6、7、8、9、または10を有する整数である。「C<sub>2</sub>～10アルケニル」という用語は、2～10個の炭素原子を含むアルケニルをいう。「C<sub>2</sub>～4アルケニル」という用語は、2～4個の炭素原子を含むアルケニルをいう。例には、ビニル、1-プロペニル、2-プロペニル(アリル)、または2-ブテニル(クロチル)が挙げられるがこれらに限定されない。

10

【0051】

本明細書で使用され、他に特定されない限り、「アリール」という用語は、置換または非置換の、フェニル(Ph)、ピフェニル、またはナフチルをいい、好ましくは、アリールという用語は、置換または非置換フェニルをいう。アリール基は、当業者に公知であるように、例えば、T. W. Greene and P. G. M. Wuts, 「Protective group in Organic Synthesis」3rd ed., John Wiley & Sons, 1999に教示されているように、必要に応じて、保護されていないかまたは保護されているかのいずれかである、ヒドロキシル、F、Cl、Br、I、アミノ、アルキルアミノ、アリールアミノ、アルコキシ、アリールオキシ、ニトロ、シアノ、スルホン酸、サルフェート、ホスホン酸、ホスフェート、およびホスホネートの中から選択される1つ以上の部分で置換できる。

20

【0052】

本明細書で使用され、他に特定されない限り、「アリールオキシド」という用語は、置換または非置換の、フェノキシド(PhO-)、p-フェニル-フェノキシド(p-Ph-PhO-)、またはナフトキシドをいい、好ましくは、アリールオキシドという用語は、置換または非置換のフェノキシドをいう。アリールオキシド基は、当業者に公知であるように、例えば、T. W. Greene and P. G. M. Wuts, 「Protective group in Organic Synthesis」3rd ed., John Wiley & Sons, 1999に教示されているように、必要に応じて、保護されていないかまたは保護されているかのいずれかである、ヒドロキシル、F、Cl、Br、I、-C(O)(低級アルキル)、-C(O)O(低級アルキル)、アミノ、アルキルアミノ、アリールアミノ、アルコキシ、アリールオキシ、ニトロ、シアノ、スルホン酸、サルフェート、ホスホン酸、ホスフェート、およびホスホネートの中から選択される1つ以上の部分で置換できる。

30

【0053】

「調製物」または「剤形」という用語は、活性化合物の固体と液体の両方の製剤を含むことが意図され、当業者は、所望の用量および薬物動態学的パラメーターに依存して、活性成分が異なる調製物中に存在できることを認識している。

40

【0054】

本明細書で使用される「賦形剤」という用語は、薬学的組成物を調製するために使用される化合物をいい、一般的には、安全、非毒性であり、および生物学的にも他の点でも望ましくないことはなく、そしてヒトの医薬的用途と同様に獣医学的用途のためにも受容可能な賦形剤が含まれる。

【0055】

「結晶性」という用語は、S<sub>p</sub>-4またはR<sub>p</sub>-4のいずれかの固体サンプルが、X線粉末回折または単結晶X線技術によって決定される場合に結晶特性を有する状況をいう。

【0056】

「結晶様」という用語は、S<sub>p</sub>-4またはR<sub>p</sub>-4のいずれかの固体サンプルが、1つ

50

の手段、例えば、目視的にまたは光学もしくは偏光顕微鏡法によって決定されるときに結晶特性を有するが、しかし、別の手段、例えば、X線粉末回折によって決定されるときに結晶特性を示さない状況をいう。目視によってまたは光学もしくは偏光顕微鏡法によって固体サンプルの結晶性を視覚的に決定する方法は、 $USP < 695 >$  および  $< 776 >$  に開示されており、これらの両方は参照により組み込まれる。「結晶様」である  $S_p - 4$  または  $R_p - 4$  のいずれかの固体サンプルは、特定の条件下では結晶性であり得るが、他の条件に供せられたときには非結晶性になり得る。

【 0 0 5 7 】

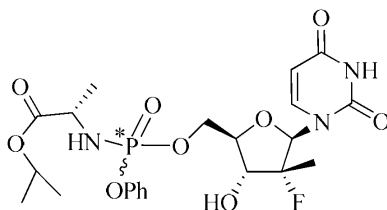
「アモルファス」という用語は、 $S_p - 4$  または  $R_p - 4$  のいずれかの固体サンプルが結晶性でも結晶様でもない状況をいう。

10

【 0 0 5 8 】

実施形態

第 1 の実施形態は化学式 4 によって表される化合物に関する：



4

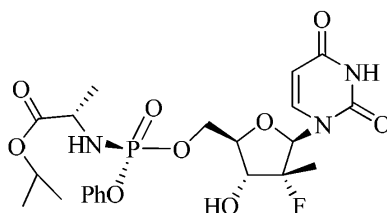
20

ここで、 $P^*$  はキラルリン原子を表す。このキラルリン原子に起因して、化学式 4 によって表される化合物は、 $R_p - 4$  および  $S_p - 4$  と称する 2 つのジアステレオマーを含む。化学式 4 によって表される化合物は、溶媒和物、水和物、または溶媒和物 / 水和物の混合物の一部でもあり得る。溶媒和物は  $4 \cdot nS$  と称するのに対して、水和物は  $4 \cdot mH_2O$  と称し、ここで、 $S$  は格子溶媒であり、 $n$  は約 0 から約 3 までの整数または整数でない量だけ変動し、 $m$  は約 0 から約 5 までの整数または整数でない量だけ変動する。最後に、化学式 4 によって表される化合物は、溶媒和物または水和物として存在しないかもしれないが、しかし、特定の有利な量の吸収された溶媒 ( $S$ ) または水を有する。この場合において、 $S$  または水の量は、化学式 4 によって表される化合物の重量に基づいて、約 0 重量 % から約 10 重量 % まで変動し得る。化学式 4 によって表される化合物およびその溶媒和物およびその水和物は、結晶性、結晶様、またはアモルファス性である。

30

【 0 0 5 9 】

第 2 の実施形態は、化学式  $R_p - 4$  によって表される化合物に関する：

 $R_p - 4$ 

40

【 0 0 6 0 】

化学式  $R_p - 4$  によって表される化合物はまた、溶媒和物、水和物、または溶媒和物 / 水和物の混合物の一部でもあり得る。溶媒和物は  $R_p - 4 \cdot nS$  と称するのに対して、水和物は  $S_p - 4 \cdot mH_2O$  と称し、ここで、 $S$  は格子溶媒であり、 $n$  は約 0 から約 3 までの整数または整数でない量によって変動し、 $m$  は約 0 から約 5 までの整数または整数でない

50



い量によって変動する。最後に、化学式  $R_p - 4$  によって表される化合物は、溶媒和物、水和物、または溶媒和物 / 水和物の混合物として存在しないかもしれないが、しかし、特定の有利な量の吸収された溶媒 (S)、水、または S と水の両方を有し得る。この場合において、S または水の量は、化学式  $R_p - 4$  によって表される化合物の重量に基づいて、約 0 重量% から約 10 重量% まで変動し得る。化学式  $R_p - 4$  によって表される化合物およびその溶媒和物およびその水和物は、結晶性、結晶様、またはアモルファス性である。

【0061】

第2の実施形態の第1の態様は結晶性  $R_p - 4$  に関する。

【0062】

第2の実施形態の第2の態様は、約：6.6、7.1、9.0、11.6、17.9、20.7、24.1、24.4、および26.2においてXRPD 2 反射(°)を有する結晶性  $R_p - 4$  に関する。

10

【0063】

第2の実施形態の第3の態様は、約：6.6、7.1、9.0、11.0、11.6、12.0、16.0、17.9、19.6、20.7、21.0、21.7、21.9、22.2、23.1、24.1、24.4、26.1、27.3、27.7、および28.2においてXRPD 2 反射(°)を有する結晶性  $R_p - 4$  に関する。

【0064】

第2の実施形態の第4の態様は、実質的に図2に示されるようなXRPD回折パターンを有する結晶性  $R_p - 4$  に関する。

20

【0065】

第2の実施形態の第5の態様は、以下のFT-IRピーク( $cm^{-1}$ )：1742、1713、1679、1460、1377、1259、1157、および1079を有する  $R_p - 4$  に関する。

【0066】

第2の実施形態の第6の態様は、実質的に図15に示されるようなFT-IRスペクトルを有する  $R_p - 4$  に関する。

【0067】

第2の実施形態の第7の態様は実質的に純粋な  $R_p - 4$  に関する。

【0068】

30

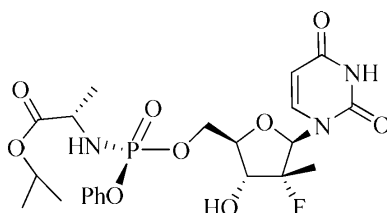
第2の実施形態の第8の態様は実質的に純粋な結晶性  $R_p - 4$  に関する。

【0069】

第2の実施形態の第9の態様は実質的に純粋なアモルファス性  $R_p - 4$  に関する。

【0070】

第3の実施形態は、化学式  $S_p - 4$  によって表される化合物に関する：



$S_p - 4$

40

【0071】

化学式  $S_p - 4$  によって表される化合物はまた、溶媒和物、水和物、または溶媒和物 / 水和物の混合物の一部でもあり得る。溶媒和物は  $S_p - 4 \cdot nS$  と称するのに対して、水和物は  $S_p - 4 \cdot mH_2O$  と称し、ここで、S は格子溶媒であり、n は約 0 から約 3 までの整数または整数でない量によって変動し、m は約 0 から約 5 までの整数または整数でない量によって変動する。最後に、化学式  $S_p - 4$  によって表される化合物は、溶媒和物ま

50

たは水和物として存在しないかもしれないが、しかし、特定の有利な量の吸収された溶媒 (S) または水を有し得る。この場合において、S または水の量は、化学式  $S_p - 4$  によって表される化合物の重量に基づいて、約 0 重量% から約 10 重量% まで変動し得る。化学式  $S_p - 4$  によって表される化合物およびその溶媒和物およびその水和物は、結晶性、結晶様、またはアモルファス性である。

【0072】

第3の実施形態の第1の態様は結晶性  $S_p - 4$  に関する。

【0073】

第3の実施形態の第2の態様は、単斜晶系結晶性  $S_p - 4$  に関し、好ましくは、以下の単位セルパラメーター  $a \sim 12.88$ 、 $b \sim 6.17$ 、 $c \sim 17.73$ 、および  $\sim 92.05^\circ$  を有する。

10

【0074】

第3の実施形態の第3の態様は、単斜晶系結晶性  $S_p - 4$  に関し、好ましくは、以下の単位セルパラメーター  $a \sim 20.09$ 、 $b \sim 6.10$ 、 $c \sim 23.01$ 、および  $\sim 112.29^\circ$  を有する。

【0075】

第3の実施形態の第4の態様は、単斜晶系結晶性  $S_p - 4$  に関し、好ましくは、以下の単位セルパラメーター  $a \sim 12.83$ 、 $b \sim 6.15$ 、 $c \sim 17.63$ 、および  $\sim 91.75^\circ$  を有する。

【0076】

20

第3の実施形態の第5の態様は、単斜晶系結晶性  $S_p - 4$  に関し、好ましくは、以下の単位セルパラメーター  $a \sim 12.93$ 、 $b \sim 6.18$ 、 $c \sim 18.01$ 、および  $\sim 96.40^\circ$  を有する。

【0077】

第3の実施形態の第6の態様は、約  $5.2$ 、 $7.5$ 、 $9.6$ 、 $16.7$ 、 $18.3$ 、 $22.2$  において XRPD 2 反射 ( $^\circ$ ) を有する結晶性  $S_p - 4$  に関する。

【0078】

第3の実施形態の第7の態様は、約  $5.0$ 、 $7.3$ 、 $9.4$ 、および  $18.1$  において XRPD 2 反射 ( $^\circ$ ) を有する結晶性  $S_p - 4$  に関する。

【0079】

30

第3の実施形態の第8の態様は、約  $4.9$ 、 $6.9$ 、 $9.8$ 、 $19.8$ 、 $20.6$ 、 $24.7$ 、および  $26.1$  において XRPD 2 反射 ( $^\circ$ ) を有する結晶性  $S_p - 4$  に関する。

【0080】

第3の実施形態の第9の態様は、約  $6.9$ 、 $9.8$ 、 $19.7$ 、 $20.6$ 、および  $24.6$  において XRPD 2 反射 ( $^\circ$ ) を有する結晶性  $S_p - 4$  に関する。

【0081】

第3の実施形態の第9の態様は、約  $5.0$ 、 $6.8$ 、 $19.9$ 、 $20.6$ 、 $20.9$ 、および  $24.9$  において XRPD 2 反射 ( $^\circ$ ) を有する結晶性  $S_p - 4$  に関する。

【0082】

40

第3の実施形態の第10の態様は、約  $5.2$ 、 $6.6$ 、 $7.1$ 、 $15.7$ 、 $19.1$ 、および  $25.0$  において XRPD 2 反射 ( $^\circ$ ) を有する結晶性  $S_p - 4$  に関する。

【0083】

第3の実施形態の第11の態様は、図3、図4、図5、図6、図7、および図8のいずれか1つに示されるもののような実質的に XRPD 回折パターンを含む結晶性  $S_p - 4$  に関する。

【0084】

第3の実施形態の第12の態様は、以下の FT-IR ピーク ( $cm^{-1}$ ) 約  $1743$ 、 $1713$ 、 $1688$ 、 $1454$ 、 $1378$ 、 $1208$ 、および  $1082$  を有する  $S_p - 4$  に関する。

50

## 【 0 0 8 5 】

第 3 の実施形態の第 1 3 の態様は、図 7 に示されるような F T - I R スペクトルを実質的に有する S<sub>p</sub> - 4 に関する。

## 【 0 0 8 6 】

第 3 の実施形態の第 1 4 の態様は、実質的に純粋な S<sub>p</sub> - 4 に関する。

## 【 0 0 8 7 】

第 3 の実施形態の第 1 5 の態様は、実質的に純粋な結晶性 S<sub>p</sub> - 4 に関する。

## 【 0 0 8 8 】

第 3 の実施形態の第 1 6 の態様は、実質的に純粋なアモルファス性 S<sub>p</sub> - 4 に関する。

## 【 0 0 8 9 】

投薬量、投与、および使用

第 4 の実施形態は、化合物 4、R<sub>p</sub> - 4、または S<sub>p</sub> - 4 のいずれかを使用する、ウイルス性因子のいずれかの治療および / または予防のための組成物に関する。可能性があるウイルス性因子には、C 型肝炎ウイルス、B 型肝炎ウイルス、A 型肝炎ウイルス、西ナイルウイルス、黄熱病ウイルス、デングウイルス、ライノウイルス、ポリオウイルス、牛ウイルス性下痢症ウイルス、日本脳炎ウイルス、またはペスチウイルス、ヘパシウイルス、またはフラバウイルスのグループに属するウイルスが挙げられるがこれらに限定されない。

## 【 0 0 9 0 】

この実施形態の 1 つの態様は、本明細書に開示されるウイルス性因子のいずれかの治療のための組成物に関し、上記組成物は、賦形剤、キャリア、希釈剤、および等価な媒体の中から選択される薬学的に受容可能な媒体、ならびに、水和物、溶媒和物、および、化合物 4、R<sub>p</sub> - 4、または S<sub>p</sub> - 4 またはその水和物およびその溶媒和物のいずれかの任意の結晶型を含むことが意図される化合物 4、R<sub>p</sub> - 4、または S<sub>p</sub> - 4 のいずれかを含む。

## 【 0 0 9 1 】

化合物 4、R<sub>p</sub> - 4、または S<sub>p</sub> - 4 は、広範な種々の経口投与剤形およびキャリア中で独立して製剤化されてもよい。経口投与は、錠剤、コーティング錠剤、ハードおよびソフトゼラチンカプセル、溶液、エマルジョン、シロップ、または懸濁液の剤形であり得る。化合物 4、R<sub>p</sub> - 4、または S<sub>p</sub> - 4 は、投与の経路の中でも、坐剤投与によって投与されるときに有効である。投与の最も便利な様式は、一般的には、疾患の重篤度および抗ウイルス医薬に対する患者の応答に従って調整できる、便利な日々の投薬レジメンを使用する経口である。

## 【 0 0 9 2 】

1 種以上の従来の賦形剤、キャリア、または希釈剤と一緒にある化合物 4、R<sub>p</sub> - 4、または S<sub>p</sub> - 4 は、薬学的組成物および単位剤形の型で配置されてもよい。薬学的組成物および単位剤形は、さらなる活性化合物を伴ってまたは伴わずに、従来の割合で従来の成分から構成されてもよく、この単位剤形は、利用される日々の意図される投薬範囲に相応する任意の適切な有効量の活性成分を含んでもよい。薬学的組成物は、経口使用のためには、錠剤もしくは充填カプセル、半固体、散剤、持続放出製剤などの固体として、または懸濁液、エマルジョン、もしくは充填カプセルなどの液体として ; あるいは直腸または膣投与のためには、坐剤の型で利用されてもよい。典型的な調製物は、約 5 % ~ 約 95 % 活性化合物 ( w / w ) を含有する。

## 【 0 0 9 3 】

化合物 4、R<sub>p</sub> - 4、または S<sub>p</sub> - 4 は単独で投与できるが、一般的には、意図される投与の経路および標準的な薬学的実務に関して選択される 1 種以上の適切な薬学的賦形剤、希釈剤、またはキャリアと混合して投与される。

## 【 0 0 9 4 】

固体剤形の調製物には、例えば、散剤、錠剤、丸薬、カプセル、坐剤、および分散性顆粒が挙げられる。固体キャリアは、希釈剤、香料、溶解剤、滑剤、懸濁剤、結合剤、保存

10

20

30

40

50

剤、錠剤崩壊剤、またはカプセル化物質としてもまた働いてもよい、1種以上の物質であってもよい。散剤中では、キャリアは、一般的には、微細に分割された活性成分と混合されている、微細に分割された固形物である。錠剤中では、活性成分は、一般的には、適切な割合の必要な結合能を有するキャリアと混合され、所望の形状およびサイズに圧縮されている。適切なキャリアには、炭酸マグネシウム、ステアリン酸マグネシウム、タルク、糖類、ラクトース、ペクチン、デキストリン、デンプン、ゼラチン、トラガカント、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、低融点ワックス、ココアバターなどが挙げられるがこれらに限定されない。固体剤形調製物は、活性成分に加えて、着色剤、香料、安定剤、緩衝剤、人工および天然の甘味料、分散剤、濃厚剤、可溶化剤などを含有してもよい。固体製剤の例は、EP 0 524 579 ; US 2 002 / 014 205 0 ; US 2 004 / 022 491 7 ; US 2 005 / 004 811 6 ; US 2 005 / 005 871 0 ; US 2 006 / 003 493 7 ; US 2 006 / 005 719 6 ; US 2 006 / 018 857 0 ; US 2 007 / 002 607 3 ; US 2 007 / 005 936 0 ; US 2 007 / 007 729 5 ; US 2 007 / 009 990 2 ; US 2 008 / 001 422 8 ; US 6 , 267 , 985 ; US 6 , 294 , 192 ; US 6 , 383 , 471 ; US 6 , 395 , 300 ; US 6 , 569 , 463 ; US 6 , 635 , 278 ; US 6 , 645 , 528 ; US 6 , 923 , 988 ; US 6 , 932 , 983 ; US 7 , 060 , 294 ; およびUS 7 , 462 , 608において例示されており、これらの各々は参照により組み込まれる。

10

#### 【0095】

20

液体製剤もまた経口投与のために適切であり、エマルジョン、シロップ、エリキシル、および水性懸濁液を含む液体製剤を含む。これらは、使用直前に液体型調製物に転換されることが意図されている固体型調製物を含む。液体製剤の例は、米国特許第3,994,974号；同第5,695,784号；および同第6,977,257号に例示されている。エマルジョンは、溶液中で、例えば、プロピレングリコール水溶液中で調製されてもよく、またはレシチン、ソルビタンモノオレエート、またはアカシアなどの乳化剤を含んでもよい。水性懸濁液は、天然または合成のガム、樹脂、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、および他の周知の懸濁剤などの粘性物質とともに、水中で微細に分けられた活性成分を分散させることによって調製できる。

#### 【0096】

30

化合物4、R<sub>p</sub>-4、またはS<sub>p</sub>-4は、坐剤としての投与のために、独立して製剤化されてもよい。脂肪酸グリセリドまたはココアバターの混合物などの低融点ワックスが最初に融解され、例えば、攪拌によって、活性成分が均質に分散される。次いで、融解された均質混合物が好都合なサイズの型に注がれ、冷却され、そして固化される。

#### 【0097】

化合物4、R<sub>p</sub>-4、またはS<sub>p</sub>-4は、膣投与のために独立して製剤化されてもよい。活性成分に加えて、このようなキャリアを含有するペッサリー、タンポン、クリーム、ゲル、ペースト、フォーム、またはスプレーは、当該分野において適切であることが知られている。特定のこれらの製剤はまた、殺精子剤を有するかまたは有さないコンドームとともに使用されてもよい。

40

#### 【0098】

薬学的キャリア、希釈剤、および賦形剤を伴う適切な製剤はRemington: The Science and Practice of Pharmacy 1995, edited by E.W. Martin, Mack Publishing Company, 19th edition, Easton, Pennsylvaniaに記載されており、本明細書によって参照により組み込まれる。訓練された製剤科学者は、本発明で意図される化合物を含有する組成物を不安定にすることなく、またはそれらの治療活性を損なうことなく、特定の経路の投与のために多数の製剤を提供するために本明細書の教示内で製剤を改変してもよい。

#### 【0099】

50

加えて、精製された化合物 4、 $R_p - 4$ 、または  $S_p - 4$  は、リポソームまたはミセルとともに独立して製剤化されてもよい。リポソームに関しては、精製された化合物は、各々が参照により組み込まれる、米国特許第 4,797,285 号；同第 5,013,556 号；同第 5,077,056 号；同第 5,077,057 号；同第 5,154,930 号；同第 5,192,549 号；同第 5,213,804 号；同第 5,225,212 号；同第 5,277,914 号；同第 5,316,771 号；同第 5,376,380 号；同第 5,549,910 号；同第 5,567,434 号；同第 5,736,155 号；同第 5,827,533 号；同第 5,882,679 号；同第 5,891,468 号；同第 6,060,080 号；同第 6,132,763 号；同第 6,143,321 号；同第 6,180,134 号；同第 6,200,598 号；同第 6,214,375 号；同第 6,224,903 号；同第 6,296,870 号；同第 6,653,455 号；同第 6,680,068 号；同第 6,726,925 号；同第 7,060,689 号；および同第 7,070,801 号に開示されるような様式で製剤化できることが意図されている。ミセルに関しては、精製された化合物は、両方とも参照により組み込まれる、米国特許第 5,145,684 号および同第 5,091,188 号に開示されるような様式で製剤化できることが意図される。

#### 【0100】

第 5 の実施形態は、以下のウイルス性因子：C 型肝炎ウイルス、西ナイルウイルス、黄熱病ウイルス、デングウイルス、ライノウイルス、ポリオウイルス、A 型肝炎ウイルス、牛ウイルス性下痢症ウイルス、および日本脳炎ウイルスのいずれか 1 つによる感染の結果である任意の状態の治療のための医薬の製造における化合物 4、 $R_p - 4$ 、または  $S_p - 4$  のいずれかの使用に関する。

#### 【0101】

「医薬」という用語は、その必要がある被験体の治療および／または予防の方法において使用される物質を意味し、ここで、この物質としては、化合物 4、 $R_p - 4$ 、または  $S_p - 4$  のいずれかを含む組成物、製剤、剤形などが挙げられるがこれらに限定されない。単独で、または本明細書に開示される別の化合物と組み合わせてのいずれかで、本明細書に開示される抗ウイルス条件のいずれかの治療のための医薬の製造における、化合物 4、 $R_p - 4$ 、または  $S_p - 4$  のいずれかの使用が意図される。医薬としては、本明細書に開示される第 4 の実施形態によって意図される組成物のいずれか 1 つが挙げられるがこれらに限定されない。

#### 【0102】

第 6 の実施形態は、その必要がある被験体における治療および／または予防の方法に関し、上記方法は、治療有効量の化合物 4、 $R_p - 4$ 、または  $S_p - 4$  のいずれかを被験体に投与することを含む。

#### 【0103】

その必要がある被験体とは、本明細書に開示されるウイルス性因子のいずれかによる感染の結果の任意の状態を有するものであり、この因子としては、C 型肝炎ウイルス、西ナイルウイルス、黄熱病ウイルス、デング (dengue) ウイルス、ライノウイルス、ポリオウイルス、A 型肝炎ウイルス、牛ウイルス性下痢症ウイルス、または日本脳炎ウイルス、フラビウイルス科のウイルスまたはペスチウイルスまたはヘパシウイルスまたは上記に列挙したウイルスのいずれかと等価であるかもしくはそれに比較し得る徴候を引き起こすウイルス性因子が挙げられるがこれらに限定されないことが意図される。

#### 【0104】

「被験体」という用語は、ウシ、ブタ、ヒツジ、ニワトリ、シチメンチョウ、パッファロー、ラマ、ダチョウ、イヌ、ネコ、およびヒトが挙げられるがこれらに限定されない哺乳動物を意味し、好ましくは、この被験体はヒトである。第 9 の実施形態の被験体を治療する方法は、単独で、または本明細書に開示される別の化合物と組み合わせてのいずれかで、本明細書に意図される化合物のいずれかであり得ることが意図される。

#### 【0105】

本明細書で使用される「治療有効量」という用語は、個体における疾患の徴候を減少させるために必要とされる量を意味する。この用量は、各特定の場合における個々の要求まで調整される。この投薬量は、治療される疾患の重篤度、患者の年齢および一般的な健康状態、患者がそれを用いて治療されている他の医薬、投与の経路および型、ならびに関与している医薬の実務者の選択および経験などの多数の要因に依存して、広い限度内で変化できる。経口投与のために、間のすべての値を含む1日あたり約0.001から約10gの間の日々の投薬量、例えば、0.001、0.0025、0.005、0.0075、0.01、0.025、0.050、0.075、0.1、0.125、0.150、0.175、0.2、0.25、0.5、0.75、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、および9.5が、単独治療および/または組み合わせ治療において適切であるはずである。特定の日々の投薬量は、1日あたり約0.01から約1gの間であり、間のすべての0.01g（すなわち、10mg）増分値を含み、好ましい日々の投薬量は1日あたり約0.01から0.8gであり、より好ましくは1日あたり約0.01から約0.6gであり、最も好ましくは、1日あたり約0.01から約0.25gであり、これらの各々は、間の0.01gのすべての増分値を含む。一般的には、治療は、ウイルスを急速に減少または抹殺するための大量の初期の「負荷用量」で開始し、続いて、感染の再発を妨害するために十分なレベルの用量まで減少させる。本明細書に記載される疾患を治療する際の当業者は、過度の実験を伴うことなく、かつ知識、経験、および本願の開示に頼って、所定の疾患および患者のための本明細書に開示される化合物の治療有効量を確定することが可能である。

#### 【0106】

治療の有効性は、血清タンパク質（例えば、アルブミン、凝固因子、アルカリホスファターゼ、アミノトランスフェラーゼ（例えば、アラントトランスアミナーゼ、アスパラギントランスアミナーゼ）、5'-ヌクレオシダーゼ、-グルタミニルトランスベプチダーゼなど）などのタンパク質レベル、ビリルビンの合成、コレステロールの合成、および胆汁酸の合成が挙げられるがこれらに限定されない肝機能の試験；炭水化物代謝、アミノ酸およびアンモニア代謝が挙げられるがこれらに限定されない肝臓代謝機能から確定できる。あるいは、治療の有効性は、HCV-RNAを測定することによってモニターされてもよい。これらの試験の結果は、用量が最適化されることを可能にする。

#### 【0107】

第6の実施形態の第1の態様は、その必要がある被験体における治療および/または予防の方法に関し、上記方法は、化合物4、R<sub>p</sub>-4、またはS<sub>p</sub>-4のいずれかによって表される治療有効量の化合物および治療有効量の別の抗ウイルス剤を被験体に投与することを包含し、ここで、この投与は同時または代替的である。代替投与の間の時間は1-24時間の間の範囲であり得、これは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、および23時間を含む間の任意の下位の範囲を含むことが理解される。

#### 【0108】

「別の抗ウイルス剤」の例には以下が挙げられるがこれらに限定されない：HCV NS3プロテアーゼ阻害剤（EP 1881001、US 2003187018、US 2005267018、WO 2003006490、WO 200364456、WO 2004094452、WO 2005028502、WO 2005037214、WO 2005095403、WO 2007014920、WO 2007014921、WO 2007014922、WO 2007014925、WO 2007014926、WO 2007015824、WO 2008010921、およびWO 2008010921を参照のこと）；HCV NS5B阻害剤（US 2004229840、US 2005154056、US 2005-98125、US 20060194749、US 20060241064、US 20060293306、US 2006040890、US 2006040927、US 2006166964、US 2007275947、US 6784166、US 20072759300、WO 2

002057287、WO 2002057425、WO 2003010141、WO  
2003037895、WO 2003105770、WO 2004000858、  
WO 2004002940、WO 2004002944、WO 200400297  
7、WO 2004003138、WO 2004041201、WO 2004065  
367、WO 2004096210、WO 2005021568、WO 20051  
03045、WO 2005123087、WO 2006012078、WO 200  
6020082、WO 2006065335、WO 2006065590、WO 2  
006093801、WO 200702602、WO 2007039142、WO  
2007039145、WO 2007076034、WO 2007088148、W  
O 2007092000、およびWO 2007095269を参照のこと)；HCV  
NS4阻害剤(WO 2005067900およびWO 2007070556を参照の  
こと)；HCV NS5a阻害剤(US 2006276511、WO 2006035  
061、WO 2006100310、WO 2006120251、およびWO 20  
06120252を参照のこと)；Toll様受容体アゴニスト(WO 2007093  
901を参照のこと)；および他の阻害剤(WO 2000006529、WO 200  
3101993、WO 2004009020、WO 2004014313、WO 2  
004014852、およびWO 2004035571を参照のこと)；および200  
8年3月21日出願された米国特許出願第12/053,015号に開示されている化  
合物(US 2010/0016251)(この内容は参照により組み込まれる)、イン  
ターフェロン、インターフェロン、ペグ化インターフェロン、リバビリン、レボビ  
リン、ピラミジン、別のヌクレオシドHCVポリメラーゼ阻害剤、HCV非ヌクレオシド  
ポリメラーゼ阻害剤、HCVプロテアーゼ阻害剤、HCVヘリカーゼ阻害剤、またはHCV  
融合阻害剤。

10

20

#### 【0109】

化合物4、R<sub>p</sub>-4、またはS<sub>p</sub>-4のいずれかが別の抗ウイルス剤と組み合わせで投  
与されるとき、活性は親の化合物を超えて増加されてもよい。治療が組み合わせ治療であ  
るとき、このような投与は、ヌクレオシド誘導体のそれに関して同時または連続的であっ  
てもよい。従って、本明細書で使用される「同時投与」とは、同じ時点または異なる時点  
での薬剤の投与を含む。2種以上の薬剤の同時の投与は、2種以上の活性成分を含有する  
単一の製剤によって、または単一の活性薬剤を有する2つ以上の剤形の実質的な同時投与  
によって、達成できる。

30

#### 【0110】

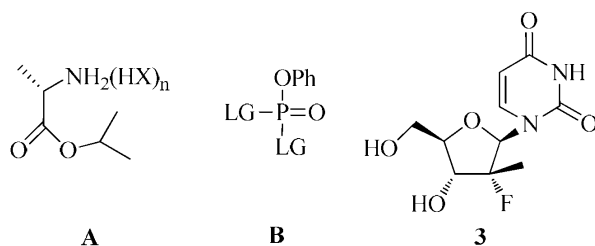
治療に対する本明細書における言及は、存在する状態の治療に対してと同様に、予防に  
対しても拡張されることが理解される。さらに、本明細書で使用される、HCV感染の「  
治療」という用語は、HCV感染と関連するか、もしくはHCV感染によって媒介される  
疾患もしくは状態、またはその臨床徴候の治療または予防もまた含む。

#### 【0111】

##### 調製

第7の実施形態は、化合物4、R<sub>p</sub>-4、またはS<sub>p</sub>-4のいずれか1つを調製するた  
めのプロセスに関し、これは、a) イソプロピル-アラニン酸、A、ジ-LG-フェニル  
リン酸、B、2'-デオキシ-2'-フルオロ-2'-C-メチルウリジン、3、および塩  
基を反応させて、S<sub>p</sub>-4およびR<sub>p</sub>-4の少なくとも1つを含む第1の混合物を得るこ  
と

40



ここで、Xは酸の共役塩基であり、nは0または1であり、およびLGは脱離基であり；  
b) 第1の混合物を保護化合物と反応させて、保護された $S_p - 4$ および保護された $R_p - 4$ の少なくとも1つを含む第2の混合物を得ること；ならびにc) 任意に、4、 $S_p - 4$ 、または $R_p - 4$ を得るために、上記第2の混合物を、結晶化、クロマトグラフィー、または抽出に供することを包含する。

【0112】

第7の実施形態の第1の態様において、イソプロピルアラニン酸はその塩酸塩として存在し、これは好ましくは、実質的に無水である。

【0113】

第7の実施形態の第2の態様において、塩基はN - メチルイミダゾールである。

【0114】

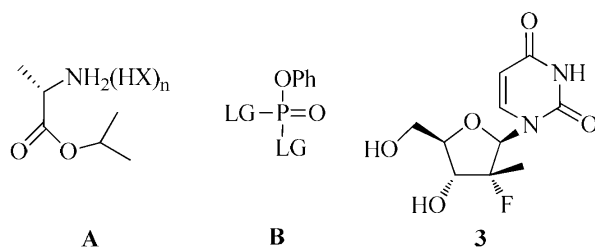
第7の実施形態の第3の態様において、A - 対 - B - 対 - 3のモル比は約1 . 6 - 対 - 1 . 3 - 対 - 1である。

【0115】

第7の実施形態の第4の態様において、保護化合物はt - ブチル - ジメチル - シリル - クロリドである。

【0116】

第8の実施形態は、 $S_p - 4$ または $R_p - 4$ を調製するためのプロセスに関し、これは、a) イソプロピル - アラニン酸、A、ジ - LG - フェニルリン酸、B、2' - デオキシ - 2' - フルオロ - 2' - C - メチルウリジン、3、および塩基を反応させて、 $S_p - 4$ および $R_p - 4$ の少なくとも1つを含む第1の混合物を得ること



ここで、Xは酸の共役塩基であり、nは0または1であり、およびLGは脱離基であり；  
ならびにb) 精製された $S_p - 4$ または $R_p - 4$ を得るために、第2の混合物を、結晶化、クロマトグラフィー、または抽出に供することを包含する。

【0117】

$R_p - 4$ を調製するための第8の実施形態の第1の態様は、溶媒中に第2の混合物または精製された $R_p - 4$ 混合物を溶解または懸濁すること；任意に、続いて結晶性 $R_p - 4$ で播種すること；および十分な抗溶媒を添加して結晶性 $R_p - 4$ を得ることによって、第2の混合物または精製された $R_p - 4$ をさらに精製することを追加的に含む。

【0118】

$S_p - 4$ を調製するための第8の実施形態の第2の態様は、d) 溶媒中に第2の混合物または精製された $S_p - 4$ を溶解または懸濁すること；続いてほぼ室温にて結晶性 $S_p -$



4を播種すること；その大部分が $S_p - 4$ を含む第1の固形物を収集すること；その還流温度で溶媒中の第1の固形物を溶解すること；および冷却しまたは十分な抗溶媒を添加して第2の固形物を得ることによって、第2の混合物または精製された $S_p - 4$ をさらに精製することを追加的に含む。

【0119】

$S_p - 4$ の調製のための第8の実施形態の第3の態様は、d)第1の溶媒中に第2の混合物または精製された $S_p - 4$ 混合物を溶解または懸濁すること；続いて第1の組成物を得るために抗溶媒を加え、ここで、残りの溶媒/抗溶媒はデカンテーションによって除去されて残渣を得ること；第1の溶媒および抗溶媒を含有する溶液でこの残渣を処理して、第2の組成物を生じ、それによって、圧力を減少する際に第1の固形物を与えること；第2の溶媒を使用して第1の固形物を溶解または懸濁して、第3の組成物を得ること； $S_p - 4$ の種結晶を第3の組成物に加えること；第2の固形物を収集すること；任意に、第3の溶媒の還流温度まで加熱された第3の溶媒中で、第2の固形物を溶解または懸濁して、第4の組成物を得ること、および、必要な場合、第4の組成物を冷却して、 $S_p - 4$ を含む第3の固形物を得、これがろ過によって収集されることによって $S_p - 4$ をさらに精製することを追加的に含む。

【0120】

$S_p - 4$ の調製のための第8の実施形態の第4の態様において、d)第2の混合物または精製された $S_p - 4$ にシリカゲルを添加し、続いて溶媒のエバポレーションを行って乾燥スラリーを与えること；この乾燥スラリーを第1の溶媒/抗溶媒の組み合わせの中で攪拌して、第1のウェットスラリーを得ること；第1のウェットスラリーから第1の溶媒/抗溶媒の組み合わせをデカントして、第2のウェットスラリーおよび第1の組成物を得ること；第2のウェットスラリーに第2の溶媒/抗溶媒の組み合わせを加え、続いて攪拌を行うこと；第2のウェットスラリーから第2の溶媒/抗溶媒の組み合わせをデカントして、第3のウェットスラリーおよび第2の組成物を得ること；任意に、第3のウェットスラリーまたはさらなるウェットスラリー上で工程g) - h)を反復すること；第2の組成物、および選択的に、選択的な工程i)から得られる任意のさらなる組成物から溶媒をエバポレートして、第1の固形物を得ること；第3の溶媒および任意に第4の溶媒を含む溶液中に第1の固形物を溶解または懸濁して、第3の組成物を得ること；任意に、第3の組成物に $S_p - 4$ の種結晶を加えること；第3の組成物から、 $S_p - 4$ を含む第2の固形物を得ること；および任意に、第3の溶媒を使用して、第2の固形物を再結晶化して、 $S_p - 4$ を含む第3の固形物を得ることにより、 $S_p - 4$ は、第2の混合物または精製された $S_p - 4$ によってさらに精製される。

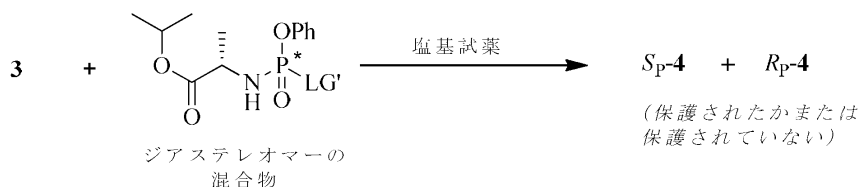
【0121】

当業者は、化合物が、伝統的な抽出、伝統的な結晶化、または伝統的なクロマトグラフィー技術により分離できることを認識している。伝統的なクロマトグラフィー技術には、1つの異性体のレベルを増強し(50 - 100%)、次いでそれを結晶化するためのシリカゲル上のクロマトグラフィー(例えば、DCM中の3 - 5%メタノールまたはDCM中の4 - 6%イソプロパノールを使用する)が挙げられるがこれらに限定されない。あるいは、逆相クロマトグラフィーを使用できる(例えば、1 - 30%アセトニトリル - 水移動相を使用する)。さらに、化合物は、主要な溶媒としての二酸化炭素および修飾剤としてのメタノールなどのアルコールを用いる超臨界流体クロマトグラフィーSFCによって、好ましくは、Daicel Chiral pack IAなどの適切なキラル媒体を使用して単離できる。あるいは、SMBクロマトグラフィーは、Daicel Chiral Pack IAなどの適切なキラル媒体を使用して、ヘキサン/イソプロパノールなどの溶媒の混合物または酢酸エチルなどの単一溶媒を使用して利用されてもよい。

【0122】

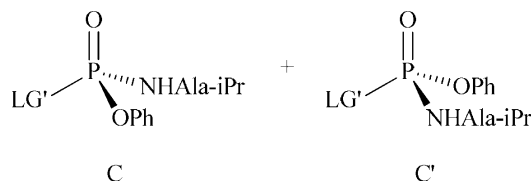
第9の実施形態は、 $S_p - 4$ を調製するためのプロセスに関し、このプロセスは：a)イソプロピル - アラニル - ホスホルアミデートを3' - O - 保護されたかまたは保護されていない3、および塩基試薬と反応させて、保護されたかまたは保護されていない $S_p -$

4 を含む組成物を得ることを包含し



10

ここで、イソプロピル - アラニル - ホスホルアミデートは、以下の構造によって表されるジアステレオマーの混合物から構成され：



20

ここで、C : C' の比率は約 1 : 1 である。

【 0 1 2 3 】

第 1 の態様において、塩基試薬は t - ブチルマグネシウムクロリドであり、C : C' の比率は約 1 : 1 以上である。

【 0 1 2 4 】

第 2 の態様において、塩基試薬は t - ブチルマグネシウムクロリドであり、C : C' の比率は約 1 : 1 より大きい。

【 0 1 2 5 】

第 3 の態様において、塩基試薬は t - ブチルマグネシウムクロリドであり、C : C' の比率は、少なくとも約 1 . 5 : 1、約 2 . 3 : 1、約 4 : 1、約 5 . 7 : 1、約 9 : 1、約 19 : 1、約 32 . 3 : 1、約 49 : 1、または約 99 : 1 である。

30

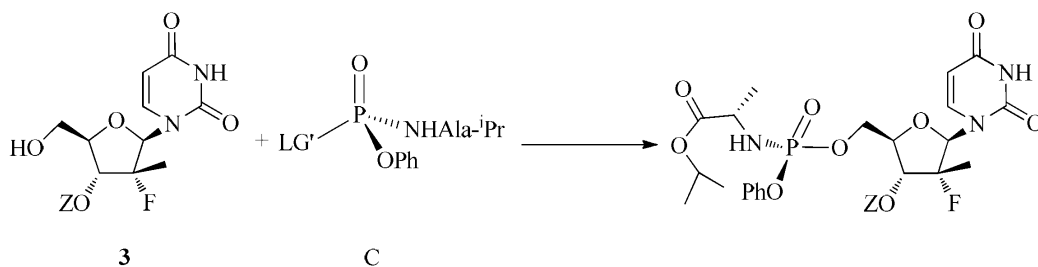
【 0 1 2 6 】

第 4 の態様において、L G' は p - ニトロフェノキシドであり、塩基試薬は t - ブチルマグネシウムクロリドであり、C : C' の比率は少なくとも約 1 . 5 : 1、約 2 . 3 : 1、約 4 : 1、約 5 . 7 : 1、約 9 : 1、約 19 : 1、約 32 . 3 : 1、約 49 : 1、または約 99 : 1 である。

【 0 1 2 7 】

S<sub>p</sub> - 4 を調製するための第 5 の態様は、a ) イソプロピル - アラニル - ホスホルアミデート (C) を 3' - O - 保護されたかまたは保護されていない 3、および塩基試薬と反応させて、保護されたかまたは保護されていない S<sub>p</sub> - 4 を含む組成物を得ること

40

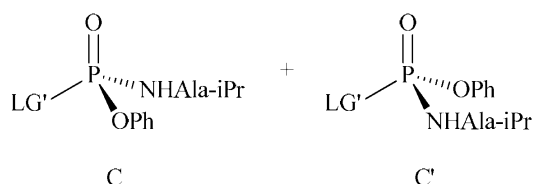


50

ここで、Zは保護基または水素であり、LG'は脱離基であり；ならびにb)任意に、精製された、保護されたかまたは保護されていない $S_p - 4$ を得るために、得られた保護されたかまたは保護されていない $S_p - 4$ を、クロマトグラフィー、抽出、または結晶化に供することを包含する。下位の実施形態において、LG'は、トシレート、カンファースルホン酸、または少なくとも1つの電子求引基で置換されたアリールオキシドであり；より好ましくは、LG'は、p-ニトロフェノキシド、2,4-ジニトロフェノキシド、およびペンタフルオロフェノキシドの中から選択される。さらなる下位の実施形態において、 $S_p - 4$ が保護される時、すなわち、Zが水素ではないとき、第9の実施形態のプロセスは、保護された $S_p - 4$ を脱保護することにさらに関する。さらなる下位の実施形態において、反応は、単独で、または互いにもしくはアセトニトリルなどの $C_2 \sim C_7$ ニトリルと組み合わせたかのいずれかのものである、テトラヒドロフランまたは別のエーテル性溶媒などの極性非プロトン性溶媒中で行われる。

# 【0128】

第9の実施形態のプロセスは、1)LGがLG'とは無関係に脱離基である、 $(LG')P(O)(LG)_2$ を、(i) $(LG')P(O)(LG)(Ala-iPr)$ を得、続いて、 $(LG')P(O)(LG)(Ala-iPr)$ をフェノールおよび第2の塩基と反応させてCおよびC'を含む混合物を得るためのイソプロピル-アラニン酸および第1の塩基と、(ii) $(LG')P(O)(LG)(OPh)$ を得、続いて、 $(LG')P(O)(LG)(OPh)$ をイソプロピル-アラニン酸および第2の塩基と反応させてCおよびC'を含む混合物を得るためのフェノールおよび第1の塩基と、もしくは(iii)CおよびC'を含む混合物を得るためのイソプロピル-アラニン酸、フェノール、および少なくとも1種の塩基の組み合わせと反応させること；または2)LG'がLGとは無関係に脱離基である $(PhO)P(O)(LG)_2$ を、(i) $(PhO)P(O)(LG)(Ala-iPr)$ を得、続いて、 $(PhO)P(O)(LG)(Ala-iPr)$ を脱離基前駆体および第2の塩基と反応させて、CおよびC'を含む混合物を得るためのイソプロピル-アラニン酸および第1の塩基と反応させること、



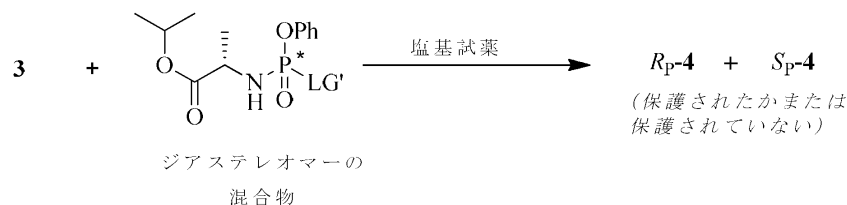
ならびにこの混合物を、クロマトグラフィーまたは結晶化に供して、Cを得ることをさらに包含する。

# 【0129】

第9の実施形態の1つの態様において、イソプロピルアラニン酸がその塩酸塩型で存在し、これは好ましくは実質的に無水である。

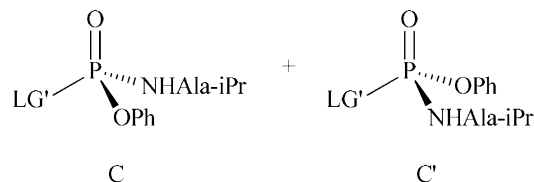
# 【0130】

第10の実施形態は、 $R_p - 4$ を調製するためのプロセスに関し、このプロセスは、a)イソプロピル-アラニル-ホスホルアミデートを、3'-O-保護されたかまたは保護されていない3、および塩基試薬と反応させて、保護されたかまたは保護されていない $R_p - 4$ を含む組成物を得ることを包含し



ここで、イソプロピル - アラニル - ホスホルアミデートは、以下の構造によって表されるジアステレオマーの混合物から構成され：

10



ここで、C' : C の比率は約 1 : 1 である。

【 0 1 3 1 】

20

第 1 の態様において、塩基試薬は t - ブチルマグネシウムクロリドであり、C' : C の比率は約 1 : 1 以上である。

【 0 1 3 2 】

第 2 の態様において、塩基試薬は t - ブチルマグネシウムクロリドであり、C' : C の比率は約 1 : 1 より大きい。

【 0 1 3 3 】

第 3 の態様において、塩基試薬は t - ブチルマグネシウムクロリドであり、C' : C の比率は、少なくとも約 1 . 5 : 1、約 2 . 3 : 1、約 4 : 1、約 5 . 7 : 1、約 9 : 1、約 19 : 1、約 32 . 3 : 1、約 49 : 1、または約 99 : 1 である。

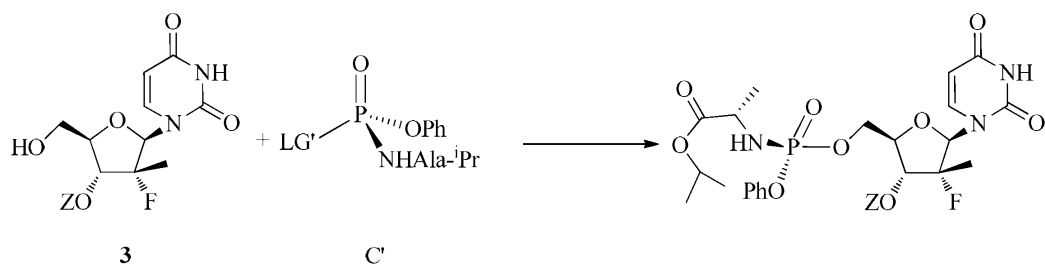
【 0 1 3 4 】

30

第 4 の態様において、L G' は p - ニトロフェノキシドであり、塩基試薬は t - ブチルマグネシウムクロリドであり、C' : C は少なくとも約 1 . 5 : 1、約 2 . 3 : 1、約 4 : 1、約 5 . 7 : 1、約 9 : 1、約 19 : 1、約 32 . 3 : 1、約 49 : 1、または約 99 : 1 である。

【 0 1 3 5 】

R<sub>p</sub> - 4 を調製するための第 5 の態様は、a ) イソプロピル - アラニル - ホスホルアミデート (C') を 3' - O - 保護されたかまたは保護されていない 3、および塩基試薬と反応させて、保護されたかまたは保護されていない R<sub>p</sub> - 4 を含む組成物を得ること



40

ここで、Z は保護基または水素であり、L G' は脱離基であり；および b ) 任意に、得られた、保護されたかまたは保護されていない R<sub>p</sub> - 4 を得るために、保護されたかまたは

50

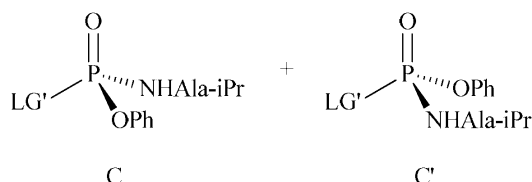
保護されていない  $R_p - 4$  を、クロマトグラフィー、抽出、または結晶化に供することを包含する。下位の実施形態において、 $LG'$  は、トシレート、カンファースルホン酸、または少なくとも1つの電子求引基で置換されたアリールオキシドであり；より好ましくは、 $LG'$  は、 $p$ -ニトロフェノキシド、2,4-ジニトロフェノキシド、およびペンタフルオロフェノキシドの中から選択される。さらなる下位の実施形態において、 $R_p - 4$  が保護されるとき、すなわち、 $Z$  は水素ではなく、第9の実施形態のプロセスは、保護された  $R_p - 4$  を脱保護することに関する。さらなる下位の実施形態において、反応は、単独で、または互いにもしくはアセトニトリルなどの  $C_2 \sim C_7$  ニトリルと組み合わせたか、いずれかのものである、テトラヒドロフランまたは別のエーテル性溶媒などの極性非プロトン性溶媒中で行われる。

10

## 【0136】

第10の実施形態のプロセスは、1)  $LG$  が  $LG'$  とは無関係に脱離基である、 $(LG')P(O)(LG)_2$  を、(i)  $(LG')P(O)(LG)(Ala-iPr)$  を得、続いて、 $(LG')P(O)(LG)(Ala-iPr)$  をフェノールおよび第2の塩基と反応させて  $C$  および  $C'$  を含む混合物を得るためのイソプロピル-アラニン酸および第1の塩基と、(ii)  $(LG')P(O)(LG)(OPh)$  を得、続いて、 $(LG')P(O)(LG)(OPh)$  をイソプロピル-アラニン酸および第2の塩基と反応させて  $C$  および  $C'$  を含む混合物を得るためのフェノールおよび第1の塩基と、もしくは(iii)  $C$  および  $C'$  を含む混合物を得るためのイソプロピル-アラニン酸、フェノール、および少なくとも1種の塩基の組み合わせと反応させること；または2)  $LG'$  が  $LG$  とは無関係に脱離基である  $(PhO)P(O)(LG)_2$  を、(i)  $(PhO)P(O)(LG)(Ala-iPr)$  を得、続いて、 $(PhO)P(O)(LG)(Ala-iPr)$  を脱離基前駆体および第2の塩基と反応させて、 $C$  および  $C'$  を含む混合物を得るためのイソプロピル-アラニン酸および第1の塩基と反応させること、

20



30

ならびにこの混合物を、クロマトグラフィーまたは結晶化に供して、 $C'$  を得ることをさらに包含する。第9の実施形態の1つの態様において、イソプロピルアラニン酸がその塩酸塩型で存在し、これは好ましくは実質的に無水である。

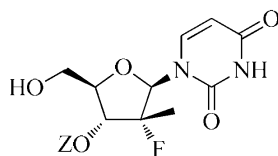
## 【0137】

第11の実施形態は、第7の実施形態、第8の実施形態、第9の実施形態、または第10の実施形態、ならびにそれらのそれぞれの態様に列挙されるプロセスによって得られる組成物に関する。第11の実施形態の1態様は、以下に開示される例示的な実施形態のいずれか1つによって得られる組成物に関する。そのように得られる組成物は、結晶性、結晶様、アモルファス性、またはこれらの組み合わせであり得る。

40

## 【0138】

第12の実施形態は化合物3に関し



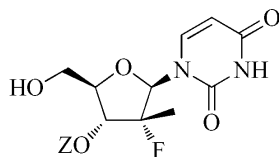
3

50

ここで、Zは保護基または水素であり；これはR<sub>p</sub>-4またはS<sub>p</sub>-4の調製のために有用である。

【0139】

第12の実施形態の第1の態様は、以下の構造を有する化合物の中から選択される。



10

3a: Z = -C(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)CH<sub>3</sub>

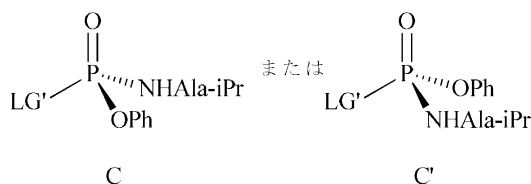
3b: Z = -C(O)OCH<sub>2</sub>Ph

3c: Z = -Si(Me)<sub>2</sub><sup>t</sup>Bu

3d: Z = -Si(<sup>t</sup>Pr)<sub>2</sub>OSi(<sup>t</sup>Pr)<sub>2</sub>OH

【0140】

第13の実施形態は、以下の構造によって表される化合物、その塩、水和物、溶媒和物、またはその組み合わせに関する。



20

ここで、LG'は脱離基であり、これは、R<sub>p</sub>-4またはS<sub>p</sub>-4の調製のために有用である。

【0141】

第13の実施形態の第1の態様において、LG'はトシレート、カンファースルホン酸、アリールオキシド、または少なくとも1つの電子求引基で置換されたアリールオキシドである。

30

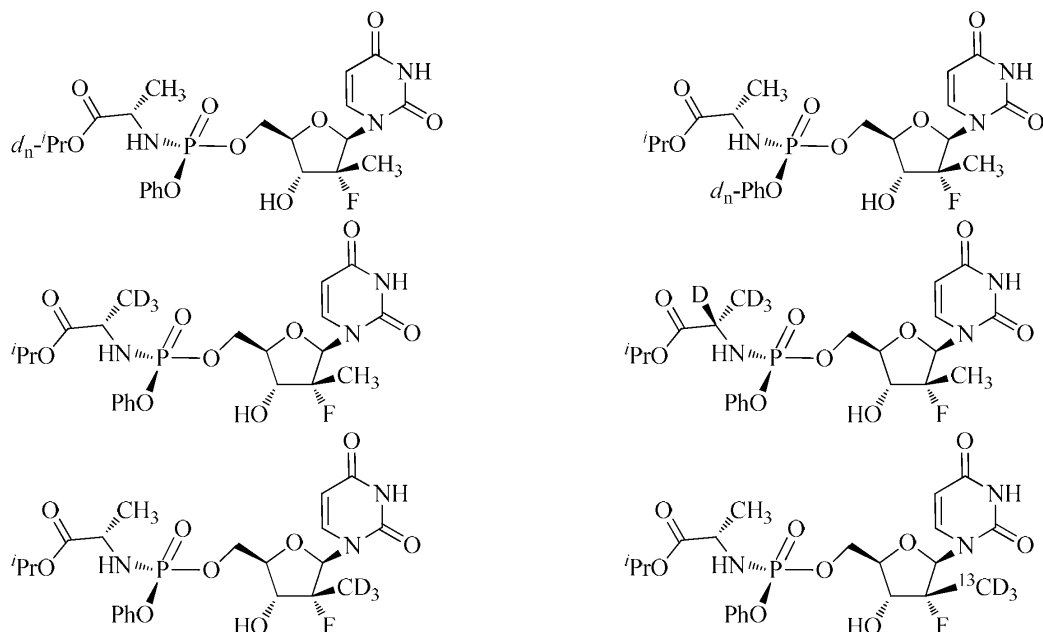
【0142】

第13の実施形態の第2の態様において、LG'は、p-ニトロフェノキシド、2,4-ジニトロフェノキシド、およびペンタフルオロフェノキシドの中から選択される。

【0143】

第14の実施形態は、アイソトープ標識されたR<sub>p</sub>-4またはS<sub>p</sub>-4のアナログに関する。「アイソトープ標識された」アナログという用語は、「重水素置換されたアナログ」、「<sup>13</sup>C標識されたアナログ」、または「重水素置換/<sup>13</sup>C標識されたアナログ」であるR<sub>p</sub>-4またはS<sub>p</sub>-4のアナログに関する。「重水素置換されたアナログ」という用語は、<sup>1</sup>H-アイソトープ、すなわち、水素(H)が、<sup>2</sup>H-アイソトープ、すなわち、重水素(D)によって置換されている、本明細書に記載されている化合物を意味する。重水素置換は部分的または完全であり得る。部分的重水素置換とは、少なくとも1つの水素が少なくとも1つの重水素によって置換されていることを意味する。例えば、R<sub>p</sub>-4またはS<sub>p</sub>-4については、当業者は、少なくとも以下の部分重水素置換アナログ(「d<sub>n</sub>」は重水素原子のn数を表し、例えば、イソプロピル基については、n = 1 - 7であるのに対し、フェニル基については、n = 1 - 5である)、ならびに以下に示されるものを意図することができる。

40



10

## 【 0 1 4 4 】

20

上記に示されたメチル基は完全に重水素置換されたものとして示されているが、部分的に重水素置換されたバリエーションもまた可能であり、例えば、 $-CDH_2$  および  $-CD_2H$  であることが認識される。フラノンおよび塩基上のアイソトープ標的もまた意図される。同様に、「 $^{13}C$  標識アナログ」および「重水素置換/ $^{13}C$  標識アナログ」という用語は、それによって、炭素原子が  $^{13}C$  アイソトープで富化されており、富化の程度が通常の天然の豊富さの約 1.1% を超えることを意味する、本明細書に記載される化合物をいう。

## 【 実施例 】

## 【 0 1 4 5 】

例として制限されるのではなく、以下の実施例は、本開示のより良好な理解を容易にするように働く。

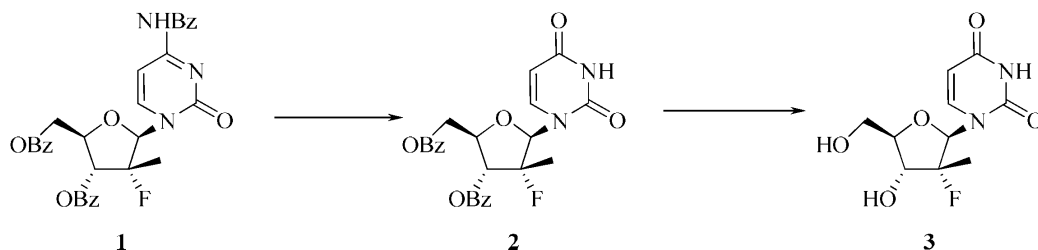
30

## 【 0 1 4 6 】

## 合成の態様

ウリジンヌクレオシドを調製するために、パイロットプラントスケールですでに効率的に製造された特定の 3', 5' - ジアシル化アナログ (以下を参照のこと) の合成における進行したトリベンゾイル化シチジン中間体を利用できる (WO 2006/031725 または US 2006/0122146 を参照のこと、これらの両方は、それらの全体が参照により組み込まれる)。以下の方法は、スケール変更可能でありかつコスト効果が優れていることが見出された。

40



## 【 0 1 4 7 】

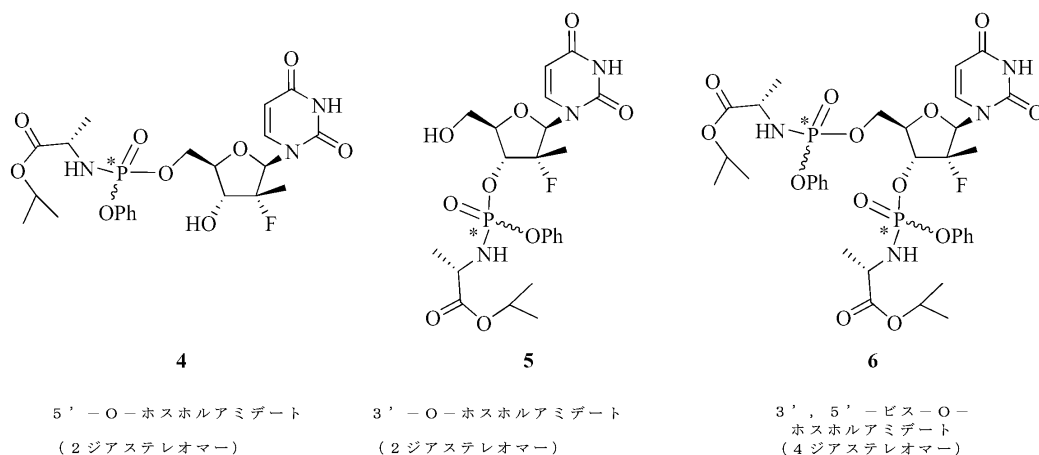
3', 5' - O - ジベノジル - 2' - デオキシ - 2' - フルオロ - 2' - C - メチル - N<sup>4</sup> - ベンゾイルシチジン (1) は、WO 2006/031725 および WO 2008/

50

045419に開示されている方法によって得られ、この両方はその全体が参照により組み入れられる。1は70%酢酸水溶液で処理されて、3', 5'-O-ジベノジル-2'-デオキシ-2'-フルオロ-2'-C-メチル-ウリジン(2)を形成する。ベンゾイルエステルは、同様に多数の方法、例えば、アルコール性溶媒中のアルコキシド、例えば、メタノール中のナトリウムメトキシド、メタノール中の炭酸カリウム、またはエタノールアナログ、メタノール中のアルキルアミン、例えば、メチルアミン、ブチルアミンなどによって加水分解できる。メタノール性アンモニアは、大スケール研究のために選択された。ウリジン生成物(3)は結晶化によって精製されて、トリベンゾイル化シチジン(1)から70%収率で生じることができる。

#### 【0148】

多くの文献の手順が、数倍当量の試薬を使用してホスホルアミデートを作製するための異なる経路および条件を詳述している。例えば、McGuigan et al., J. Med. Chem. 2005, 48, 3504-3515 and McGuigan et al., J. Med. Chem. 2006, 49, 7215を参照のこと。プロセススケールの研究において、現在公知の唯一の例が存在し、これはLehsten et al., Org. Process Res. Dev. 2002, 6, 819-822(「Lehsten」)に開示されている。この文献において、著者らは、「ワンポット手順」の概念を提出しており、ここでは、アミノ酸塩酸塩およびジクロロリン酸フェニルが、ジクロロメタン中のN-メチルイミダゾールと一緒に反応される。その後、ヌクレオシドは、所望の5'-O-ホスホルアミデート生成物を形成するために加えられ、これは、本件の場合、化学式4によって表される化合物を生じる。不運にも、Lehsten手順は欠点がある。例えば、Lehsten手順は、必要とされるよりもはるかに大量の試薬を利用し、これは、クロマトグラフィー精製のコストおよび困難さを増大した。さらに、Lehstenは、より低い温度およびヌクレオシドの遅い付加を使用することを通じた文献の参照と比較して、3'-ヒドロキシルよりも5'-ヒドロキシルに対する反応選択性を制御し得ることを示唆している。



#### 【0149】

本明細書に開示される化合物のためにLehsten手順を使用することは、約1-5%のモノ置換3'-O-ホスホルアミデートジアステレオマー(5)および約10-30%のビス置換生成物(6)を提供した。3'-ジアステレオマーの極性が所望の5'-ジアステレオマー(4)に非常に類似していたので、クロマトグラフィー分離は非常に困難であった。プロセスをスケールアップすることは、より低極性の5'-ジアステレオマー(4)の実質的な部分を廃棄することなしに、または3'-ジアステレオマー(5)の高レベルの夾雑を受け入れることなしでは、ほぼ不可能であった。最初の50gスケールアップにおいて、得られた生成物は、低極性の5'-ジアステレオマー(diastereomer)(4)と同時に溶出した、約3%の3'-ジアステレオマー(5)の夾雑を含有



した。

【0150】

より少ない量の試薬を使用する反応条件および不純物3'-O-ホスホルアミデートジアステレオマー(5)を、容易なクロマトグラフィー分離を用いて選択的に除去し、それによって、はるかにより高い純度である所望の5'-O-ホスホルアミデートジアステレオマー(4)を与えるための方法が本明細書に開示される。

【0151】

試薬の化学量論のために、Lehstenが報告したのと同様に、試薬の化学量論が体系的に変化される研究が行われ、結果は粗反応のリンNMRによってモニターされた。より首尾よい実行において、所望の生成物の単離収率および純度が比較された。一級5'-ヒドロキシルが2級3'-ヒドロキシルよりも速い速度で反応することが観察された。これは、すべての出発ヌクレオシドを消費することと、5'-および3'-モノ置換生成物(4および5)を5', 3'-ビス置換生成物(6)に転換することの反応進行間の競合する状況を生じる。3'-モノ置換生成物は、5'-モノ置換生成物よりも速くビス生成物に転換するので、反応をビス置換生成物に推進させることによって、3'-ジアステレオマー夾雑レベルを減少させることが可能である。しかし、3'-ジアステレオマーを除去するための効果的な方法を用いると、反応は、多くの5'-ジアステレオマーがビス置換物(6)に転換されるような犠牲を払う必要なく、多くの所望の5'-ジアステレオマーを産生するように最適化できる。アミノ酸塩酸塩は非常に吸湿性であることもまた観察された。存在する任意の水が当量のフェニルジクロロリン酸試薬を消費するので、アミノ酸が実質的に無水物であることを維持するように注意が払われなければならないか、またはこれは使用前に実質的に無水にするべきである。手短に述べると、Lehstenは、アミノ酸対フェニルジクロロリン酸対ヌクレオシドの最適な比率は、それぞれ、3.5:2.5:1であると報告した。3'-ジアステレオマーが効果的に除去できる条件下で、かつアミノ酸塩酸塩が実質的に無水であるときには、約1.6対約1.3対約1のアミノ酸対フェニルジクロロリン酸対ヌクレオシドの最適な比率が最適であることが見い出された。少量の試薬を使用することによって、試薬の副産物からおおよび減少したレベルのビスジアステレオマーからの所望の生成物のクロマトグラフィー分離の単純化と組み合わせて、コストの削減が実現される。

【0152】

1つの代替的な手順において、3の3'-ヒドロキシ-ブロック誘導体は、t-ブチルジメチルシリルブロッキング基を使用して、2段階で調製された。次いで、これは、その5'-ホスホルアミデート誘導体に転換された。次いで、シリル基が除去でき、そこで3'異性体(5)または3', 5'-ビスホスホルアミデート(6)が存在しないという欲求がある。同様のアプローチは、Borch and Fries(米国特許第5,233,031号)によって、アルキルホスホルアミデートに対して、より低い全体の収率で実証された。

【0153】

別の代替のアプローチは、直接合成を使用し、次いで、分離を補助するために所望の5'-ジアステレオマー4から3'-ジアステレオマーの不純物5を識別することを補助するための化学を使用することであった。所望の5'-O-ホスホルアミデート4の遊離の2級ヒドロキシルを超えて、3'-O-ホスホルアミデート不純物5の遊離の一級ヒドロキシルと選択的に反応する基が所望される。ブロッキング基は、所望の5'-O-ホスホルアミデート4から生じる5'-O-ブロックされた3'-O-ホスホルアミデート生成物の極性を有意に変化させることもまた所望される。所望の5'-ジアステレオマー4が変化しないので、ブロッキング基を除去するために余分の工程は必要とされない。次いで、化学的に変化した3'-ジアステレオマーは、より容易なクロマトグラフィー分離または特別な除去支持体もしくは抽出による分離を可能にする。

【0154】

具体的には、ブロッキング基tert-ブチルジメチルシリル(tBDMs)はこれら

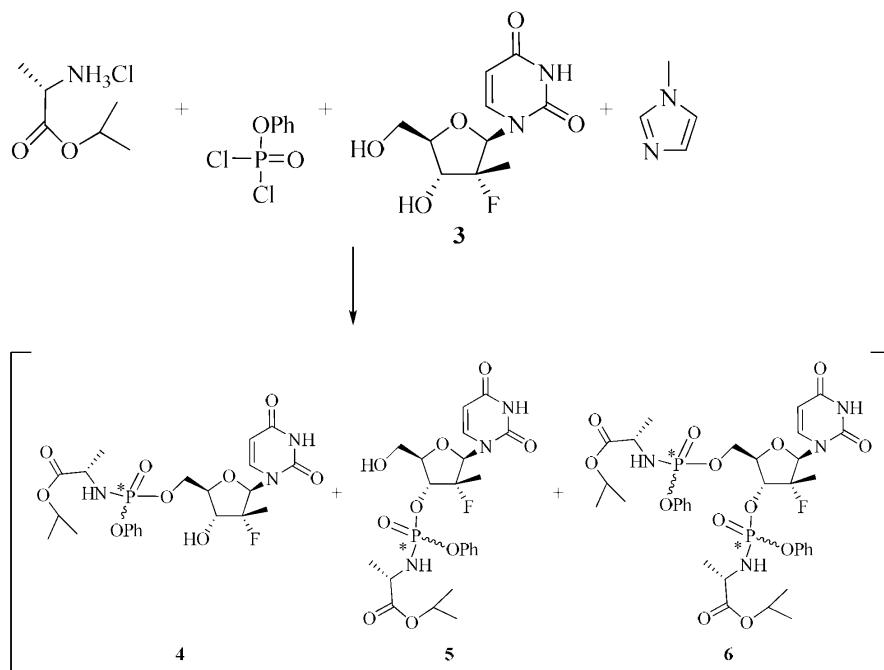
の判断基準に合致し、実証され、続いてマルチキログラムスケールで使用されるための最初のものであった。溶媒および塩基としてのピリジン中などの特定の条件下では、t B D M S 基は、3'二級ヒドロキシル位を超えて、一級ヒドロキシル位において高い選択性で反応する。このホスホルアミデート反応は、N - メチルイミダゾール ( N M I ) を塩基として使用する。N M I の存在下では、シリル化は選択性が低い。好ましくは、N M I の量は減少されるべきである。これは、1 N 塩酸で反応溶液を洗浄することによって、ホスホルアミデート反応後に容易に達成できる。N M I および残存する出発ヌクレオシドが除去され、モノおよびビス置換生成物ならびに試薬副産物の粗混合物を残す。次いで、これはピリジンに溶解され、t e r t - プチルジメチルシリルクロリドで処理される。3' - モノ置換生成物 5 は、数時間以内に、5' - O - t B D M S - 3' - O - ホスホルアミデート 7 に転換される。反応の進行は、H P L C によってモニターできる。このシリル化生成物 7 の極性はビスホスホルアミデート 6 よりも低く、クロマトグラフィーによって容易に除去される。この方法を使用すると、シリル化処理を伴わない 1 - 3 % と比較して、0 . 1 % 未満の 5' - 生成物 4 まで、3' - モノホスホルアミデート 5 のレベルを減少することが可能であった。同様に、同じ条件下でのジメトキシトリフェニルメチルクロリド ( D M T - C l ) を用いる処理は、ほぼ同様に機能した。D M T 含有分子は加熱または酸への曝露に際して茶色がかかったオレンジ色に染まるので、T L C によって D M T 反応生成物を同定することもまたより容易であった。上記に記述されるように、多くの他のブロッキング基を使用することもまた想定できる。

#### 【 0 1 5 5 】

これらの反応条件と 3' - 不純物の除去の両方が一般的な方法であり、遊離の 3' ヒドロキシルを有する多くのヌクレオシドホスホルアミデートに適用できる。ホスホルアミデート部分は、アミノ酸エステルと芳香族アルコールの任意の組み合わせであり得る。ヌクレオシド部分は、5' ホスホルアミデートが 5' - モノリン酸をもたらし、さらに 5' - トリリン酸型に代謝できる任意のヌクレオシドであり得る。

#### 【 0 1 5 6 】

以下のスキームは、2' - デオキシ - 2' - フルオロ - 2' - C - メチルウリジンのイソプロピル L - アラニン酸フェニルホスホルアミデートを作製するために図示される主な反応スキームであり、所望の 5' - O - ホスホルアミデート ( 4、2 種のジアステレオマー ) としての主生成物および 3' - O - ホスホルアミデート ( 5、2 種のジアステレオマー ) および 3' , 5' - ビス - O - ホスホルアミデート ( 6、4 種のジアステレオマー ) としての微量生成物を伴う。試薬は、調製セクションの方法において記載されるように、化学量論的比率で加えられる。反応は、薄層クロマトグラフィー ( T L C ) 上での U V 可視化によって判断されるように、約 5 % の出発物質が残るまで進行させられる。また、U P L C / M S は、所望の 5' - 生成物と比較して、約 1 0 % の 3' , 5' ビス - ホスホルアミデート 6 が形成したことを示した。クエンチングおよび酸性水溶液ワークアップ後、有機層からの粗残基がシリル化のために調製された。記載された反応条件下で、シリル基は、3' - O - ホスホルアミデートの遊離の 5' - ヒドロキシルと優先的に反応して、7 を形成した。この反応は、3' - O - ホスホルアミデートが U P L C / M S によってもはや検出できなくなるまで継続された。

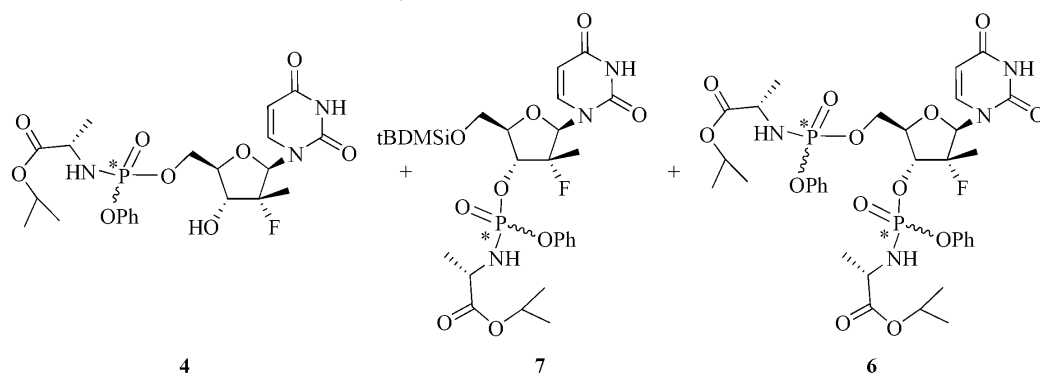


5'-O-ホスホルアミデート  
(2ジアステレオマー)

3'-O-ホスホルアミデート (2ジ  
アステレオマー)

3', 5'-ビス-O-  
ホスホルアミデート  
(4ジアステレオマー)

tBDMS-Cl / ピリジン



3'-O-ホスホルアミデート-  
5'-O-tBDMS (2ジアステレオ)

#### 【0157】

シリル化反応のワークアップ後、所望の生成物はシリカゲル上のクロマトグラフィーに供され、ジクロロメタン中のメタノールのグラジエント (1 - 4 %) で溶出された。所望の 5'-モノホスホルアミデート 4 は最後に溶出する。

#### 【0158】

##### 調製の方法

実施例 1. 2'-デオキシ-2'-フルオロ-2'-C-メチルウリジン (3) の調製

10 L フラスコに、3', 5'-O-ジベノジル-2'-デオキシ-2'-フルオロ-2'-C-メチル-N<sup>4</sup>-ベンゾイルシチジン (500 g, 0.874 mol) および 70 % 酢酸水溶液 (7.5 L) が加えられた。この溶液は、20 時間、加熱して還流された (110)。TLC は反応の完了を示した (ジクロロメタン (DCM) 中 5 % メタノール中で R<sub>f</sub> 0.6)。この混合物は周囲温度まで冷却し、水 (2 L) で希釈された。2 時間の攪拌後、得られた沈殿はろ過によって収集され、固形物は水 (5 L) ですすがれ、そして周囲温度にて大気中で 12 時間乾燥され、360 g (88 %) が得られた。このジベン

10

20

30

40

50

ゾイルウリジン中間体は、これを新鮮に調製されたメタノール性アンモニア（５．４Ｌ、約２５％）に０ ですべて加えることにより、次の工程において直接的に使用された。この温度は３時間維持され、次いで、２４時間の間、１５ に温められた。ＴＬＣは反応の完了を示した（ＤＣＭ中１０％メタノールＲ<sub>f</sub> ０．４）。この反応混合物は、Ｃｅｌｉｔ ｅベッドを通してろ過され、減圧下で濃縮されて粗生成物が得られた（２１６ｇ）。この粗生成物は、周囲温度にて、３時間、酢酸エチル（３２５ｍＬ）とともに攪拌された。得られた固形物はろ過によって収集され、酢酸エチル（２１６ｍＬ）で洗浄された。この固形物は、周囲温度にて、真空下で４時間乾燥され、１６０ｇ（７８％）の９８．７％ ＨＰＬＣ純度の所望の生成物が得られた。

<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) 11.44 (br s, 1H, NH), 7.95 (d, 1H, C-6H), 5.97 (d, 1H, C-1'H), 5.64 (d, 1H, C-5H), 3.84-3.77 (m, 3H, C-5'-Ha, C-3'H, C-4'H), 3.63-3.60 (m, 1H, C5'-Hb), 1.23 (d, 3H, C-2'-CH<sub>3</sub>). ES-MS M-1 259.

#### 【0159】

実施例２．（Ｓ）-２-｛〔（１Ｒ，４Ｒ，５Ｒ）-５-（２，４-ジオキソ-３，４-ジヒドロ-２Ｈ-ピリミジン-１-イル）-４-（Ｒ）-フルオロ-３-ヒドロキシ-４-メチル-テトラヒドロ-フラン-２-イルメトキシ〕-フェノキシ-ホスホリルアミノ｝-プロピオン酸イソプロピルエステル（４）の調製

同義語：５'-Ｏ-（イソプロピル-Ｌ-アラニン酸、フェニルホスホリアルミジル）-２'-デオキシ-２'-フルオロ-２'-Ｃ-メチル-ウリジンジアステレオマー混合物。

#### 【0160】

５Ｌの三口フラスコに、機械攪拌機、ブラインアイスバス、内部温度計、および窒素雰囲気を取り付けられた。このフラスコに、Ｌ-アラニンイソプロピルエステル塩酸塩（８２．０ｇ、０．４９０モル）および無水ジクロロメタン（０．８０Ｌ）が仕込まれた。これは攪拌されながら、フェニルジクロロリン酸（８５．０ｇ、０．４０モル）が１ロットで加えられ、攪拌された。内部温度を－５～５ の間に維持しながら、ジクロロメタン（２５０ｍＬ）中のＮ-メチルイミダゾール（ＮＭＩ、２５０ｇ、３．０７モル）の溶液が、３０分間の時間にわたって加えられた。この溶液はこの温度範囲で１時間攪拌された。２'-デオキシ-２'-フルオロ-２'-Ｃ-メチル-ウリジン（３、８０．０ｇ、０．３０７モル）が０ で１度に加えられ、次いで、この反応フラスコは、ブラインバス中でゆっくりと温められた。１時間の時点で、内部温度は上限－２ であった。１時間のＴＬＣ（ＤＣＭ中５％メタノール）は、５０％より多くのヌクレオシドが消費されたことを示した。このバスは取り外され、１時間以上にわたって、この反応フラスコは周囲温度に達した。３時間後でありかつ全体で５時間の時点でＴＬＣは、開始時のヌクレオシドの９５％が消費されたことを示した。この反応混合物は、メタノール（１００ｍＬ）を加えることおよび５分間、反応物を攪拌することによってクエンチされた。

#### 【0161】

この反応混合物は、１Ｎ ＨＣｌ（２×５００ｍＬ）、続いて、飽和炭酸水素ナトリウム溶液（２×５００ｍＬ）で洗浄された。分離した有機層は無水硫酸ナトリウム（５０ｇ）で乾燥され、そしてろ過された。この溶液は減圧下で、次いで、高真空下で乾燥するまでエバポレートされ、粘性油状物として粗生成物が得られた（１７０ｇ）。粗生成物（<sup>31</sup>Pおよび<sup>1</sup>H）のＮＭＲが取られた。<sup>31</sup>P-NMRは、全体のリン積分値の約１％が３'異性体５の存在に起因することを示した。

#### 【0162】

この粗生成物に、無水ピリジン（１７００ｍＬ）が加えられた。コエバポレーションを通して粗混合物の水含量を減少させるために、この溶媒は減圧下で、次いで、高真空下でエバポレートされた。得られた油状物は無水ピリジン（５００ｍＬ）に再溶解され、次いで、過剰のｔ-ブチルジメチルシリルクロリド（９．０ｇ、６０ｍＭ）が加えられた。こ

の反応は大気温度で攪拌された。反応の進行はUPLC/MSによってモニターされた。3時間後、3'不純物5はもはや検出できず、反応は、メタノール(50 mL)の添加によってクエンチされた。

#### 【0163】

この反応物は油状物まで減圧下でエバポレートされた。残渣は酢酸エチル(1.5 L)に溶解され、1N HCl(2×500 mL)で、続いて、飽和炭酸水素ナトリウム溶液(2×500 mL)で洗浄された。有機層は無水硫酸ナトリウム(50 g)で乾燥され、ろ過され、そして減圧下でエバポレートされて、淡黄色油状物として粗生成物が得られた。

#### 【0164】

この粗油状物は同じ体積のジクロロメタンで希釈され、100 psiの空気圧のラジアル圧縮モジュールの中で2.5 Kg シリカゲルカートリッジにロードされた。60 psiおよび流速400 mL/分のグラジエントポンプを使用して、このカートリッジは、塩化メチレン(4 L)、続いて塩化メチレン(48 L)中1-4%メタノールグラジエントで洗浄された。主な不純物、(ジ-(イソプロピルアラニル)フェニルリン酸、3',5'-ビスホスホルアミデート(6)、3'-ホスホルアミデート-5'-TBDM S付加物(7))の大部分が約3%グラジエントで溶出した。所望の生成物は、3から4%メタノールの間で溶出した。生成物を含有する画分は2つのロットに分類された。第1のロットは少量の上流の不純物を含み、後者は純粋な生成物であった。第1の画分のセットは、少量のより極性が低い不純物(上流の不純物)、例えば、3',5'-ビスホスホルアミデートおよびジ-アラニルフェニルリン酸、ならびに大部分はRpジアステレオマーを含み、第2のカラム精製を必要とした。(相対的な用語、上流対下流は、順相シリカゲルクロマトグラフィー上の溶出をいい、「上流の異性体」は最初に溶出する異性体を意味する。)第2のセットの画分は、有意な量の不純物を有さず-残りのRpおよび大部分はSpジアステレオマーのみを有した。これは、後で、2回カラムを通した画分と再度合わせられた。溶媒は減圧下でエバポレートされ、得られた白色泡状物はさらに1時間乾燥されて(0.20 mmHg)、不純物を含む42 gのロット(<sup>31</sup>P-NMRに基づき、4:1の上流対下流の異性体)および38 gの純粋なロット(1:3の上流対下流の異性体)が得られた。不純物を含むロットは、同様の様式で再度カラムにかけられ、3.8 gの97%純度上流異性体(画分は取っておく)および36 gの純粋生成物を4:1比率で与えた。2つのメインロットは、DCMに溶解され、合わされ、減圧下でエバポレートされ、そして乾燥されて(50、0.2 mmHg、24時間)、48:51のジアステレオマー比率を有する74 g(45.7%)の純粋な生成物4を、白色泡状物、mp 約75-85として得た。

#### 【0165】

ジアステレオマー混合物のアモルファス固体を製造するために、74 gの白色泡状物がt-ブチルメチルエーテル(750 mL)中で攪拌され、部分的な溶液およびゴム状固体残渣を生じた。攪拌しながら、ヘプタン(750 mL)がゆっくりと加えられ、この懸濁液は、ゴム状物の大部分が白色固形物に転換するまで、1時間、機械的に攪拌された。この固形物はスパチュラでこすり取られ、得られたスラリーがろ過された。この固形物はヘプタン(4×50 mL)で洗浄され、真空下で乾燥されて(50、0.2 mmHg、24時間)、およそ70-80の広い融解範囲を有する白色のアモルファス粉末(64 g)が得られた。<sup>1</sup>Hおよび<sup>31</sup>P NMRは構造に一致し、HPLCは46:54のジアステレオマー比率を有する99.8%の純度を示した(<sup>31</sup>P NMRによってもまた確認された)。

#### 【0166】

固体混合物4を作製するための代替方法。クロマトグラフィー後、残渣はジクロロメタンで(5 mL/g)2回、コエバポレートし、35-40、35-45 mTorrで24時間乾燥させた。泡状残渣を、250ミクロンスクリーンを通してふるいにかけ、ヘッドスペースGCによって測定されるように、残渣のジクロロメタンが400 ppmより下

10

20

30

40

50

に低下するまで、同じ条件下でさらに乾燥させた。得られた微細なオフホワイトから白色のアモルファス粉末は、53.7～63.5 のガラス転移温度の範囲を有する。

【0167】

異性体(4)の混合物の特徴：

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) 10.05 (br s, 1H, NH,  $S_p$ ), 10.00 (br s, 1H, NH,  $R_p$ ), 7.49 (d, 1H, C6-H,  $S_p$ ), 7.36 (m, 5H, C6-H,  $R_p$ , 芳香族), 7.23-7.14 (m, 6H,  $R_p/S_p$ , 芳香族), 6.18 (br d, 2H, C1'-H,  $R_p/S_p$ ), 5.63 (d, 1H, C5-H,  $S_p$ ), 5.58 (d, 1H, C5-H,  $R_p$ ), 5.01 (m, 2H, CH-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>,  $R_p/S_p$ ), 4.46-4.33 (m, 8H, C-5'-H<sub>2</sub>, ala-NH, C3'-OH,  $R_p/S_p$ ), 4.12 (m, 2H, ala-CH-CH<sub>3</sub>,  $R_p/S_p$ ), 4.01-3.85 (m, 4H, C3'-H, C4'-H,  $R_p/S_p$ ), 1.39-1.22 (m, 12H, すべての CH<sub>3</sub>,  $R_p/S_p$ ).

10

【0168】

$^{31}\text{P-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) 3.60 ( $R_p$ )、-17.80 ppmのトリフェニルリン酸に対して3.20  $S_p$ 。ES-MS  $M+1$  530.2。元素分析：計算値% (Karl Fisher分析により見い出されるような0.29%水を含む) C、49.75；H、5.54；N、7.90、F、3.58、P、5.84。実測値%：C、49.50；H、5.44；N、7.85；F、3.62；P、6.05。

20

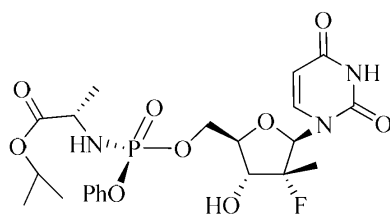
【0169】

異性体の分離に対する議論

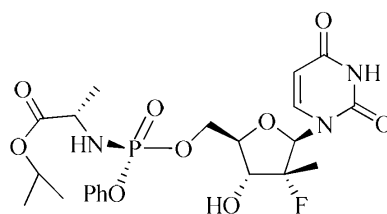
リンにおけるキラリティーに起因して、化合物4は、 $S_p$ -4および $R_p$ -4と称する2つのジアステレオマーから構成される。立体化学配置は、 $S_p$ -4の単結晶X線分析に基づいて作製された。 $R_p$ -4と $S_p$ -4の両方で結晶性生成物が得られた。

【0170】

結晶化のための手順は以下に概説される。



$S_p$ -4



$R_p$ -4

30

【0171】

実施例3.  $R_p$ -4異性体の結晶化：最初に溶出する、より極性の低い $R_p$ -4異性体(3.8g、97%純度)を含むクロマトグラフィー画分は、イソプロパノール(36g)に溶解され、混濁するまでヘプタンで希釈された(72g)。この溶液は、播種され、周囲温度で5時間攪拌された。得られた固形物は真空ろ過によって収集され、ヘプタンで洗浄され(2×20mL)、そして2.3gの非常に小さな白色針状物mp 136.2-137.8まで乾燥された(50、0.2mm、24時間)。得られた物質のHPLC純度は99.02%であることが見い出された。

40

【0172】

$R_p$ -4： $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) 9.10 (br s, 1H, NH), 7.36 (m, 2H, o-芳香族), 7.26-7.16 (m, 4H, C6-H, m, p-芳香族), 6.16 (br d, 1H, C1'-H), 5.58 (d, 1H, C5-H), 5.01 (sept, 2H, CH-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>).

50

$^1\text{H}$ ,  $\text{CH} - (\text{CH}_3)_2$ ),  $4.52 - 4.47$  (m,  $2\text{H}$ ,  $\text{C} - 5' - \text{H}_2$ ),  $4.10$  (d,  $1\text{H}$ ,  $\text{C}3' - \text{H}$ ),  $4.02 - 3.76$  (m,  $4\text{H}$ ,  $\text{ala} - \text{NH}$ ,  $\text{C}3' - \text{OH}$ ,  $\text{C}4' - \text{H}$ ,  $\text{ala} - \text{CH} - \text{CH}_3$ ),  $1.37 - 1.20$  (m,  $12\text{H}$ , すべての  $\text{CH}_3$ ).

## 【0173】

実施例4.  $\text{S}_p - 4$ の調製および結晶化

方法1: 粗4からの直接的沈殿: ジクロロメタン (100 mL) 中の  $\text{L} - \text{アラニンイソプロピルエステル塩酸塩}$  (10.5 g, 61.5 mmol、共沸的に乾燥、2回、各回50 mLのトルエンを用いる) の攪拌溶液に、室温で、フェニジクロロリン酸 (7.5 mL、50 mmol) が加えられた。この混合物は  $-10^\circ\text{C}$  に冷却され、次いで、30分間の時間 にわたって、30 mLのジクロロメタン中の  $\text{NMI}$  (30.5 mL、384.3 mmol) の溶液が加えられた。添加の完了後、この混合物は  $-10^\circ\text{C}$  から  $-15^\circ\text{C}$  の間で1時間攪拌された。上記の混合物に、 $2' - \text{デオキシ} - 2' - \text{フルオロ} - 2' - \text{C} - \text{メチルウリジン}(3)$  (10 g, 38.4 mmol) が1ロットで加えられ、この混合物は  $-10^\circ\text{C}$  で3時間攪拌され、次いで、 $20^\circ\text{C}$  までゆっくりと温められた (6時間)。この混合物は、この温度において一晩 (15時間) 攪拌され、次いで、10 mLのメタノールでクエンチされた。溶媒はエバポレートされ、残渣は  $\text{EtOAc}$  (200 mL) 中に再溶解された。 $\text{EtOAc}$  層は、水 (100 mL)、 $1\text{N HCl}$  ( $3 \times 75\text{ mL}$ )、 $2\% \text{ NaHCO}_3$  水溶液 (50 mL)、およびブライン (50 mL) 中に再溶解された。有機層は  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  で乾燥され、ろ過され、そして濃縮された。残渣は高真空下で2時間乾燥され、白色泡状物が得られた (22 g)。

## 【0174】

上記の泡状物は33 mLのDCMに溶解され、次いで、65 mLのIPE (イソプロピルエーテル) が加えられ、飽和溶液が得られた。この溶液は、Celiteの小さなパッドを通してろ過され、ろ液は、大気温度にて (約  $22^\circ\text{C}$  - この懸濁液を  $0^\circ\text{C}$  まで冷却すると、粗生成物の油状化 (oiling out) をもたらすことに留意のこと)、72時間、 $\text{S}_p - 4$  シードとともに攪拌された。白色固形物がろ過され、IPE (20 mL) で洗浄され、そして乾燥されて、4.58 gの白色粉末が得られた ( $^31\text{P}$  NMRによって決定されるような  $\text{S}_p - 4$ :  $\text{R}_p - 4$  のそれぞれ  $\sim 85:15$  混合物)。上記の固形物は、23 mLのDCMに懸濁され、次いで、3時間還流された。この混合物は室温まで冷却され、15時間攪拌された。白色固形物がろ過され、4.5 mLの冷DCMで洗浄され、そして高真空下、 $45^\circ\text{C}$  で乾燥されて、純粋な  $\text{S}_p - 4$ 、mp  $93.9 - 104.7^\circ\text{C}$ 、HPLC純度  $99.74\%$  (3.11 g、ウリジンヌクレオシドから  $15.2\%$ ) が得られた。

## 【0175】

$\text{S}_p - 4$   $^1\text{H} - \text{NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $8.63$  (br s,  $1\text{H}$ ,  $\text{NH}$ ),  $7.47$  (d,  $1\text{H}$ ,  $\text{C}6 - \text{H}$ ),  $7.30$  (m,  $2\text{H}$ , o-芳香族),  $7.26 - 7.18$  (m,  $3\text{H}$ , m, p-芳香族),  $6.18$  (br d,  $1\text{H}$ ,  $\text{C}1' - \text{H}$ ),  $5.70$  (d,  $1\text{H}$ ,  $\text{C}5 - \text{H}$ ),  $5.02$  (sept,  $\text{CH} - (\text{CH}_3)_2$ ),  $4.53$  (m,  $2\text{H}$ ,  $\text{C} - 5' - \text{H}_2$ ),  $4.11$  (d,  $1\text{H}$ ,  $\text{C}3' - \text{H}$ ),  $3.97$  (m,  $3\text{H}$ ,  $\text{C}3' - \text{OH}$ ,  $\text{C}4' - \text{H}$ ,  $\text{ala} - \text{CH} - \text{CH}_3$ ),  $3.77$  (br s,  $1\text{H}$ ,  $\text{ala} - \text{NH}$ ),  $1.39$  (d,  $3\text{H}$ ,  $\text{C}2' - \text{CH}_3$ ),  $1.37$  (d,  $3\text{H}$ ,  $\text{ala} - \text{CH}_3$ ),  $1.24$  (d,  $6\text{H}$ ,  $\text{CH} - (\text{CH}_3)_2$ ).

## 【0176】

方法2: 粗4からの油状化: ジクロロメタン (200 mL) 中の  $\text{L} - \text{アラニンイソプロピルエステル塩酸塩}$  (20.6 g, 123 mmol、共沸的に乾燥、2回、各回75 mLのトルエンを用いる) の攪拌溶液に、室温で、フェニジクロロリン酸 (14.9 mL、100 mmol) が加えられた。この混合物は  $-10^\circ\text{C}$  に冷却され、次いで、30分間の時

間にわたって、60 mL のジクロロメタン中の NMI (61.3 mL、769 mmol) の溶液が加えられた。添加の完了後、この混合物は -10 から -15 の間で1時間攪拌された。上記の混合物に、2'-デオキシ-2'-フルオロ-2'-C-メチルウリジン(3)(20 g、76.9 mmol)が1ロットで加えられ、この混合物は -10 未満で3時間攪拌され、次いで、20 までゆっくりと温められた(6時間)。この混合物は、この温度において一晩(15時間)攪拌され、次いで、10 mL のメタノールでクエンチされた。溶媒はエバポレートされ、残渣は EtOAc (400 mL) 中に再溶解された。EtOAc 層は、水(200 mL)、1N HCl (3×100 mL)、2% NaHCO<sub>3</sub> 水溶液(100 mL)、およびブライン(50 mL)中に再溶解された。有機層は Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥され、ろ過され、そして濃縮された。残渣は高真空下で2時間乾燥され、白色泡状物が得られた(43 g)。上記の泡状物は、機械式スターラーを装着した2つ口丸底フラスコ中の86 mL の EtOAc に溶解された。攪拌しながら、100 mL のヘプタンがゆっくりと加えられ、この懸濁物は1時間攪拌された。上層はデカントされ、残渣は再度、50 mL の 2:3 EtOAc / ヘプタン溶液とともに10分間攪拌され、次いで、デカントされた。残渣は高真空下で乾燥されて、白色泡状物が得られた(31 g)。

#### 【0177】

上記の泡状物は46 mL の DCM に溶解され、次いで、95 mL の IPE が加えられ、飽和溶液が得られた。この溶液は、Celite の小さなパッドを通してろ過され、ろ液は、大気温度にて、72時間、S<sub>p</sub>-4 シードとともに攪拌された。白色固形物がろ過され、IPE (30 mL) で洗浄され、そして乾燥されて、7.33 g の白色粉末が得られた(<sup>31</sup>P NMR によって決定されるような S<sub>p</sub>-4 : R<sub>p</sub>-4 のそれぞれ ~ 85 : 15 混合物)。上記の固形物は、36 mL の DCM に懸濁され、次いで、3時間還流された。この混合物は室温まで冷却され、15時間攪拌された。白色固形物がろ過され、7.5 mL の冷 DCM で洗浄され、そして高真空下、45 で乾燥されて、>99% 純粋な S<sub>p</sub>-4 (4.78 g、ウリジンヌクレオシドから 11.6%) が得られた。

#### 【0178】

方法3：粗4のシリカゲルローディング：およそ2.5 g の 2'-デオキシ-2'-フルオロ-2'-C-メチルウリジン(3)で開始するカラムクロマトグラフィー工程の直前のジアステレオマーの混合物と同じ様式で、5.0 g の粗4が製造された。この粗生成物は、10 mL の DCM 中に溶解し、10 g のシリカゲルがこの溶液に加えられた。溶媒がエバポレートされて乾燥スラリーが得られた。このスラリーは、40 mL の 50% EtOAc / ヘキサンとともに15分間攪拌され、次いでろ過された。このシリカゲルは、さらなる10 mL の 50% EtOAc / ヘキサンで洗浄された。次いで、このシリカゲルは15% MeOH / DCM (100 mL) で洗浄され、別々に収集された。溶媒がエバポレートされ、高真空で乾燥されて、4.0 g の残渣(泡状物)が得られた。残渣は DCM (6 mL) に溶解され、次いで、~9 mL の IPE が加えられて、飽和溶液となった。次いで、この混合物は、S<sub>p</sub>-4 シードとともに、周囲温度にて、一晩穏やかに攪拌された。白色固形物はろ過され、IPE (5 mL) で洗浄されて、1.28 g の生成物が得られた。<sup>31</sup>P NMR は、上記の生成物が、S<sub>p</sub>-4 : R<sub>p</sub>-4 のそれぞれ 77 : 23 混合物を含むことを明らかにした。これは、20 mL の DCM から再結晶されて、0.75 g の >99% 純度 S<sub>p</sub>-4 (ウリジンヌクレオシドから約 12%) が得られた。この S<sub>p</sub>-4 の調製は、混合物について行われるシリル化工程を必要とせず、従って、全体の反応手順は上に示されている。単結晶および多型 S<sub>p</sub>-4 の態様は以下に提示される。

#### 【0179】

方法4：4の1:1混合物40.0 g は、90 mL のジクロロメタンに溶解された。ジイソプロピルエーテル(70 mL)が上記の溶液に加えられて、飽和溶液が得られた。(ジイソプロピルエーテルの量は生成物の純度に基づいて変動する可能性がある。)この溶液は、純粋な S<sub>p</sub>-4 (>99%) が播種され、この混合物は、攪拌バーを用いて、室温にて20時間(固形物の形成は2時間後に観察された)、穏やかに攪拌された。固形物は

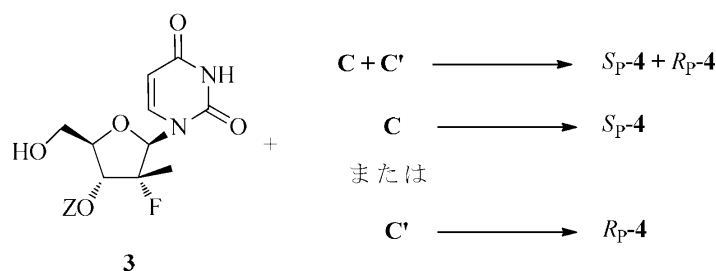


ろ過され、ジイソプロピルエーテル/ジクロロメタン(1:1)の混合物40 mLで洗浄され、そして乾燥されて、白色固形物が得られた(16.6 g、NMRによる89.35%純度のS<sub>P</sub>-4)。この固形物は、83 mL ジクロロメタンに懸濁され、3時間還流された。この懸濁物は室温まで冷却され、一晚攪拌された。この固形物はろ過され、10 mLの冷DCMで洗浄された。この固形物は真空下で乾燥されて、S<sub>P</sub>-4(13.1 g、HPLCにより99.48%純度)が得られた。11 gのこの固形物が、熱条件下で330 mLのDCM中に再溶解された。この溶液は室温まで冷却され、この温度で一晩放置された。結晶性生成物がろ過され、乾燥されて10.5 gのS<sub>P</sub>-4(HPLCにより99.74%)が得られた。

## 【0180】

10

化合物S<sub>P</sub>-4およびR<sub>P</sub>-4は、第9の態様または第10の態様に従って、以下の反応式に示されるように、ヌクレオシド(保護されているかまたは保護されていない)3をイソプロピル-アラニル-ホスホルアミデート(CおよびC'の混合物、C、またはC')と反応させることによって、代替的に調製されてもよい。



20

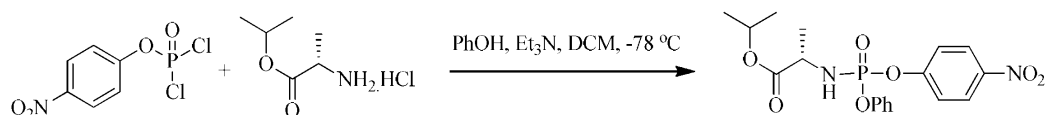
## 【0181】

P. D. Howes et al. Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids 2003, Vol. 22, Nos. 5-8, pp. 687-689 (「Howes」)は、t-ブチルマグネシウムクロリドとの反応によって得られた2'-および5'-ホスホルアミデートを開示している。そこでは、Howesは、3'-デオキシ-シチジンヌクレオシドが、1.2当量のt-ブチルマグネシウムクロリドの存在下で、(S)-2-[クロロ-フェノキシ-ホスホリルアミノ]プロピオン酸メチルエステルと反応されるときに、2'位における選択的リン酸化が起こったが、さらなる当量のt-ブチルマグネシウムクロリドを用いると、5'位における選択的リン酸化が起こったことを開示している。この開示は、スキーム1において開示されていることと対照されるべきである。

30

## 【0182】

実施例5-1. (S)-2-[(4-ニトロ-フェノキシ)-フェノキシ-ホスホリルアミノ]プロピオン酸イソプロピルエステルの調製



40

ジクロロメタン(100 mL)中の4-ニトロフェニルホスホロジクロリデート 12.8 g、50 mmol)の攪拌溶液に、ジクロロメタン(100 mL)中のフェノールおよびトリエチルアミン(7.7 mL、55 mmol)の溶液が、-78 °Cで、20分間の時間にわたって加えられた。この混合物は、この温度で30分間攪拌され、次いで、0 °Cのジクロロメタン(100 mL)中のL-アラニンイソプロピルエステル塩酸塩(8.38 g、50 mmol)を含む別の丸底フラスコに移された。この混合物に、第2のトリエ

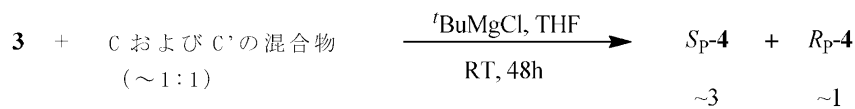
50

チルアミン ( 1 4 . 6 m L 、 1 0 5 m m o l ) 部分が 1 5 分間の時間にわたって加えられた。この混合物は 0 で 1 時間攪拌され、次いで、溶媒がエバポレートされた。残渣は酢酸エチル ( 1 5 0 m L ) で粉碎され、白色固形物が濾過して除かれた。ろ液は減圧下で濃縮され、淡黄色油状物が得られた。この粗化合物は、0 - 2 0 % 酢酸エチル / ヘキサングラジエントを使用してクロマトグラフィーを行い、約 1 : 1 比率のジアステレオマーの混合物として生成物 ( 1 7 g 、 8 3 % 収率 ) が得られた。

$^3\text{P}$  NMR ( 1 6 2 M H z , D M S O - d 6 ) : - 0 . 3 1 , - 0 . 4 7 ;  $^1\text{H}$  NMR ( 4 0 0 M H z , D M S O - d 6 ) : 8 . 3 1 - 8 . 2 7 ( m , 2 H ) , 7 . 5 1 - 7 . 3 7 ( m , 4 H ) , 7 . 2 7 - 7 . 1 9 ( m , 3 H ) , 6 . 7 0 - 6 . 6 3 ( m , 1 H ) , 4 . 8 5 - 4 . 7 8 ( m , 1 H ) , 3 . 9 7 - 3 . 8 6 ( m , 1 H ) , 1 . 2 1 - 1 . 1 9 ( m , 3 H ) , 1 . 1 1 - 1 . 0 9 ( m , 6 H ) ; MS ( E S I ) m / z 4 0 7 ( M - 1 )  $^+$  .  $^3\text{P}$  NMR ( 1 6 2 M H z , C D C l  $_3$  ) : - 2 . 0 5 , - 2 . 1 0 ;  $^1\text{H}$  NMR ( 4 0 0 M H z , C D C l  $_3$  ) : 8 . 2 2 ( d , J = 9 . 2 H z , 2 H ) , 7 . 4 1 - 7 . 3 3 ( m , 4 H ) , 7 . 2 6 - 7 . 1 8 ( m , 3 H ) , 5 . 0 5 - 4 . 9 6 ( m , 1 H ) , 4 . 1 4 - 4 . 0 5 ( m , 1 H ) , 3 . 9 3 - 3 . 8 8 ( m , 1 H ) , 1 . 3 8 ( d , J = 6 . 8 H z , 3 H ) , 1 . 2 2 ( d d , J = 6 . 2 & 3 . 0 H z , 6 H ) ; MS ( E S I ) m / z 4 0 7 ( M - 1 )  $^+$  .

【 0 1 8 3 】

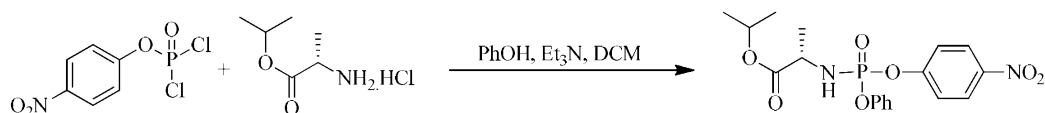
実施例 5 - 2 . S<sub>p</sub> - 4 / R<sub>p</sub> - 4 の調製



乾燥 T H F ( 1 . 5 m L ) 中の 1 - ( ( 2 R , 3 R , 4 R , 5 R ) - 3 - フルオロ - 4 - ヒドロキシ - 5 - ヒドロキシメチル - 3 - メチル - テトラヒドロ - フラン - 2 - イル ) - 1 H - ピリミジン - 2 , 4 - ジオン ( 1 3 0 m g 、 0 . 5 m m o l ) の攪拌溶液に、t e r t - ブチルマグネシウムクロリド ( 1 . 0 5 m L 、 1 . 0 5 m m o l 、 2 . 1 当量 ) の 1 . 0 M 溶液が、室温にて、5 分間の時間にわたって加えられた。3 0 分後、T H F ( 1 . 5 m L ) 中の ( S ) - 2 - [ ( 4 - ニトロ - フェノキシ ) - フェノキシ - ホスホリルアミノ ] プロピオン酸イソプロピルエステル ( 異性体の 1 : 1 混合物、4 0 8 m g 、 1 m m o l ) の溶液が、5 分間の時間にわたって、滴下して加えられた。この混合物は、室温で 4 8 時間攪拌され、次いで、飽和 N H  $_4$  C l 水溶液 ( 2 0 m L ) でクエンチされた。この混合物は、酢酸エチル ( 5 0 m L ) と水 ( 2 0 m L ) の間で分配された。合わせた有機抽出物は、無水硫酸ナトリウムで乾燥され、ろ過され、そして減圧下で濃縮されて、淡黄色残渣が得られた。0 - 2 % M e O H / ジクロロメタングラジエントを使用するこの残渣のカラムクロマトグラフィーは、白色泡状固形物を与えた ( 1 2 5 m g 、 4 7 % 収率、約 3 . 0 5 : 1 . 0 比率の S<sub>p</sub> - 4 / R<sub>p</sub> - 4 の混合物 ) 。

【 0 1 8 4 】

実施例 6 . ( S ) - 2 - [ ( S ) - ( 4 - ニトロ - フェノキシ ) - フェノキシ - ホスホリルアミノ ] プロピオン酸イソプロピルエステルの調製およびクロマトグラフィーによらない単離



L - アラニンイソプロピルエステル塩酸塩 (330 g、1.97 mol) は、減圧下でのトルエン (2 × 400 mL) とのコエバポレーションによって前乾燥され、次いで、真空オーブン中で乾燥された (50、0.2 mmHg、17 時間)。無水ジクロロメタン (3.0 L) 中の 4 - ニトロフェニルホスホロジクロリデート (500.0 g、1.953 mol) の攪拌溶液に、ジクロロメタン (900 mL) 中のフェノール (183.8 g、1.953 mol) およびトリエチルアミン (300 mL、2.15 mol) の溶液が、-60 内部温度で、3 時間の時間にわたって加えられた。この混合物はこの温度でさらに 30 分間攪拌され、次いで、2.5 時間にわたって -5 まで温められた。前乾燥したアミノ酸エステルは、-5 ~ 0 で、窒素雰囲気下で、10 分間にわたって加えられた。添加フラスコ中のアミノエステル塩の残渣は、ジクロロメタン (2 × 100 mL) を用いるすすぎを介して、反応混合物に移された。この混合物は 0 で 40 分間攪拌され、第 2 の部分のトリエチルアミン (571 mL、4.10 mol) が 40 分間にわたって、0 で加えられた。この混合物は 0 ~ 10 で 3 時間攪拌され、次いで、白色固形物 (トリエチルアミン塩酸塩) がろ過されて除かれ、ジクロロメタン (3 × 300 mL) ですすぎられた。このろ液は減圧下で濃縮され、残渣はメチル t - ブチルエーテル (MTBE、4 L) で粉砕された。このようにして形成されたさらなる固形物塩がろ過されて除かれ、MTBE (3 × 150 mL) ですすぎられた。このろ液は減圧下で濃縮され、透明な明茶色油状物が得られた。残渣はヘキサン (2 × 140 mL) とコエバポレートされて、いかなる残りの MTBE も除かれ、さらに 40 で 2 時間、真空下で乾燥された。乾燥残渣はジイソプロピルエーテル (IPE、1.1 L) と混合され、氷水バス中、5 で攪拌された。所望の S<sub>p</sub> - 異性体の生成物の少量の結晶シードがこの溶液に加えられ、そしてこの混合物は 5 で 22 時間にわたって攪拌され、中程度の粘度のスラリーを形成した。これは、フリーザー中で (-10) 44 時間、静置させた。沈殿した生成物はろ過を介して収集され、あらかじめ冷却した IPE とヘキサンの混合溶媒ですすぎられた (1 : 1、3 × 190 mL)。この固形物は、一定の重量が得られるまで、周囲温度にて真空下 (0.5 mmHg) で乾燥され、227.23 g (収率: 28.5%) が白色粉末固形物として得られた。2 つのジアステレオマー S<sub>p</sub> : R<sub>p</sub> の比率は、<sup>31</sup>P NMR (162 MHz、DMFSO - d<sub>6</sub>、-0.31 (S<sub>p</sub>)、-0.47) に基づくと、9.65 / 1 であった。この生成物は、60 バス中で加熱しながら、IPE (840 mL) に溶解することによって再結晶された。上記の溶液は室温で 1 時間攪拌され、次いで、少量の結晶 S<sub>p</sub> 異性体シードが加えられた。白色粉末固形物が 2 時間以内に形成し、フラスコはフリーザー中に (-10) 16 時間保存された。得られた白色かつ微細な結晶性固形物は、ろ過され、あらかじめ冷却した IPE (3 × 50 mL) で洗浄され、そして真空下で、一定量の重量まで乾燥されて (周囲温度、0.5 mmHg)、白色の綿状の固形物が得られ (177.7 g、S<sub>p</sub> 異性体の理論収率に基づき、22% 全体収率または 44% 全体収率)、<sup>31</sup>P - NMR に基づいて 48 / 1 のジアステレオマー比率であった。Mp 62 - 66。

# 【0185】

<sup>31</sup>P NMR (162 MHz, DMSO - d<sub>6</sub>): -0.31; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO - d<sub>6</sub>): 8.30 - 8.27 (m, 2H), 7.49 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.41 - 7.37 (m, 2H), 7.23 - 7.19 (m, 3H), 6.66 (dd, J = 13.6, 10.0 Hz, 1H), 4.86 - 4.78 (m, 1H), 3.97 - 3.86 (m, 1H), 1.19 (d, J = 7.2 Hz, 3H), 1.10 (d, J = 6.4 Hz, 6H);

10

20

30

40

50

## 【0186】

$^3\text{P}$  NMR (162 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): -2.05; (162 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ): -0.31;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 8.22 (d,  $J=9.2\text{ Hz}$ , 2H), 7.41-7.33 (m, 4H), 7.26-7.18 (m, 3H), 5.05-4.96 (m, 1H), 4.14-4.05 (m, 1H), 3.93-3.88 (m, 1H), 1.38 (d,  $J=6.8\text{ Hz}$ , 3H), 1.22 (dd,  $J=6.2$  &  $3.0\text{ Hz}$ , 6H);  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ): 8.30-8.27 (m, 2H), 7.49 (d,  $J=8.8\text{ Hz}$ , 2H), 7.41-7.37 (m, 2H), 7.23-7.19 (m, 3H), 6.66 (dd,  $J=13.6$ ,  $10.0\text{ Hz}$ , 1H), 4.86-4.78 (m, 1H), 3.97-3.86 (m, 1H), 1.19 (d,  $J=7.2\text{ Hz}$ , 3H), 1.10 (d,  $J=6.4\text{ Hz}$ , 6H)

10

## 【0187】

MS (ESI)  $m/z$  407 ( $M-1$ )<sup>+</sup>.

## 【0188】

8 ( $S_p$  異性体) の立体化学は単結晶 X 線結晶学によって確認された。以下に提供される詳細を参照のこと。

## 【0189】

実施例 7. ジアステレオマー混合物 ( $S$ ) - 2 - [(4-ニトロ-フェノキシ)-フェノキシ-ホスホリルアミノ]プロピオン酸イソプロピルエステルの SFC による分離

20

$R_p$  異性体で富化されたジアステレオマー (4.8 g) の混合物のサンプルは、Chiral Pak AD-H (2 x 15 cm) カラムを使用する SFC に供され、100 バール二酸化炭素中の 35% イソプロパノールで溶出された。17 mg/mL 濃度のメタノールのサンプルの 4 mL の注入口ローディングが使用された。 $R_p$  異性体 [( $S$ ) - 2 - [( $R$ ) - (4-ニトロ-フェノキシ)-フェノキシ-ホスホリルアミノ]プロピオン酸イソプロピルエステル] が最初に溶出した。複数の実行の適切な画分が合わされ、減圧下で濃縮されて、2.9 g の  $R_p$  異性体 [( $S$ ) - 2 - [( $R$ ) - (4-ニトロ-フェノキシ)-フェノキシ-ホスホリルアミノ]プロピオン酸イソプロピルエステル] が明黄色粘性油状物として、および 1.9 g の  $S_p$  異性体 [( $S$ ) - 2 - [( $S$ ) - (4-ニトロ-フェノキシ)-フェノキシ-ホスホリルアミノ]プロピオン酸イソプロピルエステル] が白色固形物として得られた。 $R_p$  異性体の分析データは、上記の結晶化方法によって単離された生成物に類似している。

30

## 【0190】

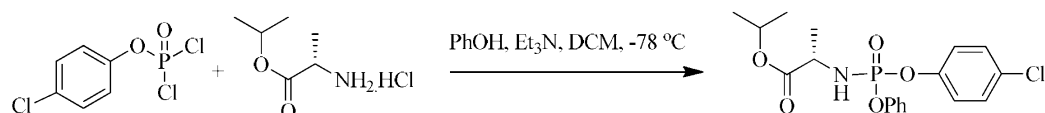
( $S$ ) - 2 - [( $R$ ) - (4-ニトロ-フェノキシ)-フェノキシ-ホスホリルアミノ]プロピオン酸イソプロピルエステル (8、 $R_p$  異性体) の分析データ:

$^3\text{P}$  NMR (162 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ): -0.47;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ): 8.30-8.27 (m, 2H), 7.46-7.38 (m, 4H), 7.27-7.20 (m, 3H), 6.68 (dd,  $J=13.8$ ,  $10.2\text{ Hz}$ , 1H), 4.86-4.77 (m, 1H), 3.97-3.86 (m, 1H), 1.20 (d,  $J=7.2\text{ Hz}$ , 3H), 1.10 (dd,  $J=6.2$ ,  $2.2\text{ Hz}$ , 6H); MS (ESI)  $m/z$  407 ( $M-1$ )<sup>+</sup>.

40

## 【0191】

実施例 8 - 1. ラセミ体 2 - [(4-クロロ-フェノキシ)-フェノキシ-ホスホリルアミノ]プロピオン酸イソプロピルエステル (±) の調製:



ジクロロメタン (20 mL) 中の 4 - クロロ - フェニルホスホジクロリデート (2 . 45 g、10 . 0 mmol) の攪拌溶液に、ジクロロメタン (20 mL) 中のフェノール (0 . 94 g、10 mmol) およびトリエチルアミン (1 . 56 mL、11 mmol) の溶液を、-78 °C にて、20 分間の時間にわたって加えた。この混合物はこの温度で 30 分間攪拌され、次いで、0 °C のジクロロメタン (50 mL) 中の L - アラニンイソプロピルエステル塩酸塩 (1 . 67 g、10 mmol) を含む別の丸底フラスコに移された。この混合物に、第 2 のロットのトリエチルアミン (2 . 92 mL、21 mmol) が、15 分間の時間にわたって加えられた。この混合物は 0 °C で 1 時間攪拌され、次いで、溶媒がエバポレートされた。残渣は酢酸エチル (30 mL) で粉砕され、白色固形物がろ過されて除かれた。ろ液は減圧下で濃縮されて、淡黄色油状物が得られた。粗化合物は 10 - 20 % 酢酸エチル / ヘキサングラジエントを使用してクロマトグラフィーに供され、約 1 : 1 比率のジアステレオマーの混合物として生成物 (2 . 0 g、50 % 収率) が得られた。

$^3\text{P}$  NMR (162 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): -1.58, -1.62;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 7.06 - 7.51 (m, 8H), 7.15 - 7.28 (m, 2H), 7.29 - 7.47 (m, 2H), 4.0 - 4.10 (m, 1H), 3.82 - 3.88 (m, 3H), 1.35 - 1.36 (dd, 6H); 1.19 - 1.22 (m, 3H). MS (ESI)  $m/z$  398 ( $M - 1$ )<sup>+</sup>.

得られた生成物は、上記に言及されるように、抽出、結晶化、またはクロマトグラフィーによって精製される。

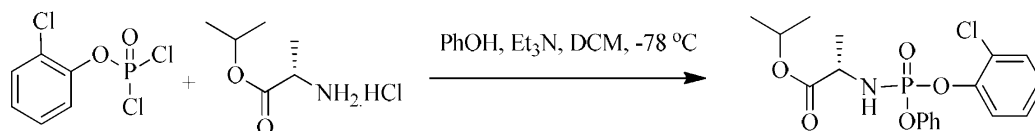
#### 【0192】

実施例 8 - 2 . (S) - イソプロピル 2 - ((2R, 3R, 4R, 5R) - 5 - (2, 4 - ジオキソ - 3, 4 - ジヒドロピリミジン - 1 (2H) - イル) - 4 - フルオロ - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルテトラヒドロフラン - 2 イル) メトキシ) (フェノキシ) - ホスホリルアミノ) プロパノエート (4) の調製

乾燥 THF (50 mL) 中の 1 - ((2R, 3R, 4R, 5R) - 3 - フルオロ - 4 - ヒドロキシ - 5 - ヒドロキシメチル - 3 - メチル - テトラヒドロ - フラン - 2 - イル) - 1H - ピリミジン - 2, 4 - ジオン (3, 2.6 g、10 mmol) の攪拌溶液に、1 . 7 M tert - ブチルマグネシウムクロリド溶液 (12.4 mL、21 mmol、2 . 1 当量) を室温で 15 分間にわたって加えた。30 分後、THF (15 mL) 中のラセミ (2 - [(4 - クロロ - フェノキシ) - フェノキシ - ホスホリルアミノ] プロピオン酸イソプロピルエステル (4.08 g、10 mmol) が、10 分間にわたって滴下して加えられた。この混合物は、室温で 72 時間攪拌された。オーセンティックな生成物との TLC 同時スポットは、出発ヌクレオシドと比較して約 5 % の所望の生成物が形成したことを示した。

#### 【0193】

実施例 9 - 1 . ラセミ 2 - [(2 - クロロ - フェノキシ) - フェノキシ - ホスホリルアミノ] プロピオン酸イソプロピルエステル (±) の調製



ジクロロメタン (80 mL) 中の 2 - クロロ - フェニルホスホロジクロリデート (9 . 8 g、40 mmol) の攪拌溶液に、ジクロロメタン (80 mL) 中のフェノール (3 . 76 g、40 mmol) およびトリエチルアミン (6 . 16 mL、44 mmol) の溶液が、-78 °C で、20 分間にわたって加えられた。この混合物は、この温度で 30 分間攪拌され、次いで、0 °C のジクロロメタン (150 mL) 中の L - アラニンイソプロピルエステル塩酸塩 (6 . 7 g、40 mmol) を含む別の丸底フラスコに移された。この混合物に、第 2 の部分のトリエチルアミン (11 . 6 mL、84 mmol) が 15 分間の時間にわたって加えられた。この混合物は 0 °C で 1 時間攪拌され、次いで、溶媒がエバポレートされた。残渣は酢酸エチル (100 mL) とともに粉碎され、白色固形物がろ過されて除かれた。ろ液は減圧下で濃縮され、淡黄色油状物が得られた。粗化合物は 10 - 20 % 酢酸エチル / ヘキサングラジエントを使用するクロマトグラフィーに供され、約 1 : 1 比率のジアステレオマーの混合物として生成物 (11 . 3 g、72 % 収率) が得られた。

$^3\text{P}$  NMR (162 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): -1.58, -1.61;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 7.06 - 7.51 (m, 8H), 5.02 - 5.94 (m, 1H), 4.10 - 4.16 (m, 1H), 3.31 - 3.94 (m, 1H), 1.18 - 1.35 (m, 3H), 1.38 - 1.40 (dd, 6H); MS (ESI)  $m/z$  398 ( $M - 1$ )<sup>+</sup>.

得られた生成物は、上記に言及されるように、抽出、結晶化、またはクロマトグラフィーによって精製される。

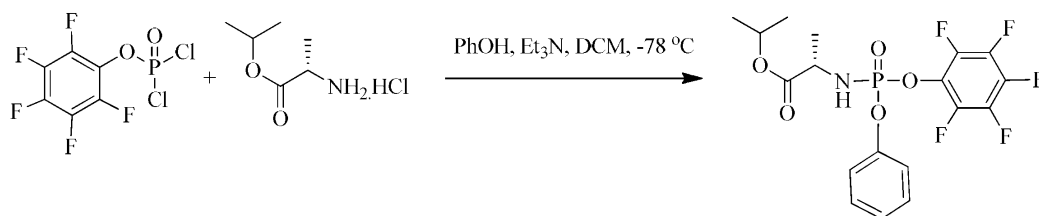
#### 【0194】

実施例 9 - 2 . (S) - イソプロピル 2 - ((2R, 3R, 4R, 5R) - 5 - (2, 4 - ジオキソ - 3, 4 - ジヒドロピリミジン - 1 (2H) - イル) - 4 - フルオロ - 3 - ヒドロキシ - 4 - メチルトetraヒドロフラン - 2 イル) メトキシ) (フェノキシ) - ホスホリルアミノ) プロパノエートの調製

乾燥 THF (50 mL) 中の 1 - ((2R, 3R, 4R, 5R) - 3 - フルオロ - 4 - ヒドロキシ - 5 - ヒドロキシメチル - 3 - メチル - テトラヒドロ - フラン - 2 - イル) - 1H - ピリジン - 2, 4 - ジオン (3, 2 . 6 g、10 mmol) の攪拌溶液に、1 . 7 M 溶液の tert - ブチルマグネシウムクロリド (12 . 4 mL、21 mmol、2 . 1 当量) が室温で 15 分間の時間にわたって加えられた。30 分後、THF (15 mL) 中の (2 - [(2 - クロロ - フェノキシ) - フェノキシ - ホスホリルアミノ] プロピオン酸イソプロピルエステル (ラセミ 4 . 08 g、10 mmol) が、10 分間の時間にわたって滴下して加えられた。混合物は、室温で 72 時間攪拌された。オーセンティックな生成物との TLC 同時スポットは、出発ヌクレオシドと比較して、約 5 - 10 % の所望の生成物が形成したことを示した。

#### 【0195】

実施例 10 - 1 . ラセミ 2 - [(2, 3, 4, 5, 6 - ペンタフルオロ - フェノキシ) - フェノキシ - ホスホリルアミノ] プロピオン酸イソプロピルエステル (±) の調製



10

20

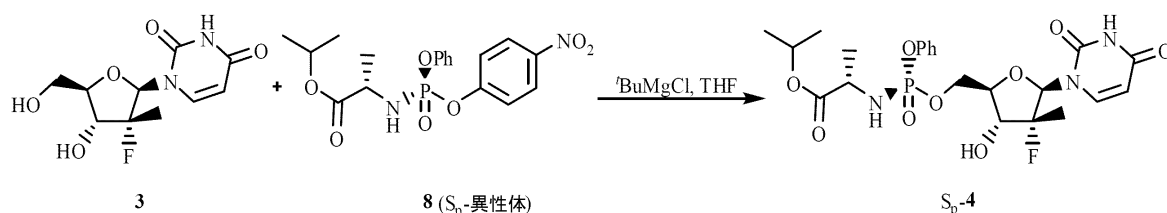
【 0 1 9 6 】

30

30

40

40



50

実施例 11.  $S_p$ -4 の調製 (32 mg スケール) : 乾燥 THF (1 mL) 中の 1 - ((2R, 3R, 4R, 5R) - 3 - フルオロ - 4 - ヒドロキシ - 5 - ヒドロキシメチル - 3 - メチル - テトラヒドロ - フラン - 2 - イル) - 1H - ピリミジン - 2, 4 - ジオン (32 mg, 0.12 mmol) の攪拌溶液に、1 M 溶液の *tert*-ブチルマグネシウムクロリド (0.26 mL, 0.26 mmol, 2.1 当量) が、室温で 3 分間の時間にわたって加えられた。30 分後、THF (0.5 mL) 中の (S) - 2 - [(S) - (4 - ニトロ - フェノキシ) - フェノキシ - ホスホリルアミノ] プロピオン酸イソプロピルエステル (8,  $S_p$  異性体) の溶液が、3 分間の時間にわたって滴下して加えられた。この混合物は室温で 42 時間攪拌され、次いで、 $NH_4Cl$  飽和水溶液 (10 mL) でクエンチされた。この混合物は酢酸エチルと水の間で分配された。合わせた有機抽出物は、無水硫酸ナトリウムで乾燥され、そして濃縮された。残渣は、0 - 4 % メタノール / ジクロロメタングラジエントを使用してクロマトグラフィーが行われ、泡状固形物として  $S_p$ -4 が得られた (29 mg, 44.5 % 収率)。 $^1H$  および  $^{31}P$  NMR は本明細書に開示されるものと一致する。

#### 【0199】

実施例 12.  $S_p$ -4 の調製 (2.6 g スケール、クロマトグラフィーなし) : 乾燥 THF (50 mL) 中の 1 - ((2R, 3R, 4R, 5R) - 3 - フルオロ - 4 - ヒドロキシ - 5 - ヒドロキシメチル - 3 - メチル - テトラヒドロ - フラン - 2 - イル) - 1H - ピリミジン - 2, 4 - ジオン (2.6 g, 10 mmol) の攪拌溶液に、1.7 M 溶液の *tert*-ブチルマグネシウムクロリド (12.4 mL, 21 mmol, 2.1 当量) が室温で 15 分間の時間にわたって加えられた。30 分後、THF (15 mL) 中の (S) - 2 - [(S) - (4 - ニトロ - フェノキシ) - フェノキシ - ホスホリルアミノ] プロピオン酸イソプロピルエステル (8,  $S_p$  異性体, 4.08 g, 10 mmol) の溶液が、10 分間の時間にわたって滴下して加えられた。この混合物は、室温で 60 時間攪拌され、次いで、飽和  $NH_4Cl$  水溶液 (20 mL) でクエンチされた。この混合物は、酢酸エチル (150 mL) と、連続して、10 %  $Na_2CO_3$  水溶液 (3 x 20 mL) および水 (20 mL) の間で分配された。合わせた有機抽出物は無水硫酸ナトリウムで乾燥され、ろ過され、そして減圧下で濃縮されて、淡黄色残渣を得た (3.8 g)。残渣はジクロロメタン (7.6 mL) に溶解され、次いで、室温で 20 時間攪拌された。白色固形物がろ過され、1 : 1 IPE / ジクロロメタン (5 mL) で洗浄され、そして真空下で乾燥されて、白色固形物として精製生成物を得た (1.85 g, 35 % 収率)。

#### 【0200】

実施例 13.  $NaHMDS$  を使用する  $S_p$ -4 の調製 : 乾燥 THF (2.0 mL) 中の 1 - ((2R, 3R, 4R, 5R) - 3 - フルオロ - 4 - ヒドロキシ - 5 - ヒドロキシメチル - 3 - メチル - テトラヒドロ - フラン - 2 - イル) - 1H - ピリミジン - 2, 4 - ジオン (71 mg, 0.27 mmol) の攪拌溶液に、-78 °C で、2 分間の時間にわたって、THF (270  $\mu$ L, 0.54 mmol) 中のナトリウムビス(トリメチルシリル)アミド ( $NaHMDS$ ) の 2.0 M 溶液が加えられた。30 分後、THF (1 mL) 中の (S) - 2 - [(S) - (4 - ニトロ - フェノキシ) - フェノキシ - ホスホリルアミノ] - プロピオン酸イソプロピルエステル (8,  $S_p$  異性体, 111 mg, 0.27 mmol) の溶液がこの混合物に加えられた。この反応混合物は、この温度で 2 時間攪拌させられ、次いで、-20 °C に暖められ、この温度でこれはさらに 20 時間攪拌された。TLC は約 30 % の未反応のヌクレオシド出発材料を示した。従って、THF (0.5 mL) 中の 0.5 当量の試薬 (55 mg, 0.14 mmol) が反応混合物に加えられ、さらに 6 時間攪拌された。この反応混合物は、飽和塩化アンモニウム水溶液でクエンチされ、次いで、酢酸エチルと水の間で分配された。合わせた有機抽出物は、無水硫酸ナトリウムで乾燥され、そして濃縮され、明茶色残渣が得られた。0 - 5 % メタノール / ジクロロメタングラジエントを使用する粗生成物のカラムクロマトグラフィーは、 $S_p$ -4 (22 mg, 15 % 収率)、3' - ホスホルアミデート (5,  $S_p$  異性体, 11.5 mg, 16 % 収率)、およびビスホスホルアミデート (6,  $S_p$ ,  $S_p$  異性体, 12.6 mg) を与えた。



## 【 0 2 0 1 】

実施例 1 4 . R<sub>p</sub> - 4 ( 2 6 0 m g スケール ) の調製 : 乾燥 T H F ( 6 m L ) 中の 1 - ( ( 2 R , 3 R , 4 R , 5 R ) - 3 - フルオロ - 4 - ヒドロキシ - 5 - ヒドロキシメチル - 3 - メチル - テトラヒドロ - フラン - 2 - イル ) - 1 H - ピリミジン - 2 , 4 - ジオン ( 2 6 0 m g , 1 m m o l ) の攪拌溶液に、 t e r t - ブチルマグネシウムクロリド ( 1 . 2 3 m L , 2 . 1 m m o l , 2 . 1 当量 ) の 1 . 7 M 溶液が、室温で 5 分間の時間にわたって加えられた。3 0 分後、T H F ( 3 m L ) 中の ( S ) - 2 - [ ( R ) - ( 4 - ニトロ - フェノキシ ) - フェノキシ - ホスホリルアミノ ] プロピオン酸イソプロピルエステル ( 8 , R<sub>p</sub> 異性体 ) の溶液に、3 分間の時間にわたって滴下して加えられた。この混合物は室温で 9 6 時間攪拌され、次いで、飽和 N H <sub>4</sub> C l 水溶液 ( 1 0 m L ) でクエンチされた。この混合物は、酢酸エチル ( 5 0 m L ) と水 ( 2 × 2 0 m L ) の間で分配された。合わせた有機抽出物は、無水硫酸ナトリウムで乾燥され、ろ過され、そして減圧下で濃縮されて、淡黄色残渣 ( 4 9 0 m g ) が得られた。この残渣は 0 - 5 % メタノール / ジクロロメタングラジエントを使用してクロマトグラフィーが行われ、白色固形物として生成物が得られた ( 1 6 0 m g , 3 0 % 収率 ) 。

10

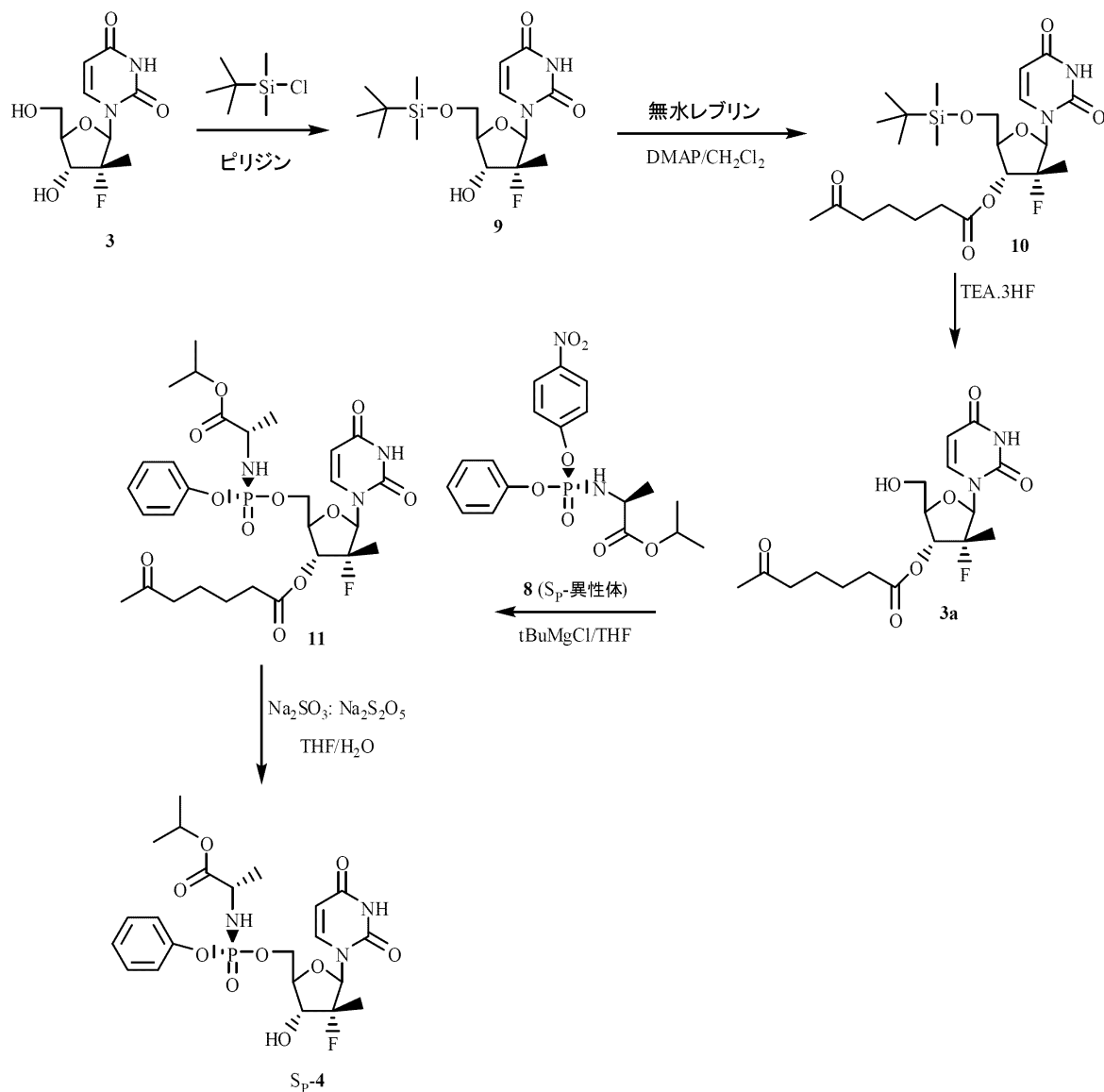
## 【 0 2 0 2 】

S<sub>p</sub> - 4 または R<sub>p</sub> - 4 の調製は、以下の実施例に例証されるように、3' - 保護された 3 を、適切な試薬 C または C' または C および C' を含む混合物と反応させることによってまた達成されてもよい。

## 【 0 2 0 3 】

実施例 1 5 . 3 a を合成中間体として用いる S<sub>p</sub> - 4 の調製

20



## 【 0 2 0 4 】

実施例 15 - 1 . 5' - O - tert - ブチルジメチルシリル - 2' - デオキシ - 2' - フルオロ - 2' - C - メチルウリジン ( 9 ) の合成 :

乾燥ピリジン ( 7 5 0 m L ) 中の 2' - デオキシ - 2' - フルオロ - 2' - C - メチルウリジン ( 3 , 8 1 . 1 g , 3 1 2 m m o l ) の攪拌溶液に、 4 5 分間の時間にわたって、周囲温度で、乾燥ピリジン ( 5 0 0 m L ) 中の T B D M S C l ( 1 0 3 . 1 9 g , 6 8 5 . 6 m m o l ) の溶液を滴下して加えた。この反応は周囲温度で 2 4 時間攪拌された。メタノール ( 8 5 m L ) が反応混合物に加えられ、これは 1 0 分間攪拌させられ、次いで、溶媒が減圧下で蒸留して除かれた。熱水 ( 4 5 ) ( 1 L ) が反応塊に加えられ、この混合物は酢酸エチル ( 2 × 5 0 0 m L ) で抽出され、水 ( 1 × 5 0 0 m L ) で洗浄された。有機層は無水硫酸ナトリウムで乾燥された。酢酸エチルは蒸留して除かれ、得られた残渣はトルエン ( 2 × 5 0 0 m L ) とコエバポレートされて、白色泡状物として粗 9 が得られた。収率 = 1 1 6 . 9 g ( 定量的 ) 。

<sup>1</sup> H N M R ( C D C l <sub>3</sub> , 3 0 0 M H z ) : 0 . 1 ( s , 6 H ) , 0 . 9 1 ( s , 9 H ) , 1 . 2 2 ( d , 3 H , J = 2 1 H z ) , 2 . 5 0 ( s , 2 H ) , 3 . 7 5 - 4 . 0 5 ( m , 4 H ) , 5 . 5 4 ( d , 1 H , J = 9 H z ) , 5 . 7 3 ( s , 1 H ) , 6 . 0 ( d , 1 H , J = 1 8 H z ) , 7 . 8 1 ( d , 1 H , J = 9 H z ) , 8 . 5 7 ( b r , s , 1 H ) , 1 1 . 1 ( s , 1 H ) .

10

20

30

40

50

## 【 0 2 0 5 】

実施例 15 - 2 . 5' - O - ( t e r t - ブチルジメチルシリル ) - 3' - O - レプリニル - 2' - デオキシ - 2' - フルオロ 2' - C - メチル - ウリジン ( 1 0 ) の合成 :

DCM ( 1 L ) 中のヌクレオシド 9 ( 1 1 6 . 9 g 、 3 1 2 . 1 m m o l ) の攪拌溶液に DMAP ( 3 0 . 5 g 、 2 4 9 . 7 m m o l ) が加えられ、これは室温で 2 0 分間攪拌させられた。DCM ( 2 0 0 m L ) 中の無水レプリン酸 ( 1 3 3 . 6 g 、 6 4 2 . 3 m m o l ) の溶液がこの混合物に加えられ、2 4 時間攪拌させられた。この混合物の T L C は反応の完了を示した。冷水 ( 5 0 0 m L ) が加えられ、この混合物は 2 0 分間攪拌された。層が分離し、有機層は飽和炭酸水素ナトリウム溶液 ( 2 × 2 5 0 m L ) で洗浄され、無水硫酸ナトリウムで乾燥され、次いで溶媒が減圧下で蒸留されて黄色油状物が得られた。粗収率 1 9 7 . 6 g ( 1 3 5 % ) 。この物質はこのまま次の段階で使用された。

$^1\text{H}$  NMR (  $\text{CDCl}_3$  , 3 0 0 M H z ) 0 . 1 1 ( s , 6 H ) , 0 . 9 4 ( s , 9 H ) , 1 . 3 4 ( d , 3 H ,  $J$  = 2 1 H z ) , 2 . 2 2 ( s , 3 H ) , 2 . 6 - 2 . 8 9 ( m , 4 H ) , 3 . 7 2 ( m , 1 H ) , 4 . 0 1 ( d , 1 H ,  $J$  = 1 2 H z ) , 4 . 2 3 ( d , 1 H ,  $J$  = 9 H z ) , 5 . 3 3 ( d d , 1 H ,  $J$  = 1 5 H z ) , 5 . 7 3 ( d , 1 H ,  $J$  = 6 H z ) , 6 . 2 6 ( d , 1 H ,  $J$  = 1 5 H z ) , 8 . 1 2 ( d , 1 H ,  $J$  = 1 2 H z ) , 8 . 7 2 ( b r , s , 1 H ) .

## 【 0 2 0 6 】

実施例 15 - 3 . 3' - O - レプリニル - 2' - デオキシ - 2' - フルオロ 2' - C - メチル - ウリジン ( 3 a ) の合成 :

粗 1 0 ( 1 9 7 . 6 g 、 約 3 1 2 . 1 m m o l ) は DCM ( 1 L ) に溶解され、ここに TEA . 3 H F ( 5 0 . 3 g 、 3 1 2 . 1 m m o l ) が加えられ、一晚周囲温度で攪拌させられた。この混合物の T L C は反応の約 5 0 % 完了を示した。別の当量の TEA . 3 H F ( 5 0 . 3 g 、 3 1 2 . 1 m m o l ) が加えられ、この反応混合物は 6 時間反応させられた。この時点での T L C は約 1 0 % の未反応出発物質を示した。別の 0 . 2 5 当量の TEA . 3 H F ( 1 2 . 5 g 、 7 8 . 0 m m o l ) が加えられ、この反応混合物は一晚攪拌させられた。反応混合物は乾燥するまで濃縮されて黄色油状物が得られた。すべてのバッチからの粗物質は、シリカゲル上のカラムクロマトグラフィー ( DCM 中 0 - 2 % MeOH ) によって精製され、1 2 4 . 1 g の 3' - レプリネートを白色泡状固形物として得た ( 2' - デオキシ - 2' - フルオロ - 2' - C - メチルウリジンからの 3 段階にわたって 9 0 % 精製収率 ) 。

$^1\text{H}$  NMR : (  $\text{CDCl}_3$  , 4 0 0 M H z ) 1 . 5 5 ( d , 3 H , CH3 ,  $J$  = 2 0 H z ) , 2 . 3 6 ( s , 3 H , CH3 ) , 2 . 8 - 3 . 0 3 ( m , 5 H , CH2CH3 ) , 3 . 9 1 - 3 . 9 6 ( d d , 1 H , CH' ) , 4 . 2 - 4 . 2 5 ( m , 1 H , CH' ) , 4 . 3 4 ( d d , 1 H , CH ,  $J$  = 8 H z ) , 5 . 2 5 ( d d , 1 H ,  $J$  = 1 6 H z ) , 5 . 9 3 ( d , 1 H ,  $J$  = 8 H z ) , 8 . 2 0 ( d , 1 H ,  $J$  = 8 H z ) , 9 . 1 8 ( s , 1 H ) .

## 【 0 2 0 7 】

実施例 15 - 4 . ( S ) - 2 - { [ ( 1 R , 4 R , 5 R ) - 5 - ( 2 , 4 - ジオキソ - 3 , 4 - ジヒドロ - 2 H - ピリミジン - 1 - イル ) - 4 - ( R ) - フルオロ - 3 - ( 4 - オキソペンタノイル ) - 4 - メチル - テトラヒドロ - フラン - 2 - イルメトキシ ] - フェノキシ - ホスホリルアミノ } - プロピオン酸 ( S ) - イソプロピルエステル ( 1 1 ) 立体選択的合成 :

0 に冷却された、5 m L 無水 THF 中のヌクレオシド ( 3 a 、 1 . 0 0 m m o l 、 3 5 8 m g ) の溶液に、t B u M g C l ( THF 中 1 . 7 M 、 2 当量 ) が加えられ、これを周囲温度まで暖められ、3 0 分間攪拌された。この混合物に、試薬 ( 約 9 7 % キラル純度 ) ( S ) - 2 - [ ( S ) - ( 4 - ニトロ - フェノキシ ) - フェノキシ - ホスホリルアミ

10

20

30

40

50

ノ]プロピオン酸イソプロピルエステル(8、 $S_p$ 異性体)(408mg、1.00mmol、1.00当量)を1ロットで加え、室温で撹拌させた。16時間後、約30%の出発物質が残っていた。この反応混合物は、飽和 $NH_4Cl$ 溶液10mLでクエンチし、水相は酢酸エチル(3×25mL)で抽出された。合わせた有機層はブラインで洗浄され、無水硫酸ナトリウムで乾燥され、そして乾燥するまでエバポレートされて、淡黄色泡状物(500mg)が得られた。これは、塩化メチレン中の2-5%メタノールを使用するシリカゲルクロマトグラフィーによって精製され、約97%  $P$ キラル純度の白色泡状物としての生成物(275mg)および未反応の出発物質(162mg)が得られた。消費された出発物質に基づく、収率は76%であった。

$^{31}P$  NMR ( $CDCl_3$ , 162 MHz): 3.7 ppm;  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz): 1.22 (dd, 6H,  $J$  = 6.4 Hz), 1.37 (s, 3H), 1.58 (s, 3H), 2.18 (s, 3H), 2.63 - 2.9 (m, 4H), 4.0 (d, 1H,  $J$  = 8 Hz), 4.2 - 4.33 (m, 1H), 4.57 (d, 1H,  $J$  = 8 Hz), 4.96 - 5.00 (sept, 1H), 5.2 (dd, 1H,  $J$  = 9 Hz), 5.42 (d, 1H,  $J$  = 8 Hz), 6.19 (d, 1H,  $J$  = 18 Hz), 7.15 - 7.35 (m, 5H), 7.5 (d, 1H,  $J$  = 5.6 Hz), 8.2 (br, s, 1H).

#### 【0208】

実施例15-5.(S)-2-{[(1R,4R,5R)-5-(2,4-ジオキソ-3,4-ジヒドロ-2H-ピリミジン-1-イル)-4-(R)-フルオロ-3-ヒドロキシ-4-メチル-テトラヒドロ-フラン-2-イルメトキシ]-フェノキシ-ホスホリルアミノ}-プロピオン酸(S)-イソプロピルエステル( $S_p$ -4)の合成

亜硫酸ナトリウムの溶液は、水(25mL)中に $Na_2S_2O_3$ (1.51g)および $Na_2S_2O_5$ (0.57g)を加えることによって調製された。無水THF(2.5mL)中のレプリネート(11、250mg、0.40mmol)の溶液に、1.0mLの亜硫酸ナトリウム溶液が加えられた。これは、室温で4時間撹拌させられた。この反応混合物は、水(15mL)に注がれ、酢酸エチル(3×25mL)で抽出され、そしてエバポレートされて、保護されていないヌクレオシドから直接産生された $S_p$ -4の物理的およびスペクトル的特性と一致する約97%  $P$ キラル純度を有する白色固体生成物を定量的に与えた。

#### 【0209】

実施例16.3aから $S_p$ -4を調製するための代替方法

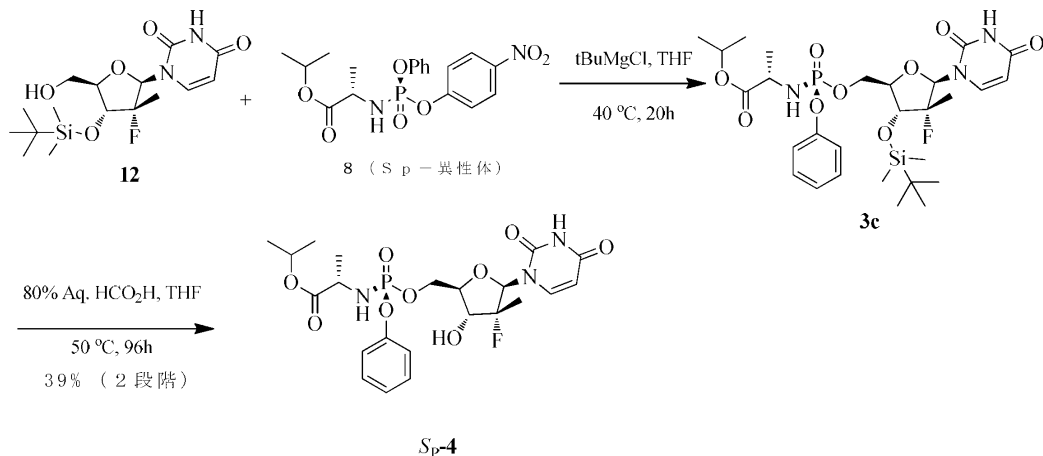
乾燥THF(1.5mL)中の4-オキソ-ペンタン酸(2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-ジオキソ-3,4-ジヒドロ-2H-ピリミジン-1-イル)-4-フルオロ-2-ヒドロキシメチル-4-メチル-テトラヒドロ-フラン-3-イルエステル(3a、210mg、0.59mmol)の撹拌溶液に、室温で2分間の時間にわたって、tert-ブチルマグネシウムクロリド(1.07mL、1.82mmol)の1.7M溶液が加えられた。最初に白色沈殿が観察され、10分後に反応混合物は暗黄色溶液に変化した。30分後、THF(1.5mL)中の(S)-2-[(S)-(4-ニトロフェノキシ)-フェノキシ-ホスホリルアミノ]-プロピオン酸イソプロピルエステル(8( $S_p$ 異性体)、382mg、0.94mmol)が、3分間の時間にわたって滴下して加えられた。この混合物は40℃で5時間加熱され、この時点で、TLCおよび $^1H$  NMRは2%未満の未反応出発物質を示した。反応は飽和塩化アンモニウム水溶液でクエンチされ、次いで、酢酸エチルと水の間で分配された。合わせた有機層は10% $Na_2CO_3$ 水溶液(3×10mL)で、続いて水で洗浄された。有機層は無水硫酸ナトリウムで乾燥され、そして濃縮され、茶色残渣が得られた(410mg)。粗生成物はテトラヒドロフラン(1.0mL)に溶解され、次いで、1mL水中の亜硫酸ナトリウム(37mg、0.295mmol)およびメタ重亜硫酸ナトリウム(224mg、1.18mmol)の

混合物の水溶液が加えられた。この混合物は 45 で 20 時間加熱され、この段階で約 10 % のみの転換が T L C によって観察され、従って、さらなる亜硫酸ナトリウム ( 74 m g ) およびメタ重亜硫酸ナトリウム ( 448 m g ) が加えられ、加熱がさらに 52 時間継続された。この時点で、約 40 % の転換が T L C によって観察された。この反応混合物は水と酢酸エチルの間で分配された。合わせた有機層は無水硫酸ナトリウムで乾燥され、濃縮されて茶色残渣が得られた ( 210 m g )。0 - 5 % M e O H / D C M グラジエントを使用する残渣のカラムクロマトグラフィーは、未反応の出発物質 ( 89 m g ) および S<sub>p</sub>-4 ( 57 m g、18 % 収率、回収された出発物質に基づいて 24 % ) を与えた。

#### 【 0 2 1 0 】

実施例 17 . 合成中間体として 3 c を用いる S<sub>p</sub>-4 の調製

10



20

#### 【 0 2 1 1 】

実施例 17 - 1 . 1 - [ ( 2 R , 3 R , 4 R , 5 R ) - 4 - ( t e r t - ブチルジメチルシラニルオキシ ) - 3 - フルオロ - 5 - ヒドロキシメチル - 3 - メチル - テトラヒドロ - フラン - 2 - イル ] - 1 H - ピリミジン - 2 , 4 - ジオン、12 の調製

ピリジン ( 50 m L ) 中の 3 ( 10 . 0 g、38 . 43 m m o l ) の溶液に、ジクロロメタン ( 50 m L ) が加えられた。この溶液は 0 まで冷却された。この溶液に、4 , 4 ' - ジメトキシトリチルクロリド ( 14 . 32 g、42 . 27 m m o l ) が加えられ、この溶液は 0 で 5 時間撹拌された。メタノール ( 5 m L ) が加えられて反応がクエンチされた。この溶液は減圧下で乾燥するまで濃縮され、残渣は酢酸エチル ( 500 m L ) と水 ( 50 m L ) の間で分配された。有機溶液はブライン ( 50 m L ) で洗浄され、乾燥された ( 硫酸ナトリウム、4 g )。溶媒は減圧下で除去され、残渣はジクロロメタン ( 100 m L ) に溶解された。この溶液にイミダゾール ( 7 . 83 g、115 m m o l ) および t - ブチルジメチルシリルクロリド ( 8 . 68 g、57 . 6 m m o l ) が加えられた。この溶液は大気温度で 16 時間撹拌された。メタノールが加えられて反応がクエンチされ ( 5 m L )、溶媒は減圧下で除去され、残渣は酢酸エチル ( 500 m L ) と水 ( 50 m L ) の間で分配された。有機溶液は乾燥され ( 硫酸ナトリウム、4 g )、減圧下でエバポレートされた。残渣はカラムクロマトグラフィー ( ヘキサン中 10 - 40 % E t O A c ) によって精製され、5 ' - O - D M T - 3 ' - O - t B D M S 中間体生成物が得られた。これは、次には、ジクロロメタン ( 200 m L ) 中の 1 % トリフルオロ酢酸で処理された。この溶液は周囲温度で 1 時間撹拌された。水 ( 20 m L ) が加えられ、この溶液は周囲温度でさらに 1 時間撹拌された。メタノール ( 5 m L ) がゆっくりと加えられ、この溶液はさらに 1 時間、周囲温度で撹拌された。溶液の p H を 7 に調整するために水酸化アンモニウムが加えられた。有機溶液が分離され、乾燥され ( 硫酸ナトリウム、4 g )、そして乾燥するまで減圧下でエバポレートされた。残渣はシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製され ( ジクロロメタン中 1 - 5 % メタノール )、白色固形物 7 . 5 g として、3 段階に対して 50 % 収率で 12 が得られた。

30

40

50

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ) (ppm) 11.48 (br s, 1 H, NH), 7.94 (d, 1 H, H-6), 6.00 (d, 1 H, H-1'), 5.69 (d, 1 H, H-5), 4.06 (dd, 1 H, 3'-H), 3.85 (m, 2 H, H-5'a, H-4'), 3.58 (br d, 1 H, H-5'b), 1.27 (d, 3 H, 2-CH<sub>3</sub>), 0.89 (s, 9 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.12 (s, 6 H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>).

# 【0212】

実施例 17 - 2. 1 - [(2R, 3R, 4R, 5R) - 4 - (tert - ブチルジメチルシラニルオキシ) - 3 - フルオロ - 5 - ヒドロキシメチル - 3 - メチル - テトラヒドロ - フラン - 2 - イル] - 1H - ピリミジン - 2, 4 - ジオン (3c) を使用する S<sub>p</sub> - 4 の調製

10

乾燥 THF (3 mL) 中の 1 - [(2R, 3R, 4R, 5R) - 4 - (tert - ブチルジメチルシラニルオキシ) - 3 - フルオロ - 5 - ヒドロキシメチル - 3 - メチル - テトラヒドロ - フラン - 2 - イル] - 1H - ピリミジン - 2, 4 - ジオン (12、374 mg、1 mmol) の攪拌溶液に、室温で、2 分間の時間にわたって、tert - ブチルマグネシウムクロリド (1.8 mL、3.1 mmol) の 1.7 M 溶液を加えた。最初に白色沈殿が観察され、10 分後に反応混合物は透明な暗黄色溶液に変化した。30 分後、THF (2.5 mL) 中の (S) - 2 - [(S) - (4 - ニトロフェノキシ) - フェノキシ - ホスホリルアミノ] - プロピオン酸イソプロピルエステル (8、S<sub>p</sub> 異性体、653 mg、1.6 mmol) が、3 分間の時間にわたって滴下して加えられた、この混合物は 40

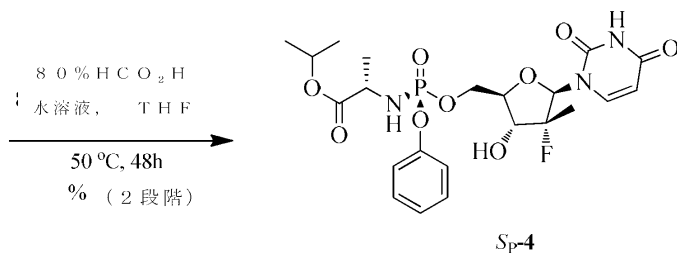
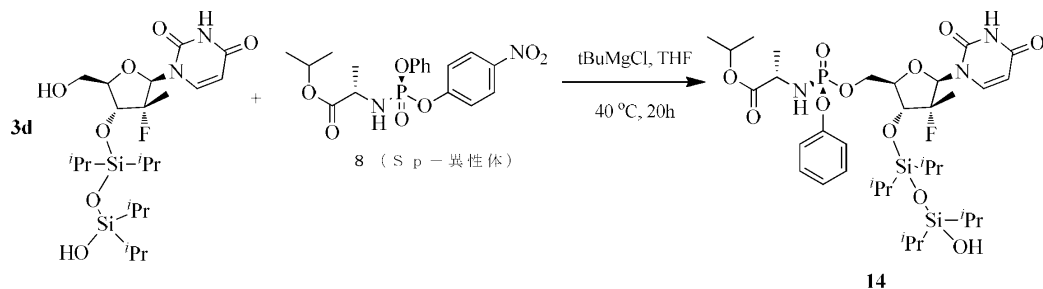
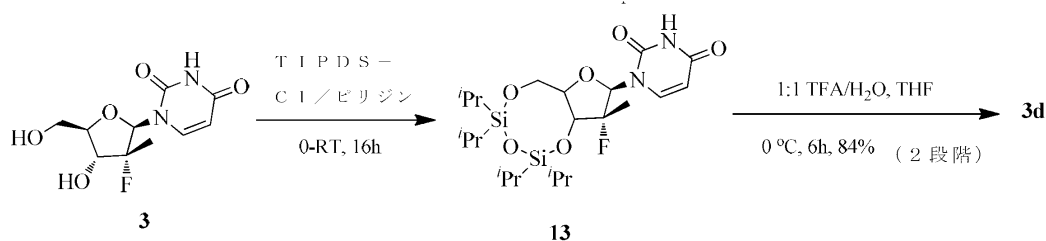
20

で 20 時間加熱され、この時点で、TLC および  $^1\text{H}$  NMR は 2 % 未満の未反応出発物質を示した。反応混合物は飽和塩化アンモニウム水溶液でクエンチされ、次いで、酢酸エチルと水の間で分配された。有機層は 10 % Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 水溶液 (3 × 10 mL) で、続いて水で洗浄された (20 mL)。有機層は無水硫酸ナトリウムで乾燥され、そして濃縮され、3c を含む茶色残渣が得られた (850 mg)。粗生成物はテトラヒドロフラン (2 mL) に溶解され、室温で 0.8 mL の 80 % ギ酸水溶液が加えられた。反応混合物は 50 で 96 時間加熱された。約 70 % の転換が TLC によって観察された。この反応混合物は冷飽和炭酸水素ナトリウム水溶液に注がれ、次いで、酢酸エチルと水の間で分配された。合わせた有機層は無水硫酸ナトリウムで乾燥され、濃縮されて茶色残渣が得られた (220 mg)。0 - 5 % MeOH / DCM グラジエントを使用する残渣のカラムクロマトグラフィーは、未反応の出発物質 (21 mg) および S<sub>p</sub> - 4 (77 mg、35 % 収率、回収された出発物質に基づいて 39 %) を与えた。

30

# 【0213】

実施例 18 . 合成中間体として 3d を用いる S<sub>p</sub> - 4 の調製



## 【0214】

## 実施例18-1. 3dの調製

0 のピリジン (20 mL) 中の **3** の攪拌溶液に、15 分間の時間にわたって、TIPDS-CI を滴下して加えた。この混合物は室温まであたためさせられて、この温度にてこれは16時間攪拌された。ピリジンはエバポレートされ、残渣はトルエン (50 mL) とコエバポレートされた。次いで、残渣はヘキサンとともに粉碎され、白色沈殿は、Celite のパッドを使用してろ過されて除かれた。ろ液は減圧下で濃縮されて、泡状固形物 (12.97 g) が得られた。粗生成物 (**13**) はテトラヒドロフラン (75 mL) に再溶解され、0 で20分間の時間にわたって、TFAの水溶液 (75 mL、1:1 TFA/水) が加えられた。この混合物はこの温度で6時間攪拌された。TLCは約5%の出発物質を示した。この反応混合物は、pHが8になるまで飽和NaHCO<sub>3</sub>水溶液でクエンチされ、次いで、酢酸エチルで抽出された。合わせた有機抽出物は水で洗浄され、乾燥され、そして濃縮されて、白色結晶性固形物が得られた。さらに、ヘキサン (30 mL) との固形物の粉碎は白色固形物を与え、これはろ過され、そして高真空下で乾燥されて **3d** (10.1 g、2段階で84%収率) を与えた。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8.83 (bs, 1H), 7.94 (bd, J = 6.0 Hz, 1H), 6.10 (bd, J = 18.4 Hz, 1H), 5.71 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 4.43 (bs, 1H), 4.36 (dd, J = 22.6, 9.0 Hz, 1H), 4.27 (bs, 1H), 4.10 (d, J = 13.2 Hz, 1H), 4.03 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 3.92 (d, J = 13.2 Hz, 1H), 1.39 (d, J = 22.0 Hz, 3H), 1.11 - 0.92 (m, 28H)。

## 【0215】

## 実施例18-2. Sp-4の調製

乾燥THF (5 mL) 中の **3d** (520 mg、1 mmol) の攪拌溶液に、室温で15分間の時間にわたって、tert-ブチルマグネシウムクロリド (1.8 mL、3.1 mmol) が加えられた。この混合物はこの温度で6時間攪拌された。TLCは約5%の出発物質を示した。この反応混合物は、pHが8になるまで飽和NaHCO<sub>3</sub>水溶液でクエンチされ、次いで、酢酸エチルで抽出された。合わせた有機抽出物は水で洗浄され、乾燥され、そして濃縮されて、白色結晶性固形物が得られた。さらに、ヘキサン (30 mL) との固形物の粉碎は白色固形物を与え、これはろ過され、そして高真空下で乾燥されて **Sp-4** (10.1 g、2段階で84%収率) を与えた。

mol、3.1当量)の1.7M溶液が加えられた。30分後、THF(1mL)中の(S)-2-[(S)-(4-ニトロ-フェノキシ)-フェノキシホスホリルアミノ]プロピオン酸イソプロピルエステル(8、S<sub>p</sub>異性体、653mg、1.6mmol)の溶液が、3分間の時間にわたって滴下して加えられた。この混合物は室温で60時間攪拌させられた。粗サンプルの<sup>1</sup>Hおよび<sup>31</sup>P NMRは、約1:0.76のジアステオマーの混合物を示した。この反応混合物は、飽和NH<sub>4</sub>Cl水溶液(20mL)でクエンチされた。この混合物は、酢酸エチル(150mL)と、順番に、10%Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>水溶液(3×20mL)および水(20mL)との間で分配された。合わせた有機抽出物は、無水硫酸ナトリウムで乾燥され、ろ過され、そして減圧下で濃縮されて、淡黄色残渣(14、878mg)が得られた。

10

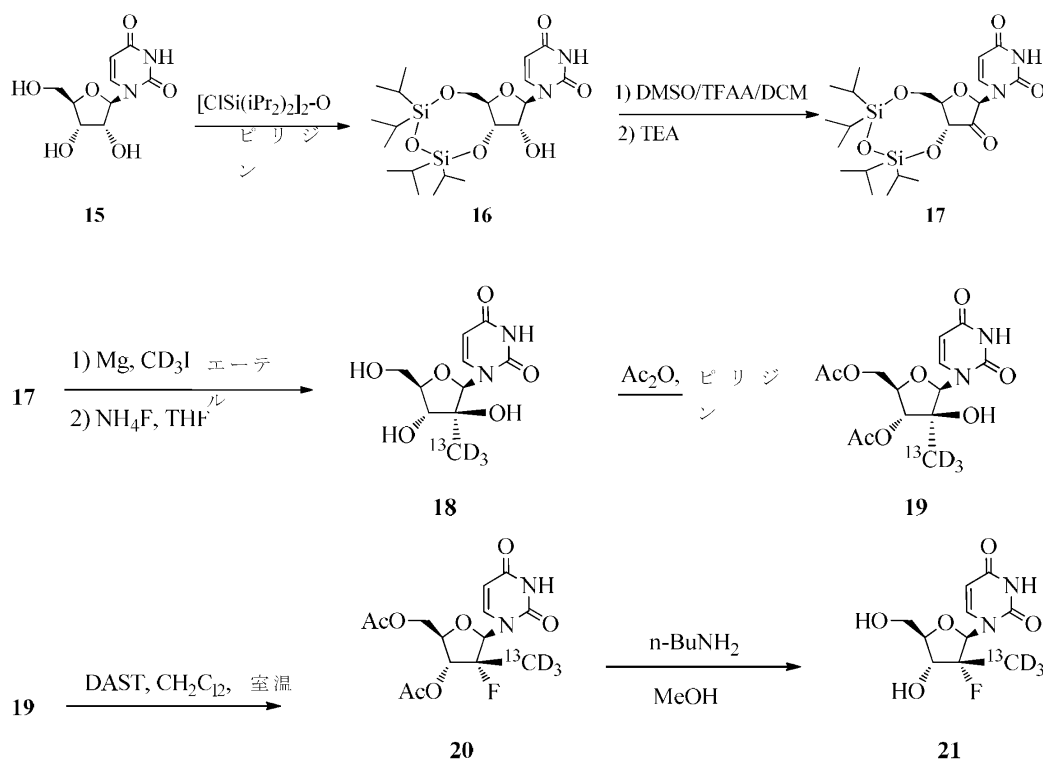
## 【0216】

上記の化合物14は、テトラヒドロフラン(3mL)に再溶解され、次いで、80%ギ酸水溶液が加えられた。この混合物は、55℃で20時間加熱された。この反応混合物は0℃まで冷却され、次いで、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液(pH 7.0)でクエンチされた。次いで、この反応混合物は、酢酸エチルと水の間で分配された。合わせた有機層は硫酸ナトリウムで乾燥され、濃縮されて、560mgの残渣が得られた。残渣は0-5%メタノール/ジクロロメタングラジエントを使用するクロマトグラフィーが行われ、白色固形物として、未反応の出発材料(14、242mg)およびS<sub>p</sub>-4(80mg、15%収率)が得られた。

## 【0217】

20

実施例19. アイソトープ標識されたS<sub>p</sub>-4の調製



30

40

## 【0218】

実施例19-1. 1-((6aR, 8R, 9R, 9aS)-9-ヒドロキシ-2,2,4,4-テトライソプロピルテトラヒドロ-6H-フロ[3,2-f][1,3,5,2,4]トリオキサジシロシン-8-イル)ピリミジン-2,4(1H,3H)-ジオン、16の調製

ウリジン(15、100.0g、409.5mmol)は、無水ピリジン(600mL)とともに、乾燥するまでコエバポレートされ、そして無水ピリジン(700mL)中に

50



再懸濁された。この攪拌微細懸濁液に、60分間にわたって、周囲温度で、1,3-ジクロロ-1,1,3,3-テトライソプロピルジシロキサン(135.7g、482.5mmol)が加えられた。17時間、周囲温度での微細懸濁液の攪拌後、反応は、メタノール(20mL)を加えることによってクエンチされ、次いで、減圧下で濃縮された。残渣は酢酸エチル(1.5L)と水(2L)の間で分配された。有機層は、5%塩酸(2×1L)、ブライン(500mL)で洗浄され、固体硫酸ナトリウム(50g)で乾燥され、ろ過され、そして粗生成物、約250gまで減圧下で濃縮された。残渣は、シリカゲル(1.75kg)およびヘキサン中の酢酸エチルの20-65%グラジエントを使用するろ過カラムに供された。均一なTLC(1:1ヘキサン-酢酸エチル中Rf 0.55)によって判断されるような純粋生成物画分は合わされ、減圧下で濃縮され、乾燥されて(40、0.2mmHg、24時間)、白色泡状固形物として145.5g(76%)の16が得られた。わずかに不純物を含む16のさらなる画分(35g)もまた収集された。

10

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ) (ppm) 11.35 (s, 1H, NH), 7.66 (d, 1H,  $J = 7.6$  Hz, H-6), 5.57 (d, 1H,  $J = 4.8$  Hz, 2'-OH), 5.50-5.49 (m, 2H, 1'-H and H-5), 4.14-4.18 (m, 3H, 2', 3', 4'-H), 3.97-3.87 (m, 2H, 5'-Ha and Hb), 1.02-0.95 (m, 28H,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ).

【0219】

20

実施例19-2.1-(6aR,8R,9aR)-2,2,4,4-テトライソプロピル-9-オキソテトラヒドロ-6H-フロ[3,2-f][1,3,5,2,4]トリオキサジシロシン-8-イル)ピリミジン-2,4(1H,3H)-ジオン、17の調製

乾燥三口丸底フラスコに、無水DCM(600mL)およびDMSO(30.82g、394.5mmol)が加えられた。この溶液は、窒素雰囲気下で、ドライアイス/アセトンバス中で-78に冷却された。無水トリフルオロ酢酸(未処理、77.7g、369.8mmol)は、40分間にわたって、シリンジを介して加えられ、濁った混合物を与えた。この混合物に、DCM(600mL)中のウリジン誘導体16の溶液が、-78で、75分間にわたって、添加漏斗を介して滴下して加えられた。不均一混合物が-78~-65で2時間攪拌され、次いで、無水トリエチルアミン(92mL)が素早くシリンジを介して加えられ、透明な明黄色溶液が形成した。TLC(ヘキサン中で30%EtOAc)によって示されるように、1時間後、低温にて、反応は完了した。冷却バスが取り外され、反応混合物は、1時間にわたって、周囲温度までゆっくりとあたためられた。反応は、飽和 $\text{NH}_4\text{Cl}$ (180mL)の添加によってクエンチされた。水(200mL)が加えられ、有機層が分離された。水層は再度DCM(300mL)で抽出された。合わせた有機層は、水(3×400mL)、ブライン(150mL)で洗浄され、そして $\text{Na}_2\text{SO}_4$ で乾燥された。溶媒の除去は粘性の茶色残渣を与えた。

30

【0220】

粗油状残渣(痕跡量のDCMを含む)は一晩フリーザー中に保存された。一晩経過後、いくつかの結晶固体が油状物に観察された。油状物は、500mLヘキサン中に、周囲温度で溶解された。この溶液は、フリーザー中に24時間保存され、そしてより多くの固体が形成された。固体はろ過によって収集され、ヘキサン(1L)中の冷10%DCMですすがれ、オレンジ色の大部分が除去された。固形物(17)は真空下で2時間乾燥され、次いで24時間風乾された。この固形物は、50、真空下で乾燥後に21gの重量であった。ろ液は濃縮され、残渣はカラムクロマトグラフィー(ヘキサン中10-70%酢酸エチル)を介して精製され、明オレンジ色固形物として、さらに37g(合わせた収率97%)の17が得られた。

40

【0221】

実施例19-3.1-(2R,3S,4R,5R)-3,4-ジヒドロキシ-5-(ヒドロキシメチル)-3- $^{13}\text{C}$ -パービューテリオメチルテトラヒドロフラン-2-イ

50

ル)ピリミジン - 2, 4 (1 H, 3 H) - ジオン、18の調製

5%塩酸水溶液で洗浄し、乾燥させた(50、0.2 mm Hg、24時間)マグネシウム(3.53 g、147 mmol)は、マグネチックスターラーおよび冷却器を装着した二口丸底フラスコに入れた。このフラスコはアルゴンガスが満たされ、次いで無水エーテル(80 mL)が加えられた。エーテル中のマグネシウムに、ゆっくりとパービューテリオ - <sup>13</sup>C - メチルヨーダイドが加えられ、これは、発熱反応を生じた。反応混合物が冷却された後、上清は、-50で、20分間にわたって、無水THF(1 L)中の乾燥化合物17(50、0.2 mm Hg、15時間)(10.0 g、20.63 mmol)の溶液に移された。温度は-40まで上昇させられ、この混合物は-40から-25の間で4時間搅拌された。反応の完了の際に、この混合物は、-50にてEtOAc(1 L)で希釈され、次いで、ブライン(300 mL)がゆっくりと加えられた。有機層は分離され、次いで飽和塩化アンモニウム溶液で洗浄され(300 mL x 2)、硫酸ナトリウムで乾燥された。ろ過および減圧下での濃縮後、残渣はMeOH(250 mL)中に溶解された。フッ化アンモニウム(12 g)およびTBAF(400 mg)が加えられた。得られた混合物は、90で7時間搅拌され、次いで、減圧下でシリカゲル(20 g)を用いて濃縮された。徹底的な真空乾燥後、得られた残渣は、フラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー(MeOH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> = 1:20 ~ 1:10)によって精製され、白色固形物として化合物18(5 g、46%)が得られた。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO - d<sub>6</sub>) (ppm) 11.26 (s, 1 H, NH), 7.65 (d, 1 H, J = 8.4 Hz, H-6), 5.77 (d, 1 H, J = 2.4 Hz, H-1'), 5.57 (d, 1 H, J = 8.0 Hz, H-5), 5.46 (d, 1 H, J = 5.2 Hz, HO-3'), 5.24 (d, 1 H, J = 2.4 Hz, HO-2'), 5.14 (t, 1 H, J = 5.6 Hz, HO-5'), 3.74 - 3.56 (m, 4 H, H-3', 4', 5', 5').

【0222】

実施例19-4. ((2R, 3R, 4S, 5R) - 3 - アセトキシ - 5 - (2, 4 - ジオキソ - 3, 4 - ジヒドロピリミジン - 1(2H) - イル) - 4 - ヒドロキシ - 4 - <sup>13</sup>C - パービューテリオメチルテトラヒドロフラン - 2 - イル)メチルアセテート、19の調製

無水ピリジン(100 mL)中の化合物18(5.00 g、19.1 mmol)の溶液に、周囲温度で、無水酢酸(3 mL)が加えられた。得られた混合物は、周囲温度で15時間搅拌され、EtOAc(250 mL)で希釈され、水(50 mL x 3)で洗浄され、そして硫酸ナトリウムで乾燥された。ろ過および濃縮の後、残渣はフラッシュカラムクロマトグラフィー(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中MeOH 0 ~ 5%)で精製され、灰色固形物として化合物19(4.0 g、68%)が得られた。

【0223】

実施例19-5. ((2R, 3R, 4R, 5R) - 3 - アセトキシ - 5 - (2, 4 - ジオキソ - 3, 4 - ジヒドロピリミジン - 1(2H) - イル) - 4 - フルオロ - 4 - <sup>13</sup>C - パービューテリオメチルテトラヒドロフラン - 2 - イル)メチルアセテート、20の調製

無水CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(60 mL)中の化合物19(2.33 g、6.73 mmol)の溶液に、-78で、DAST(1.33 mL、10.1 mmol)をゆっくりと加えた。得られた混合物は、周囲温度にさらした後、30分間搅拌された。さらなる2回の2.33 gスケール反応および1回の1.00 gスケール反応は、正確に同じ方法で実施された。4つすべての反応混合物は合わされ、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(300 mL)で希釈され、そして氷水(100 mL x 2)次いで冷NaHCO<sub>3</sub>水溶液(100 mL x 2)で洗浄された。乾燥、ろ過、および濃縮の後、残渣はフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製されて(ヘキサン中EtOAc 0% ~ 50%、化合物は約48%出てくる)、白色固形物として化合物20(2.0 g、総計7.99 gの化合物19の24%)が得

られた。

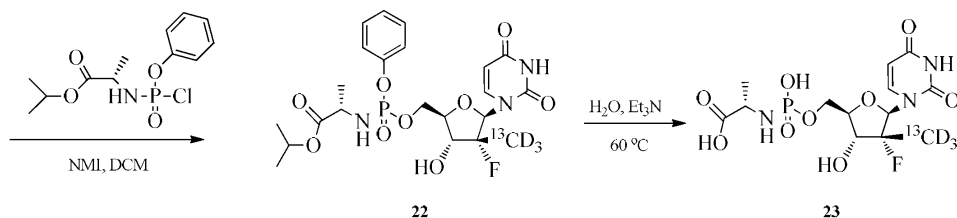
$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) (ppm) 8.27 (s, 1H, NH), 7.55 (d, 1H,  $J = 8.4$  Hz, H-6), 6.17 (d, 1H,  $J = 18.8$  Hz, H-1'), 5.78 (dd, 1H,  $J = 1.2, 8.4$  Hz, H-5), 5.12 (dd, 1H,  $J = 9.6, 21.6$  Hz, H-3'), 4.40-4.31 (m, 3H, H-4', 5', 5''), 2.19 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.15 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

【0224】

実施例19-6. 1-(2R, 3R, 4R, 5R)-3-フルオロ-4-ヒドロキシ-5-(ヒドロキシメチル)-3- $^{13}\text{C}$ -パージューテリオメチルテトラヒドロフラン-2-イル)ピリミジン-2, 4(1H, 3H)-ジオン、21の調製

メタノール(20 mL)中の化合物20(2 g、5.74 mmol)の溶液に、n-ブチルアミン(6 mL)が加えられた。得られた混合物は、室温で15時間攪拌され、真空中でシリカゲルを用いて濃縮された。得られた残渣は、フラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 中MeOH 0~10%)によって精製されて、白色固形物として化合物21(1.3 g、85%)が得られた。

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) (ppm) 8.08 (d, 1H,  $J = 8.0$  Hz, H-6), 6.13 (d, 1H,  $J = 18.4$  Hz, H-1'), 5.70 (d, 1H,  $J = 8.0$  Hz, H-5), 3.99 (d, 1H,  $J = 13.6$  Hz, H-5'), 3.97-3.91 (m, 2H, H-3', 4'), 3.80 (dd, 1H,  $J = 2.0, 12.8$  Hz, H-5''), ESMS ( $M+1$ ) 理論値265, 実測値265.



【0225】

実施例19-7. (S)-イソプロピル 2-(((2R, 3R, 4R, 5R)-5-(2, 4-ジオキソ-3, 4-ジヒドロピリミジン-1(2H)-イル)-4-フルオロ-3-ヒドロキシ-4- $^{13}\text{C}$ -パージューテリオメチルテトラヒドロフラン-2-イル)メトキシ)(フェノキシ)ホスホリルアミノ)プロパノエート、22の調製

THF(4 mL)中の保護されていないヌクレオシド21(207 mg、0.783 mmol)およびN-メチルイミダゾール(0.4 mL、5 mmol)の溶液に、あらかじめ作製されたTHF中のホスホロクロリデート(1.0 M、2.35 mL、2.35 mmol)が、0 で滴下されて加えられた。この反応は、1時間にわたって周囲温度までゆっくりとあたためられ、次いで、水(1 mL)およびEtOAc(5 mL)が加えられた。有機溶液は、飽和クエン酸一塩基ナトリウム水溶液(2×2 mL)、飽和 $\text{NaHCO}_3$ 水溶液(1×2 mL)で洗浄され、乾燥され( $\text{MgSO}_4$ )、そして減圧下で濃縮された。粗物質は、溶離液として $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 中の0~5%  $^i\text{PrOH}$ を使用するシリカカラムクロマトグラフィーによって精製されて、白色固形物として、ホスホルアミデート、22(216 mg、52%、P-ジアステレオマーの1:1混合物)が得られた。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) 11.54 (s, 1H), 7.56 (d,  $J = 6.8$  Hz, 1H), 7.40-7.35 (m, 2H), 7.23-7.18 (m, 3H), 6.14-5.96 (m, 2H), 5.89 (dd,  $J = 5.6, 25.6$  Hz, 1H),

5.55 (t, J = 8.4 Hz, 1H), 4.85 (dq, J = 1.6, 6.0 Hz, 1H), 4.44 - 4.32 (m, 1H), 4.25 (m, 1H), 4.06 - 3.98 (m, 1H), 3.86 - 3.70 (m, 2H), 1.30 - 1.08 (m, 9H);  $^{31}\text{P}$  NMR (162 MHz, DMSO- $d_6$ ) 4.90, 4.77; LRMS (ESI)

[M+H] $^{+}$  C<sub>21</sub>H<sub>27</sub>D<sub>3</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>9</sub>Pについての計算値534.5、実測値534.4.

#### 【0226】

実施例19-8.(2S)-2-((((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-ジオキソ-3,4-ジヒドロピリミジン-1(2H)-イル)-4-フルオロ-3-ヒドロキシ-4- $^{13}\text{C}$ -パージューテリオメチルテトラヒドロフラン-2-イル)メトキシ)(ヒドロキシ)ホスホリル)アミノ)プロパン酸、23の調製

ホスホルアミデート22(147mg、0.276mmol)は、トリエチルアミン(2mL)および水(0.5mL)中に懸濁され、60℃で30時間加熱された。次いで、揮発性成分は減圧下でエバポレートされた。粗物質は、シリカカラムクロマトグラフィーによって、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中50-70%  $i$ PrOH、次いで、 $i$ PrOH中0-20% NH<sub>4</sub>OHで溶出させることによって精製され、白色固形物として23が得られた(95mg、83%):

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) 8.00 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 5.98 (d, J = 19.2 Hz, 1H), 5.52 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 4.02 - 3.81 (m, 4H), 1.10 (d, J = 6.8 Hz, 3H);  $^{31}\text{P}$  NMR (162 MHz, DMSO- $d_6$ ) 8.12; LRMS (ESI)

[M+H] $^{+}$  C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>D<sub>3</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>9</sub>Pについて理論値416.3、実測値416.4.

#### 【0227】

R<sub>p</sub>-4、4、およびS<sub>p</sub>-4のサンプルの特性

R<sub>p</sub>-4、4、およびS<sub>p</sub>-4のサンプルは、X線粉末回折(XRPD)、核磁気共鳴(NMR)スペクトル分析、フーリエ変換赤外(FT-IR)スペクトル分析、示差走査熱量測定(DSC)、熱重量分析(TGA)、蒸気収着重力測定(GVS)、熱力学的水溶解度、および高速液体クロマトグラフィー(HPLC)によって分析された。

#### 【0228】

実施例20.X線粉末回折

R<sub>p</sub>-4、4、およびS<sub>p</sub>-4のサンプルは、以下のレジメンに従ってX線粉末回折(XRPD)によって分析された。

#### 【0229】

a. Bruker AXS/Siemens D5000

X線粉末回折パターンは、Cu K 照射(40kV、40mA)、 $\theta$ - $2\theta$ ゴニオメーター、V20および受容スリットの逸脱、グラファイト二次単色光分光器、およびシンチレーションカウンターを使用して、Siemens D5000回折計で収集された。この機器は、認定されたCorundum標準(NIST 1976)を使用して性能チェックされた。データ収集のために使用されたソフトウェアはDiffrac Plus XRPD Commander v2.3.1であり、データはDiffrac Plus EVA v11.0.0.2またはv13.0.0.2を使用して分析および提示された。

#### 【0230】

##### 周囲条件

周囲条件下で実行されたサンプルは、受け取ったままの粉末を使用して、平板試料として調製された。約35mgのサンプルは、研磨され、ゼロバックグラウンド(510)で

10

20

30

40

50

あるシリコンウェハに切断されたキャビティーに穏やかに充填された。サンプルは、分析の間にそれ自体の平面で回転された。データ収集の詳細は、角範囲： $2 \sim 42^\circ 2$ ；ステップサイズ： $0.05^\circ 2$ ；および収集時間： $4 \text{ s}$ ・ステップ $^{-1}$ である。

#### 【0231】

b. Bruker AXS C2 GADDS

X線粉末回折パターンは、Cu K 照射 ( $40 \text{ kV}$ 、 $40 \text{ mA}$ )、自動XYZステージ、自動サンプルポジショニングのためのレーザービデオ顕微鏡、およびHiStar 2次元面積検出器を使用して、Bruker AXS C2 GADDS回折計上で収集された。X線光学装置は、 $0.3 \text{ mm}$ のピンホールコリメータと結合された単一のGoebel多層ミラーからなる。

10

#### 【0232】

ビーム広がり、すなわち、サンプル上のX線ビームの有効サイズは、約 $4 \text{ mm}$ であった。  
- 連続スキャンモードは、 $3.2^\circ - 29.7^\circ$ の有効 $2^\circ$ 範囲を与える $20 \text{ cm}$ のサンプル-検出器距離を用いて利用された。典型的には、サンプルは、 $120$ 秒間の間、X線ビームにさらされる。データ収集のために使用されるソフトウェアは、GADDS for WNT 4.1.16であり、データはDiffraC Plus EVA v 9.0.0.2またはv 13.0.0.2を使用して分析および提示された。

#### 【0233】

##### 周囲条件

周囲条件下で実行されたサンプルは、受け取ったままの粉末を研磨なしでを使用して、平板試料として調製された。約 $1 - 2 \text{ mg}$ のサンプルは、ガラススライド上で軽く圧縮され、平らな表面を得た。

20

#### 【0234】

X線粉末回折 (XRPD)

4はアモルファスであることがXRPDによって見い出された(図1を参照のこと)。実施例3に従って調製された $R_p - 4$ の高分解能XRPD分析は、結晶性固体であることもまた確認された $S_p - 4$ (実施例4、方法4に従って調製)とは異なる粉末パターンを示す結晶固体を確認した。 $R_p - 4$ および $S_p - 4$ についてのXRPDの結果の表は表1に示され、すべてのピークは $5\%$ ( $R_p - 4$ )および $3\%$ ( $S_p - 4$ )の強度が除外されている。

30

表1.  $R_p - 4$ および $S_p - 4$ についてのXRPDデータ.

R <sub>p</sub> - 4 についての X R P D データ		S <sub>p</sub> - 4 ( 1 型 ) についての X R P D データ	
角度 2-θ °	強度 %	角度 2-θ °	強度 %
6.616	51.1	4.900	6.8
7.106	40.5	5.190	19.8
8.980	30.0	7.501	100.0
11.020	21.7	8.355	4.1
11.559	77.1	8.965	7.7
11.950	12.8	9.619	21.2
13.023	5.2	10.145	3.6
14.099	6.2	14.393	4.9
15.121	5.7	16.300	7.0
15.624	5.4	16.688	10.6
16.003	17.8	17.408	5.5
17.882	100.0	17.820	8.2
18.567	8.8	18.262	31.5
19.564	22.7	18.600	6.3
20.280	5.6	18.900	7.3
20.728	42.5	19.150	6.1
21.047	19.9	19.696	4.8
21.671	22.0	20.398	4.4
21.943	23.3	20.710	6.9
22.214	18.9	21.950	6.1
23.074	28.5	22.175	12.2
24.145	30.3	22.511	5.6
24.355	39.1	22.924	3.1
25.366	7.6	23.360	6.5
26.146	36.2	23.538	7.1
27.000	9.0	23.910	7.4
27.313	15.6	24.873	3.7
27.677	22.7	25.123	4.9
28.219	12.8	25.649	4.2
28.661	6.2	26.748	5.2
29.450	6.8	27.339	3.7
29.735	9.4	27.646	3.5
31.372	8.2	28.066	3.1
31.967	10.9	29.050	3.0
32.295	6.4	29.541	3.6
33.001	11.4	30.178	3.8
33.774	11.8	31.648	3.1
34.385	6.6	32.721	3.5
34.734	6.5	33.154	3.0
35.600	7.3	33.923	3.5
35.965	13.1	34.341	3.1
36.409	14.7	35.465	3.5
36.880	7.0	36.923	3.1
37.509	5.9	37.760	3.4
37.870	6.0	38.404	3.3
38.313	5.8	40.416	3.1
38.943	8.4		
40.093	6.6		
40.511	7.8		
41.429	6.5		

10

20

30

40

## 【 0 2 3 5 】

S<sub>p</sub> - 4 のサンプルは乳棒および乳鉢で粉碎し、次いで、引き続いて 5 0 0 および 2 5 0 μm ふるいを通して、微細粉末としてサンプルを得た。このサンプルは高分解能 X R P D によって再分析され、型の変化が起こっていないことを確認した。

50

## 【0236】

実施例21． $S_p - 4$ についての結晶化研究

結晶性 $S_p - 4$ は多形を示す。従って、1つの態様は、結晶性 $S_p - 4$ およびその個々の多形型に関する。 $S_p - 4$ は、1-5型と称される、少なくとも5種の多形型で存在する。さらに、アモルファス $S_p - 4$ もまた調製できる。典型的な結晶化は、適切な体積の結晶化溶媒（アセトニトリル（5体積）、クロロホルム（5体積）、*n*-ブチルアセテート（7体積）、ジクロロメタン（50体積）、アニソール（7体積）、および1:1 MTBE/ヘプタン（50体積））中に約100mgの $S_p - 4$ を溶解すること、次いで5でのこの溶液のエバポレーションを許容することを提供する。種々の結晶型が得られたが、各型は、ろ過および/または乾燥に際して、1型を与えた。

10

## 【0237】

1、2、および3型は、単結晶X線およびXRPD分析によって確認されたように、それぞれ、非溶媒和型、1:1 DCM溶媒和物、および1:1 クロロホルム溶媒和物である。4および5型は、それぞれ、アセトニトリルおよびアニソールの溶液からの $S_p - 4$ の結晶化から得られた。十分な品質の単結晶が得られなかったため、4型および5型が非溶媒和型、水和型、または溶媒和型のいずれであるかについてを決定するための十分なデータは収集できなかった。4型および5型はろ過に際して1型に転換する。2つのさらなる結晶型が、酢酸*n*-ブチル（<sup>n</sup>BuAc）ならびにメチル-<sup>t</sup>ブチルエーテル（MTBE）およびヘプタンを含む溶液からの $S_p - 4$ の結晶化の際に得られ；ろ過の際にこれらの両方は1型に転換する。2型および3型もまた、単離の際に1型に転換する。1型は広い融解吸熱を示す非溶媒和型であり、94.3の開始温度および24.0 kJ mol<sup>-1</sup>の $H_{fus}$ である。さらなる1型 $S_p - 4$ のXRPDパターンは図4に示される。

20

## 【0238】

実施例21-1．1型 $S_p - 4$

1型 $S_p - 4$ のピークリストは表2に提示される。

角度	強度 %
$2-\theta$ °	%
5.0	74.8
7.3	100.0
7.8	2.2
8.2	6.8
8.8	9.3
9.4	23.5
10.0	8.4
11.4	4.2
13.3	3.0
14.2	6.1
14.9	3.5
16.1	7.9
16.6	13.2
17.3	15.4
17.7	10.1
18.1	42.6
18.4	7.6
18.7	11.4
18.9	5.7
19.3	5.0
19.6	2.9
20.2	8.5
20.5	11.5
20.8	3.6
21.8	7.2
22.0	14.5
22.4	9.6
23.2	5.3
23.4	5.8
23.5	4.6
23.8	7.4
24.0	3.1
24.7	2.5
25.0	13.0
25.5	3.1
26.6	4.5
27.2	3.2
27.5	2.2
28.1	2.9
30.0	3.2

10

20

30

40

## 【 0 2 3 9 】

実施例 2 1 - 2 . 2 型  $S_p$  - 4

2 型  $S_p$  - 4 の X R P D パターンは図 5 に示される。

2 型  $S_p$  - 4 のピークリストは表 3 に示される。



角度	強度 %
$2-\theta$ °	%
4.9	44.1
5.1	19.1
6.9	62.1
8.7	6.8
9.8	28.6
10.1	10.4
13.7	7.0
16.7	3.1
19.5	8.9
19.8	45.5
20.1	18.6
20.4	3.6
20.6	25.6
20.9	15.9
21.1	10.9
22.1	3.4
24.6	38.7
24.7	100.0
25.1	61.2
26.1	53.3
39.0	6.3

10

20

## 【 0 2 4 0 】

実施例 2 1 - 3 . 3 型  $S_p$  - 43 型  $S_p$  - 4 の X R P D パターンは図 6 に示される。3 型  $S_p$  - 4 のピークリストは表 4 に示される。

30

角度	強度 %
$2-\theta$ °	%
5.0	10.0
6.9	23.3
9.8	22.6
19.7	34.8
20.6	100.0
21.8	10.5
24.6	65.3
34.7	4.1

40

## 【 0 2 4 1 】

実施例 2 1 - 4 . 4 型  $S_p$  - 54 型  $S_p$  - 4 の X R P D パターンは図 7 に示される。4 型  $S_p$  - 4 のピークリストは表 5 に示される。

角度	強度 %
$2-\theta$ °	%
5.0	29.8
6.8	100.0
8.2	4.8
8.7	5.2
9.9	3.8
13.7	1.7
14.9	4.8
19.9	22.5
20.4	2.1
20.6	20.0
20.9	20.0
24.7	3.4
24.9	29.9
25.1	1.5
36.8	3.1

10

## 【 0 2 4 2 】

20

実施例 2 1 - 5 . 5 型  $S_p$  - 4

5 型  $S_p$  - 4 の X R P D パターンは図 8 に示される。

5 型  $S_p$  - 4 のピークリストは表 6 に示される。

角度	強度 %
$2-\theta$ °	%
5.2	52.9
6.6	100.0
7.1	25.9
9.7	12.1
10.4	16.4
13.4	11.4
15.7	25.8
19.1	31.1
19.9	12.9
20.0	9.0
21.3	3.5
25.0	22.3
25.6	2.3
26.3	5.9
26.9	2.0
31.7	2.1

30

40

## 【 0 2 4 3 】

実施例 2 1 - 6 .  $S_p$  - 4 ( アモルファス )

アモルファス  $S_p$  - 4 の X R P D パターンは図 9 に示される。

## 【 0 2 4 4 】

実施例 2 2 .  $S_p$  - 4 およびその溶媒和物の単結晶 X 線結晶学

## 【 0 2 4 5 】

50

実施例 22 - 1 . S<sub>p</sub> - 4 ( 1 型 ) の単結晶 X 線結晶学

図 10 は、1 型 S<sub>p</sub> - 4 についての X 線結晶構造を示す。ここでは、この図は、利用される番号付けスキームを示す結晶構造からの 1 型の分子の概観を示す。非水素原子についての異方性原子置換楕円は 50 % 確率レベルで示される。水素原子は任意に小さな半径で置き換えられる。

## 【 0 2 4 6 】

構造解は、直接方法、 $P = (F_o^2 + 2F_c^2) / 3$  である、重み付け  $w^{-1} = (F_o^2) + (0.0592P)^2 + (0.6950P)$  を用いる  $F^2$  上でのフルマトリックス最小二乗微調整、異方性置換パラメーター、球面調和関数を使用する経験的吸収相関によって得られ、SCALE3 ABSPACK スケール付けアルゴリズムにおいて実施された。すべてのデータについて、最終  $wR^2 = \{ [w(F_o^2 - F_c^2)^2] / [w(F_o^2)^2]^{1/2} \} = 0.0871$ 、 $F_o > 4$  ( $F_o$ ) を用いる 7090 反射の F 値に対する従来の  $R_1 = 0.0329$ 、すべてのデータおよび 870 パラメーターについて  $S = 1.016$ 。最終  $\chi^2$  (最大) 0.001、 $\chi^2$  (平均)、0.000。最終的な差は +0.534 と -0.36 e<sup>-3</sup> の間にマッピングされる。

表 7 . 1 型の単結晶パラメーター

分子式	C <sub>22</sub> H <sub>29</sub> F <sub>1</sub> N <sub>3</sub> O <sub>9</sub> P <sub>1</sub>				
分子量	529.45				
結晶系	単斜晶				
空間群	$P2_1$	$a$	20.0898(5) Å,	$\alpha$	90°,
		$b$	6.10290(10) Å,	$\beta$	112.290(3)°,
		$c$	23.0138(6) Å,	$\gamma$	90°
V	2610.79(10) Å <sup>3</sup>				
Z	4				
$D_c$	1.347 g·cm <sup>-3</sup>				
$\mu$	1.475 mm <sup>-1</sup>				
線源, $\lambda$	Cu K $\alpha$ , 1.54178 Å				
$F(000)$	1112				
T	100(1) K				
結晶	無色平板, 0.12 x 0.09 x 0.03 mm				
データ切り捨て	0.80 Å				
$\theta_{max}$	74.48°				
完全性	99.4%				
反射	14854				
独特な反射	7513				
$R_{int}$	0.0217				

## 【 0 2 4 7 】

実施例 22 - 2 . S<sub>p</sub> - 4 ( 2 型 ) の単結晶 X 線結晶学

図 11 は、2 型 S<sub>p</sub> - 4 の X 線結晶構造を示す。ここでは、この図は、利用される番号付けスキームを示す結晶構造からの 2 型の分子の概観を示す。ヘテロ原子は非常に弱いデータのために等方性に解析された。水素原子は示されていない。

## 【 0 2 4 8 】

構造解は、直接方法、 $P = (F_o^2 + 2F_c^2) / 3$  である、重み付け  $w^{-1} = (F_o^2) + (0.0975P)^2 + (10.6969P)$  を用いる  $F^2$  上でのフルマトリックス最小二乗微調整、異方性置換パラメーター、球面調和関数を使用する経験的吸収相関によって得られ、SCALE3 ABSPACK スケール付けアルゴリズムにおいて実施された。すべてのデータについて、最終  $wR^2 = \{ [w(F_o^2 - F_c^2)^2] / [w(F_o^2)^2]^{1/2} \} = 0.1883$ 、 $F_o > 4$  ( $F_o$ ) を用いる 2525 反射の F 値に対する従来の  $R_1 = 0.0741$ 、すべてのデータおよび 158 パラメーターについて  $S = 1.05$ 。最終  $\chi^2$  (最大) 0.000、 $\chi^2$  (平均)、0.000。

最終的な差は + 1 . 3 8 8 と - 0 . 9 6 7 e <sup>- 3</sup> の間にマッピングされる。

表 8 . 2 型の単結晶パラメーター

分子式	C <sub>23</sub> H <sub>31</sub> Cl <sub>2</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>9</sub> P				
分子量	614.38				
結晶系	単斜晶				
空間群	P2 <sub>1</sub>	a	12.8315(3) Å,	α	90°,
		b	6.14530(10) Å,	β	91.752(2)°,
		c	17.6250(4) Å,	γ	90°
V	1389.14(5) Å <sup>3</sup>				
Z	2				
D <sub>c</sub>	1.469 g. cm <sup>-1</sup>				
μ	3.196 mm <sup>-1</sup>				
線源, λ	Cu-K, 1.54178 Å				
F(000)	640				
T	293(2) K				
データ切り捨て	0.80 Å				
θ <sub>max</sub>	62.23°				
完全性	91.1%				
反射	3528				
独特な反射	2562				
R <sub>int</sub>	0.0227				

#### 【 0 2 4 9 】

実施例 2 2 - 3 . S<sub>p</sub> - 4 ( 2 型 ) の単結晶 X 線結晶学

図 1 2 は X 線結晶構造 ( O R T E P - 異方性 ) S<sub>p</sub> - 4 ( 2 型 ) を示す。S<sub>p</sub> - 4 ( 2 型 ) の塩化メチレン溶媒和物の結晶構造、C<sub>23</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>PO<sub>9</sub>FC1<sub>2</sub> は、単斜晶系空間群 P 2<sub>1</sub> ( 系統的不在 0 k 0 : k = 奇数 ) を生じ、a = 1 2 . 8 8 2 2 ( 1 4 ) 、b = 6 . 1 6 9 0 ( 7 ) 、c = 1 7 . 7 3 3 ( 2 ) 、β = 9 2 . 0 4 5 ( 3 ) 、V = 1 4 0 8 . 4 ( 3 ) Å<sup>3</sup>、Z = 2、および d<sub>c a l c</sub> = 1 . 4 4 9 g / c m<sup>3</sup> であった。X 線強度データは、グラフアイト単色 Mo - K 照射 ( λ = 0 . 7 1 0 7 3 Å ) を利用し、1 4 3 K の温度において、R i g a k u M e r c u r y C C D 面積検出器上で収集された。予備的インデックスは、3 0 秒間の曝露を用いる、一連の 1 2 回の 0 . 5 ° 回転画像から実施された。結晶から検出器まで 3 5 m m の距離、1 2 ° の 2 θ スイング角、0 . 5 ° の回転深さ、および 3 0 秒間の曝露を用いて、全体で 6 4 8 枚の回転画像が収集された：スキャン番号 1 は θ = 1 0 ° および φ = 2 0 ° における 2 θ スキャン 3 1 5 ° ~ 5 2 5 ° であった；スキャン番号 2 は θ = - 9 0 ° および φ = 3 1 5 ° における 2 θ スキャン - 2 0 ° ~ 5 ° であった；スキャン番号 3 は θ = - 9 0 ° および φ = 1 3 5 ° における 2 θ スキャン - 2 0 ° ~ 4 ° であった；スキャン番号 4 は θ = - 9 0 ° および φ = 2 2 5 ° における 2 θ スキャン - 2 0 ° ~ 5 ° であった；スキャン番号 5 は θ = - 9 0 ° および φ = 4 5 ° における 2 θ スキャン - 2 0 ° ~ 2 0 ° であった。回転画像は C r y s t a l C l e a r ( C r y s t a l C l e a r : R i g a k u C o r p o r a t i o n , 1 9 9 9 ) を使用して処理され、平均化されていない F<sup>2</sup> および ( F<sup>2</sup> ) 値のリストを生じ、次いで、これは、D e l l P e n t i u m ( 登録商標 ) I I I コンピュータ上でのさらなる処理および構造解のための C r y s t a l S t r u c t u r e ( C r y s t a l S t r u c t u r e : C r y s t a l S t r u c t u r e A n a l y s i s P a c k a g e 、R i g a k u C o r p . R i g a k u / M S C ( 2 0 0 2 ) ) プログラムパッケージに移された。全体で 7 7 0 7 反射が、5 . 4 8 2 5 0 . 0 4 ° 、- 1 4 h 1 5 、- 7 k 6 、- 1 9 l 2 1 の範囲にわたって測定され、4 2 5 3 の独特な反射を生じた ( R<sub>int</sub> = 0 . 0 1 8 0 ) 。強度データは、R E Q A B ( 最小および最大透過 0 . 8 2 4 、1 . 0 0 0 ) を使用して、L o r e n t z および偏光について、ならびに吸収について補正された。

## 【0250】

構造は直接的方法によって解かれた (SIR97, SIR97: Altomare, A., M. Burla, M. Camalli, G. Casciarano, C. Giacovazzo, A. Guagliardi, A. Moliterni, G. Polidori & R. Spagna (1999). *J. Appl. Cryst.*, 32, 115-119)。微調整は、SHELXL-97を使用する $F^2$ に基づいて、フルマトリックス最小2乗法によった (SHELXL-97: Sheldrick, G. M. (2008) *Acta Cryst.*, A64, 112-122)。すべての反射が微調整の間に使用された。使用された重み付けスキームは $w = 1 / [ \sigma^2(F_o^2) + 0.0472P^2 + 0.4960P ]$ であり、ここで、 $P = (F_o^2 + 2F_c^2) / 3$ であった。非水素原子は異方的に微調整され、水素原子は「ライディングモデル」を使用して微調整された。微調整は、 $F > 4$  ( $F$ ) についての4046微調整について、 $R_1 = 0.0328$ および $wR_2 = 0.0817$ に収束し、ならびに、4253のすべての独特な非ゼロ反射および358変数 ( $R_1 = \sum |F_o| - \sum |F_c| / \sum |F_o|$ ;  $wR_2 = \{ \sum w(F_o^2 - F_c^2)^2 / \sum w(F_o^2)^2 \}^{1/2}$ ;  $GOF = \{ \sum w(F_o^2 - F_c^2)^2 / (n - p) \}^{1/2}$ ; ここで  $n$  = 反射の数、 $p$  = 微調整されたパラメーターの数) について、 $R_1 = 0.0348$ 、 $wR_2 = 0.0838$ 、および $GOF = 1.056$ に収束した。最小2乗法の最後のサイクルにおける最大  $\Delta F$  は0.000であり、最終示差フーリエにおける2つも最も顕著なピークは+0.312および-0.389 e/ $\text{\AA}^3$ であった。Flack絶対構造パラメーターは-0.06(6)まで微調整され、従って、表題化合物の立体化学を裏付けた。

10

20

## 【0251】

表1は、セル情報、データ収集パラメーター、および微調整データを列挙する。最終的な位置および等価な等方性熱パラメーターは表2に与えられる。異方性熱パラメーターは表3にある。(「ORTEP-II: A Fortran Thermal Ellipsoid Plot Program for Crystal Structure Illustrations」. C. K. Johnson (1976) ORNL-5138.) は、30%確率熱楕円を有する分子の表示を示した。

表9. 化合物  $S_p - 4 \cdot CH_2Cl_2$  の構造決定の要約

式：	$C_{23}H_{31}N_3PO_9FC1_2$
式量：	614.38
結晶クラス：	単斜晶
空間群：	$P2_1$ (#4)
Z	2
セル定数：	
a	12.8822(14) Å
b	6.1690(7) Å
c	17.733(2) Å
$\beta$	92.045(3)°
V	1408.4(3) Å <sup>3</sup>
$\mu$	3.48 cm <sup>-1</sup>
結晶サイズ, mm	0.42 x 0.12 x 0.10
$D_{calc}$	1.449 g/cm <sup>3</sup>
F(000)	640
照射：	Mo-K $\alpha$ ( $\lambda = 0.71073$ Å)
2 $\theta$ 範囲	5.48 - 50.04°
収集された h k l :	-14 ≤ h ≤ 15; -7 ≤ k ≤ 6; -19 ≤ l ≤ 21

10

測定された反射の数：	7707
独特な反射の数：	4253 ( $R_{int} = 0.0180$ )
観察された反射の数	4046 ( $F > 4\sigma$ )
微調整において使用された反射の数	4253
パラメーターの数	358
R 指数 ( $F > 4\sigma$ )	$R_1 = 0.0328$ $wR_2 = 0.0817$
R 指数 (すべてのデータ)	$R_1 = 0.0348$ $wR_2 = 0.0838$
GOF:	1.056
最終示差ピーク, e/Å <sup>3</sup>	+0.312, -0.389

20

30

## 【0252】

実施例 22 - 4 .  $S_p - 4$  (3 型) の単結晶 X 線結晶学

図 13 は、3 型  $S_p - 4$  の X 線結晶構造を示す。ここでは、この図は、利用される番号付けスキームを示す結晶構造からの 3 型の分子の概観を示す。非水素原子についての異方性原子置換楕円は 50 % 確率レベルで示される。水素原子は任意に小さな半径で置き換えられる。

## 【0253】

構造解は、直接方法、 $P = (F_o^2 + 2F_c^2) / 3$  である、重み付け  $w^{-1} = (F_o^2) + (0.0512P)^2 + (0.6810P)$  を用いる  $F^2$  上でのフルマトリックス最小二乗微調整、異方性置換パラメーター、球面調和関数を使用する経験的吸収相関によって得られ、SCALE3 ABSPACK スケール付けアルゴリズムにおいて実施された。すべてのデータについて、最終  $wR^2 = \{ [w(F_o^2 - F_c^2)^2] / [w(F_o^2)^2]^{1/2} \} = 0.0796$ 、 $F_o > 4$  ( $F_o$ ) を用いる 2486 反射の F 値に対する従来の  $R_1 = 0.0294$ 、すべてのデータおよび 377 パラメーターについて  $S = 1.068$ 。最終 / (最大) 0.001、 / (平均)、0.000。最終的な差は +0.211 と -0.334 e<sup>-3</sup> の間にマッピングされる。

40

表 10 . 3 型の単結晶パラメーター

分子式	$C_{23}H_{30}Cl_3F_1N_3O_9P_1$				
分子量	648.82				
結晶系	単斜晶				
空間群	$P21$	$a$	$12.9257(4) \text{ \AA}$ ,	$\alpha$	$90^\circ$ ,
		$b$	$6.18080(10) \text{ \AA}$ ,	$\beta$	$96.399(2)^\circ$ ,
		$c$	$18.0134(4) \text{ \AA}$ ,	$\gamma$	$90^\circ$
$V$	$1430.15(6) \text{ \AA}^3$				
$Z$	2				
$D_c$	$1.507 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-1}$				
$\mu$	$3.977 \text{ mm}^{-1}$				
線源, $\lambda$	Cu K $\alpha$ , $1.54178 \text{ \AA}$				
$F(000)$	672				
$T$	$100(1) \text{ K}$				
結晶	無色針状, $0.22 \times 0.03 \times 0.02 \text{ mm}$				
データ切り捨て	$0.80 \text{ \AA}$				
$\theta_{\text{max}}$	$74.41^\circ$				
完全性	69.1%				
反射	3062				
独特な反射	2607				
$R_{\text{int}}$	0.0198				

10

20

## 【 0 2 5 4 】

実施例 2 3 . 温度および相対湿度の上昇における安定性

R<sub>p</sub> - 4 のサンプルは、40 ° で 7 5 % 相対湿度の湿度チャンバーに 1 週間保存され、サンプルは X R P D によって再分析された。R<sub>p</sub> - 4 について得られた粉末パターンは、実験の過程の間に実質的な変化を示さず、このことは固体型の変化が観察されなかったことを意味する。これは、40 ° で 7 5 % 相対湿度での保存の際に約 1 6 時間以内に潮解した 4 のサンプルと対比されるべきである。確かに、4 の潮解性質の例証は以下によって例証される。4 のサンプルは 2 5 0  $\mu\text{m}$  ふるいを通され、次いで、サンプルは 4 0 ° / 7 5

R H および 2 5 ° / 5 3 % 相対湿度で保存され、規則的な間隔で目視検査が行われた。結果は表 4 に与えられる。

30

表 1 1 . 相対湿度の上昇に対する 4 の安定性

条件	$t = 1.5 \text{ h}$	$t = 4.5 \text{ h}$	$t = 6.5 \text{ h}$	$t = 8.5 \text{ h}$	$t = 73 \text{ h}$
40° C / 75%RH	潮解	—	—	—	—
25° C / 53%RH	潮解なし	粘性 固形物	部分的に潮 解	ほぼ完全に 潮解	潮解

40

## 【 0 2 5 5 】

4 0 ° および 7 5 % 相対湿度での保存に際して、S<sub>p</sub> - 4 のサンプルは 1 6 時間以内に潮解した。例えば、S<sub>p</sub> - 4 のサンプルは、乳棒および乳鉢で粉碎され、次いで、5 0 0 および 2 5 0  $\mu\text{m}$  ふるいに引き続いて通されて、微粉末としてのサンプルを生じた。この物質のサンプルは、4 0 ° および 7 5 % 相対湿度ならびに 2 5 ° および 5 3 % R H で保存され、目視検査が規則的な間隔で行われた。結果は表 5 に与えられる。

表 1 2 . 相対湿度の上昇に対する S<sub>p</sub> - 4 の安定性

条件	t = 1.5 h	t = 4.5 h	t = 104 h
40 °C / 75 % RH	潮解なし	潮解	—
25 °C / 53 % RH	潮解なし	潮解なし	潮解なし

## 【0256】

25 および53% RHで104時間の保存後のサンプルのXRPD分析は、生じた  
ディフラクトグラムにおける有意な変化を示さず、このことは、型の変化が起こらなかったことを示す。

10

## 【0257】

実施例24．フーリエ変換赤外（FT-IR）スペクトル分析

データは、汎用Attenuated Total Reflectance（ATR）サンプリングアクセサリを装着したPerkin-Elmer Spectrum Oneにて収集された。Spectrum v5.0.1ソフトウェアを使用して、データは収集され、分析された。

## 【0258】

4、R<sub>p</sub>-4、およびS<sub>p</sub>-4について得られたIRスペクトルは図5-7にそれぞれ  
示される、選択されたピークは、波長（cm<sup>-1</sup>）で以下に列挙される：

20

4：～1680、～1454、～1376、～1205、～1092、～1023（図14）；

R<sub>p</sub>-4：～1742、～1713、～1679、～1460、～1377、～1259、～1157、～1079（図15）；および

S<sub>p</sub>-4（1型）：～1743、～1713、～1688、～1454、～1378、～1208、～1082（図16）。

## 【0259】

実施例25．示差走査熱量測定（DSC）熱重量分析（TGA）

DSCデータは、50ポジションオートサンプラーが装着されたTA Instruments Q2000で収集された。熱容量の較正はサファイアを使用して実行され、エネルギーおよび温度の較正は保証されたインジウムを使用して実行された。

30

## 【0260】

改変された温度DSCは、典型的には、0.8-1.2mgの各サンプルで、ピンホールを有するアルミニウムパンの中で、根本的な2.分<sup>-1</sup>の加熱速度ならびに±0.2.分<sup>-1</sup>および40秒の温度改変パラメーターを使用して実行された。50mL.分<sup>-1</sup>の乾燥窒素のバージはサンプルにわたって維持された。

## 【0261】

機器制御ソフトウェアは、Advantage for Q Series v2.8.0.392およびThermal Advantage v4.8.3であり、データ  
はUniversal Analysis v4.3Aを使用して分析された。

40

## 【0262】

DSCデータは、34ポジションオートサンプラーを装着したMettler DSC 823eで収集された。この機器は、保証されたインジウムを使用して、エネルギーおよび温度について較正された。典型的には、0.8-1.2mgの各サンプルが、ピンホールを有するアルミニウムパンの中で、25 から250 まで、10 .分<sup>-1</sup>で加熱された。50mL.分<sup>-1</sup>の窒素バージはサンプルにわたって維持された。機器制御およびデータ分析ソフトウェアはSTARe v9.20であった。

## 【0263】

TGAデータは、34ポジションオートサンプラーを装着したMettler TGA

50



/ S D T A 8 5 1 e で収集された。この機器は、保証されたインジウムを使用して温度較正された。典型的には、8 - 12 m g の各サンプルが、あらかじめ秤量されたアルミニウムるつぼにロードされ、周囲温度から 3 5 0 °C まで 1 0 °C / 分 で加熱された。5 0 m L / 分 の窒素パージはサンプルにわたって維持された。機器制御およびデータ分析ソフトウェアは S T A R e v 9 . 2 0 であった。

#### 【 0 2 6 4 】

4 の D S C 分析は、5 8 . 7 °C で開始する単一の広い吸熱 ( $\Delta H = 14 \text{ J} \cdot \text{g}^{-1}$ ) を示し、これは、さらなる改変 D S C 分析によってガラス転移の間の分子緩和に起因することが確認された (図 1 7 )。4 の T G A 分析は、2 4 0 °C より上の分解の前に重量の損失を示さず、この物質が非溶媒和型であることを確認した。4 の X R P D 分析は物質がアモルファスであることを確認したので、ガラス転移温度を計算する試みにおいて、改変 D S C 分析が着手され、これは 5 7 °C であることが見い出された。

10

#### 【 0 2 6 5 】

D S C 分析は、1 3 6 . 2 °C ( $\Delta H = 76 \text{ J} \cdot \text{g}^{-1}$ ) で開始する単一の鋭い吸熱を示し、これは、ホットステージ顕微鏡法によって融解することが確認された。図 1 8 を参照のこと。R<sub>p</sub> - 4 の T G A 分析は、2 4 0 °C よりも上での分解前に重量の損失は示さず、この物質が非溶媒和型であることを確認した。

#### 【 0 2 6 6 】

S<sub>p</sub> - 4 の D S C 分析は、9 3 . 9 °C ( $\Delta H = 43 \text{ J} \cdot \text{g}^{-1}$ ) で開始する単一の広い吸熱を示し、これは、ホットステージ顕微鏡法によって融解することが確認された。図 1 9 を参照のこと。S<sub>p</sub> - 4 の T G A 分析は、2 4 0 °C よりも上での分解前に重量の損失は示さず、この物質が非溶媒和型であることを確認した。

20

#### 【 0 2 6 7 】

実施例 2 6 . 蒸気収着重力測定 ( G V S )

S M S D V S 内部

収着等温線は、S M S A n a l y s i s S u i t e ソフトウェアによって制御される S M S D V S 内部湿度分析装置を使用して得られた。サンプル温度は、機器制御により 2 5 °C に維持された、湿度は、乾燥窒素およびウェット窒素の流れを混合することによって制御され、全体の流速は 2 0 0 m L / 分 であった。相対湿度は、サンプルの近くに配置された、較正した R o t r o n i c プローブ ( 1 . 0 - 1 0 0 % R H のダイナミックレンジ ) によって測定された。% R H の関数としてのサンプルの重量変化 ( 質量緩和 ) は、微量天秤 ( 正確さ  $\pm 0 . 0 0 5 \text{ m g}$  ) によって定常的にモニターされた。

30

#### 【 0 2 6 8 】

典型的には、5 - 2 0 m g のサンプルが、周囲条件下で、風袋測定したメッシュステンレス鋼バスケット中に配置された。サンプルは、4 0 % R H および 2 5 °C ( 典型的な室温条件 ) でロードされるかまたはアンロードされた。湿度収着等温線は、以下に概説されるように実施された ( 2 スキャンが 1 完全サイクルを与えた )。標準等温線は、0 . 5 - 9 0 % R H 範囲にわたって、2 5 °C、1 0 % R H 間隔で実施された。

表 1 3 . S M S D V S 内部実験のための方法パラメーター

40

パラメーター	値
収着 - スキャン 1	40 - 90
脱離 / 収着 - スキャン 2	90 - 0, 0 - 40
間隔 ( % R H )	10
スキャンの回数	2
流速 ( m L / 分 )	200
温度 ( °C )	25
安定性 ( °C / 分 )	0.2
収着時間 ( 時間 )	6 時間タイムアウト

#### 【 0 2 6 9 】

50

サンプルは、等温線の完了後に回収され、XRPDによって再分析された。

#### 【0270】

GVS分析は、R<sub>p</sub>-4が非吸湿性であることを示し、約0.2重量%の0~90%相対湿度の水の可逆的な取り込みを提示する。GVS実験後のXRPDによるサンプルの再分析は型の変化を示さなかった。

#### 【0271】

S<sub>p</sub>-4のサンプルは、乳房および乳鉢で粉碎され、次いで、連続的に500および250μmふるいを通して、微細粉末としてサンプルを生じ、次いで、これは、改変サイクル法を使用して分析された。このサンプルは、標準的な方法のための90%の代わりに、40%RH（ほぼ周囲）~60%RHをとり、次いで、0%までと、40%RHまで戻すサイクルが行われた。この分析は、S<sub>p</sub>-4が60%RHまで非吸湿性であることを示し、0~60%RHで~0.2重量%の水の可逆的な取り込みであった。

#### 【0272】

##### 実施例27. 熱力学的水溶解度

水溶解度は、水中の十分な量の化合物を懸濁させることによって決定されて、親の遊離型の化合物の10mg・ml<sup>-1</sup>までの最大最終濃度を与えた。この懸濁物は、25で24時間平衡化され、次いで、pHが測定された。次いで、この懸濁液は、ガラス繊維フィルターを通して、96ウェルプレートにろ過された。次いで、ろ液は、係数101で希釈された。定量は、DMSO中の約0.1mg・ml<sup>-1</sup>の標準溶液を参照して、HPLCによって行われた。異なる体積の標準、希釈されたサンプル溶液および希釈されていないサンプル溶液が注入された。溶解度は、標準注入中の主要なピークと同じ保持時間において見い出されるピークの積分によって決定されたピーク面積を使用して計算された。

表14. 溶解度測定のためのHPLC方法パラメーター

方法の型：	グラジエント溶出を用いる逆相		
カラム：	Phenomenex Luna, C18 (2) 5μm 50 x 4.6 mm		
カラム温度 (°C)：	25		
標準注入 (μl)：	1, 2, 3, 5, 7, 10		
試験注入 (μl)：	1, 2, 3, 10, 20, 50		
検出波長、バンド幅 (nm)：	260, 80		
流速 (ml・min <sup>-1</sup> )：	2		
A相：	水中 0.1% TFA		
B相：	アセトニトリル中 0.085% TFA		
時間テーブル：	時間 (分)	A相%	B相%
	0.0	95	5
	1.0	80	20
	2.3	5	95
	3.3	5	95
	3.5	95	5
	4.4	95	5

#### 【0273】

分析は、上記に記述された条件下で、ダイオードアレイ検出器を装着したAgilent HP1100シリーズシステムで、ChemStation software v B.02.01-SR1を使用して実施された。

表15. R<sub>p</sub>-4、4、およびS<sub>p</sub>-4についての水溶解度結果

表 15.  $R_p-4$ 、4、および  $S_p-4$  についての水溶解度結果。

サンプル D	I ろ過していない混 合物の pH	溶解度 / $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ 1	コメント
$R_p-4$	7.12	1.58	懸濁液
4	7.03	6.11	残渣固体
$S_p-4$	6.88	5.65	残渣固体

## 【0274】

実施例 28. HPLC による化学純度決定

種々の HPLC 条件が、本明細書に開示される化合物の化学純度を決定するために使用  
できる。1つのこのような例は、熱力学的水溶解性研究に関連して上記に開示されている  
。別の例は以下に開示される。

10

## 【0275】

HPLC 条件：

LC: Waters Alliance 2695 Separations Module、Waters 2996 PDA 検出器、および Waters Empower  
2 Software (Version 6.00)

カラム: Phenomenex Luna C18 (2);  $4.6 \times 50 \text{ mm}$ ;  $3 \mu\text{m}$

流速:  $1.2 \text{ mL} / \text{分}$

注入体積:  $10 \mu\text{L}$

20

移動相: 溶媒 A: 5% メタノールおよび  $10 \text{ mM}$  酢酸アンモニウムを伴う 95% 水; pH  
 $\sim 5.3$

溶媒 B:  $10 \text{ mM}$  酢酸アンモニウムを伴うメタノール

グラジエント: 0% B に保持 3 分間

0 - 47% B 3 - 4 分間

47% B に保持 4 - 10 分間

47% - 74% B 10 - 11 分間

74% B に保持 11 - 13.5 分間

0% B に戻す 13.5 - 13.6 分間

0% B に保持 13.6 - 15.5 分間

30

## 【0276】

これらの条件下では、4、 $R_p-4$ 、および  $S_p-4$  の純度は、それぞれ、 $\sim 99.6$   
、 $\sim 99\%$ 、および  $\sim 99.5\%$  であると決定された。より高純度は、上記に開示される  
方法を最適化することによって現実化できることが注目される。

## 【0277】

XRPD ディフラクトグラムの精査は、2つの結晶性単一ジアステレオマーが明確に異  
なる XRPD パターンを与えたことを示す。加えて、2つの結晶性ジアステレオマーの融  
点の明確な違いが存在し、 $R_p-4$  は  $S_p-4$  よりも顕著に高い開始温度を有する ( $136$   
 $対 94$ )。

## 【0278】

40

実施例 29. さらなる分離方法

以下の SFC 分離は、ジアステレオマー  $R_p-4$  および  $S_p-4$  の混合物の十分な分離  
を生じた。

調製方法：	分析方法：
Chiralpak AS-H (2 x 25 cm) SN# 07-8656	Chiralpak AS-H (25 x 0.46cm)
20% メタノール/CO <sub>2</sub> (100 bar)	20% メタノール/CO <sub>2</sub> (100 bar)
50 ml/分, 220 nm.	3 ml/分, 220 nm.
濃度.: 260mg/30ml メタノール、注人体積.: 1.5ml	

## 【0279】

以下のSFC分離（以下に列挙する条件）は、ジアステレオマーR<sub>p</sub>-4およびS<sub>p</sub>-4の混合物の十分な分離を生じた。

調製方法：	分析方法：
Chiralpak IA(2 x 15 cm) 802091	Chiralpak IA(15 x 0.46 cm)
30% イソプロパノール(0.1% DEA)/CO <sub>2</sub> , 100	40% メタノール(DEA)/CO <sub>2</sub> , 100
バール	ール
60 mL/分, 220 nm.	3 mL/分, 220 nm.
注人体積.: 2 mL, 20 mg/mL メタノール	

表16. R<sub>p</sub>-4、4、およびS<sub>p</sub>-4のバッチ特徴付けからの結果の要約

分析	R <sub>p</sub> -4	4	S <sub>p</sub> -4
Proton NMR	単一のジアステレオマー	ジアステレオマーの1:1混合物	単一のジアステレオマー
XRPD	結晶性-S <sub>p</sub> -4とは異なる	アモルファス	結晶性-R <sub>p</sub> -4とは異なる
DSC	吸熱; 融解-136℃	吸熱; 59℃	吸熱; 融解-94℃
TGA	重量損失なし、分解>240℃	重量損失なし、分解>240℃	重量損失なし、分解>240℃
IR	上記を参照	上記を参照	上記を参照
水溶解性 (mg. ml <sup>-1</sup> )	1.58	6.11	5.65
HPLC 純度	96.9 %	99.6 %	99.5 %
40° C / 75 % RH	型の変化なし	内部の潮解 1.5時間	内部の潮解 4.5時間
25° C / 53 % RH	—	潮解	型の変化なし
GVS	90 % RHまで非吸湿性	—	60 % RHまで非吸湿性

## 【0280】

実施例30.8 (S<sub>p</sub>異性体)のX線結晶学

化合物8 (S<sub>p</sub>異性体)、C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>N<sub>2</sub>PO<sub>7</sub>、は、単斜晶系空間群P2<sub>1</sub>(系統的不在0k0: k=奇数)において、a=5.3312(4)、b=15.3388(8)、c=23.7807(13)、β=92.891(3)°、V=1942.2(2)<sup>3</sup>、Z=4、およびd<sub>c<sub>a</sub>1c</sub>=1.397 g/cm<sup>3</sup>で結晶化する。X線強度データは、Bruker APEXII CCD面積検出器で、グラファイト単色Mo-Kα照射(λ=0.71073 Å)を利用して、100(1)Kの温度で収集された。図20Aおよび20Bは、非対称単位をそれぞれ1および2と番号付けした分子を示す。

## 【0281】

予備的インデックスは、30秒間の曝露を用いる一連の36の0.5°回転フレームが

ら実施された。全部で3608フレームが、結晶から検出器までの距離70.00 nm、回転深さ0.5°、および20秒間の曝露で収集された：

スキャン型	2θ	ω	φ	χ	フレーム
φ	-35.50	279.40	27.32	48.96	725
φ	24.50	22.31	35.56	69.08	692
ω	-13.00	321.68	247.79	69.08	95
φ	34.50	204.08	28.21	-92.80	293
φ	-30.50	310.60	214.10	54.21	361
φ	32.00	304.67	24.47	50.72	722
φ	-35.50	122.14	316.59	-78.84	720

10

### 【0282】

回転フレームは、SAINT (Bruker (2009) SAINT. Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA.) を使用して積分され、平均されていない  $F^2$  および  $(F^2)$  値のリストを生じ、次いでこれは、Dell Pentium (登録商標) 4 コンピュータでのさらなる処理および構造解析のために、SHELXTL (Bruker (2009) SHELXTL. Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA.) プログラムに通された。合計で6909反射が、1.58 25.09°、-6 h 6、-18 k 18、-28 l 28の範囲にわたって測定され、6909の独特な反射を生じた ( $R_{int} = 0.0581$ )。強度データは、Lorentz および偏光効果について、ならびに SADABS (Sheldrick, G. M. (2007) SADABS. University of Göttingen, Germany.) を使用して吸収について補正された (最小および最大透過 0.6093、0.7452)。

20

### 【0283】

構造は、直接方法によって解析された (SHELXS-97 (Sheldrick, G. M. (2008) Acta Cryst. A 64, 112-122.))。微調整は、SHELXL-97 (Sheldrick, G. M. (2008) Acta Cryst. A 64, 112-122.) を使用する  $F^2$  に基づくフルマトリックス最小二乗法による。すべての反射は微調整の間に使用された。使用される重み付けスキームは、 $w = 1 / [ \sigma^2 (F_o^2) + (0.0000P)^2 + 14.0738P ]$  であり、ここで、 $P = (F_o^2 + 2F_c^2) / 3$  であった。非水素原子は異方性で微調整され、水素原子は、ライディングモデルを使用して微調整された。微調整は、 $F > 4 (F)$  についての6173の観察された微調整について、 $R_1 = 0.0847$  および  $wR_2 = 0.1899$  に収束し、ならびに、6909のすべての独特な非ゼロ反射および512変数 ( $R_1 = \sum |F_o - F_c| / \sum |F_o|$ ;  $wR_2 = \{ \sum w(F_o^2 - F_c^2)^2 / \sum w(F_o^2)^2 \}^{1/2}$ ;  $GOF = \{ \sum w(F_o^2 - F_c^2)^2 / (n - p) \}^{1/2}$ ; ここで  $n$  = 反射の数、 $p$  = 微調整されたパラメーターの数) について、 $R_1 = 0.0963$ 、 $wR_2 = 0.1963$ 、および  $GOF = 1.119$  に収束した。最小二乗法の最後のサイクルにおける最大  $\Delta$  は0.000であり、最終示差フーリエにおける2つも最も顕著なピークは+0.402 および -0.559 e / Å<sup>3</sup> であった。

30

40

表17. 化合物8 (S<sub>p</sub> 異性体) の構造決定の要約

経験的化学式	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> N <sub>2</sub> PO <sub>7</sub>
式量	408.34
温度	100(1) K
波長	0.71073 Å
結晶系	単斜晶
空間群	P2 <sub>1</sub>
セル定数：	
a	5.3312(4) Å
b	15.3388(8) Å
c	23.7807(13) Å
β	92.891(3)°
体積	1942.2(2) Å <sup>3</sup>
Z	4
密度（計算値）	1.397 Mg/m <sup>3</sup>
吸収係数	0.185 mm <sup>-1</sup>
F(000)	856
結晶サイズ	0.40 x 0.10 x 0.08 mm <sup>3</sup>
データ収集のためのシータ範囲	1.58~25.09°
インデックス範囲	-6 ≤ h ≤ 6, -18 ≤ k ≤ 18, -28 ≤ l ≤ 28
収集された反射	6909
独立した反射	6909 [R(int) = 0.0581]
シータへの完全性 = 25.09°	99.6 %
吸収補正	等価物から半経験的
最大および最小透過	0.7452 および 0.6093
微調整方法	F <sup>2</sup> に対する最小 2 乗法
データ／制限／パラメーター	6909 / 1 / 512
F <sup>2</sup> に対する適合の良好さ	1.119
最終 R インデックス [I > 2 シグマ (I)]	R1 = 0.0847, wR2 = 0.1899
R インデックス (すべてのデータ)	R1 = 0.0963, wR2 = 0.1963
絶対構造パラメーター	0.1(2)
最大示差ピークおよびホール	0.402 および -0.559 e. Å <sup>-3</sup>

10

20

30

## 【0284】

## 実施例 31 . 生物学的活性

レプリコン含有細胞は、96 ウェル白色 / 不透明プレート中で 3,000 細胞 / ウェル (50 μL)、または 384 ウェル白色 / 不透明プレート中で 1,500 細胞 / ウェル (25 μL) のいずれかで播種された。50 μL の化合物を 2 回、96 ウェルプレートに加えるか、または 25 μL の化合物を 2 回、384 ウェルプレートに加えた。プレートは、4 日間、加湿された 5% CO<sub>2</sub> 雰囲気下で 37 °C でインキュベートされた。インキュベーション後、Bright-Glo 試薬 (96 ウェルプレート用には 50 μL、または 384 ウェルプレート用には 25 μL) が、HCV 複製についてホタルルシフェラーゼレポーターを測定するために加えられた。阻害パーセントが薬物なし対照に対して計算された。

40

化合物	HCV レプリコン活性 (μM)
4	0.58
R <sub>p</sub> -4	2.87
S <sub>p</sub> -4	0.13

## 【0285】

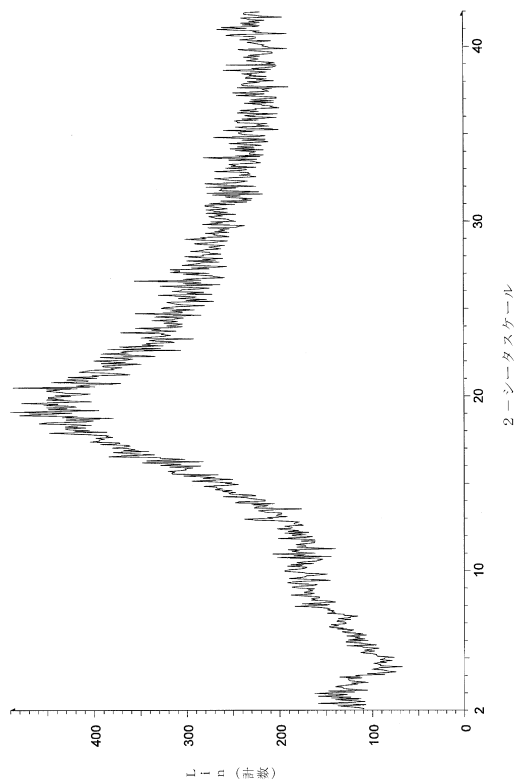
50

R<sub>p</sub> - 4 および S<sub>p</sub> - 4 は、広い遺伝子型をカバーすることが実証された。例えば、両方が、C型肝炎ウイルス、遺伝子型 1 - 4 に対して活性であることが示された。

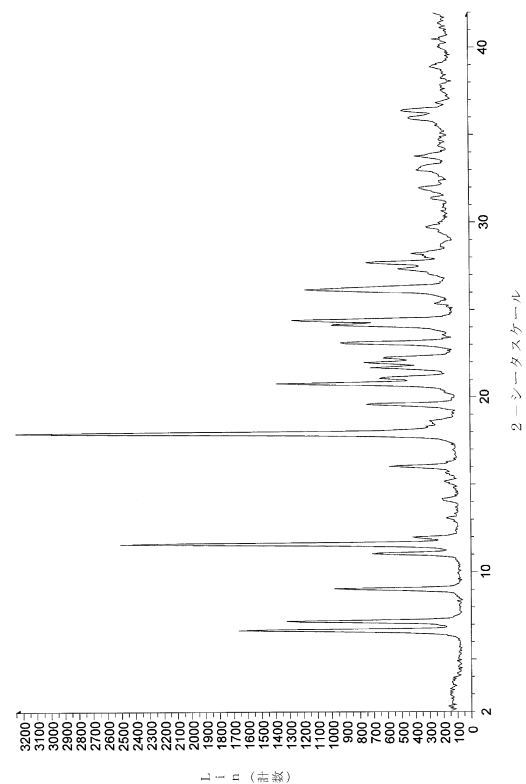
【 0 2 8 6 】

米国特許出願第 1 2 / 0 5 3 , 0 1 5 号、および 2 0 0 9 年 5 月 2 0 日に出願された米国仮特許出願第 6 1 / 1 7 9 , 9 2 3 号、および 2 0 1 0 年 3 月 3 1 日に出願された第 6 1 / 3 1 9 , 5 1 9 号の対象は、それらの全体が参照により組み込まれる。すべての引用された参考文献の対象は参照により組み込まれる。組み込まれた用語の意味が本明細書に定義された用語の意味と矛盾する場合には、本開示に含まれる用語の意味が、組み込まれた用語の意味よりも優先する。

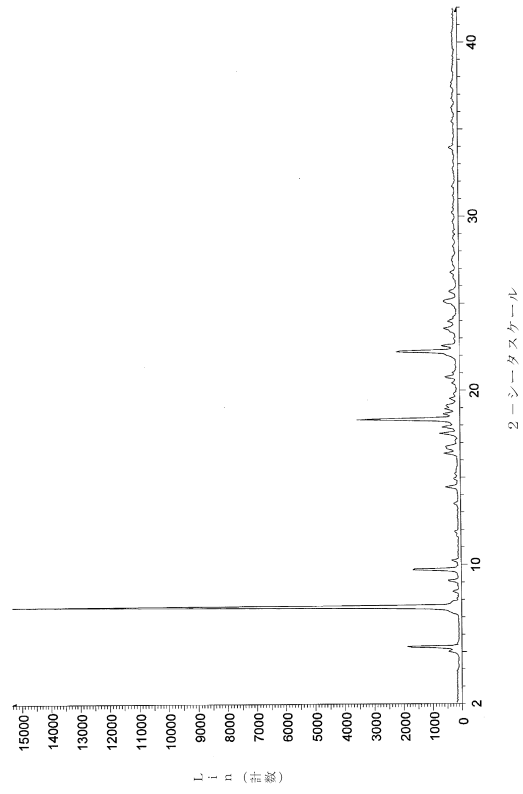
【 図 1 】



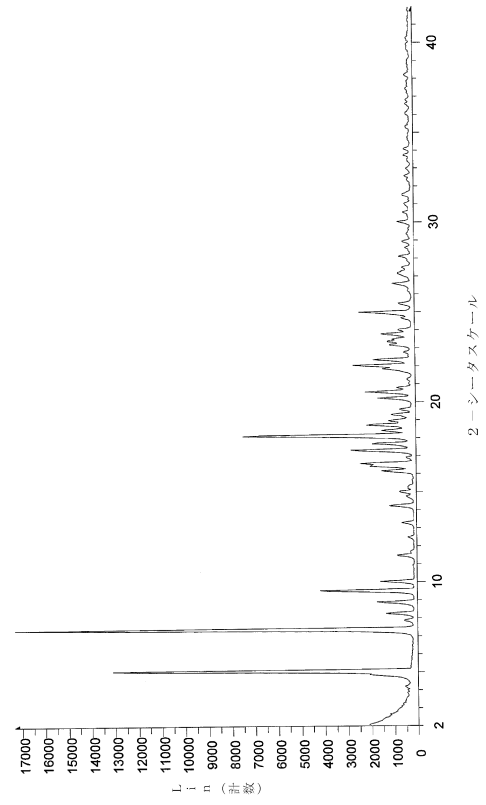
【 図 2 】



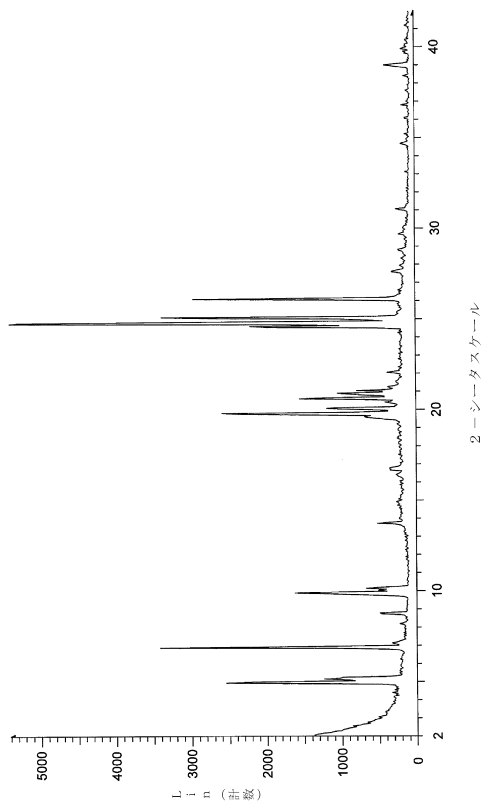
【図 3】



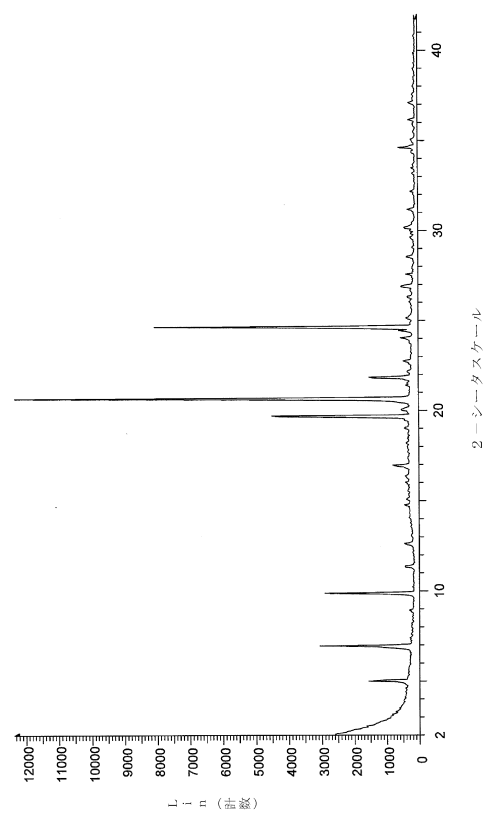
【図 4】



【図 5】

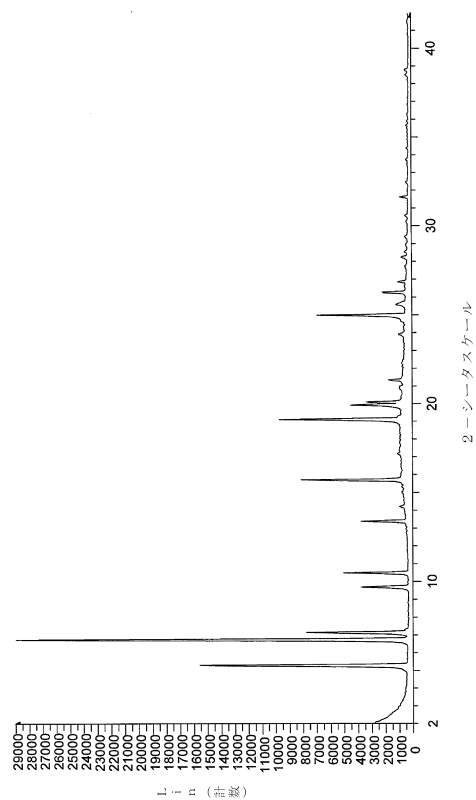


【図 6】

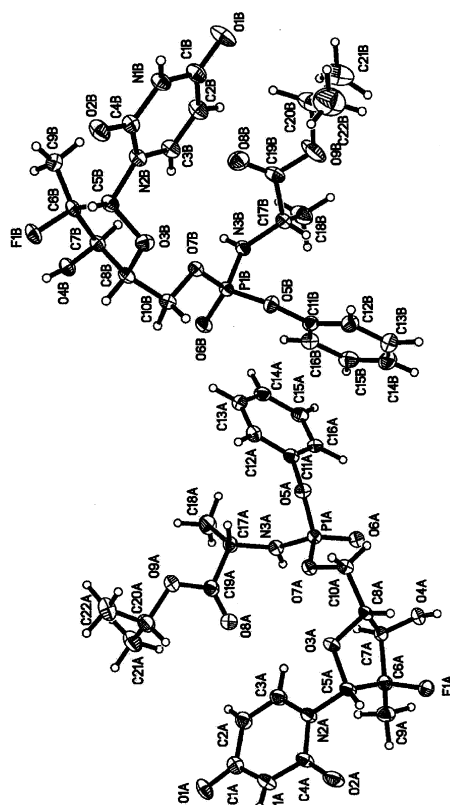




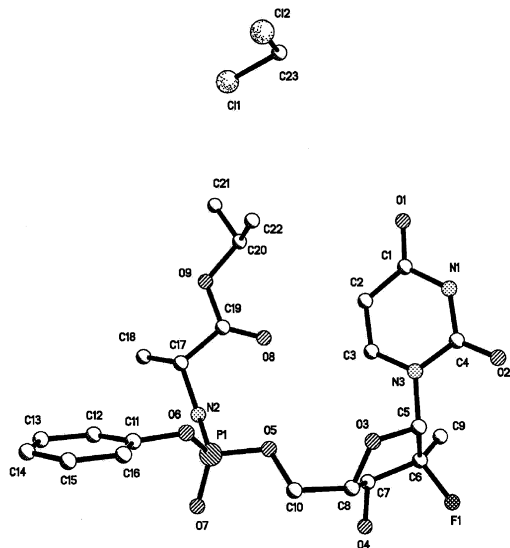
【圖 8】



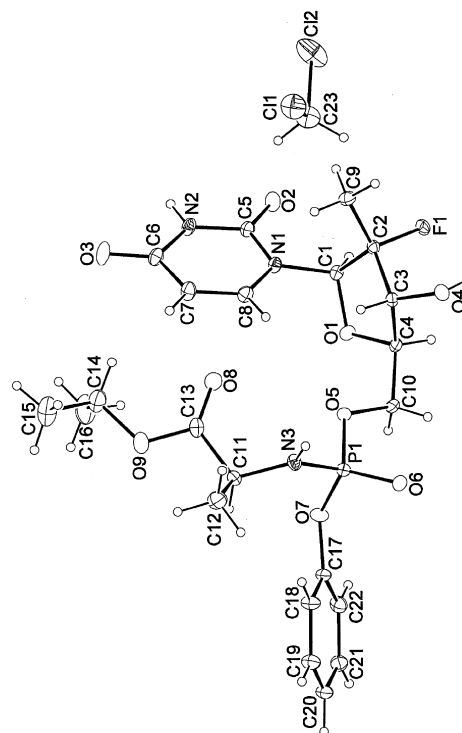
【 図 1 0 】



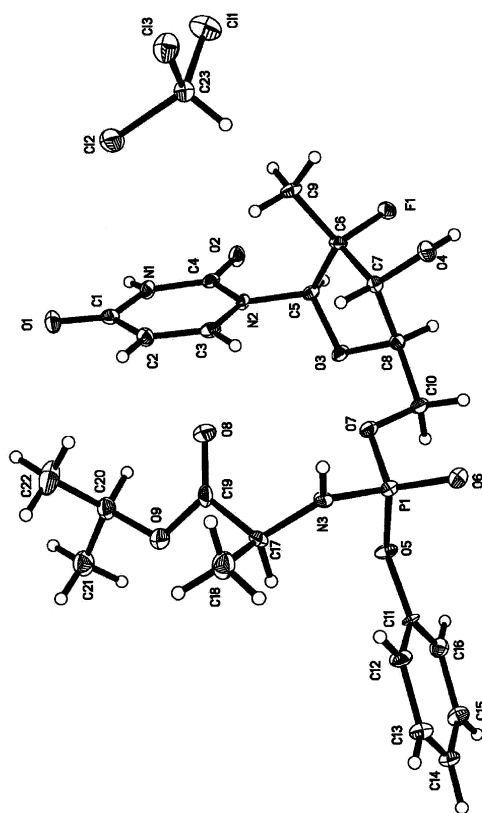
【図 1 1】



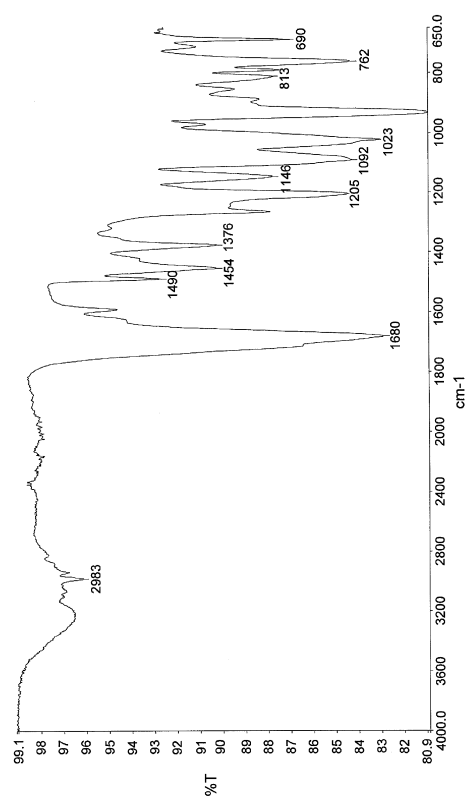
【図 1 2】



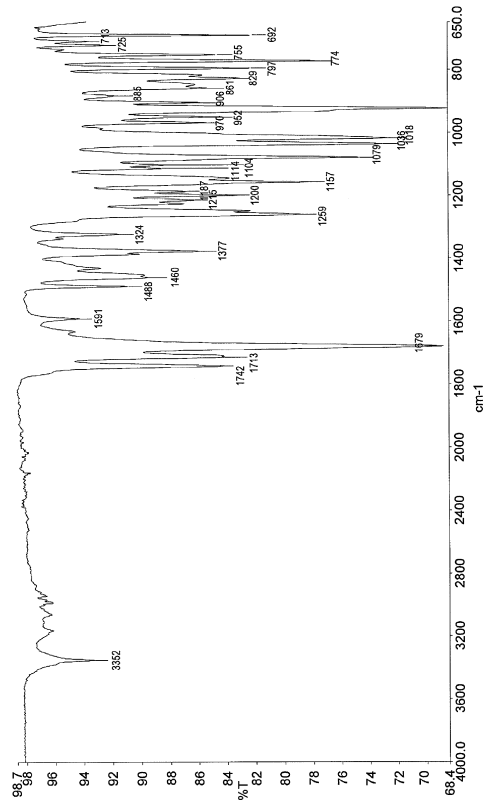
【図 1 3】



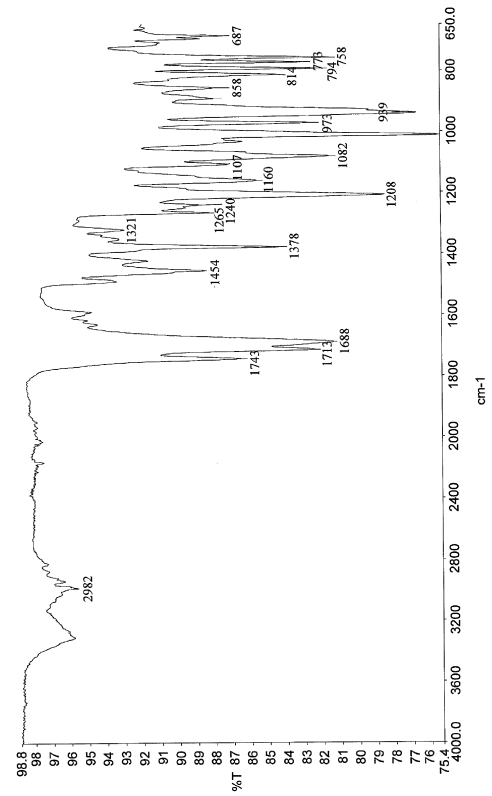
【図 1 4】



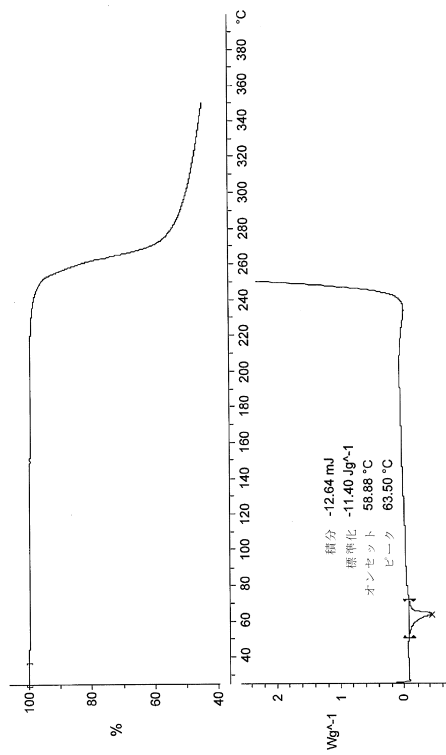
【図 15】



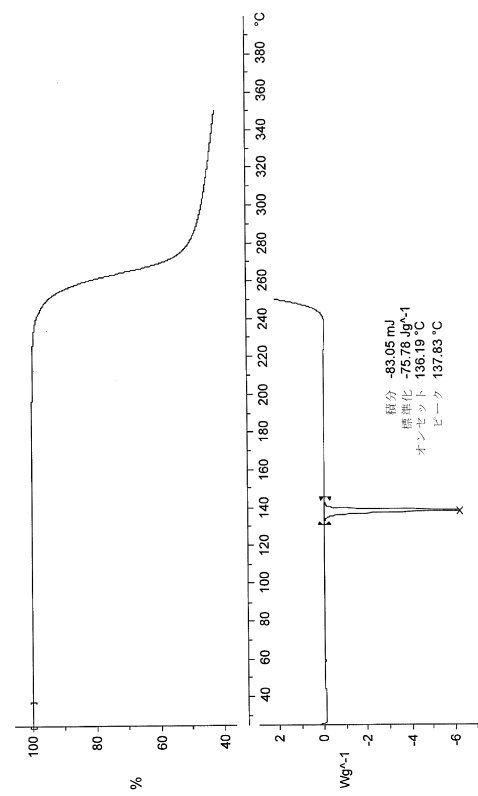
【図 16】



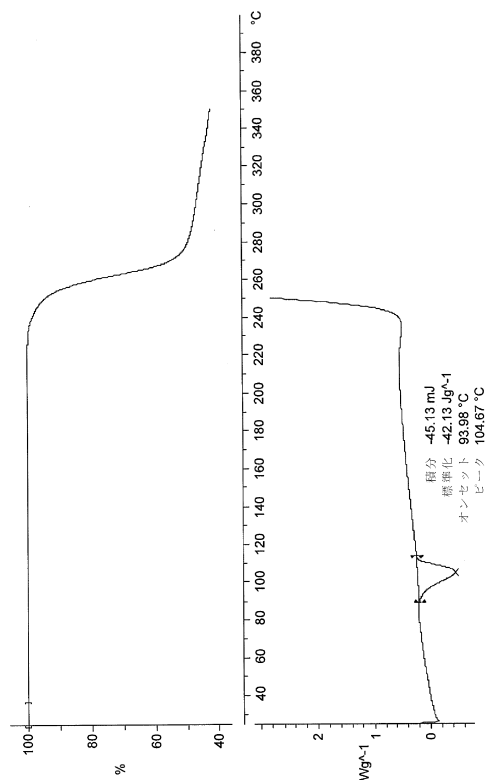
【図 17】



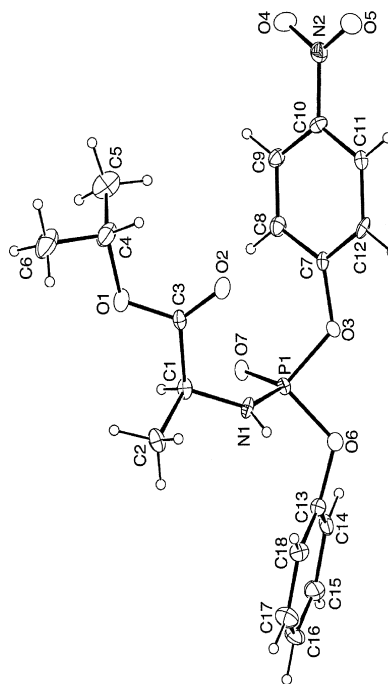
【図 18】



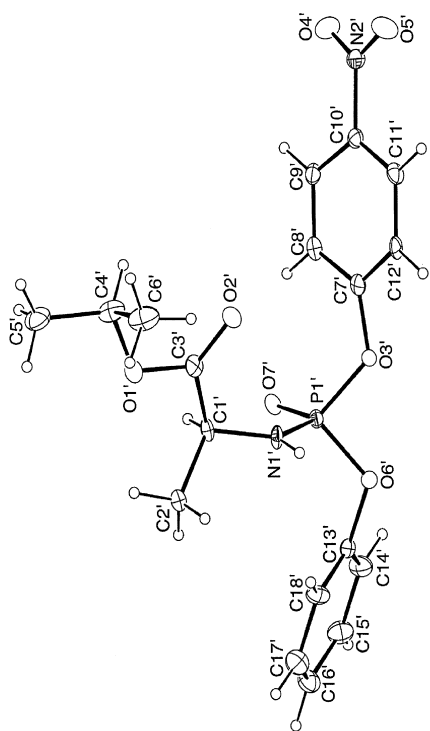
【図 19】



【図 20 A】



【図 20 B】



## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
C 0 7 H	19/067 (2006.01)	C 0 7 H	19/067
C 0 7 F	9/24 (2006.01)	C 0 7 F	9/24 G
C 0 7 F	7/18 (2006.01)	C 0 7 F	7/18 A
C 0 7 B	59/00 (2006.01)	C 0 7 B	59/00

(74)代理人 230113332

弁護士 山本 健策

(72)発明者 ロス, ブルース, エス.

アメリカ合衆国, ニュージャージー 0 8 5 3 6, ブレインズボロ, ケッペル ロード 8

(72)発明者 ソフィア, マイケル, ジョゼフ

アメリカ合衆国, ペンシルヴァニア 1 8 9 0 2, ドイルズタウン, アントラー ドライヴ  
3 0 6 6

(72)発明者 パミュラパティ, ガナパティ, レディ

アメリカ合衆国, ニュージャージー 0 8 5 3 6, ブレインズボロ, ハンターズ グレン  
ドライヴ 4 6 0 8

(72)発明者 ラチャコンダ, スグナ

アメリカ合衆国, ニュージャージー 0 8 6 9 1, ロビンズヴィル, バーネット クレッセ  
ント 1 4 4

(72)発明者 チャン, ハイ - レン

アメリカ合衆国, メリーランド 2 1 0 4 3, エリコット シティー, マナハン ドライヴ  
8 6 8 0

(72)発明者 チュン, ビョン - クォン

アメリカ合衆国, ニュージャージー 0 8 6 9 1, ロビンズヴィル, ヘリテージ ストリー  
ト 1 3 5

(72)発明者 ワン, ペイユアン

アメリカ合衆国, ニュージャージー 0 7 4 5 2, グレン ロック, ラッドバーン ロード  
2 0

審査官 三木 寛

(56)参考文献 国際公開第2008/121634(WO, A1)

国際公開第2007/095269(WO, A1)

国際公開第2007/020193(WO, A1)

国際公開第2006/121820(WO, A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C 0 7 H 1 9 / 1 0

C A p l u s / R E G I S T R Y ( S T N )