

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(10) 국제공개번호

WO 2018/131950 A1

2018년 7월 19일 (19.07.2018) WIPO | PCT

(51) 국제특허분류:

C07H 19/167 (2006.01)

A61K 31/7076 (2006.01)

C07H 19/04 (2006.01)

(21) 국제출원번호:

PCT/KR2018/000644

(22) 국제출원일:

2018년 1월 12일 (12.01.2018)

(25) 출원언어:

한국어

(26) 공개언어:

한국어

(30) 우선권정보:

10-2017-0005061 2017년 1월 12일 (12.01.2017) KR

10-2017-0063574 2017년 5월 23일 (23.05.2017) KR

(71) 출원인: 퓨처메디신 주식회사 (FUTURE MEDICINE

CO., LTD.) [KR/KR]; 06665 서울시 서초구 효령로33

길 55,4층, Seoul (KR). 서울대학교산학협력단 (SEOUL

NATIONAL UNIVERSITY R&DB FOUNDATION)

[KR/KR]; 08826 서울시 관악구 관악로 1, Seoul (KR).

(72) 발명자: 정낙신 (JEONG, Lak Shin); 06216 서울시 강남

구 언주로 332, 107동 402호, Seoul (KR). 신영섭 (SHIN,

Young Sup); 04334 서울시 용산구 한강대로96길 31, 302

호, Seoul (KR). 김규동 (KIM, Gyu Dong); 07069 서울

시 동작구 신대방길 85, 105동 401호, Seoul (KR). 윤지

성 (YUN, Ji Seong); 08790 서울시 관악구 낙성대로4가

길 2, 102호, Seoul (KR). 김홍래 (KIM, Hong Rae); 08787

서울시 관악구 쑥고개로 125, 1709호, Seoul (KR). 김혜

옥 (KIM, Hea Ok); 06216 서울시 강남구 언주로 332,

107동 402호, Seoul (KR). 사후프라모드 쿠마 (SAHU,

Pramod Kumar); 08814 서울시 관악구 신림로7나길 42,

101호, Seoul (KR). 리마 리테오간도 에스. 나타샤 (LI-
MA LEITE OGANDO, S. Natacha); 2333 라이덴 알비
누스트리프 2, 네델란드 라이덴 대학 의료센터, 의료
미생물학과, Leiden (NL). 코바시코바크리스티나 (KO-
VACIKOVA, Kristina); 2333 라이덴 알비누스트리프 2,
네델란드 라이덴 대학 의료센터, 의료 미생물학과, Lei-
den (NL). 포스츠타씨. 클라라 (POSTHUMA, C. Clara);
2333 라이덴 알비누스트리프 2, 네델란드 라이덴 대학
의료센터, 의료 미생물학과, Leiden (NL). 스나이더제이.
에릭 (SNIJDER, J. Eric); 2333 라이덴 알비누스트리프
2, 네델란드 라이덴 대학 의료센터, 의료 미생물학과,
Leiden (NL). 반 허메르트제이. 마틴 (VAN HEMERT, J.
Martijn); 2333 라이덴 알비누스트리프 2, 네델란드 라
이덴 대학 의료센터, 의료 미생물학과, Leiden (NL).

(74) 대리인: 특허법인 가산 (KASAN IP & LAW FIRM);

06719 서울시 서초구 남부순환로 2423 한원빌딩 7층,

Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국

내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,
CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC,
EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU,
ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ,
LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK,
MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA,
PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD,
SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(54) Title: CARBOCYCLIC NUCLEOSIDE DERIVATIVE AND ANTIVIRAL AGENT COMPRISING SAME

(54) 발명의 명칭: 카보사이클릭 뉴클레오사이드 유도체 및 이를 포함하는 항바이러스제

BB	CC	DD	MERS-CoV (in vero cells)		SARS-CoV		CH1CV		Z1CV	
			IC ₅₀ (μM)	EC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)	EC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)	EC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)	EC ₅₀ (μM)
AA	화학식 5a									
AA	화학식 5b		ND	ND	ND	ND	0.528	1.322	2.544	3.572
AA	화학식 5c		0.19±0.09	3.64±1.09	0.47±0.14	5.99±1.17	>50	>50	0.26±0.18	>2.5
AA	화학식 5d		ND	ND	ND	ND	>50	>100	>50	>100

AA ... Chemical formula
BB ... Compound no.
CC ... Structure
DD ... MERS-CoV (in vero cells)

(57) Abstract: The present invention relates to a carbocyclic nucleoside derivative represented by chemical formula A or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and an antiviral agent comprising the same.

(57) 요약서: 발명은 화학식 A로 표현되는 카보사이클릭 뉴클레오사이드 (carbocyclic nucleoside) 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 및 이를 포함하는 항바이러스제에 관한 것이다.

[다음 쪽 계속]

WO 2018/131950 A1

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

- 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))
- 청구범위 보정 기한 만료 전의 공개이며, 보정서를 접수하는 경우 그에 관하여 별도 공개함 (규칙 48.2(h))

명세서

발명의 명칭: 카보사이클릭 뉴클레오사이드 유도체 및 이를 포함하는 항바이러스제

기술분야

- [1] 본 발명은 카보사이클릭 뉴클레오사이드 유도체 및 이를 포함하는 항바이러스제에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 바이러스는 인류의 건강을 위협하는 수많은 난치병의 대표적인 발병인자로서, 전 세계적으로 이를 예방 또는 치료하기 위해 막대한 자원을 투자하고 있다. 최근에는 치쿤군야 바이러스(Chikungunya Virus), 사스 바이러스(SARS virus), 메르스 바이러스(MERS virus) 및 지카바이러스(Zika virus) 등의 난치성 RNA 바이러스들이 인류에게 심각한 위협을 초래하고 있어 이들의 증식을 억제할 수 있는 바이러스 치료제의 개발이 시급한 상황이지만, 현재 이 바이러스들을 효과적으로 억제할 수 있는 치료제 또는 예방제가 전무한 실정이다.
- [3] 한편, 항바이러스제들은 다양한 기전(mechanism)을 통해 바이러스를 억제할 수 있는데, 그 중 다음과 같은 두 가지 기전은 바이러스를 효과적으로 억제하는데 사용될 수 있는 것으로 알려져 있다.
- [4] 첫 번째는, S-adenosylhomocysteine(이하, SAH) 가수분해효소(hydrolase)를 억제하는 것이다.
- [5] SAH 가수분해효소는 NAD⁺를 조효소로 이용하는 테트라머(tetramer) 형태의 효소로서, SAH를 아데노신(adenosine, Ado)과 호모시스테인(homocysteine, Hcy)으로 가역적으로 가수분해하는 역할을 하며, 생체내 단백질, 지질, 뉴클레오사이드뿐만 아니라 히스타민, 노르에피네프린같은 체내물질들의 메틸화(methylation)에 매우 중요한 효소이다.
- [6] 이러한 SAH 가수분해효소의 억제는 SAH의 축적을 유발하며, 과잉의 SAH는 순차적으로 S-adenosylmethionine(AdoMet)-dependent transmethylese의 억제 및 바이러스 mRNA의 캡핑(capping)을 억제하여 바이러스의 복제에 필요한 단백질이 제대로 만들어지지 못하게 하기 때문에, 결과적으로 항바이러스 효과를 나타내게 된다.
- [7] 대부분의 동물 DNA 바이러스뿐만 아니라 RNA 바이러스도 mRNA 캡핑에 메틸화 효소(viral mRNA guanosine N7-methyltransferases, O-2'-methyltransferase)가 필수적이므로, SAH 가수분해효소는 광범위 항바이러스제의 개발에 있어서 필수적인 요소로 간주된다. 즉, RNA 바이러스 치료제의 개발과 SAH 가수분해효소 저해제의 개발은 높은 상관성을 갖고 있는 것으로 여겨진다.
- [8] 두 번째는, 바이러스 RNA 중합효소(polymerase)를 저해하는 것이다.
- [9] RNA 바이러스들은 기질인 Nucleoside-5'-triphosphate(NTP)가 RNA

중합효소(polymerase)에 의해 RNA 사슬(chain)로 삽입되어 복제된다. 따라서, RNA 중합효소를 저해하는 물질 또한 항바이러스제 역할을 할 수 있으며, 체내에서 3인산염(triphosphate)으로 전환되어 바이러스 RNA 중합효소를 선택적으로 억제하거나 바이러스 RNA 사슬로 직접 삽입되어 연쇄종결반응(chain termination)을 유도하는 물질을 이용하면 효과적인 항바이러스제를 개발할 수 있을 것으로 여겨진다.

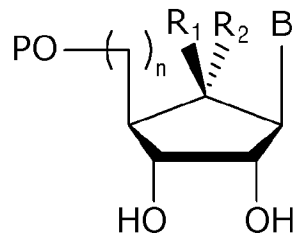
발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [10] 항바이러스제가 바이러스 뿐만 아니라 정상세포에 대해서도 RNA 중합효소의 저해제 기능을 하는 경우, 정상세포에 독성을 나타낼 수 있으므로 이의 선택성을 높이는 것은 어렵다.
- [11] 따라서, 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 SAH 가수분해효소를 억제하는 기능을 갖고 있어 바이러스를 효과적으로 억제할 수 있으면서도, 체내 독성이 거의 없어, 바이러스의 억제와 바이러스성 질환의 예방 및 치료에 매우 적합하게 활용될 수 있는 신규 카보사이클릭 뉴클레오사이드(carbocyclic nucleoside) 유도체를 제공하는 것이다.
- [12] 본 발명의 과제들은 이상에서 언급한 기술적 과제로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 기술적 과제들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

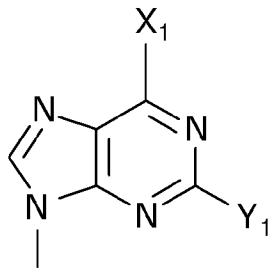
과제 해결 수단

- [13] 상술한 과제를 해결하기 위한 본 발명의 일 실시예에 따른 카보사이클릭 뉴클레오사이드(carbocyclic nucleoside) 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염은 하기 화학식 A로 표현된다.
- [14] <화학식 A>
- [15]



- [16] (상기 화학식 A에서, n은 1 또는 2이고, R1 및 R2는 각각 독립적으로 수소 또는 불소이며, B는 하기 화학식 B-1 또는 B-2이고, P는 수소 또는 포스포아미데이트(phosphoamidate)기이다)
- [17] <화학식 B-1>

[18]

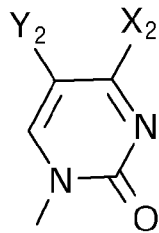


[19] (상기 화학식 B-1에서, X1는 염소, 수산기 (OH group), 아미노기(amino group) 또는 알킬아미노(alkylamino group)기이고, Y1는 수소 또는 아미노기이다.

[20] 상기 알킬아미노기는 -NHMe, -NHEt 등의 모노알킬아미노기(-NHR) 또는 -NMe2, -NMeEt, -NEt2 등의 다이알킬아미노기(-NR2)이다)

[21] <화학식 B-2>

[22]

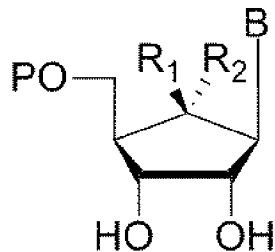


[23] (상기 화학식 B-2에서, X2는 수산기 또는 아미노기이고, Y2는 수소, 메틸기(methyl group) 또는 할로젠이다)

[24] 상기 화학식 A는 하기 화학식 a일 수 있다..

[25] <화학식 a>

[26]

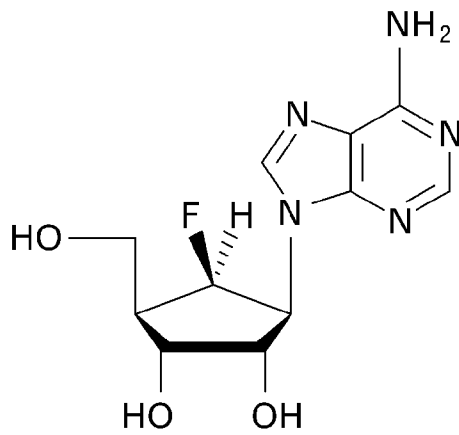


[27] 상기 화학식 a에서 R2는 불소일 수 있다.

[28] 상기 화학식 a는 하기 화학식 5a, 화학식 5b 또는 화학식 5c일 수 있다..

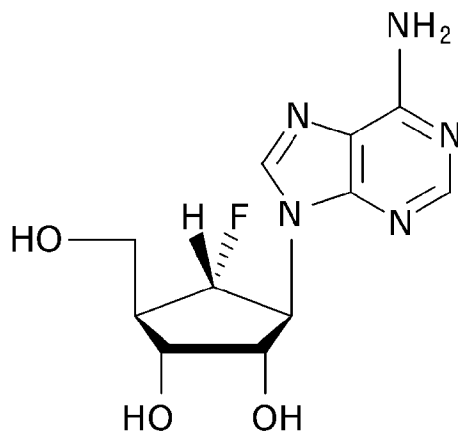
[29] <화학식 5a>

[30]



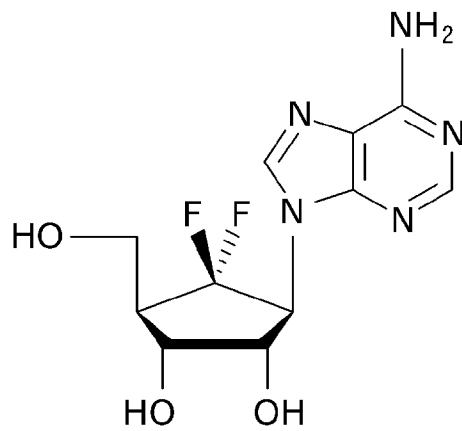
[31] <화학식 5b>

[32]



[33] <화학식 5c>

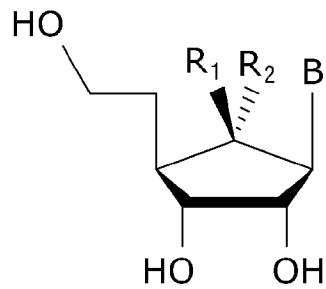
[34]



[35] 상기 화학식 A는 하기 화학식 b일 수 있다.

[36] <화학식 b>

[37]

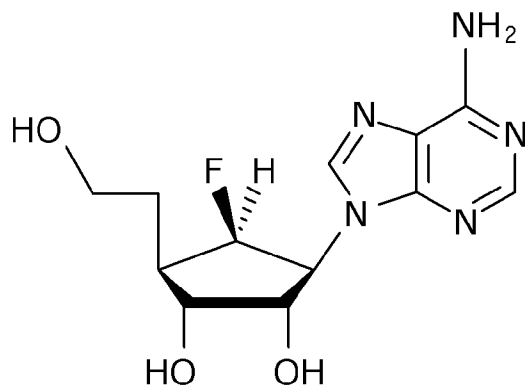


[38] 상기 화학식 b에서 R1은 불소일 수 있다.

[39] 상기 화학식 b는 하기 화학식 15a 또는 화학식 15b일 수 있다.

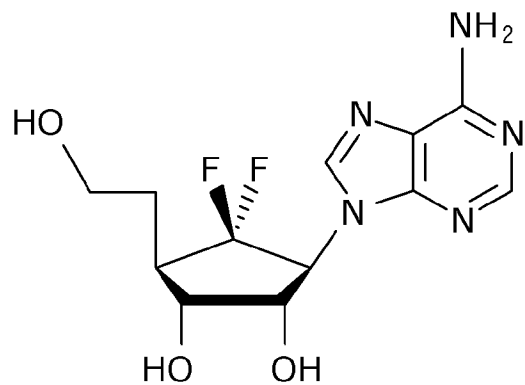
[40] <화학식 15a>

[41]



[42] <화학식 15b>

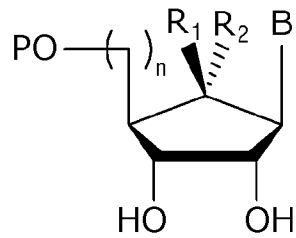
[43]



[44] 상술한 과제를 해결하기 위한 본 발명의 다른 실시예에 따른 카보사이클릭 뉴클레오사이드 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 항바이러스제는 하기 화학식 A로 표현된다.

[45] <화학식 A>

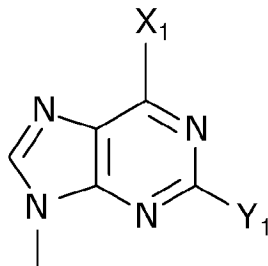
[46]



[47] (상기 화학식 A에서, n은 1 또는 2이고, R1 및 R2는 각각 독립적으로 수소 또는 불소이며, B는 하기 화학식 B-1 또는 B-2이고, P는 수소 또는 포스포아미데이트(phosphoamidate)기이다)

[48] <화학식 B-1>

[49]

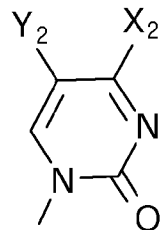


[50] (상기 화학식 B-1에서, X1는 염소, 수산기 (OH group), 아미노기(amino group) 또는 알킬아미노(alkylamino group)기이고, Y1는 수소 또는 아미노기이다.

[51] 상기 알킬아미노기는 -NHMe, -NHEt 등의 모노알킬아미노기(-NHR) 또는 -NMe2, -NMeEt, -NEt2 등의 다이알킬아미노기(-NR2)이다)

[52] <화학식 B-2>

[53]

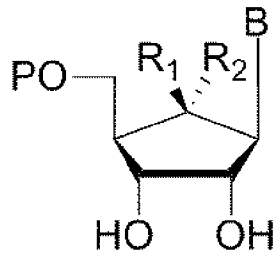


[54] (상기 화학식 B-2에서, X2는 수산기 또는 아미노기이고, Y2는 수소, 메틸기(methyl group) 또는 할로젠이다)

[55] 상기 화학식 A는 하기 화학식 a일 수 있다.

[56] <화학식 a>

[57]

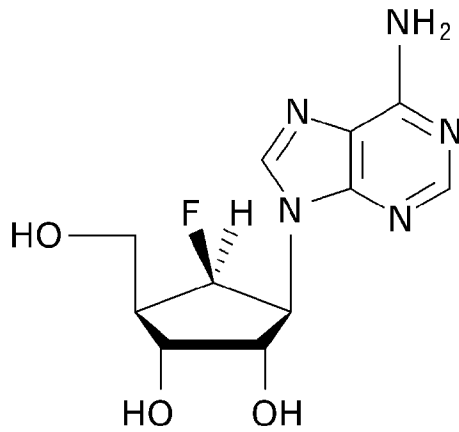


[58] 상기 화학식 a에서 R2는 불소일 수 있다.

[59] 상기 화학식 a는 하기 화학식 5a, 화학식 5b 또는 화학식 5c일 수 있다.

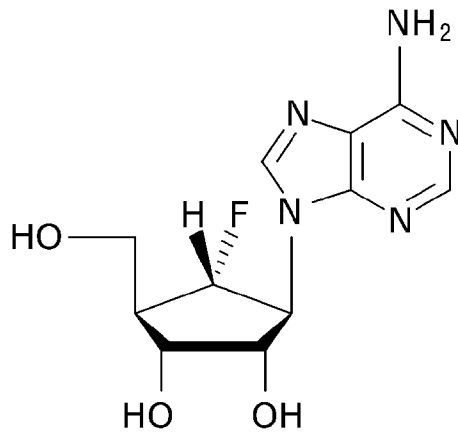
[60] <화학식 5a>

[61]



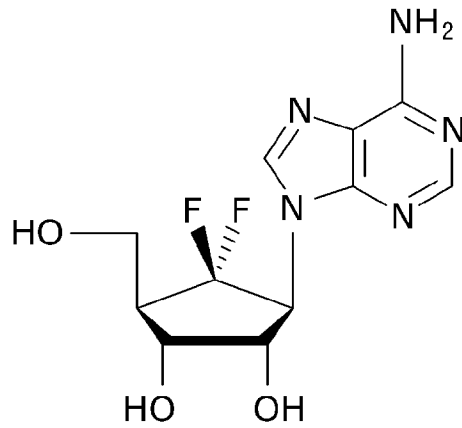
[62] <화학식 5b>

[63]



[64] <화학식 5c>

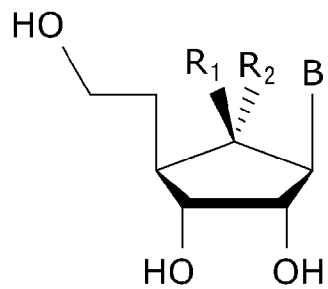
[65]



[66] 상기 화학식 A는 하기 화학식 b일 수 있다.

[67] <화학식 b>

[68]

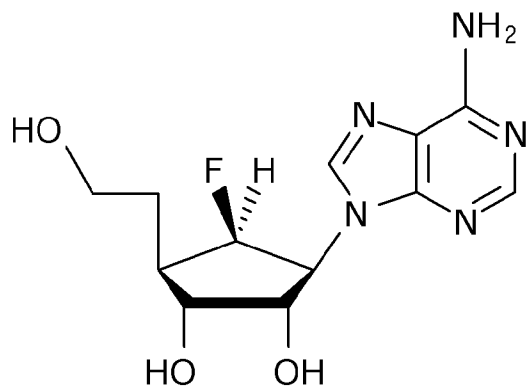


[69] 상기 화학식 b에서 R1은 불소일 수 있다.

[70] 상기 화학식 b는 하기 화학식 15a 또는 화학식 15b일 수 있다.

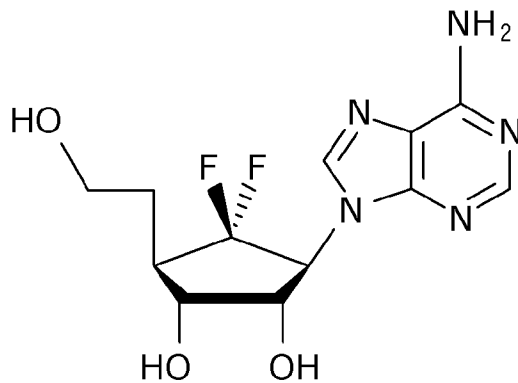
[71] <화학식 15a>

[72]



[73] <화학식 15b>

[74]



발명의 효과

[75] 본 발명으로 체내 독성이 거의 없는 신규 항바이러스제로서의 개발이 이루어질 수 있을 것이라 판단되며, 이는 향후 대표적 국가지식기반사업인 신약개발 분야 발달에 큰 기여를 할 수 있으며 국민 건강이 향상되는 효과를 기대할 수 있음은 물론 경제 발달에 이바지할 수 있다고 예상된다.

도면의 간단한 설명

[76] 도 1 내지 도 8은 실험 결과들을 정리한 것이다.

발명의 실시를 위한 형태

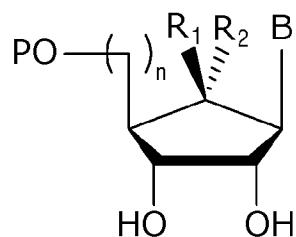
[77] 본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 상세하게 후술되어 있는 실시예들을 참조하면 명확해질 것이다. 그러나 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예들에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 것이며, 단지 본 실시예들은 본 발명의 개시가 완전하도록 하며, 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이며, 본 발명은 청구항의 범주에 의해 정의될 뿐이다.

[78] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[79] 본 발명의 일 실시예에 따른 카보사이클릭 뉴클레오사이드(carbocyclic nucleoside) 유도체는 하기 화학식 A로 표현될 수 있다.

[80] <화학식 A>

[81]

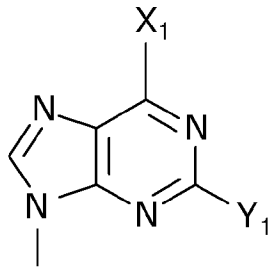


[82] 상기 화학식 A에서, n은 1 또는 2이고, R₁ 및 R₂는 각각 독립적으로 수소 또는 불소이며, B는 하기 화학식 B-1 또는 B-2이고, P는 수소 또는

포스포아미데이트(phosphoamidate)기일 수 있다.

[83] <화학식 B-1>

[84]

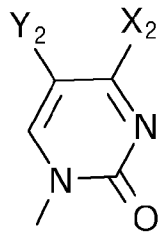


[85] 상기 화학식 B-1에서, X1는 염소, 수산기(hydroxy group), 아미노기(amino group) 또는 알킬아미노(alkylamino group)기이고, Y1는 수소 또는 아미노기일 수 있다.

[86] 상기 알킬아미노기는 -NHMe, -NEt 등의 모노알킬아미노기(-NHR) 또는 -NMe2, -NMeEt, -NEt2 등의 다이알킬아미노기(-NR2)일 수 있다.

[87] <화학식 B-2>

[88]

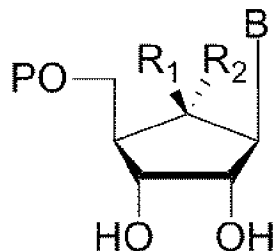


[89] 상기 화학식 B-2에서, X2는 수산기 또는 아미노기이고, Y2는 수소, 메틸기(methyl group) 또는 할로젠일 수 있다.

[90] 일 실시예에서, 상기 화학식 A에서 n은 1이고, P는 수소일 수 있다. 즉, 상기 화학식 A로 표현되는 카보사이클릭 뉴클레오사이드(carbocyclic nucleoside) 유도체는 하기 화학식 a로 표현되는 카보사이클릭 뉴클레오사이드(carbocyclic nucleoside) 유도체일 수 있다.

[91] <화학식 a>

[92]

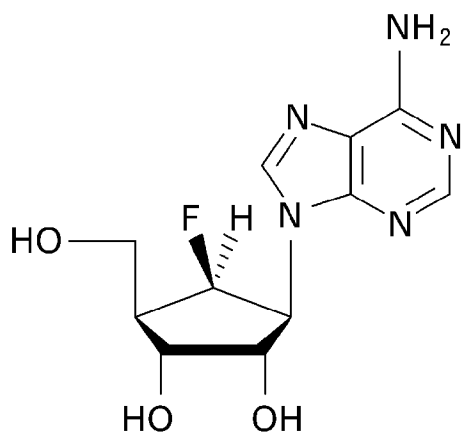


[93] 구체적으로, 상기 화학식 a에서, n은 1이고, P는 수소 또는 포스포아미데이트(phosphoamidate)기이며, B는 상기 화학식 B-1일 수 있다. 더욱 구체적으로는, 상기 화학식 a로 표현되는 카보사이클릭 뉴클레오사이드

유도체는 하기 화학식 5a로 표현되는 화합물, 5b로 표현되는 화합물 또는 화학식 5c로 표현되는 화합물일 수 있다.

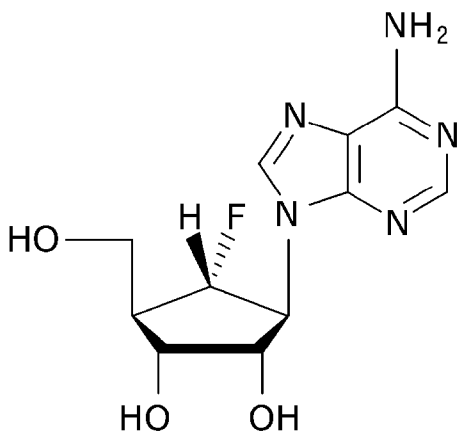
[94] <화학식 5a>

[95]



[96] <화학식 5b>

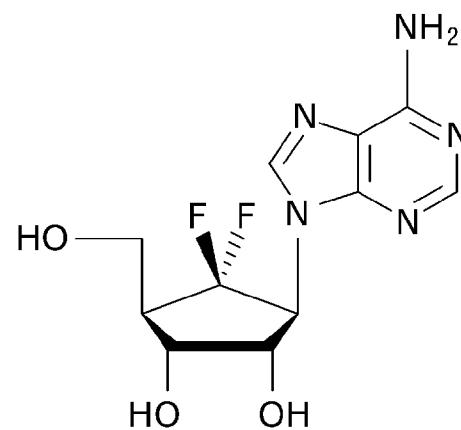
[97]



[98]

[99] <화학식 5c>

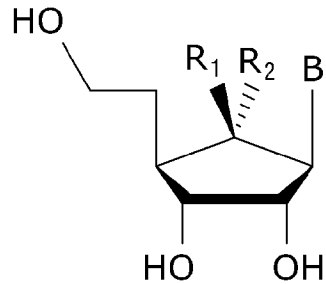
[100]



[101] 다른 실시예에서, 상기 화학식 A에서 n 은 2이고, P는 수소일 수 있다. 즉, 상기 화학식 A로 표현되는 카보사이클릭 뉴클레오사이드(carbocyclic nucleoside) 유도체는 하기 화학식 b로 표현되는 카보사이클릭 뉴클레오사이드(carbocyclic nucleoside) 유도체일 수 있다.

[102] <화학식 b>

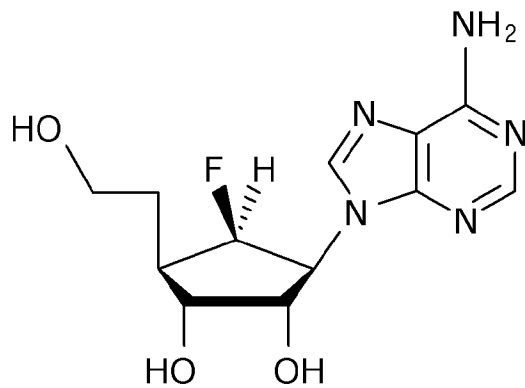
[103]



[104] 구체적으로, 상기 화학식 b에서, R1은 불소이고, B는 상기 화학식 B-1일 수 있다. 더욱 구체적으로는, 상기 화학식 b로 표현되는 카보사이클릭 뉴클레오사이드 유도체는 하기 화학식 15a로 표현되는 화합물 또는 화학식 15b로 표현되는 화합물일 수 있다.

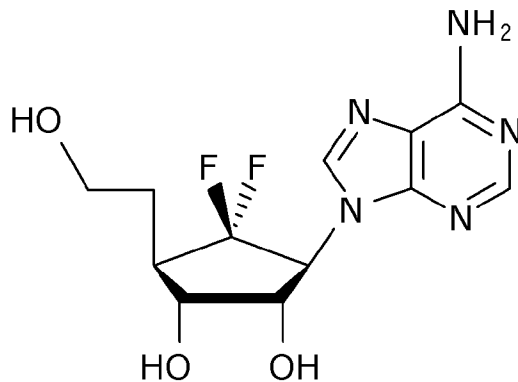
[105] <화학식 15a>

[106]



[107] <화학식 15b>

[108]

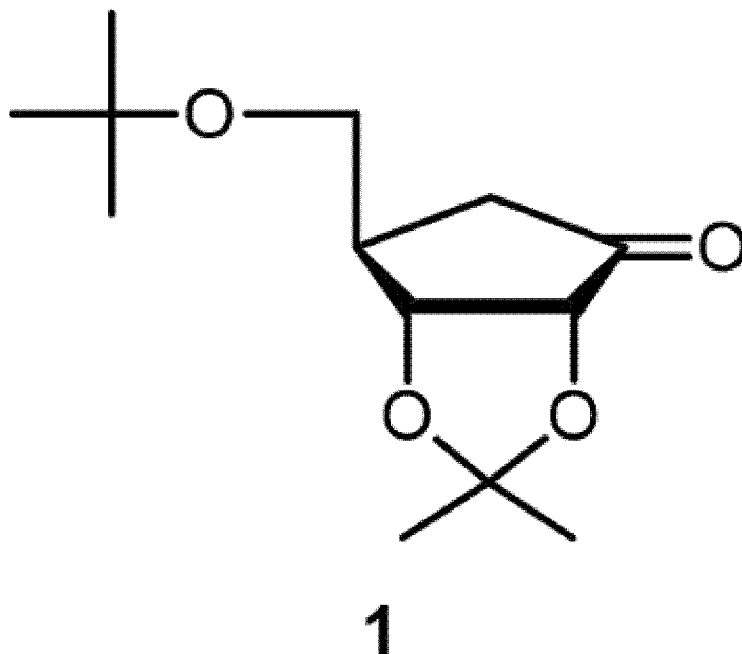


- [109] 상기 화학식 A로 표현되는 카보사이클릭 뉴클레오사이드 유도체는 약학적으로 허용 가능한 염의 형태로 제공될 수 있다. 염으로는 약학적으로 허용되는 다양한 유기산 또는 무기산에 의해 형성된 산부가염이 유용하다. 적합한 유기산으로는, 예를 들면 사복시산, 포스폰산, 술폰산, 아세트산, 프로피온산, 옥탄산, 데칸산, 글리콜산, 락트산, 푸마르산, 숙신산, 아디프산, 말산, 타르타르산, 시트르산, 글루탐산, 아스파르트산, 말레산, 벤조산, 살리실산, 프탈산, 페닐아세트산, 벤젠술폰산, 2-나프탈렌술폰산, 메틸황산, 에틸황산, 도데실황산 등을 사용할 수 있고, 적합한 무기산으로는, 예를 들면 염산, 황산 등의 할로젠산 또는 인산 등을 사용할 수 있다.
- [110] 다만, 이에 제한되는 것은 아니며, 본 발명의 카보사이클릭 뉴클레오사이드 유도체는 통상의 방법에 의해 제조될 수 있는 모든 염, 수화물 및 용매화물 형태로도 제공될 수 있다.
- [111] 본 발명의 일 실시예에 따른 항바이러스제는 상술한 카보사이클릭 뉴클레오사이드 유도체를 유효 성분으로서 포함할 수 있다.
- [112] 항바이러스제란 바이러스의 활성, 복제 등을 억제하는 것뿐만 아니라, 바이러스에 의해 유발되는 모든 질환들의 예방 및/또는 치료 용도로도 사용될 수 있는 약학적 조성물을 의미한다.
- [113] 상기 바이러스는, 예를 들면 치쿤군야 바이러스(Chikungunya Virus, CHIKV), 섀리키 삼림열 바이러스(Semliki Forrest Virus, SFV), 메르스 바이러스(Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus, MERS-CoV), 사스 바이러스(Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus, SARS-CoV), 말동맥염 바이러스(Equine Arteritis Virus, EAV), 마우스간염 바이러스(Mouse Hepatitis Virus, MHV), 신드비스 바이러스(Sindbis Virus, SINV) 등의 RNA 바이러스를 포함할 수 있다.
- [114] 상술한 카보사이클릭 뉴클레오사이드 유도체를 포함하는 항바이러스제는 SAH 가수분해효소를 저해하는 것을 주요 기전으로 하여 바이러스를 효과적으로 억제하는 약학적 조성물일 수 있다.
- [115] 상기 항바이러스제는 전신적 또는 국부적으로 투여될 수 있으며, 경구 또는 비경구 투여를 위해 일반적으로 사용될 수 있는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제,

붕해제, 계면활성제 등의 부형제(또는 희석제)를 사용하여 제형화될 수 있다. 이하, 부형제 및 제형 방법에 대해 구체적으로 예시하지만, 이들 예로 한정되는 것은 아니다.

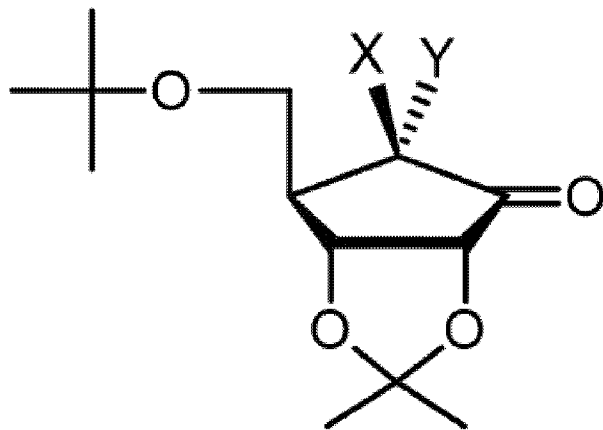
- [116] 경구 투여를 위한 고형 제형은 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등을 포함할 수 있으며, 이러한 고형제제는 하나 이상의 화학식 A의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면 전분, 탄산칼슘, 수크로오스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제할 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 스테아린산 마그네슘, 탈크 등과 같은 윤활제도 사용할 수 있다. 경구 투여를 위한 액상 제형은, 예를 들면 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등을 들 수 있으며, 액상 제형은 통상적으로 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등을 포함할 수 있다.
- [117] 비경구 투여를 위한 제형은 주사제, 유제, 흡입제, 좌제 등을 포함할 수 있다. 주사제는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트 등과 같은 에스테르 등의 멸균된 수성 용제, 비수성 용제 및 현탁제를 포함할 수 있고, 좌제는 기제로서 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등을 포함할 수 있다. 또한, 국소 적용을 위해 본 발명의 항바이러스제를 연고나 크림으로 제형화할 수도 있다.
- [118] 상기 항바이러스제의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물 형태, 투여 경로 및 기간 등의 다수의 인자에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 또한 투여 경로는 환자의 상태 및 그의 중증도에 따라 변화할 수 있다.
- [119] 본 발명의 카보사이클릭 뉴클레오사이드 유도체는 RNA 바이러스에 대한 항바이러스 효능을 갖는 동시에 체내 독성이 거의 없는 생체친화적인 특성을 갖기 때문에(실험에 참조), 바이러스의 억제와 바이러스성 질환의 예방 및/또는 치료에 매우 적합한 약학적 조성물로서 사용될 수 있다.
- [120] 이하에서는 상기 카보사이클릭 뉴클레오사이드유도체의 제조 방법에 대해 상세히 설명한다.

[121]

[122] 제조예 1

[123] 참조 문헌 [1] Tetrahedron: Asymmetry, 2002, 13, 1189-1193 과 [2] J. Med. Chem. 2001, 44, 3985-3993를 참고하여, 상기 화학식 1의 화합물을 합성할 수 있다.

[124]

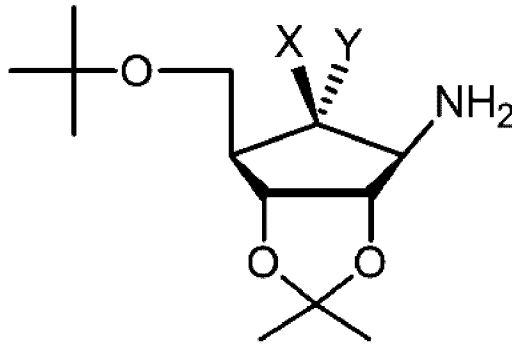
**2a** (X = F, Y = H)**2b** (X = H, Y = F)**2c** (X = F, Y = F)[125] 제조예 2-1

[126] 제조예 1에서 합성한 화학식 1의 화합물(6 g, 24.8 mmol)을 무수 THF에 녹인 뒤, 클로로트리에틸실란 (TESCl) (16.7 mL, 99.2 mmol)을 적가하고, -78°C로 냉각시켰다. 냉각된 혼합물에 1.0 M 리튬 비스(트리메틸실릴)아미드/THF 용액(LiHMDS 1.0 M solution in THF) (50 mL, 50 mmol)을 서서히 적가한 뒤, 30

분간 동일 조건에서 반응을 잘 교반시켜 실릴 에놀 에테르화 시켜 준다. 반응이 종결되었음을 TLC로 확인한 뒤, 반응 혼합물을 포화 암모늄 클로라이드 (NH₄Cl) 수용액으로 반응을 종결시키고 수용액층을 아세트산 에틸로 추출한 뒤 유기층을 분액하였다. 분리된 유기층을 물과 brine으로 충분히 씻어준 후, 황산 마그네슘 (MgSO₄)으로 건조시키고, 감압여과를 통해 잔여 고체를 제거한 뒤 감압 농축한다. 이 농축된 잔류물을 무수 DMF 에 녹인 후, 0°C로 냉각시킨다. 냉각된 혼합물에 1-클로로메틸-4-플루오로-1,4-디아조니아비사이클로 [2.2.2]옥탄 비스(테트라플루오로보레이트) (상표명 Selectfluor®) (10.15 g, 28.65 mmol) 를 1.5 당량 적가한 뒤 동일 조건에서 15 시간 동안 교반하게 되면 플루오로화된 화합물인 3a와 3b를 각각 3:1의 비율로 생성(NMR에서 비율로 확인)된다. 반응이 종결된 것을 TLC에서 확인되면, 반응 혼합물을 포화 암모늄 클로라이드 (NH₄Cl) 수용액으로 반응을 종결시키고 수용액층을 아세트산 에틸로 추출한 뒤 유기층을 분액한다. 분리된 유기층을 물과 brine으로 충분히 씻어준 후, 황산 마그네슘 (MgSO₄)으로 건조시키고 감압여과를 통해 잔여 고체를 제거한 뒤 감압 농축한다. 농축된 잔류물은 실리카젤 크로마토그래를 통하여 분리 정제하여, 하기와 같은 1H-NMR 스펙트럼을 갖는 상기 화학식 2a의 화합물(6.591 g, 58%)과 상기 화학식 2b의 화합물(3.078 g, 27%)을 각각 얻었다.

- [127] 2a: 1H NMR (400 MHz, CDCl₃) 5.29 (dd, J = 8.2, 49.5 Hz, 1 H), 4.70 (t, J = 5.7 Hz, 1 H), 4.20 (dd, J = 2.4, 6.1 Hz, 1 H), 3.61 (dd, J = 1.6, 8.6 Hz, 1 H) 3.38-3.41 (m, 1 H), 2.75 (d, J = 8.2 Hz, 1 H), 1.41 (s, 3 H), 1.30 (s, 3 H), 1.06 (s, 9 H)
- [128] 2b: 1H NMR (600 MHz, CDCl₃) 5.21-5.36 (ddd, J = 1.3, 4.5, 50.8 Hz, 1 H), 4.55 (d, J = 5.9 Hz, 1 H), 4.50 (d, J = 5.9 Hz, 1 H), 3.63 (d, J = 2.2 Hz, 2 H), 2.52-2.58 (m, 1 H), 1.41 (s, 3 H), 1.33 (s, 3 H), 1.13 (s, 9 H)
- [129] 제조예 2-2
- [130] 출발물질로서 화학식 1의 화합물이 아닌 제조예 2-1에서 합성한 화학식 2a의 화합물(3.29 g, 12.6 mmol)을 사용한 점을 제외하고는 제조예 2-1과 동일한 과정을 진행하여, 하기와 같은 1H-NMR 스펙트럼을 갖는 상기 화학식 2c의 화합물(2.95 g, 84%)을 얻었다.
- [131] 1H NMR (500 MHz, CDCl₃) 4.72 (t, J = 6.1 Hz, 1 H), 4.35-4.38 (m, 1 H), 3.68 (d, J = 8.6 Hz, 1 H), 3.68 (d, J = 8.6 Hz, 1 H) 3.46 (d, J = 8.5 Hz, 1 H), 2.67 (d, J = 17.4 Hz, 1 H), 1.42 (s, 3 H), 1.33 (s, 3 H), 1.05 (s, 9 H). (디올 형태로 평형을 이룬 물질로 추정되는 피크와 섞여있음.)

[132]

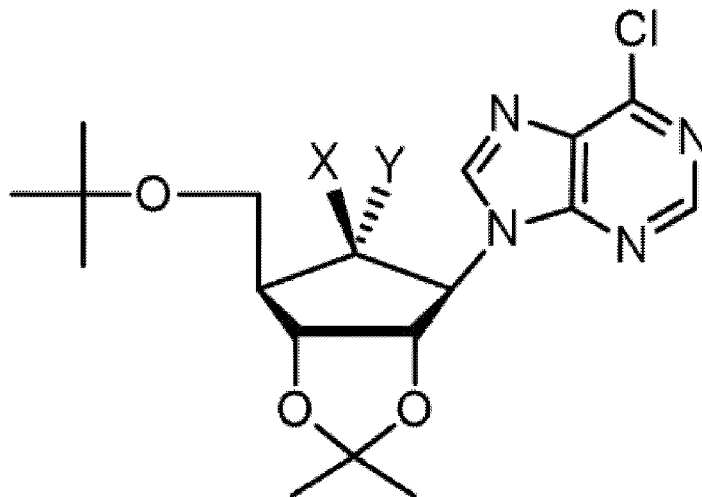
**3a** (X = F, Y = H)**3b** (X = H, Y = F)**3c** (X = F, Y = F)[133] 제조예 3-1

[134] 상기 제조예 2-1에서 얻는 화학식 2a의 화합물(3.33 g, 12.8 mmol)을 메탄올에 녹인 뒤, 0°C 이하로 충분히 냉각시켰다. 냉각시킨 용액에 소듐보로하이드라이드 (NaBH₄) (1.45 g, 38.4 mmol)을 천천히 첨가한다. 이후 동일 조건에서 반응을 교반시키고 TLC로 반응 종결을 확인한 뒤, 반응 혼합물을 포화 암모늄 클로라이드 (NH₄Cl) 수용액으로 반응을 종결시키고 수용액층을 아세트산 에틸로 추출한 뒤 유기층을 분액하였다. 분리된 유기층을 물과 brine으로 충분히 씻어준 후, 황산 마그네슘 (MgSO₄)으로 건조시키고 감압여과를 통해 잔여 고체를 제거한 뒤 감압 농축한다. 생성된 알코올 화합물을 실리카젤 크로마토그래피등으로 분리정제한 중간체 (2.54g, 76%)를 무수 피리딘 (pyridine)에 녹인 뒤, 0°C 로 냉각시켜준다. 냉각된 혼합물에 무수 트리플루오로메탄설폰산 (trifluoromethanesulfonic anhydride) (3.26 ml, 19.36 mmol)을 적가한 뒤, 동일 조건에서 30 분 교반시켜 트리플루오로메틸설폰산화 시켜준다. 반응이 종결됨을 TLC로 확인한 뒤, 반응 혼합물을 포화 암모늄 클로라이드 (NH₄Cl) 수용액으로 반응을 종결시키고 수용액층을 아세트산 에틸로 추출한 뒤 유기층을 분액한다. 분리된 유기층을 물과 brine으로 충분히 씻어준 후, 황산 마그네슘 (MgSO₄)으로 건조시키고 감압여과를 통해 잔여 고체를 제거한 뒤 감압 농축한다. 생성된 트리플루오로메틸설폰산화 화합물과 소듐아지드 (NaN₃) (1.89 g, 29.04 mmol)를 무수 DMF에 혼합한 뒤, 60°C 로 가열상태에서 교반시켜 아지드화 시킨다. 4 시간 가량 교반한 뒤, TLC로 반응이 종결됨을 확인하고 물로 반응을 종결시킨 뒤, 수용액층을 아세트산 에틸로 추출한 뒤 유기층을 분액한다. 분리된 유기층을 물과 brine으로 충분히 씻어준 후, 황산 마그네슘 (MgSO₄)으로 건조시키고 감압여과를 통해 잔여 고체를 제거한 뒤 감압 농축한다. 얻어진 아지드 화합물을 실리카젤 크로마토그래피등을 통하여 분리정제하고, 얻어진 화합물(4.07 g, 42%)을 메탄올에 용해시킨다. 해당 용액에 팔라듐/탄소를 적당량 첨가하고 반응용기를

수소치환을 하여 수소화 반응을 진행시켜 아지드기를 아민기로 환원시킨다. 반응이 종결됨을 TLC로 확인한 뒤, 반응이 종결되면 감압여과를 통해 잔여 고체를 제거하고 감압 농축시키면 하기 1H-NMR 스펙트럼을 갖는 화학식 3a의 화합물을 얻을 수 있다. 얻어진 화학식 3a의 화합물은 분리정제과정 없이 다음 과정으로 진행한다.

- [135] 1H NMR (600 MHz, CDCl₃) d 4.96 (dt, J = 52.5, 3.3 Hz, 1 H), 4.31-4.36 (m, 2 H), 3.48-3.54 (m, 2 H), 3.27 (td, J = 4.1, 28.4 Hz, 1 H), 2.24-2.34 (m, 1 H), 1.80 (s, 2 H), 1.45 (s, 3 H), 1.26 (s, 3 H), 1.16 (s, 9 H)
- [136] 제조예 3-2
- [137] 출발물질로서 화학식 2a의 화합물이 아닌 화학식 2b의 화합물(5.2 g, 19.97 mmol)을 사용한 점을 제외하고는 제조예 3-1과 동일한 과정을 진행하여, 하기의 1H NMR 스펙트럼을 갖는 상기 화학식 3b의 화합물(3.24 g, 62%)을 합성하였다.
- [138] 1H NMR (300 MHz, CDCl₃) d 4.59 (dt, J = 52.7, 6.0 Hz, 1 H), 4.48, (t, J = 4.02 Hz, 1 H), 4.15 (dd J = 6.42, 4.23 Hz, 1 H), 3.50 (m, 2 H), 2.40 (m, 1 H), 1.48 (s, 3 H), 1.27 (s, 3 H), 1.16 (s, 9 H)
- [139] 제조예 3-3
- [140] 출발물질로서 화학식 2a의 화합물이 아닌 화학식 2c의 화합물(4.95 g, 17.79 mmol)을 사용한 점을 제외하고는, 제조예 3-1과 동일한 과정을 진행하여 하기 1H NMR 스펙트럼을 갖는 화학식 3c의 화합물(2.98 g, 60%)을 얻었다. 단, 케톤을 알코올화 시키는 반응에서 소듐보로하이드라이드 (NaBH₄) 대신 리튬보로하이드라이드 (LiBH₄)를 사용하며, 아지드화 반응에서 소듐아지드를 10당량 사용하고 온도를 100°C로 올려야 하며, 교반시간을 15 시간 정도로 늘려주어야 한다.
- [141] 1H NMR (800 MHz, CDCl₃) d 4.45-4.46 (m, 1 H), 4.25-4.27 (m, 1 H), 3.58 (dd, J = 4.5, 9.2 Hz, 1 H), 3.54 (dd, J = 5.1, 9.2 Hz, 1 H), 3.35-3.38 (m, 1 H), 2.56-2.59 (m, 1 H), 1.94 (bs, 3 H), 1.47 (s, 3 H), 1.28 (s, 3 H), 1.18 (s, 9 H)

[142]

**4a** (X = F, Y = H)**4b** (X = H, Y = F)**4c** (X = F, Y = F)[143] 제조예 4-1

[144] 제조예 3-1에서 합성한 화학식 3a의 화합물(982 mg, 3.757 mmol)과 5-아미노-4,6-디클로로피리미딘 (5-amino-4,6-dichloropyrimidine) (1.85 g, 11.27 mmol), 디이소프로필에틸아민 (DIPEA) (6.54 mL, 37.57 mmol)을 n-부탄올 (n-butanol)에 혼합시킨 뒤, 마이크로웨이브등을 사용하여 170°C 로 가열하여 4 시간 정도 교반시킨다. 반응이 종결됨을 TLC로 확인한 뒤, 반응 혼합물을 메탄올과 같이 혼합하여 감압농축 시킨 뒤, 잔류물을 실리카젤 크로마토그래피등으로 분리정제하여 중간체 (964 mg, 66%)를 얻었다. 이 중간체를 아세트산 디에톡시메틸 (diethoxymethyl acetate)에 녹인 후, 마이크로웨이브등을 사용하여 140°C에서 3시간 정도 교반시킨다. 반응이 종결됨을 TLC로 확인한 뒤, 반응 혼합물을 메탄올과 같이 혼합하여 감압농축 시킨 뒤, 실리카젤 크로마토그래피로 분리정제하면, 하기의 ¹H NMR 스펙트럼을 갖는 상기 화학식 4a의 화합물(643 mg, 65%)을 얻었다.

[145] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.74 (s, 1 H), 8.34 (d, J = 2.4 Hz, 1 H), 5.28-5.43 (dt, J = 52.8, 2.8 Hz, 1 H), 5.12-5.23 (m, 2 H), 4.61 (t, J = 5.0 Hz, 1 H), 3.65-3.69 (m, 1 H), 3.61 (t, J = 9.2 Hz, 1 H), 2.56-2.71 (m, 1 H), 1.56 (s, 3 H), 1.32 (s, 3 H), 1.17 (s, 9 H)

[146] 제조예 4-2

[147] 출발물질로서 화학식 3a의 화합물이 아닌 제조예 3-2에서 합성한 화학식 3b의 화합물(1.592 g, 6.09 mmol)을 사용한 점을 제외하고는 제조예 4-1과 동일한 과정을 진행하여, 하기와 같은 ¹H NMR 스펙트럼을 갖는 상기 화학식 4b의 화합물(943 mg, 39%)을 합성하였다.

[148] ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.72 (s, 1 H), 8.15 (s, 1 H), 5.59 (dt, J = 53.6, 8.42

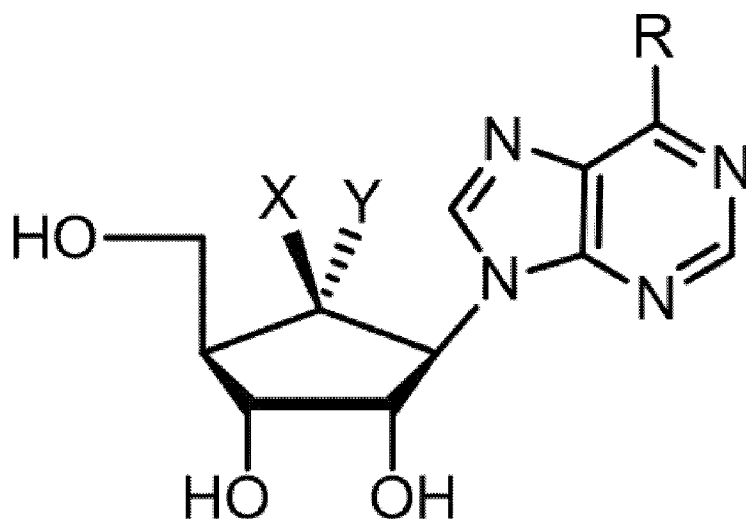
Hz, 1 H), 5.05 (t, J = 5.52 Hz, 1 H), 4.91 (m, 1 H), 4.69 (m, 1 H), 3.63 (m, 1 H), 2.56 (m, 1 H), 1.59 (s, 3 H), 1.30 (s, 3 H), 1.22 (s, 9 H)

[149] 제조예 4-3

[150] 출발물질로서 화학식 3a의 화합물이 아닌 제조예 3-3에서 합성한 화학식 3c의 화합물(182 mg, 0.625 mmol)을 사용한 점을 제외하고는 제조예 4-1과 동일한 과정을 진행하여, 하기와 같은 ¹H NMR 스펙트럼을 갖는 상기 화학식 4c의 화합물(223 mg, 50%)를 합성하였다. 단, 첫 번째 반응단계에서 온도를 200°C로 올려야 하고 교반시간을 7 시간 정도로 늘려주어야 한다.

[151] ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.76 (s, 1 H), 8.76 (s, 1 H), 8.29 (d, J = 2.4 Hz, 1 H), 5.26-5.37 (m, 1 H), 5.11 (t, J = 6.9 Hz, 1 H), 4.59-4.64 (m, 1 H), 3.64-3.74 (m, 2 H), 2.81-2.96 (m, 1 H), 1.58 (s, 3 H), 1.33 (s, 3 H), 1.20 (s, 9 H)

[152]



5a (R = NH₂, X = F, Y = H)

5b (R = NH₂, X = H, Y = F)

5c (R = NH₂, X = F, Y = F)

5d (R = OH, X = H, Y = F)

6a (R = NHMe, X = F, Y = H)

6b (R = NHMe, X = F, Y = F)

[153] 제조예 5-1

[154] 제조예 4-1에서 합성한 화학식 4a의 화합물(220 mg, 0.54 mmol)을 tert-부탄올 (tert-butanol)에 녹인 후, 고온밀폐용기 (stainless steel bomb reactor)에 옮긴다. 혼합액에 포화 암모니아/tert-부탄올(제3 부탄올)을 적가한 후, 반응용기를 밀폐시키고 120°C에서 15 시간 정도 교반시킨다. 반응이 종결됨을 TLC로 확인한

뒤, 반응 혼합물을 메탄올로 희석시킨 뒤 감압농축 시킨다. 농축된 잔류물은 THF에 녹인 후 혼합액에 트리플루오로아세트산 (TFA)과 물이 2:1로 혼합된 용액을 적가한다. 반응 혼합물을 60 에서 15 시간 가량 교반시킨 뒤, 반응이 종결됨을 TLC로 확인하고 감압농축 시킨다. 농축된 잔류물을 실리카젤 크로마토그래피로 분리정제하여, 하기와 같은 ^1H NMR 스펙트럼을 갖는 화학식 5a의 화합물(66 mg, 43%)을 얻었다.

[155] ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8.31 (d, $J = 2.4$ Hz, 1 H), 8.23 (s, 1 H), 5.36-5.39 (m, 1 H), 5.20-5.35 (td, $J = 2.8, 53.6$ Hz, 1 H), 5.05-5.16 (m, 1 H), 4.66-4.69 (m, 1 H), 3.64-3.71 (m, 2 H), 2.51-2.66 (m, 1 H), 1.55 (s, 3 H), 1.35 (s, 3 H), 1.22 (s, 9 H)

[156] 제조예 5-2

[157] 출발물질로서 화학식 4a의 화합물이 아닌 제조예 4-2에서 합성한 화학식 4b의 화합물(1.1 g, 2.758 mmol)을 사용한 점을 제외하고는 제조예 5-1과 동일한 과정을 진행하여, 하기의 ^1H NMR 스펙트럼을 갖는 화학식 5b의 화합물(556 mg, 71%)을 얻었다.

[158] ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8.19 (s, 1 H), 8.18 (s, 1 H), 5.40 (dt, $J = 54.2, 7.32$ Hz, 1 H), 5.03 (m, 1 H), 4.59 (dd, $J = 9.9, 5.3$ Hz, 1 H), 4.07 (m, 1 H), 3.80 (d, $J = 5.9$ Hz, 2 H), 2.35 (m, 1 H)

[159] 제조예 5-3

[160] 출발물질로서 화학식 4a의 화합물이 아닌 제조예 4-3에서 합성한 화학식 4c의 화합물(223 mg, 0.534 mmol)을 사용한 점을 제외하고는 제조예 5-1과 동일한 과정을 진행하여, 하기와 같은 ^1H NMR 스펙트럼을 갖는 화학식 5c의 화합물(99 mg, 61%)을 합성하였다.

[161] ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8.29 (s, 1 H), 8.21 (s, 1 H), 5.29-5.36 (m, 2 H), 4.66 (bs, 1 H), 3.75-3.79 (m, 1 H), 3.66-3.70 (m, 1 H), 2.80-2.89 (m, 1 H), 1.57 (s, 3 H), 1.34 (s, 3 H), 1.22 (s, 9 H)

[162] 제조예 5-4

[163] 상기 제조예 4-2에서 합성한 화학식 4b의 화합물(21 mg, 0.0527 mmol)을 메탄올에 용해시킨 뒤, 트리플루오로아세트산 과 물의 혼합 용액 (1:1) 등의 산성 조건에서 80°C 로 가열하며 15 시간 가량 교반시킨뒤, 반응이 종결됨을 TLC 등으로 확인하고 감압농축 시킨다. 농축된 잔류물을 실리카젤 크로마토그래피로 분리정제하여, 하기와 같은 ^1H NMR 스펙트럼을 갖는 상기 화학식 5d의 화합물(10 mg, 67%)을 얻었다.

[164] ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 12.3 (s, 1 H, D_2O exchanged), 8.22 (s, 1 H), 8.03 (d, $J = 3.66$, 1 H), 4.92-5.24 (m, 2 H), 4.30 (m, 1 H), 3.84 (m, 1 H), 3.57 (d, $J = 5.67$, 2 H), 2.07-2.19 (m, 1 H)

[165] 제조예 6-1

[166] 제조예 4-1에서 합성한 화학식 4a의 화합물(113 mg, 0.283 mmol)을 에탄올에 녹인 후, glass seal bomb에 옮긴다. 혼합액에 40% 메틸아민 수용액을 적가한 후,

반응용기를 밀폐시키고 상온에서 2 시간 정도 교반시킨다. 반응이 종결됨을 TLC로 확인한 뒤, 반응 혼합물을 감압농축 시킨다. 농축된 잔류물은 THF에 녹인 후 혼합액에 트리플루오로아세트산 (TFA)과 물이 2:1로 혼합된 용액을 적가한다. 반응 혼합물을 50 에서 30 시간 가량 교반시킨 뒤, 반응이 종결됨을 TLC로 확인하고 감압농축 시킨다. 농축된 잔류물을 실리카젤 크로마토그래피로 분리정제하여, 하기의 ^1H NMR 스펙트럼을 갖는 상기 화학식 6a의 화합물(66 mg, 67%)을 얻었다.

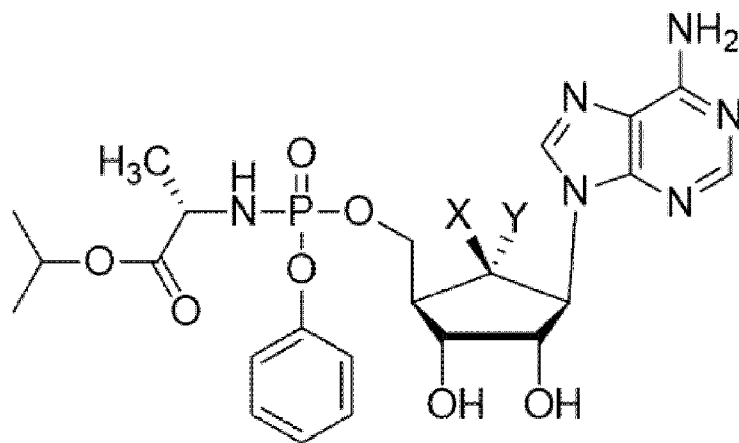
[167] ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 8.28 (s, 1 H), 8.24 (s, 1 H), 5.15-5.28 (dt, $J = 54.7$, 3.85 Hz, 1 H), 4.96-5.04 (ddd, $J = 29.55$, 9.95, 3.25 Hz, 1 H), 4.75 (dd, $J = 9.55$, 6.80 Hz, 1 H), 4.28 (dd, $J = 6.65$, 4.90 Hz, 1 H), 3.83 (m, 1 H), 3.12 (bs, 3 H), 2.44-2.53 (m, 1 H)

[168] 제조예 6-2

[169] 출발물질로서 화학식 4a의 화합물이 아닌 제조예 4-3에서 얻은 화학식 4c의 화합물(223 mg, 0.535 mmol)을 사용한 점을 제외하고는 제조예 6-1과 동일한 과정을 진행하여 하기와 같은 ^1H NMR 스펙트럼을 갖는 상기 화학식 6b의 화합물(128 mg, 76%)을 합성하였다.

[170] ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 8.24 (s, 1 H), 8.20 (s, 1 H), 5.33 (m, 1H), 4.79 (dd, $J = 10.3$, 10.2 Hz, 1 H), 4.17 (s, 1 H), 3.81-3.90 (m, 2 H), 3.10 (bs, 3 H), 2.67 (m, 1 H)

[171]



7a (X = H, Y = F)

7b (X = F, Y = F)

[172] 제조예 7-1

[173] 제조예 5-3에서 합성한 화학식 5c의 화합물(20 mg, 0.066 mmol)을 아세톤에 녹인 뒤, 촉매량의 황산을 0°C 에서 적가한 뒤, 상온에서 8시간 가량 교반시킨다. 반응이 종결됨을 TLC로 확인한 후, 탄산수소소듐 (NaHCO_3)으로 중화시키고 반응 혼합물을 감압농축 시킨다. 농축된 잔류물을 실리카젤 크로마토그래피로 분리정제하여 2',3'-isopropylidene 화합물(21 mg, 0.063 mmol)을 얻는다. 얻은 2',3'-isopropylidene 화합물(21 mg, 0.063 mmol)과 디메틸아미노피리딘

(dimethylaminopyridine, DMAP) (0.7 mg, 0.058 mmol) 을 헥사메틸디실라잔 (hexamethyldisilazane, HMDS)을 용매로 하여 현탁액으로 만든 뒤, 상온에서 메탄설폰산 트리메틸실릴 (trimethylsilyl methanesulfonate, TMSOTf) (5 μ L, cat.) 을 적가한 후, 75°C 정도로 가열하며 2 시간 가량 교반한다. 이후, 반응 혼합물을 감압농축 시킨 뒤, 농축된 잔류물을 무수 THF에 녹인 후 혼합액에 디카본산 디-tert-부틸 (di-tert-butyl dicarbonate, Boc₂O) (63 mg, 0.29 mmol) 을 적가한다. 해당 반응 혼합물을 4 시간 가량 상온에서 교반시킨 후, 감압농축시킨다. 농축된 잔류물을 메탄올:트리에틸아민 (trimethylamine) = 5 : 1 혼합 용매에 녹인 후, 55°C 정도로 가열하며 16시간 가량 교반한다. 반응이 종결됨을 TLC 등으로 확인 한 뒤, 감압농축 시킨다. 농축된 잔류물을 물로 희석시킨 뒤, 아세트산 에틸 (ethyl acetate)로 추출하여 유기층을 분액한다. 분리된 유기층을 물과 brine으로 충분히 씻어준 후, 황산 마그네슘 (MgSO₄)으로 건조시키고 감압여과를 통해 잔여 고체를 제거한 뒤 감압 농축한다. 농축된 잔류물은 실리카젤 크로마토그래피를 통하여 분리 정제하여 N, N-디(tert-부틸 카본산) (N, N-diBoc) 화 된 중간체(8 mg, 0.015 mmol) 와 N-tert-부틸 카본산 (N-Boc) 화 된 중간체(13 mg, 0.029 mmol) 을 얻을 수 있다. 이 두 중간체 (21 mg, 0.043 mmol)을 무수 THF에 녹인 뒤, 염화 tert-부틸마그네슘 1.0 M THF 용액 (tert-butylmagnesium chloride 1.0 M solution in THF) (0.215 ml, 0.215 mmol)을 0°C 에서 적가한다. 이 반응혼합물에 1-메틸에틸 N-[(S)-(2,3,4,5,6-오불화페녹시)페녹스포스피닐]-L-알라닌 (N-[(S)-(2,3,4,5,6-pentafluorophenoxy)phenoxyphosphinyl]-L-alanine 1-Methylethyl ester) (0.21 mg, 0.45 mmol) 을 무수 THF에 녹인 용액을 0°C 에서 점적한 뒤, 반응혼합물을 상온에서 36 시간 가량 교반시킨다. 반응이 종결됨을 TLC로 확인한 뒤, 반응 혼합물을 포화 암모늄 클로라이드 (NH₄Cl) 수용액으로 반응을 종결시키고 수용액층을 아세트산 에틸로 추출한 뒤 유기층을 분액한다. 분리된 유기층을 물과 brine으로 충분히 씻어준 후, 황산 마그네슘 (MgSO₄)으로 건조시키고 감압여과를 통해 잔여 고체를 제거한 뒤 감압 농축한다. 농축된 잔류물은 실리카젤 크로마토그래피등을 통하여 분리 정제하여, 중간체 (15 mg, 0.0215 mmol) 과 반응하지 않은 전구체 (10 mg, 0.0215 mmol) 을 얻을 수 있다. 이 중, 반응이 진행된 중간체 (15 mg, 0.0215 mmol)를 포름산 수용액 (50 v/v%) 에 현탁시켜 상온에서 8 시간 가량 교반시켜 보호기 제거 반응을 진행한다. 반응이 종결됨을 TLC로 확인한 뒤, 반응혼합물을 감압농축 시키고, 잔류물을 실리카젤 크로마토그래피를 통하여 분리정제하면 하기와 같은 ¹H NMR 스펙트럼을 갖는 상기 화학식 7b의 화합물(12 mg, 100%)을 얻었다.

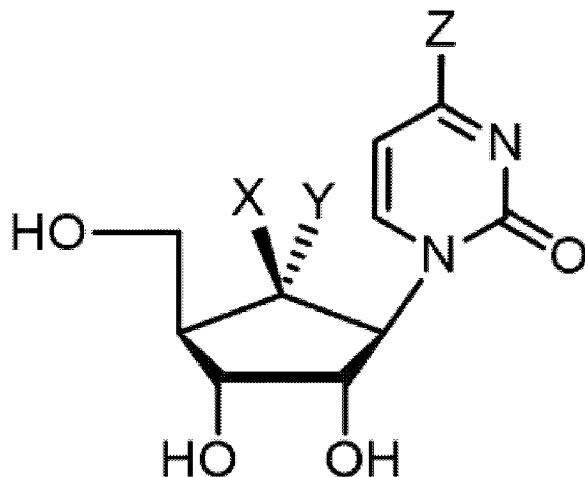
- [174] ¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz) : 8.17 (s, 1 H), 8.14 (s, 1 H), 7.33-7.14 (m, 5 H), 5.42 (ddd, J = 54.1, 6.35, 6.35 Hz, 1 H), 5.00 (ddd, J = 20.75, 8.05, 8.05 Hz, 1 H), 4.92 (ddd, J = 12.45, 6.25, 6.25 Hz, 1 H), 4.53 (dd, J = 9.3, 5.35 Hz, 1 H), 4.36 (t, J = 5.45 Hz, 2 H), 4.12 (dd, J = 4.5, 4.0 Hz, 1 H), 3.99-3.93 (m, 1 H), 2.59-2.49 (m, 1 H), 1.34 (d, J = 7 Hz, 3 H), 1.20 (d, J = 6.25 Hz, 3 H), 1.16(d, J = 6.25 Hz, 3 H)

[175] 제조예 7-2

[176] 출발물질로서 화학식 5c의 화합물이 아닌 제조예 5-2에서 합성한 화학식 5b의 화합물(100 mg, 0.35 mmol)을 사용한 점을 제외하고는 제조예 7-1과 동일한 과정을 진행하여, 하기와 같은 ¹H NMR 스펙트럼을 갖는 상기 화학식 7a의 화합물(27 mg, 27%)을 합성하였다.

[177] ¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz) : 8.20 (s, 1 H), 8.18 (bs, 1 H), 7.38-7.18 (m, 5 H), 5.33 (ddd, J = 18.5, 9.7, 9.7 Hz, 1 H), 4.95 (ddd, J = 12.3, 6.15, 6.15 Hz, 1 H), 4.76 (dd, J = 9.95, 5.05 Hz, 1 H), 4.42-4.32 (m, 2 H), 4.19 (bs, 1 H), 3.92-3.86 (m, 1 H), 2.92-2.83 (m, 1 H), 1.33 (d, J = 7 Hz, 3 H), 1.20 (d, J = 6.2 Hz, 3 H), 1.17(d, J = 6.2 Hz, 3 H)

[178]



8a (X = F, Y = H, Z = OH)

8b (X = H, Y = F, Z = OH)

8c (X = F, Y = F, Z = OH)

9a (X = F, Y = H, Z = NH₂)

9b (X = F, Y = F, Z = NH₂)

[179] 제조예 8-1

[180] 3-메톡시아크릴산 메틸 (methyl 3-methoxyacrylate) (20 mL, 186 mmol)을 2 M 수산화소듐 수용액(103 ml)에 넣고 상온에서 2시간 가량 교반시켜 완전히 용해시킨다. 이 반응혼합물을 2 M 염산 수용액으로 완전히 산성화시키고 여과하여 침전된 고체를 모은다. 앞에서 얻은 고체 유기산을 물에 녹인 후, 2 M 수산화소듐 수용액으로 중화시키면 소듐염 형태의 유기산을 얻을 수 있다. 이를 감압 데시케이터에서 오산화인 (phosphorus(V) oxide)과 함께 3 일정도 건조시켜 준다. 건조된 유기산 소듐염 (6.20 g, 50 mmol)을 무수 디에틸에테르 (diethyl ether)와 함께 현탁액으로 만든 후, 염화 티오닐 (thionyl chloride) (5.45 mL, 75 mmol)을 적가하고 4시간 가량 가열환류 시킨다. 그 후, 반응 혼합물을 30°C에서 15 시간

가량 교반하여 유기산염화물 (acid chloride)화 시킨다. 반응 혼합물을 상온으로 냉각시키고, 무수 디에틸에테르로 세척하면서 감압여과 한다. 얻어진 여과액을 질소기체 하에서 감압농축시키고 농축된 잔여물은 감압증류를 통하여 유기산염화물 (3.08 g, 51%)을 얻는다. 건조된 시안산 은 (silver cyanate) (8.44 g, 56.32 mmol)을 벤젠 (benzene)과 함께 현탁액을 만들어 준 뒤, 30 분간 가열환류 한다. 준비된 현탁액에 앞서 얻어진 유기산염화물 (1.45 g, 12.03 mmol) 을 적가하고 30 분 가량 가열환류시키면 이소시안산 (isocyanate)을 얻을 수 있고 이는 다른 과정 없이 반응 현탁액을 침전시킨 뒤, 상층액을 다음반응에 사용하도록 한다. 제조예 3-1에서 합성한 화학식 3a의 화합물(2.572 g, 9.84 mmol)을 DMF 에 용해시키고 -20°C 이하로 충분히 냉각시킨다. 이 반응혼합물에 앞서 합성한 이소시안산 (45 mL, 19.68 mmol)을 점적하고 서서히 상온으로 가열되도록 하면서 15 시간 가량 교반시켜준다. 반응이 종결됨을 TLC로 확인하고, 염화메틸렌 (methylene chloride) 로 세척하며 감압여과 후, 여과액을 감압농축시킨다. 이때 톨루엔, 에탄올 등과 함께 공비혼합물을 만들어서 충분히 감압농축시켜 잔여물이 고체화 되도록 한 뒤, 고체화된 잔여물을 실리카젤 크로마토그래피등으로 분리정제하면 중간체인 요소 유도체 (2.903 g, 76%)를 얻을 수 있다. 얻어진 요소 유도체를 1,4-디옥산에 녹인 후, 소량의 2 M 황산 수용액 (~1:10=2 M 황산:1,4-디옥산)을 적가한 뒤, 1시간 가량 가열환류시켜 요소 유도체의 고리화 반응과 보호기 제거 반응을 동시에 진행시킨다. 반응이 종결됨을 TLC로 확인한 후, DOWEX 66 이온교환 수지(ion-exchange resin)와 같은 염기성 수지 (basic resin)등을 사용하여 반응 혼합물을 중화시키고 감압여과와 감압농축을 거쳐 얻어진 잔여물을 실리카젤 크로마토그래피를 통하여 분리정제 하면, 하기와 같은 ^1H NMR 스펙트럼을 갖는 상기 화학식 8a의 화합물(1.097 g, 56%)을 얻을 수 있다.

[181] ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.69 (d, J = 8.08 Hz, 1 H), 5.68 (d, J = 8.04 Hz, 1 H), 5.02-5.18 (td, J = 55.28, 3.9 Hz, 1 H), 4.81-4.93 (m, 1 H), 4.46 (m, 1 H), 3.93 (t, J = 5.00 Hz, 1 H), 3.76 (m, 2 H), 2.30-2.41 (m, 1 H)

[182] 제조예 8-2

[183] 화학식 3a의 화합물 대신 화학식 3b의 화합물(1.3 g, 4.97 mmol)을 사용한 점을 제외하고는 제조예 8-1과 동일한 과정을 진행하여, 하기의 ^1H NMR 스펙트럼을 갖는 상기 화학식 8b의 화합물(597 mg, 53%)을 얻었다.

[184] ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 7.60 (d, J = 7.95 Hz, 1 H), 5.69 (d, J = 7.90 Hz, 1 H), 5.07-5.21 (ddd, J = 55.2, 6.85, 5.10 Hz, 1 H), 4.61-4.69 (ddd, J = 22.6, 8.75, 7.35 Hz, 1 H), 4.32 (dd, J = 9.00, 5.25 Hz, 1 H), 3.98 (t, J = 3.75 Hz, 1 H), 3.70 (m, 2 H), 2.24 (m, 1 H)

[185] 제조예 8-3

[186] 화학식 3a의 화합물 대신 화학식 3c의 화합물(1.942 g 6.952 mmol)을 사용한 점을 제외하고는 제조예 8-1과 동일한 과정을 진행하여, 하기의 ^1H NMR

스펙트럼을 갖는 상기 화학식 8b의 화합물(1 g, 52%)을 얻었다.

[187] ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 7.67 (dd, $J = 8.15, 2.35$ Hz, 1 H) 5.71 (d, $J = 8.05$ Hz, 1 H), 5.36, (dt, $J = 17.7, 10.3$ Hz, 1 H), 4.41 (dd, $J = 10.7, 5.15$ Hz, 1 H), 4.07 (m, 1 H), 3.73-3.82 (m, 2 H), 2.53 (m, 1 H)

[188] 제조예 9-1

[189] 제조예 8-1에서 합성한 화학식 8a의 화합물(100 mg, 0.384 mmol)을 염화메틸렌 (methylene chloride)에 용해시킨 뒤 피리딘 (pyridine) (0.21 mL, 2.57 mmol)을 적가하고 0°C 로 냉각시킨다. 냉각시킨 반응혼합물에 염화 벤조일 (benzoyl chloride) (0.27 mL, 2.31 mmol)을 점적한 뒤, 서서히 상온으로 가열하며 15 시간 가량 교반시킨다. 반응이 종결됨을 TLC로 확인한 뒤, 물로 반응을 종결시키고 수용액 층을 염화메틸렌으로 추출한 뒤 유기층을 분액한다. 분리된 유기층을 물과 brine으로 충분히 씻어준 후, 황산 마그네슘 (MgSO_4)으로 건조시키고 감압여과를 통해 잔여 고체를 제거한 뒤 감압 농축한다. 농축된 잔류물은 실리카젤 크로마토그래피를 통하여 분리 정제하여, 벤조일화 된 중간체 (164 mg, 75%)를 얻을 수 있다. 1,2,4-트리아졸 (1,2,4-triazole) (198 mg, 2.87 mmol)을 무수 아세트니트릴에서 현탁액으로 만들고, 0°C 로 냉각시킨 뒤, 염화포스포릴(phosphoryl chloride) (0.27 mL, 2.87 mmol)을 점적한다. 반응 혼합물을 0°C 에서 30 분 가량 교반시킨 후 앞서 얻어진 중간체(164 mg, 0.286 mmol)를 무수 아세트니트릴에 용해시킨 후 적가하고 뒤이어 트리에틸아민 (trimethylamine) (0.4 mL, 2.87 mmol)을 0°C 에서 적가한다. 반응 혼합물은 서서히 상온으로 가열시키며 15 시간 가량 교반시켜준다. 반응이 종결됨을 TLC로 확인한 뒤, 반응 혼합물을 감압 농축 시킨다. 농축된 잔여물을 염화메틸렌으로 희석시키고 소량의 물로 2번 가량 분액하여 잔여 1,2,4-트리아졸을 제거한다. 세척한 유기층을 감압 농축시킨 잔여물을 1,4-디옥산 (1,4-dioxane)에 용해시키고 밀폐가능한 반응용기로 옮긴 후, 포화 암모니아수를 용액의 20 v/v% 비율로 첨가한다. 반응 혼합물을 상온에서 2 시간 가량 교반시킨 후, 반응 혼합물을 감압 농축한다. 농축한 잔여물을 실리카젤 크로마토그래피로 분리 정제하여 시토신(cytosine)으로 변환된 중간체(42 mg, 26%)를 얻을 수 있다. 시토신 중간체(42 mg, 0.0735 mmol)를 메탄올에 녹인 후, 밀폐가능한 반응용기로 옮긴 후 포화 암모니아/메탄올 용액을 첨가 한 뒤, 상온에서 2 일 가량 교반시킨 후 반응 혼합물을 감압 농축한다. 농축된 잔여물을 소량의 물로 희석시킨 뒤 염화메틸렌으로 10번 가량 추출하여 잔여 벤조일 부가생성물을 제거하여, 하기 ^1H NMR 스펙트럼을 갖는 상기 화학식 9a의 화합물(17 mg, 85%)을 얻었다.

[190] ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 7.67 (d, $J = 7.45, 1$ H), 5.88 (d, $J = 7.45, 1$ H) 5.05-5.17 (dt, $J = 55.4, 3.65$ Hz, 1 H), 4.89-4.97 (ddd, $J = 30.6, 10.2, 3.2$ Hz, 1 H), 4.44 (dd, $J = 10.4, 6.7$ Hz, 1 H), 3.92 (t, $J = 4.75$ Hz, 1 H), 3.75 (m, 2 H), 2.36 (m, 1 H)

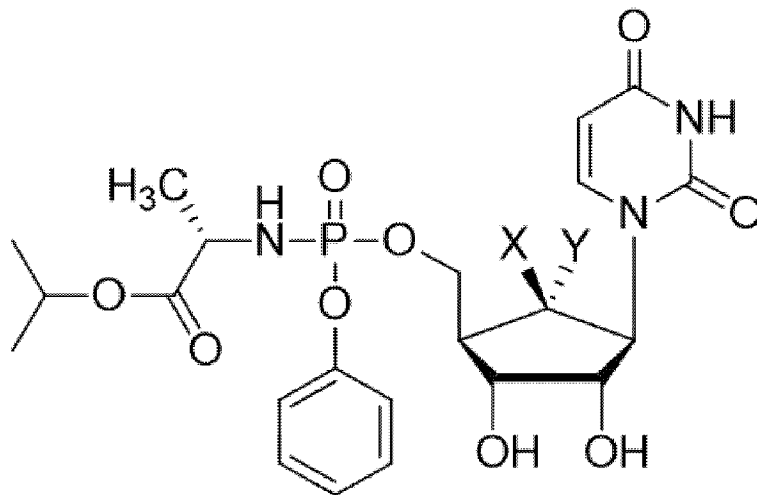
[191] 제조예 9-2

[192] 화학식 8a 화합물을 대신하여 화학식 8c의 화합물(100 mg, 0.359 mmol)을

사용한 점을 제외하고는 제조예 9-1과 동일한 과정을 진행하여, 하기의 ^1H NMR 스펙트럼을 갖는 상기 화학식 9b의 화합물(20 mg, 20%)을 얻었다. 단, 최종 단계에서 농축된 잔여물을 산성 수지(acidic resin) 등으로 분리정제 하였다.

- [193] ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 7.62 (dd, $J = 7.45, 2.35$ Hz, 1 H), 5.90 (d, $J = 7.40$ Hz, 1 H), 5.51 (dt, $J = 18.2, 10.0$ Hz, 1 H), 4.37 (dd, $J = 10.6, 5.25$ Hz, 1 H), 4.06 (m, 1 H), 3.73-3.83 (m, 2 H), 2.54 (m, 1 H)

[194]



10a (X = F, Y = H)

10b (X = F, Y = F)

[195] 제조예 10-1

- [196] 제조예 8-1에서 합성한 화학식 8a의 화합물(40 mg, 0.15 mmol)을 아세톤에 녹인 뒤, 촉매량의 황산을 0°C 에서 적가한 뒤, 상온에서 2 시간 가량 교반시킨다. 반응이 종결됨을 TLC로 확인한 후, 탄산수소소듐(NaHCO_3)으로 중화시키고 반응 혼합물을 감압농축 시킨다. 농축된 잔류물을 실리카젤 크로마토그래피등으로 분리정제하여 2',3'-isopropylidene 화합물 (45 mg, 0.15 mmol)을 얻는다. 중간체 2',3'-isopropylidene 화합물 (45 mg, 0.15 mmol)을 무수 THF에 녹인 뒤, 염화 터트뷰틸마그네슘 1.0 M THF 용액 (tert-butylmagnesium chloride 1.0 M solution in THF) (0.75 ml, 0.75 mmol) 을 0°C 에서 적가한다. 이 반응혼합물에 1-메틸에틸 N-[(S)-(2,3,4,5,6-오불화페녹시)페녹시포스피닐]-L-알라닌 (N-[(S)-(2,3,4,5,6-pentafluorophenoxy)phenoxyphosphinyl]-L-alanine 1-Methylethyl ester) (68 mg, 0.15 mmol) 을 무수 THF에 녹인 용액을 0°C 에서 점적한 뒤, 반응혼합물을 상온에서 36 시간 가량 교반시킨다. 반응이 종결됨을 TLC로 확인한 뒤, 반응 혼합물을 포화 암모늄 클로라이드 (NH_4Cl) 수용액으로 반응을 종결시키고 수용액층을 아세트산 에틸로 추출한 뒤 유기층을 분액한다. 분리된 유기층을 물과 brine으로 충분히 씻어준 후, 황산 마그네슘(MgSO_4)으로

건조시키고 감압여과를 통해 잔여 고체를 제거한 뒤 감압 농축한다. 농축된 잔류물은 실리카젤 크로마토그래피를 통하여 분리 정제하여, 중간체(28 mg, 0.0495 mmol) 과 반응하지 않은 전구체(25 mg, 0.083 mmol)를 얻었다. 이 중, 반응이 진행된 중간체(28 mg, 0.0495 mmol)를 포름산 수용액 (50 v/v%)에 현탁시켜 상온에서 8 시간 가량 교반시켜 보호기 제거 반응을 진행한다. 반응이 종결됨을 TLC로 확인한 뒤, 반응혼합물을 감압농축 시키고, 잔류물을 실리카젤 크로마토그래피를 통하여 분리정제하여, 하기의 ^1H NMR 스펙트럼을 갖는 상기 화학식 10a의 화합물(24 mg, 90%)을 얻었다.

- [197] ^1H NMR (CD₃OD, 500 MHz) : 7.64 (d, J = 8.05 Hz, 1 H), 7.34-7.37 (m, 2 H), 7.17-7.24 (m, 3 H), 5.68 (d, J = 8.05 Hz, 1 H), 5.04 (ddd, J = 55, 3.9, 3.9 Hz, 1 H), 4.93-4.98 (m, 1 H), 4.89-4.92 (m, 1 H), 4.44 (dd, J = 9.7, 6.6 Hz, 1 H), 4.26 (t, J = 7 Hz, 2 H), 3.99 (t, J = 5.4 Hz, 1 H), 3.91-3.85 (m, 1 H), 2.51-2.57 (m, 1 H), 1.33 (d, J = 7 Hz, 3 H), 1.21 (d, J = 6.15 Hz, 6 H)
- [198] 제조예 10-2
- [199] 화학식 8a의 화합물이 아닌 제조예 8-3에서 합성한 화학식 8c의 화합물(30 mg, 0.10 mmol)을 사용한 점을 제외하고는 제조예 10-1과 동일한 과정을 진행하여, 하기와 같은 ^1H NMR 스펙트럼을 갖는 상기 화학식 10b의 화합물(31 mg, 32%)을 얻었다.
- [200] ^1H NMR (CD₃OD, 500 MHz) : 7.53 (dd, J = 8.05, 2.1 Hz, 1 H), 7.38-7.35 (m, 2 H), 7.25-7.18 (m, 3 H), 5.69 (d, J = 8.1 Hz, 1 H), 5.34 (ddd, J = 18.85, 9.7, 9.7 Hz, 1 H), 4.97 (ddd, J = 12.5, 6.2, 6.2 Hz, 1 H), 4.24-4.36 (m, 3 H), 4.08 (bs, 1 H), 3.87-3.90 (m, 1 H), 2.70-2.80 (m, 1 H), 1.34 (d, J = 7.15 Hz, 3 H), 1.22 (d, J = 6.25 Hz, 6 H)제조예 11
- [201] 무수 THF(300ml)에 브롬화구리 디메틸설파이드 복합체(CuBr/Me₂S complex)(933mg, 4.54mmol)를 녹인 뒤 -78°C에서 1.0M 비닐마그네슘 브로마이드/THF 용액(vinylmagnesium bromide 1.0M solution in THF)(69.3 ml, 69.3mmol)과 헥사메틸포스포아미드(hexamethylphosphoramide, HMPA)(33.4ml, 192mmol)를 첨가하였다. 무수 THF(180ml)에 디-시클로펜테논(D-cyclopentenone)(5g, 32.4mmol)과 클로로트리메틸실란(TMSCl)(20.6ml, 162mmol)을 함께 녹인 후 이것을 반응 플라스크에 서서히 적가한 후 -78°C에서 2시간 동안 교반하였다. 반응이 종결되었음을 TLC로 확인한 후, 포화 암모늄 클로라이드(NH₄Cl) 수용액을 가하고 수용액층을 에틸아세테이트로 추출한 뒤 유기층을 분액하였다. 분리된 유기층을 물과 브라인(brine)으로 충분히 세척한 후, 황산 마그네슘(MgSO₄)으로 건조시키고, 감압여과를 통해 잔여 고체를 제거한 뒤 감압 농축하였다. 농축된 잔류물을 실리카젤 크로마토그래피를 통해 분리 정제하여 제1 중간체(4.48g, 76%)를 얻었다.
- [202] 상기 제1 중간체(4.7g, 26.0mmol)를 메탄올(100mL)에 녹인 후 0°C에서

소듐보로하이드라이드(NaBH_4)(1.1g, 28.6mmol)을 첨가하였다. 같은 온도에서 반응 혼합물을 30분 동안 교반한 뒤, 물과 소량의 아세트산으로 중화시키고 수용액층을 에틸아세테이트로 추출한 뒤 유기층을 분액하였다. 분리된 유기층을 물과 브라인(brine)으로 충분히 세척한 후, 황산 마그네슘(MgSO_4)으로 건조시키고, 감압여과를 통해 잔여 고체를 제거한 뒤 감압 농축하였다. 농축된 잔류물을 실리카젤 크로마토그래피를 통해 분리 정제하여 제2 중간체(4.6g, 97%)를 얻었다.

[203] 상기 제2 중간체(4.6g, 25.2mmol)를 DMF(30 mL)에 녹인 후 이미다졸(imidazole)(8.6g, 126.2mmol)과 클로로터트부틸디페닐실란(TBDPSCI)(10.4g, 37.8mmol)을 0°C 에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하고 물을 가한 후, 디에틸에테르로 추출한 뒤 유기층을 분액하였다. 분리된 유기층을 물과 브라인(brine)으로 충분히 세척한 후, 황산 마그네슘(MgSO_4)으로 건조시키고, 감압여과를 통해 잔여 고체를 제거한 뒤 감압 농축하였다. 농축된 잔류물을 실리카젤 크로마토그래피를 통해 분리 정제하여 제3 중간체(10.2g, 92%)를 얻었다.

[204] 상기 제3 중간체(10.0g, 23.6mmol)를 THF(125mL)에 녹인 후 2.0M 보레인 디메틸설파이드 콤플렉스/THF 용액(borane-dimethyl sulfide complex 2.0M solution in THF)(35.5mL, 71.0mmol)을 0°C 에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 4시간 동안 교반한 뒤 0°C 에서 과붕산소듐(sodium perborate)(7.2g, 71.0mmol)을 넣고 서서히 물(30mL)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 12시간 동안 교반한 후, 수용액층을 에틸아세테이트로 추출한 뒤 유기층을 분액하였다. 분리된 유기층을 물과 브라인(brine)으로 충분히 세척한 후, 황산 마그네슘(MgSO_4)으로 건조시키고, 감압여과를 통해 잔여 고체를 제거한 뒤 감압 농축하였다. 농축된 잔류물을 실리카젤 크로마토그래피를 통해 분리 정제하여 제4 중간체(7.5g, 72%)를 얻었다.

[205] 상기 제4 중간체(7.5g, 17.0mmol)를 THF(200mL)에 녹인 후 0°C 에서 1.0M 테트라-n-부틸암모늄 플루오라이드/THF 용액(tetra-n-butylammonium fluoride 1.0M solution in THF)(51.0mL, 51.1mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 12시간 동안 교반한 후, 용매를 감압하여 제거한 뒤 농축된 잔류물은 실리카젤 크로마토그래피를 통해 분리 정제하여 제5 중간체(3.3g, 93%)를 얻었다.

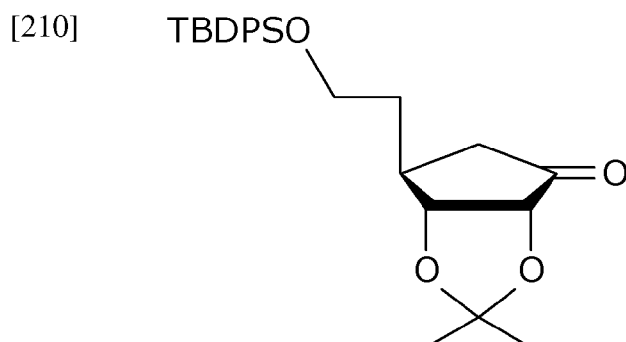
[206] 상기 제5 중간체(3.3g, 16.3mmol)를 염화메틸렌(40mL)에 녹인 후 0°C 에서 4-디메틸아미노피리딘(DMAP)(0.2g, 1.6mmol), 트리에틸아민(triethylamine)(6.8mL, 48.9mmol) 그리고 클로로터트부틸디페닐실란(TBDPSCI)(4.9g, 17.9mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물은 실온에서 12시간 동안 교반하였다. 물을 가하여 반응을 종결시킨 후, 수용액층을 염화메틸렌으로 추출한 뒤 유기층을 분액하였다. 유기층을 물과 브라인(brine)으로 충분히 세척한 후, 황산 마그네슘(MgSO_4)으로 건조시키고, 감압여과를 통해 잔여 고체를 제거한 뒤 감압 농축하였다. 농축된 잔류물을 실리카젤

크로마토그래피를 통해 분리 정제하여 제6 중간체(5.7g, 80%)를 얻었다.

- [207] 상기 제6 중간체(5.0g, 11.3mmol)를 염화메틸렌(25mL)에 녹인 후 실온에서 N-메틸몰포린 N-옥사이드(N-methylmorpholine N-oxide)(2.0g, 17.0mmol), 4 Å molecular sieves(1.0g) 및 테트라프로필암모늄 퍼루테네이트(tetrapropylammonium perruthenate)(0.2g, 0.5mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반한 후, 셀라이트(Celite)와 실리카젤 패드를 통해 감압 여과하여 잔여 고체를 제거한 뒤 감압 농축하였다. 농축된 잔류물을 실리카젤 크로마토그래피를 통해 분리 정제하여, 하기와 같은 ¹H-NMR 스펙트럼을 갖는 하기 화학식 11의 화합물(4.8g, 98%)을 얻었다.

- [208] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.64 (m, 4 H), 7.41 (m, 6 H), 4.57 (d, J = 5.6 Hz, 1 H), 4.17 (m, 1 H), 3.72 (m, 3 H), 2.73 (dd, J = 8.8, 18.4 Hz, 1 H), 2.61 (m, 1 H), 2.03 (dt, J = 1.6, 17.6 Hz, 1 H), 1.68 (m, 1 H), 1.43 (s, 3 H), 1.33 (s, 3 H), 1.05 (s, 9 H)

- [209] <화학식 11>



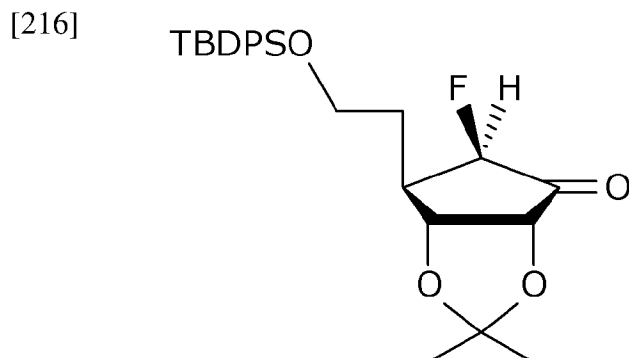
- [211] 제조예 12-1

- [212] 제조예 11에서 합성한 화학식 11의 화합물(4.2g, 9.5mmol)을 무수 THF에 녹인 뒤, 클로로트리에틸실란(TESCI)(16.7mL, 99.2mmol)을 적가하고 -78°C로 냉각시켰다. 냉각된 혼합물에 1.0M 리튬 비스(트리메틸실릴)아미드/THF 용액(LiHMDS 1.0M solution in THF)(50mL, 50mmol)을 서서히 적가한 뒤, 30분간 동일 조건에서 반응물을 교반하여 실릴 에놀 에테르화 시켰다. 반응이 종결되었음을 TLC로 확인한 뒤, 반응 혼합물을 포화 암모늄 클로라이드(NH₄Cl) 수용액을 가하고 수용액층을 에틸아세테이트로 추출한 뒤 유기층을 분액하였다. 분리된 유기층을 물과 브라인(brine)으로 충분히 세척한 후, 황산 마그네슘(MgSO₄)으로 건조시키고, 감압여과를 통해 잔여 고체를 제거한 뒤 감압 농축하였다. 이 농축된 잔류물을 무수 아세트나이트릴에 녹인 후, 0°C로 냉각시켰다. 냉각된 혼합물에 1-클로로메틸-4-플루오로-1,4-디아조니아비사이클로 [2.2.2]옥탄 비스(테트라플루오로보레이트)(상표명 Selectfluor®)(10.15g, 28.65mmol)를 1.5 당량 적가한 뒤 동일 조건에서 15시간 동안 교반하여 플루오로화된 화합물의 혼합물을 얻었다.
- [213] 상기 혼합물의 생성 반응이 종결된 것을 TLC에서 확인한 후, 반응 혼합물에 포화 암모늄 클로라이드(NH₄Cl) 수용액을 가하여 수용액층을

에틸아세테이트로 추출한 뒤 유기층을 분액하였다. 분리된 유기층을 물과 브라인(brine)으로 충분히 세척한 후, 황산 마그네슘(MgSO₄)으로 건조시키고 감압여과를 통해 잔여 고체를 제거한 뒤 감압 농축하였다. 농축된 잔류물은 실리카젤 크로마토그래피를 통해 분리 정제하여, 하기와 같은 ¹H NMR 스펙트럼을 갖는 하기 화학식 12a의 화합물(3.7g, 84%)을 얻었다.

[214] ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.65 (m, 4 H), 7.39 (m, 6 H), 5.43 (dd, J = 50.6, 7.14 Hz, 1 H), 4.77 (m, 1 H), 4.46 (m, 1 H), 3.74 (m, 2 H), 2.51 (m, 1 H), 1.79 (m, 2 H), 1.45 (s, 3 H), 1.29 (s, 3 H), 1.03 (s, 9 H) (다음 형태로 평형을 이룬 물질로 추정되는 피크와 섞여있음.)

[215] <화학식 12a>

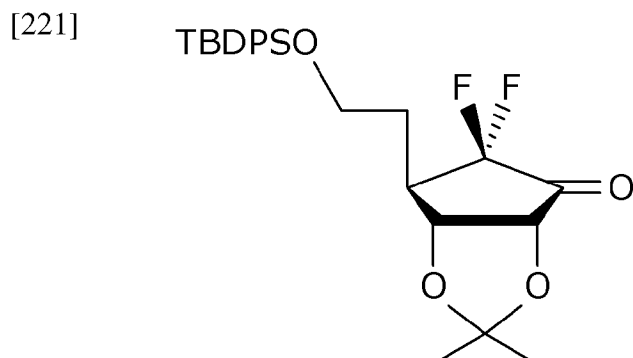


[217] 제조예 12-2

[218] 출발물질로서 화학식 11의 화합물이 아닌 제조예 12-1에서 합성한 화학식 12a의 화합물(2.5g, 5.4mmol)을 사용한 점을 제외하고는 제조예 12-1과 동일한 과정을 진행하여, 하기와 같은 ¹H NMR 스펙트럼을 갖는 하기 화학식 12b의 화합물(1.6g, 61%)을 얻었다.

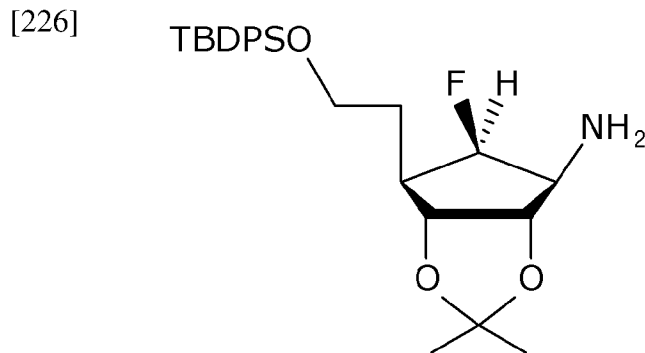
[219] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 7.69 (m, 4 H), 7.40 (m, 6 H), 4.35 (dd, J = 3.6, 7.6 Hz, 1 H), 4.30 (m, 1 H), 4.21 (br, s, 1 H), 3.78 (ddd, J = 6.4, 10.4, 3.2 Hz, 2 H), 2.88 (br, s, 1 H), 2.65 (m, 1 H), 1.96 (m, 1 H), 1.71 (m, 1 H), 1.54 (s, 3 H), 1.33 (s, 3 H), 1.04 (s, 9 H)

[220] <화학식 12b>



[222] 제조예 13-1

- [223] 제조예 12-1에서 합성한 화학식 12a의 화합물(2.5g, 5.4mmol)을 메탄올에 녹인 뒤, -40°C로 냉각시켰다. 냉각시킨 용액에 소듐보로하이드라이드(NaBH_4)(1.45g, 38.4mmol)을 천천히 첨가하였다. 이후 동일 조건에서 반응물을 교반한 후, TLC로 반응 종결을 확인한 뒤 반응 혼합물에 포화 암모늄 클로라이드(NH_4Cl) 수용액을 가하고 수용액층을 에틸아세테이트로 추출한 뒤 유기층을 분액하였다. 분리된 유기층을 물과 브라인(brine)으로 충분히 세척한 후, 황산 마그네슘(MgSO_4)으로 건조시키고 감압여과를 통해 잔여 고체를 제거한 뒤 감압 농축하였다. 이를 통해 생성된 알코올 화합물을 실리카젤 크로마토그래피로 분리 정제하여 얻은 중간체(2.54g, 76%)를 무수 피리딘 (pyridine)에 녹인 뒤, 0°C로 냉각시켰다. 냉각된 혼합물에 무수 트리플루오로메탄설폰산(trifluoromethanesulfonic anhydride)(3.26ml, 19.36mmol)을 적가한 뒤, 동일 조건에서 30분 동안 교반하여 트리플루오로메틸설폰산화 시켰다. 반응이 종결됨을 TLC로 확인한 뒤, 반응 혼합물에 포화 암모늄 클로라이드(NH_4Cl) 수용액을 가하고 수용액층을 에틸아세테이트로 추출한 뒤 유기층을 분액하였다. 분리된 유기층을 물과 브라인(brine)으로 충분히 씻어준 후, 황산 마그네슘(MgSO_4)으로 건조시키고 감압여과를 통해 잔여 고체를 제거한 뒤 감압 농축하였다. 이를 통해 얻은 트리플루오로메틸설폰산화 화합물과 소듐아지드(NaN_3) 10당량을 무수 DMF에 혼합한 뒤, 100°C로 가열한 상태에서 교반하여 아지드화 시켰다. 4시간 가량 교반한 후, TLC로 반응이 종결됨을 확인하고 물을 가한 뒤, 수용액층을 에틸아세테이트로 추출한 후에 유기층을 분액하였다. 분리된 유기층을 물과 브라인(brine)으로 충분히 세척한 후, 황산 마그네슘(MgSO_4)으로 건조시키고 감압여과를 통해 잔여 고체를 제거한 뒤 감압 농축하였다. 이를 통해 얻은 아지드 화합물을 실리카젤 크로마토그래피를 통하여 분리 정제하여 얻어진 화합물을 메탄올에 용해시켰다. 해당 용액에 팔라듐/탄소를 적당량 첨가하고 반응용기를 수소치환을 하여 수소화 반응을 진행시켜 아지드기를 아민기로 환원시켰다. 반응이 종결됨을 TLC로 확인한 뒤, 감압여과를 통해 잔여 고체를 제거하고 감압 농축시켜, 하기와 같은 ^1H NMR 스펙트럼을 갖는 하기 화학식 13a의 화합물(1.6 g, 61%)을 얻었다.
- [224] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) 7.69 (m, 4 H), 7.40 (m, 6 H) 4.75 (dt, $J = 2.8$, 53.2 Hz, 1 H), 4.36 (m, 2 H), 3.78 (m, 2 H), 3.26 (m, 1 H), 2.30 (m, 1 H), 1.88 (m, 2 H), 1.51 (s, 3 H), 1.30 (s, 3 H), 1.06 (s, 9 H)
- [225] <화학식 13a>

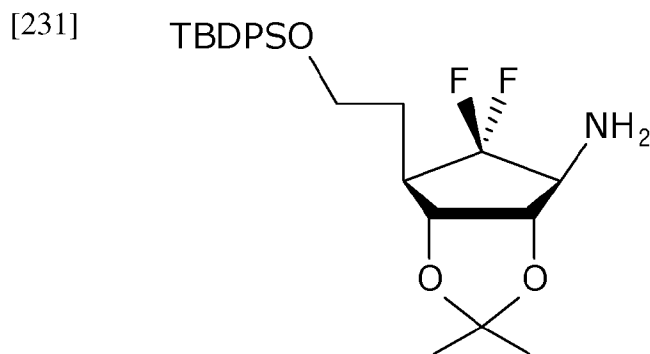


[227] 제조예 13-2

[228] 출발물질로서 화학식 12a의 화합물이 아닌 제조예 12-2에서 합성한 화학식 12b의 화합물(2.117g, 4.636mmol)을 사용하고, 소듐보로하이드라이드 환원 반응의 온도조건을 0°C 이하로 맞추며, 아지드화 반응에서 소듐아지드를 1.89g, 29.04mmol로 사용하고 온도를 60°C로 가열한 점을 제외하고는 제조예 13-1과 동일한 과정을 진행하여, 하기와 같은 ¹H NMR 스펙트럼을 갖는 하기 화학식 13b의 화합물(1.28g, 60%)을 얻었다.

[229] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 7.69 (m, 4 H), 7.40 (m, 6 H), 4.35 (dd, J = 3.6, 7.6 Hz, 1 H), 4.30 (m, 1 H), 4.21 (br, s, 1 H), 3.78 (ddd, J = 6.4, 10.4, 3.2 Hz, 2 H), 2.88 (br, s, 1 H), 2.65 (m, 1 H), 1.96 (m, 1 H), 1.71 (m, 1 H), 1.54 (s, 3 H), 1.33 (s, 3 H), 1.04 (s, 9 H)

[230] <화학식 13b>



[232] 제조예 14-1

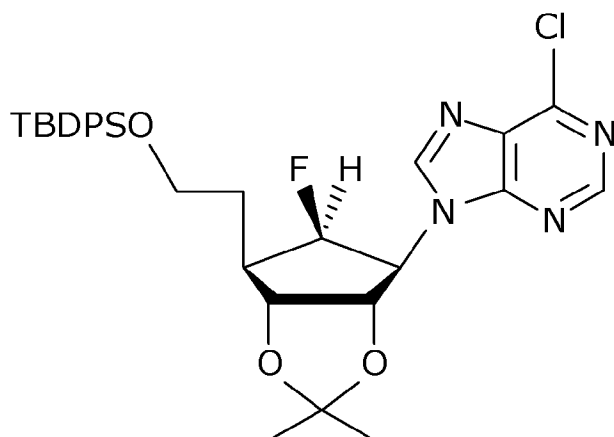
[233] 제조예 13-1에서 합성한 화학식 13a의 화합물(300mg, 0.65mmol)을 5-아미노-4,6-디클로로피리미딘(5-amino-4,6-dichloropyrimidine)(1.85g, 11.27mmol) 및 디이소프로필에틸아민(DIPEA)(6.54mL, 37.57mmol)과 n-부탄올(n-butanol)에 혼합시킨 뒤, 마이크로웨이브를 사용하여 170°C로 가열한 후 12시간 동안 교반시켰다. 반응이 종결됨을 TLC로 확인한 뒤, 반응 혼합물을 메탄올과 혼합하여 감압농축 시킨 후, 잔류물을 실리카젤 크로마토그래피로 분리 정제하여 중간체(964mg, 66%)를 얻었다. 상기 중간체를 아세트산 디에톡시메틸(diethoxymethyl acetate)에 녹인 후, 마이크로웨이브를 사용하여

140°C에서 3시간 동안 교반시켰다. 반응이 종결됨을 TLC로 확인한 뒤, 반응 혼합물을 메탄올과 혼합하여 감압농축 시킨 뒤, 실리카젤 크로마토그래피로 분리 정제하여, 하기와 같은 ¹H NMR 스펙트럼을 갖는 하기 화학식 14a의 화합물(240mg, 61.6%)을 얻었다.

[234] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 8.78 (s, 1 H), 8.32 (d, J = 2.4 Hz, 1 H), 7.68 (m, 4 H), 7.4 (m, 6 H), 5.18 (m, 1 H), 5.08 (m, 2 H), 4.62 (m, 1 H), 3.81 (m, 2 H), 2.64 (m, 1 H), 1.95 (m, 2 H), 1.59 (s, 3 H), 1.34 (s, 3 H), 1.06 (s, 9 H)

[235] <화학식 14a>

[236]



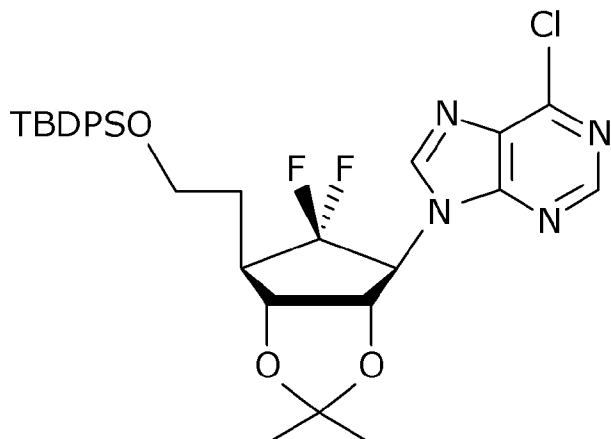
[237] 제조예 14-2

[238] 제조예 13-2에서 합성한 화학식 13b의 화합물(250mg, 0.52mmol)을 1,4-디옥산(1,4-dioxane)(50mL)에 녹인 후, 4,6-디클로로-5-포르아미도피리미딘(120mg, 0.65mmol) 및 트리에틸아민(trimethylamine)(0.55ml, 3.86mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 2일 동안 가열 환류시킨 후, 반응이 종결됨을 TLC로 확인한 뒤, 반응 혼합물을 감압농축 시켰다. 잔류물을 실리카젤 크로마토그래피로 분리 정제하여 중간체를 얻었다. 상기 중간체에 아세트산 디에톡시메틸(diethoxymethyl acetate)(5mL)를 넣은 후 140°C에서 12시간 정도 교반시켰다. 반응이 종결됨을 TLC로 확인한 뒤, 반응 혼합물을 메탄올과 같이 혼합하여 감압농축 시킨 후, 실리카젤 크로마토그래피로 분리 정제하여 하기와 같은 ¹H NMR 스펙트럼을 갖는 하기 화학식 14b의 화합물(100mg, 31%)을 얻었다.

[239] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 8.80 (s, 1 H), 8.25 (d, J = 2.4 Hz, 1 H), 7.70 (m, 4 H), 7.40 (m, 6 H), 5.35 (m, 1 H), 5.16 (superimposed dd, J = 6.8 Hz, 1 H), 4.54 (superimposed dd, J = 6.4 Hz, 1 H), 3.80 (m, 2 H), 2.96 (m, 1 H), 2.08 (m, 1 H), 1.84 (m, 1 H), 1.61 (s, 3H), 1.33 (s, 3 H), 1.07 (s, 9 H)

[240] <화학식 14b>

[241]

[242] 제조예 15-1

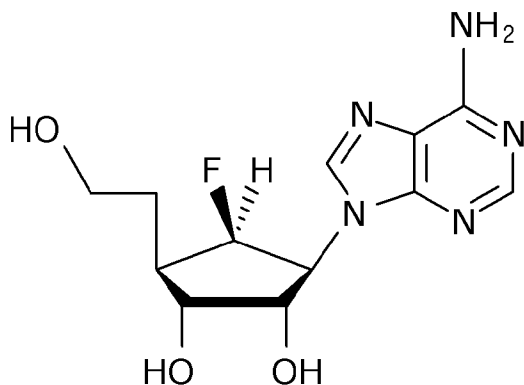
[243] 제조예 14-1에서 합성한 화학식 14a의 화합물(200mg, 0.336mmol)을 메탄올에 녹인 후, 0°C에서 트리플루오로아세트산(TFA)(5mL)과 물이 1:1로 혼합된 용액을 적가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반한 뒤, 반응이 종결됨을 TLC로 확인하고 감압농축 시켰다. 농축된 잔류물을 실리카젤 크로마토그래피로 분리 정제하여 중간체(80mg, 75.4%)를 얻었다.

[244] 상기 중간체(70mg, 0.22mmol)를 터트부탄올(*tert*-butanol)에 녹인 후, 고온밀폐용기(*stainless steel bomb reactor*)에 옮겼다. 이 혼합액에 포화 암모니아/터트부탄올을 적가한 후, 반응용기를 밀폐시키고 120°C에서 15시간 동안 교반시켰다. 반응이 종결됨을 TLC로 확인한 후, 반응 혼합물을 메탄올로 희석시킨 뒤 감압농축 시켰다. 농축된 잔류물을 실리카젤 크로마토그래피로 분리 정제하여, 하기와 같은 ¹H NMR 스펙트럼을 갖는 하기 화학식 15a의 화합물(55mg, 84.6%)을 얻었다.

[245] ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) 8.26 (d, *J* = 2.0 Hz, 1 H), 8.20 (s, 1 H), 5.11 (dt, *J* = 3.6, 55.2 Hz, 1 H), 4.99 (ddd, *J* = 3.2, 9.6, 26.4 Hz, 1 H), 4.75 (m, 1 H), 4.04 (m, 1 H), 3.71 (m, 2 H), 2.38 (m, 1 H), 1.89 (m, 2 H)

[246] <화학식 15a>

[247]



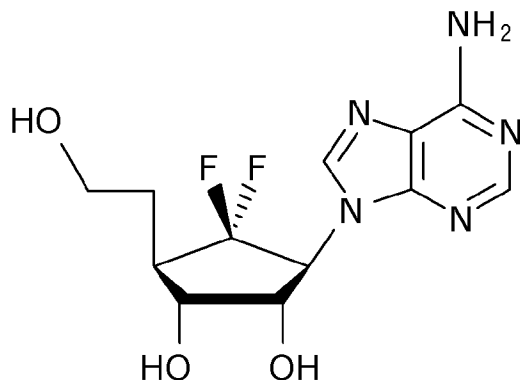
[248] 제조예 15-2

[249] 출발물질로서 화학식 14a의 화합물이 아닌 제조예 14-2에서 합성한 화학식 14b의 화합물(100mg, 0.3mmol)을 사용하고, 아민화 반응시에 90°C에서 약 3시간 동안 교반한 점을 제외하고는 제조예 15-1과 동일한 과정을 진행하여, 하기와 같은 ¹H NMR 스펙트럼을 갖는 하기 화학식 15b의 화합물(30mg, 32%)을 얻었다.

[250] ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) 8.27 (d, J = 2.1 Hz, 1 H), 8.20 (s, 1 H), 5.28 (m, 1 H), 4.76 (m, 1 H), 4.06 (m, 1 H), 3.71 (m, 2 H), 2.64 (m, 1 H), 1.98 (m, 1 H), 1.79 (m, 1 H)

[251] <화학식 15b>

[252]



[253] 제조예 16-1

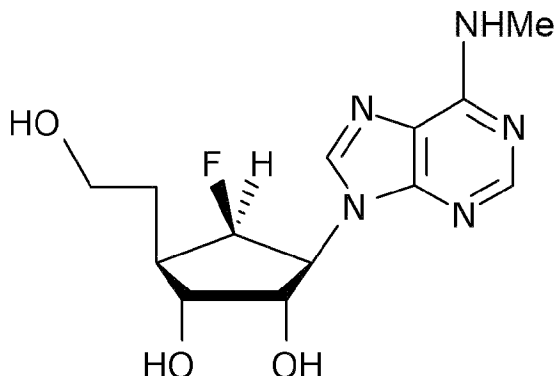
[254] 제조예 14-1에서 합성한 화학식 14a의 화합물(570mg, 0.966mmol)을 메탄올에 녹인 후 0°C에서 트리플루오로아세트산(TFA)(5 mL)과 물이 1:1로 혼합된 용액을 적가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반한 뒤, 반응이 종결됨을 TLC로 확인하고 감압농축 시켰다. 농축된 잔류물을 실리카젤 크로마토그래피로 분리정제하여 중간체 (230 mg, 75%)를 얻었다.

[255] 상기 정제된 중간체(55mg, 0.17mmol)를 메탄올에 녹인 후, 고온밀폐용기 (stainless steel bomb reactor)에 옮겼다. 이 혼합액에 메틸아민 수용액(40w/v%)을 적가한 후, 반응용기를 밀폐시키고 80 에서 5시간 정도 교반시켰다. 반응이 종결됨을 TLC로 확인한 뒤, 반응 혼합물을 감압농축 시켰다. 농축된 잔류물을 실리카젤 크로마토그래피로 분리정제하여, 하기와 같은 ¹H NMR 스펙트럼을 갖는 하기 화학식 16a의 화합물(37 mg, 68%)을 얻었다.

[256] ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) 8.25 (s, 1H), 8.2 (d, J = 1.4 Hz, 1 H), 5.09 (dt, J = 3.6, 54.8 Hz, 1 H), 4.96 (ddd, J = 3.0, 9.4, 26.7 Hz, 1 H), 4.74 (t, J = 7.4 Hz, 1 H), 4.02 (t, J = 6.0 Hz, 1 H), 3.74-3.67 (m, 2 H), 3.20-3.00 (brs, 3 H), 2.42-2.31 (m, 1 H), 1.94-1.84 (m, 2 H)

[257] <화학식 16a>

[258]

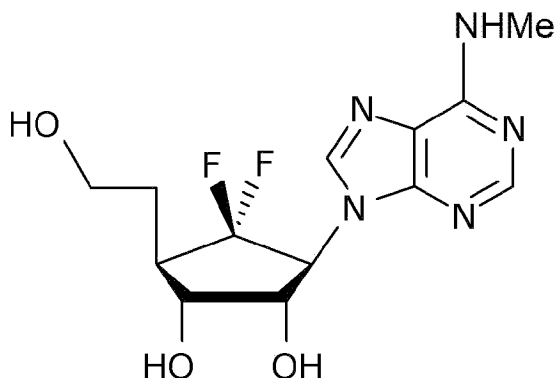
[259] 제조예 16-2

[260] 출발물질로서 화학식 14a의 화합물이 아닌 제조예 14-2에서 합성한 화학식 14b 화합물(100mg, 0.163mmol)을 사용한 점을 제외하고는 제조예 16-1과 동일한 과정을 진행하여, 하기와 같은 ^1H NMR 스펙트럼을 갖는 하기 화학식 16b의 화합물(35 mg, 66%)을 얻었다.

[261] ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) 8.25 (s, 1 H), 8.21 (s, 1 H), 5.27 (ddd, $J_1 = J_2 = 8.4$, 17.8 Hz, 1 H), 4.76 (dd, $J = 6.6$, 8.7 Hz, 1 H), 4.06 (t, $J = 4.7$ Hz, 1 H), 3.74-3.68 (m, 2 H), 3.11 (brs, 3 H), 2.66-2.61 (m, 1 H), 2.00-1.94 (m, 1 H), 1.83-1.77 (m, 1 H)

[262] <화학식 16b>

[263]

[264] 제조예 17

[265] 제조예 14-1에서 합성한 화학식 14a의 화합물(570mg, 0.966mmol)을 메탄올에 녹인 후 0°C 에서 트리플루오로아세트산(TFA)(5 mL)과 물이 1:1로 혼합된 용액을 적가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반한 뒤, 반응이 종결됨을 TLC로 확인하고 감압농축 시켰다. 농축된 잔류물을 실리카젤 크로마토그래피로 분리정제하여 중간체(230 mg, 75%)를 얻었다.

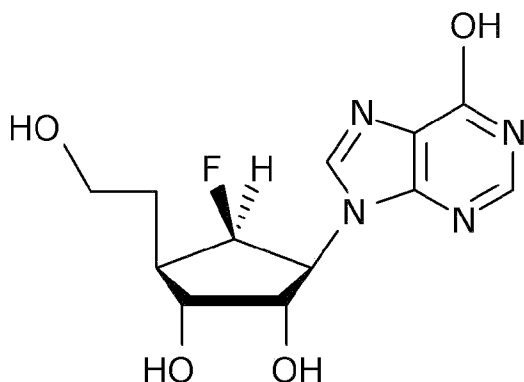
[266] 상기 정제된 중간체(50mg, 0.158mmol)를 1,4-다이옥세인에 녹인 후 상온에서 1 N HCl (3 mL)을 적가하였다. 반응 혼합물을 가열환류하여 14 시간 가량 교반한

뒤, 반응이 종결됨을 TLC로 확인하고 감압농축 시켰다. 농축된 잔류물을 실리카젤 크로마토그래피 등으로 분리정제하여, 하기와 같은 ^1H NMR 스펙트럼을 갖는 하기 화학식 17의 화합물(33 mg, 70%)을 얻었다.

[267] ^1H NMR (800 MHz, D_2O) 8.20 (s, 1H), 8.08 (s, 1H), 5.07 (dt, $J = 3.7, 54.2$ Hz, 1H), 4.91 (ddd, $J = 3.2, 9.8, 30.2$ Hz, 1H), 4.74-4.72 (m, 1H), 4.05 (t, $J = 5.9$ Hz, 1H), 3.65 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 2.33-2.25 (m, 1H), 1.87-1.77 (m, 2H)

[268] <화학식 17>

[269]



[270] 제조예 18

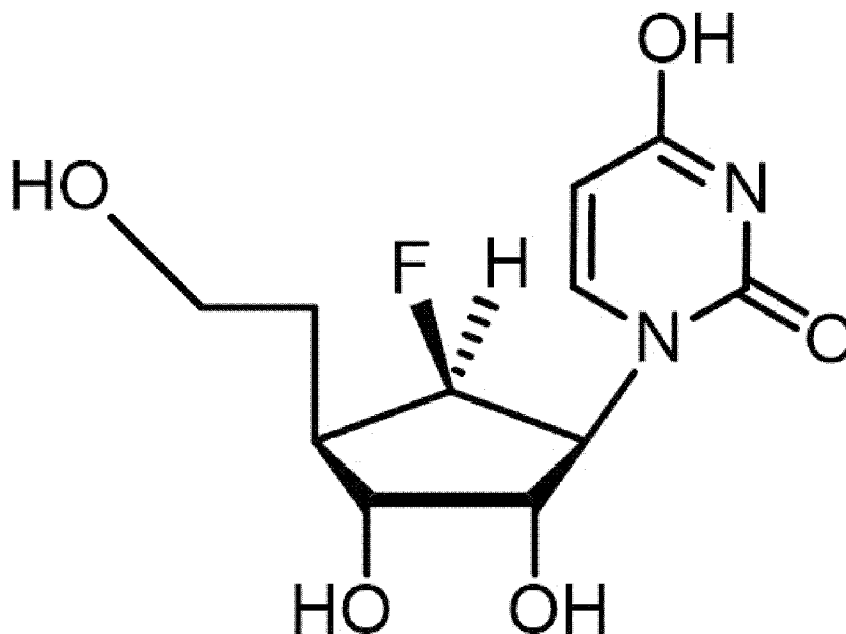
[271] 3-메톡시아크릴산 메틸 (methyl 3-methoxyacrylate) (20 mL, 186 mmol)을 2 M 수산화소듐 수용액(103 ml)에 넣고 상온에서 2시간 가량 교반시켜 완전히 용해시켰다. 이 반응혼합물을 2 M 염산 수용액으로 완전히 산성화시키고 여과하여 침전된 고체를 모았다. 앞에서 얻은 고체 유기산을 물에 녹인 후, 2 M 수산화소듐 수용액으로 중화시키면 소듐염 형태의 유기산을 얻었다. 이를 감압 데시케이터에서 오산화인 (phosphorus(V) oxide)과 함께 3 일정도 건조시켜 준다. 건조된 유기산 소듐염 (6.20 g, 50 mmol)을 무수 디에틸에테르 (diethyl ether)와 함께 현탁액으로 만든 후, 염화 티오닐 (thionyl chloride) (5.45 mL, 75 mmol)을 적가하고 4시간 가량 가열환류 시켰다. 그 후, 반응 혼합물을 30°C 에서 15시간 가량 교반하여 유기산염화물 (acid chloride)화 시킨다. 반응 혼합물을 상온으로 냉각시키고, 무수 디에틸에테르로 세척하면서 감압여과 한다. 얻어진 여과액을 질소기체 하에서 감압농축시키고 농축된 잔여물은 감압증류를 통하여 유기산염화물(3.08g, 51%)을 얻었다. 건조된 시안산 은(silver cyanate) (8.44g, 56.32mmol)을 벤젠 (benzene)과 함께 현탁액을 만들어 준 뒤, 30 분간 가열환류 한다. 준비된 현탁액에 앞서 얻어진 유기산염화물(1.45g, 12.03mmol)을 적가하고 30 분 가량 가열환류시켜 이소시안산(isocyanate)을 얻고, 이는 다른 과정 없이 반응 현탁액을 침전시킨 뒤, 상층액을 다음반응에 사용하였다. 제조예 13-1에서 합성한 화학식 13a의 화합물(0.2 g, 0.41 mmol)을 DMF에 용해시키고 -20°C 이하로 충분히 냉각시켰다. 이 반응혼합물에 앞서 합성한 이소시안산 (45

mL, 19.68 mmol)을 점적하고 서서히 상온으로 가열되도록 하면서 15 시간 가량 교반시켜준다. 반응이 종결됨을 TLC로 확인하고, 염화메틸렌 (methylene chloride) 로 세척하며 감압여과 후, 여과액을 감압농축시켰다. 이때 톨루엔, 에탄올 등과 함께 공비혼합물을 만들어서 충분히 감압농축시켜 잔여물이 고체화 되도록 한 뒤, 고체화된 잔여물을 실리카젤 크로마토그래피등으로 분리정제하여, 중간체인 요소 유도체 (2.903 g, 76%)를 얻는다. 얻어진 요소 유도체를 1,4-디옥산에 녹인 후, 소량의 2 M 황산 수용액 (~1:10=2 M 황산:1,4-디옥산)을 적가한 뒤, 1시간 가량 가열환류시켜 요소 유도체의 고리화 반응과 보호기 제거 반응을 동시에 진행시킨다. 반응이 종결됨을 TLC로 확인한 후, DOWEX 66 이온교환 수지(ion-exchange resin)와 같은 염기성 수지 (basic resin)등을 사용하여 반응 혼합물을 중화시키고 감압여과와 감압농축을 거쳐 얻어진 잔여물을 실리카젤 크로마토그래피등을 통하여 분리정제하여, 하기와 같은 ¹H NMR 스펙트럼을 갖는 하기 화학식 18의 화합물(0.535 g, 48%)을 얻었다.

[272] ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) 7.68 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 5.69 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 4.99 (dt, J = 3.6, 55.4 Hz, 1H), 4.88 (ddd, J = 3.3, 9.8, 30.7, 1H), 4.45 (merged dd, J₁ = J₂ = 7.1, 1H), 3.91 (t, J = 5.9 Hz, 1H), 3.71-3.64 (m, 2H), 2.29-2.20 (m, 1H), 1.88-1.75 (m, 2H)

[273] <화학식 18>

[274]



[275] 실험예 1 - 항바이러스 활성 및 세포독성 실험

[276] 본 발명의 카보사이클릭 뉴클레오사이드 유도체의 항바이러스 활성 및 세포독성을 알아보기 위해, 다음과 같은 실험을 수행하였다.

[277] Vero E6 세포들을 배양한 후, CHIKV(Chikungunya Virus) LS3와 SFV(Semliki

Forrest Virus)로 감염시키고 적정하여 CHIKV 접종물 및 SFV 접종물을 각각 수득하였다.

[278] 제조예 15-1에서 합성한 화학식 15a의 화합물을 1% FCS(fetal calf serum) 및 항생제를 포함하는 IMDM(Iscove's modified Dulbecco's medium)에 200 μ M로 희석하였다. Vero E6 세포들을 각 웰(well)당 2 x 10⁴개의 세포가 포함되도록 96-웰 플레이트(plate)에 배양하였다. 세포들을 37°C에서 하룻밤 동안 배양한 후, 각 웰에 상기 화합물 희석액 50 μ l를 주입하고, 2% FCS를 포함하는 EMEM(Eagle's minimal essential medium) 100 μ l 및 상기 CHIKV 접종물 50 μ l과 혼합하였다. 이후, 3 dpi(day postinfection)에서 바이러스에 의해 유발된 CPE(Cytopathic Effect) 및 화합물의 부작용에 의해 발생하는 세포들간의 생존도 차이를 CellTiter 96 Aqueous nonradioactive cell proliferation assay(Promega)를 사용하여 분석하였다. 화합물 처리에 의한 세포독성은 바이러스 접종물 대신 일반적인 배지를 주입한 점을 제외하고는 위와 동일한 방법으로 세포를 배양하여 확인하였다.

[279] Graphpad Prism 5 software를 사용하여, CPE에 대한 세포 생존도 및 화합물 부작용에 대한 세포 생존도 각각의 결과를 기초로 50% 유효 농도(EC50) 및 50% 세포독성 농도(CC50)를 각각 계산하였다. EC50은 병원체(바이러스)의 50%가 억제되기 위한 화합물의 최소 농도를 나타내며, CC50은 숙주 세포의 50프로가 사멸될 때의 화합물 농도를 나타낸다. 특정 바이러스에 대한 화합물의 상대적인 효능 정도는 선택도로 정의하였다(SI; CC50/EC50).

[280] 또한, SFV 접종물과 혼합한 점을 제외하고는 위와 동일한 방법으로 실험을 수행하여 화학식 15a의 화합물의 SFV에 대한 EC50, CC50 및 SI 값을 계산하였으며, 제조예 15-2에서 합성한 화학식 15b의 화합물을 사용한 점을 제외하고는 위의 CHIKV에 대한 실험을 동일하게 진행하여 화학식 15b의 화합물의 EC50, CC50 및 SI 값을 계산하였다.

[281] 표 1은 위와 같은 방법으로 계산된 EC50, CC50 및 SI 값을 나타낸 것이다.

[282] [표1]

Virus 종류	화합물	EC50(μ M)	CC50(μ M)	SI(CC50/EC50)
CHIKV LS3	화학식 15a	0.2	>250	>1,000
	화학식 15b	4.2	>250	60
SFV	화학식 15a	6.4	>250	>30

[283] 표 1에 나타난 바와 같이, 본 발명의 카보사이클릭 뉴클레오사이드 유도체는 RNA 바이러스인 CHIKV 및 SFV에 대해 낮은 EC50 및 숙주 세포에 대해 높은 CC50을 갖기 때문에, 바이러스의 억제와 바이러스성 질환의 예방 및 치료에 매우 적합한 약학적 조성물로서 활용될 수 있음을 알 수 있다.

[284] 실험예 2 - SAH 가수분해효소 저해 효능 실험

[285] 본 발명의 카보사이클릭 뉴클레오사이드 유도체의 SAH 가수분해효소 저해

효능을 알아보기 위해, 다음과 같은 실험을 수행하였다.

- [286] 50mM 인산나트륨(pH 8.0)과 AdoHcy 가수분해효소(모노머로서 2 μ M; 테트라머로서 5 μ M)의 반응 혼합물(250 μ l)을 각각 제조예 15-1에서 합성한 화학식 15a의 화합물 및 제조예 15-2에서 합성한 화학식 15b의 화합물과 함께 37°C에서 10분 동안 사전배양(preincubation)하였다. 사전배양 후, 100 μ M의 AdoHcy를 가하여 반응을 개시하였으며, 20분 동안 반응이 이루어지도록 하였다. 이후, 반응 혼합물을 200 μ M DTNB에서 추가적으로 배양하고, 생성물인 TNB(5-thio-2-nitrobenzoic acid)의 412nm에서의 최대 흡광도를 분광광도계(spectrophotometer)로 측정하였다. 측정한 최대 흡광도와 TNB의 몰흡광계수(molar extinction coefficient)($\epsilon_{412} = 13700 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)를 이용하여 화학식 15a의 화합물 및 화학식 15b의 화합물의 IC₅₀값을 계산하였다.

- [287] [표2]

화합물	IC ₅₀ (μ M)
화학식 5a	0.1
화학식 5b	0.09

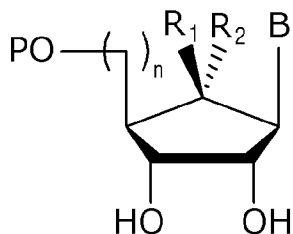
- [288] 표 2에 나타난 바와 같이, 본 발명의 카보사이클릭 뉴클레오사이드 유도체는 SAH 가수분해효소에 대해 낮은 IC₅₀ 값을 갖기 때문에, SAH 가수분해효소 저해 기전을 통해 항바이러스 효과를 갖는 약학적 조성물로서 적합한 물질로 활용될 수 있음을 알 수 있다.
- [289] 세포, 바이러스, 물질의 준비
- [290] Vero E6 와 Vero CCL81 세포주는 Dulbecco's modified Eagle's Medium (DMEM; Lonza)에 8% foetal calf serum (FCS; PAA), 2 mM L-글루타민, 페니실린 (penicillin) 100 IU/ml, 스트렙토마이신 (streptomycin) 100 g/ml가 조합된 배지를 사용하여 항온항습배양기에서 37 °C, 5% 이산화탄소 조건에서 배양하였다.
- [291] Vero 세포주는 Eagle's Minimum Essential Medium (EMEM; Lonza) 에 8% FCS, 2 mM L-글루타민, 페니실린 (penicillin) 100 IU/ml, 스트렙토마이신 (streptomycin) 100g/ml가 조합된 배지를 사용하여 상기 서술한 동일 조건에서 배양하였다.
- [292] HuH7 세포주는 MDEM 에 8% FCS, 2 mM L-글루타민, 페니실린 (penicillin) 100 IU/ml, 스트렙토마이신 (streptomycin) 100 μ g/ml, 1x non-essential amino acids (NEAA; Lonza) 가 조합된 배지를 사용하여 상기 서술한 동일 조건에서 배양하였다.
- [293] MRC-5 세포주는 EMEM 에 8% FCS, 2 mM L-글루타민, 페니실린 (penicillin) 100 IU/ml, 스트렙토마이신 (streptomycin) 100 μ g/ml, 1x NEAA 가 조합된 배지를 사용하여 상기 서술한 동일 조건에서 배양하였다.
- [294] 바이러스 감염 시에는 EMEM 과 25 mM N-2-Hydroxyethylpiperazine-N"-2-ethanesulfonic acid (HEPES; Lonza) 에 2% FCS,

- mM L-글루타민, 페니실린 (penicillin) 100 IU/ml, 스트렙토마이신 (streptomycin) 100 µg/ml가 조합된 배지를 사용하였다.
- [295] 클론 유래 chikungunya 바이러스 (CHIKV LS3) 감염원은 Scholte 그룹이 발표한 PLOS ONE 8 (2013): e71047 에 서술된 방법으로 생산하였다.
- [296] Zika 바이러스 (ZIKV) strain SL1602 는 Van Boheemen 그룹이 발표한 Sci. Rep. (2017) in press에 서술된 방법으로 수리남(Suriname)에서 돌아온 감염된 여행자로부터 분리 하였다.
- [297] Middle east respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV; strain EMC/2012)는 사우디아라비아 제다 (Jeddah) 의 Fakeeh 병원의 Dr. Soliman 의 환자 조직에서 분리 하였으며 (2012, Van Boheemen 그룹) 네덜란드 로테르담 (Rotterdam) 의 Erasmus 의료 센터에서 제공 받았다.
- [298] Severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS- CoV; strain Frankfurt 1)는 독일 프랑크푸르트 암 마인 (Frankfurt am Main) 의 Johann Wolfgang Goethe 대학의 H. F. Rabenau 와 H. W. Doerr 로부터 제공 받았다. (2006, Snijder 그룹)
- [299] 각 평가물질들은 DMSO에 용해시켜 20 mM 과 10 µM 로 사용하였다.
- [300] 감염원 CHIKV, MERS-CoV, SARS-CoV, ZIKV 을 사용한 실험은 모두 LUMC의 생물학적 안전도 3 레벨 시설에 있는 생물학적 안전캐비닛 안에서 시행하였다.
- [301] CPE-reduction assays
- [302] VeroE6 세포주는 96-well clusters에 5,000 세포/well(CHIKV)가 되도록 각 well 에 100 µl 부피로 접종하였다.
- [303] Vero(CCL81) 세포주는 96-well clusters에 5,000 세포/well (ZIKV)가 되도록 접종하였다.
- [304] MERS-CoV CPE reduction assays를 하기 위해, Vero, HuH7, MRC-5 세포주를 96-well clusters에 각각 20,000, 10,000, 15,000 세포/well 이 되도록 접종하였다.
- [305] SARS-CoV CPE reduction assays를 하기 위해, VeroE6 세포주를 96-well clusters에 10,000 세포/well 이 되도록 접종하였다.
- [306] 각 세포주에 접종된 다음날 평가물질들을 시작 농도 100 µM에서 2배로 연속 희석 (serial dilution) 시킨 상기 서술한 바이러스 감염시 배지에 준비한 뒤, 기존의 96-well clusters에 있던 배지와 교환해주었다.
- [307] 각세포는 CHIKV (MOI 0.005), ZIKV (MOI 0.050), MERS-CoV (MOI 0.01 in HuH7, MOI 0.005 in Vero and MOI 0.03 in MRC-5 cells) 혹은 SARS-CoV (MOI 0.01)가 되게끔 동일 4회 반복 조건 (quadruplicate) 으로 감염시켰다.
- [308] 감염되지 않은 세포의 경우 평가물질이 희석된 배지로 동일하게 처리 하였으며 동시적으로 세포독성실험(CC50 평가) 을 시행하였다.
- [309] 바이러스는 96 시간 후 CellTiter 96® AQueous One Solution Cell Proliferation Assay (MTS) reagent (Promega)를 사용하여 colorimetric viability assays 를 진행하였다.
- [310] Assay는 2~2.5 시간 뒤 30 µl 37% formaldehyde를 처리하여 종결하였다.

- [311] 흡광도는 495 nm 에서 Berthold Mithras LB 940 plate reader를 사용하여 측정하였으며, 감염원과 평가물질을 처리 하지 않은 세포들로 정규화(normalization)하였다.
- [312] CC50 측정을 위해서 감염원과 평가물질을 처리 하지 않은 세포들로 정규화(normalization)하였다.
- [313] 결과값들은 동일 4회 반복 조건에서 얻어진 값들의 평균값으로 나타내었으며 평균±표준편차로 표현하였다.
- [314] EC50 값들은 Graphpad Prism 을 사용하여 비선형 회귀(non-linear regression)법을 사용하여 결정하였다.
- [315] 실험 결과들은 도 1 내지 도 8에 정리되었다.
- [316] 이상 본 발명의 실시예들을 설명하였지만, 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 그 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다.

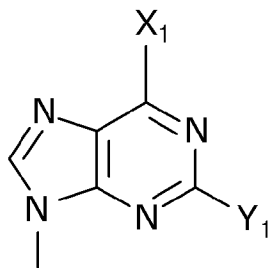
청구범위

- [청구항 1] 하기 화학식 A로 표현되는 카보사이클릭 뉴클레오사이드 (carbocyclic nucleoside) 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염.
<화학식 A>



(상기 화학식 A에서, n은 1 또는 2이고, R1 및 R2는 각각 독립적으로 수소 또는 불소이며, B는 하기 화학식 B-1 또는 B-2이고, P는 수소 또는 포스포아미데이트(phosphoamidate)기이다)

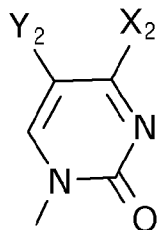
<화학식 B-1>



(상기 화학식 B-1에서, X1는 염소, 수산기 (OH group), 아미노기(amino group) 또는 알킬아미노(alkylamino group)기이고, Y1는 수소 또는 아미노기이다.

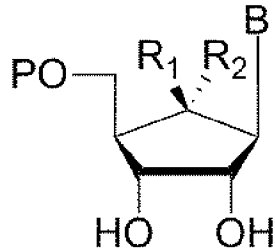
상기 알킬아미노기는 -NHMe, -NHEt 등의 모노알킬아미노기(-NHR) 또는 -NMe2, -NMeEt, -NEt2 등의 다이알킬아미노기(-NR2)이다)

<화학식 B-2>



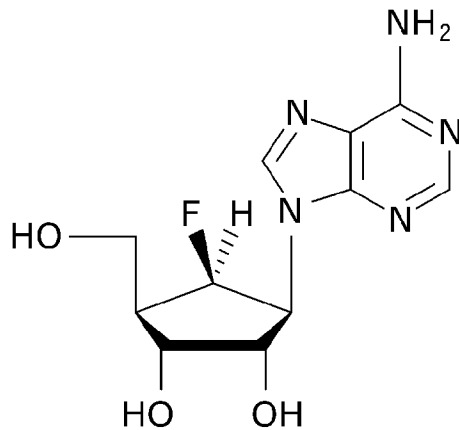
(상기 화학식 B-2에서, X2는 수산기 또는 아미노기이고, Y2는 수소, 메틸기(methyl group) 또는 할로젠이다)

- [청구항 2] 제1 항에 있어서,
 상기 화학식 A는 하기 화학식 a인 카보사이클릭 뉴클레오사이드 (carbocyclic nucleoside) 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염.
 <화학식 a>

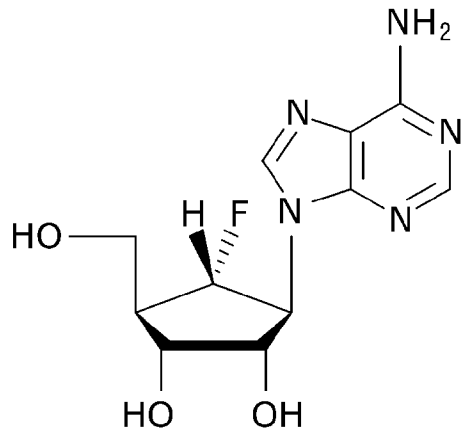


- [청구항 3] 제2 항에 있어서,
 상기 R2는 불소인 카보사이클릭 뉴클레오사이드 (carbocyclic nucleoside) 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염

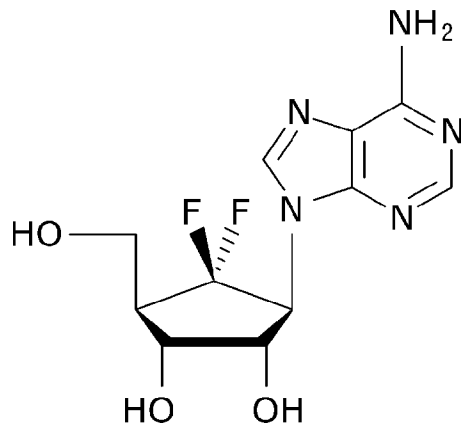
- [청구항 4] 제2 항에 있어서,
 상기 화학식 a는 하기 화학식 5a, 화학식 5b 또는 화학식 5c인
 카보사이클릭 뉴클레오사이드 (carbocyclic nucleoside) 유도체 또는 이의
 약학적으로 허용 가능한 염.
 <화학식 5a>



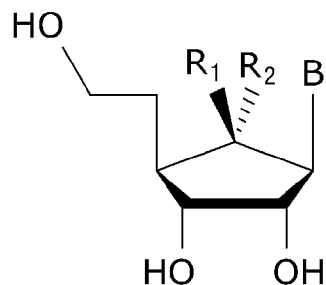
<화학식 5b>



<화학식 5c>



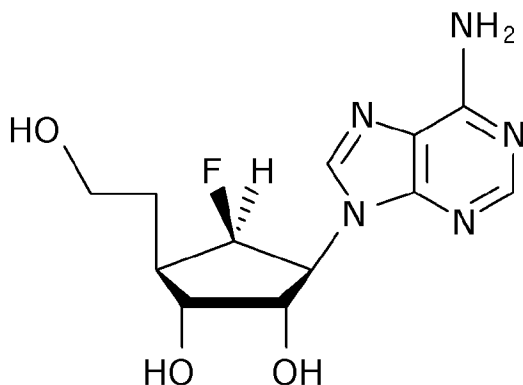
- [청구항 5] 제1 항에 있어서,
 상기 화학식 A는 하기 화학식 b인 카보사이클릭 뉴클레오사이드 (carbocyclic nucleoside) 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염.
 <화학식 b>



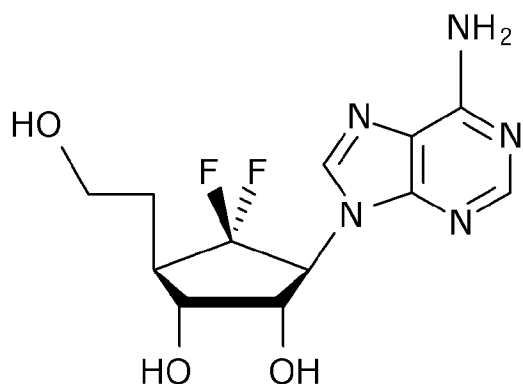
- [청구항 6] 제5 항에 있어서,
 상기 R1은 불소인 카보사이클릭 뉴클레오사이드 (carbocyclic nucleoside) 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염.
 [청구항 7] 제5 항에 있어서,
 상기 화학식 b는 하기 화학식 15a 또는 화학식 15b인 카보사이클릭

뉴클레오사이드 (carbocyclic nucleoside) 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염.

<화학식 15a>

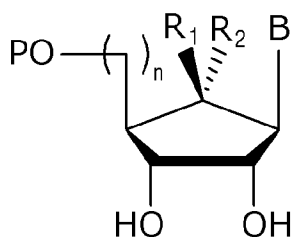


<화학식 15b>



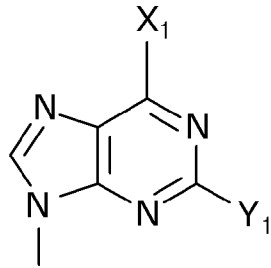
[청구항 8] 하기 화학식 A로 표현되는 카보사이클릭 뉴클레오사이드 (carbocyclic nucleoside) 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 항바이러스제.

<화학식 A>



(상기 화학식 A에서, n은 1 또는 2이고, R1 및 R2는 각각 독립적으로 수소 또는 불소이며, B는 하기 화학식 B-1 또는 B-2이고, P는 수소 또는 포스포아미데이트(phosphoramidate)기이다)

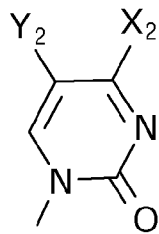
<화학식 B-1>



(상기 화학식 B-1에서, X1는 염소, 수산기 (OH group), 아미노기(amino group) 또는 알킬아미노(alkylamino group)기이고, Y1는 수소 또는 아미노기이다.

상기 알킬아미노기는 -NHMe, -NHEt 등의 모노알킬아미노기(-NHR) 또는 -NMe2, -NMeEt, -NEt2 등의 다이알킬아미노기(-NR2)이다)

<화학식 B-2>

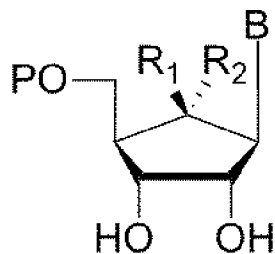


(상기 화학식 B-2에서, X2는 수산기 또는 아미노기이고, Y2는 수소, 메틸기(methyl group) 또는 할로젠이다)

[청구항 9]

제8 항에 있어서,
상기 화학식 A는 하기 화학식 a인 항바이러스제.

<화학식 a>



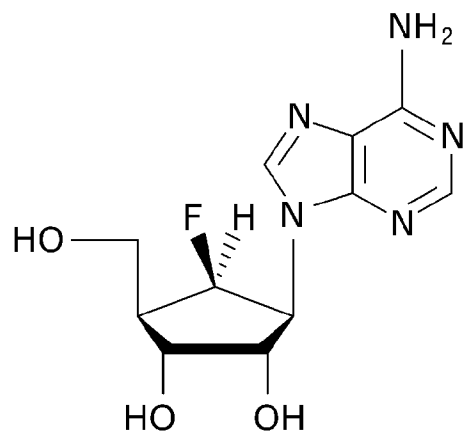
[청구항 10]

제9 항에 있어서,
상기 R2는 불소인 항바이러스제.

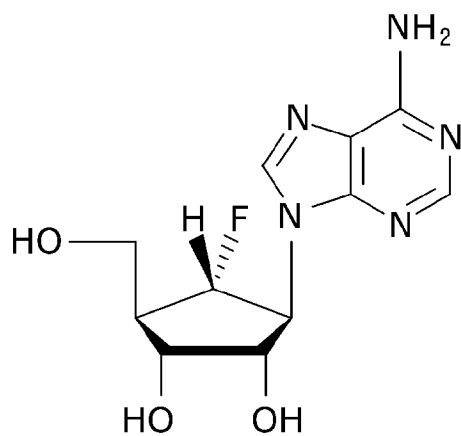
[청구항 11]

제9 항에 있어서,
상기 화학식 a는 하기 화학식 5a, 화학식 5b 또는 화학식 5c인 항바이러스제.

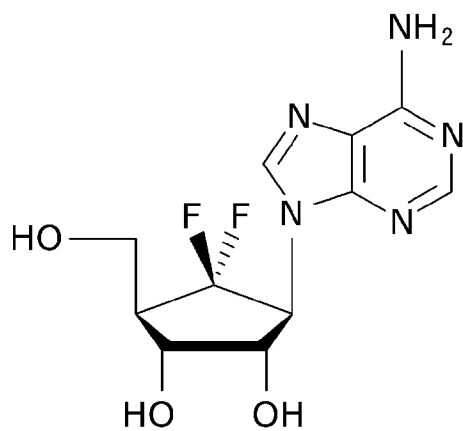
<화학식 5a>



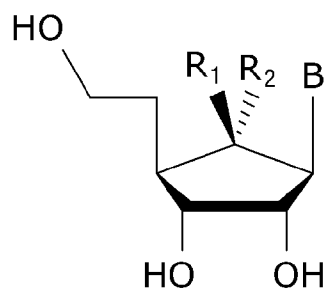
<화학식 5b>



<화학식 5c>

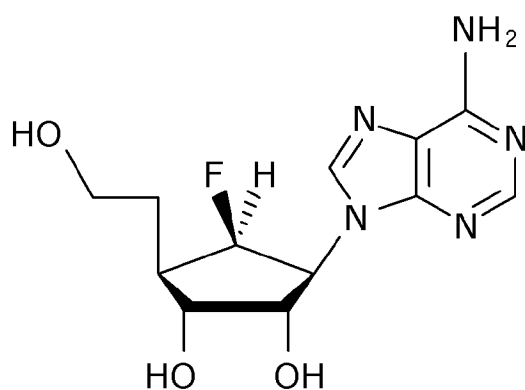


[청구항 12] 제8 항에 있어서,
 상기 화학식 A는 하기 화학식 b인 항바이러스제.
 <화학식 b>

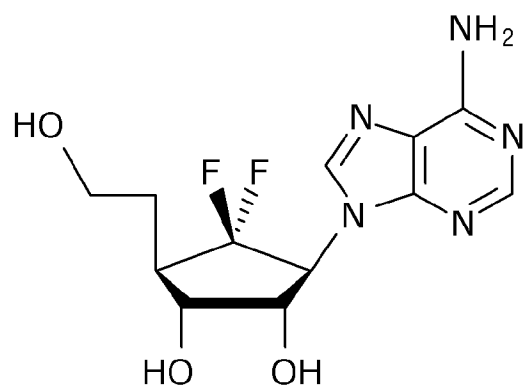


[청구항 13] 제12 항에 있어서,
상기 R1은 불소인 항바이러스제.

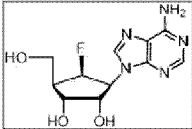
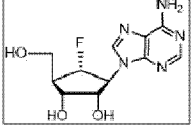
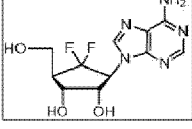
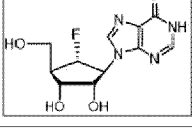
[청구항 14] 제12 항에 있어서,
상기 화학식 b는 하기 화학식 15a 또는 화학식 15b인 항바이러스제.
<화학식 15a>



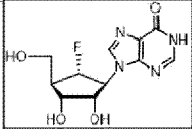
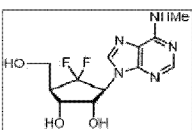
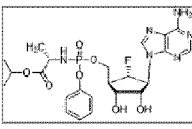
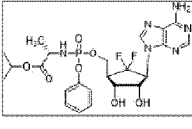
<화학식 15b>



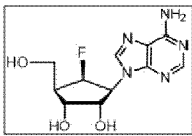
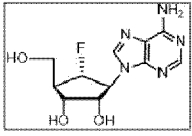
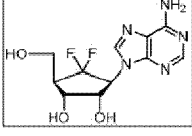
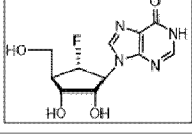
[도1]

Compound No.	Structure	MERS-CoV (in vero cells)		SARS-CoV		CHIKV		ZIKV	
		IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)
화합식 5a									
화합식 5b		ND	ND	ND	ND	0.528	1.322	2.544	3.972
화합식 5c		0.19±0.09	3.64±1.09	0.47±0.14	5.93±1.17	> 50	> 50	0.26±0.13	> 2.5
화합식 5d		ND	ND	ND	ND	> 50	> 100	> 50	> 100

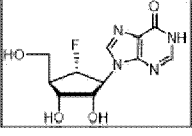
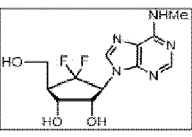
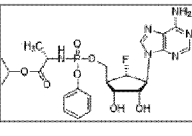
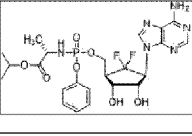
[도2]

Compound No.	Structure	MERS-CoV (in vero cells)		SARS-CoV		CHIKV		ZIKV	
		IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)
화합식 6a		unspecific inhibition	50	> 50	> 100	> 50	ND	> 50	ND
화합식 6b									
화합식 7a									
화합식 7b		9.29±1.05	50	6.78±1.07	50	0.061	12.5	8.784	48.88

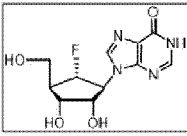
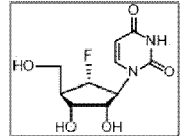
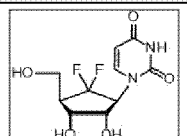
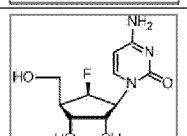
[도3]

Compound No.	Structure	MERS-CoV (in vero cells)		SARS-CoV		CHIKV		ZIKV	
		IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)
화학식 5a									
화학식 5b		ND	ND	ND	ND	0.528	1.322	2.544	3.972
화학식 5c		0.19±0.09	3.64±1.09	0.47±0.14	5.93±1.17	>50	>50	0.26±0.13	>2.5
화학식 5d		ND	ND	ND	ND	>50	>100	>50	>100

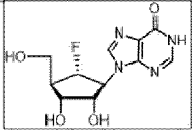
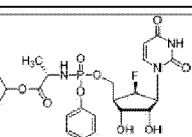
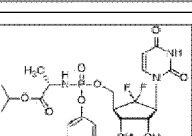
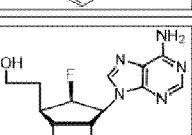
[도4]

Compound No.	Structure	MERS-CoV (in vero cells)		SARS-CoV		CHIKV		ZIKV	
		IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)
화학식 6a		unspecific inhibition	50	>50	>100	>50	ND	>50	ND
화학식 6b									
화학식 7a									
화학식 7b		9.29±1.05	50	6.78±1.07	50	0.061	12.5	8.784	48.88

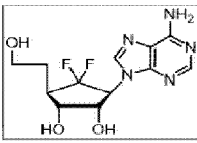
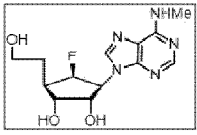
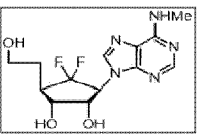
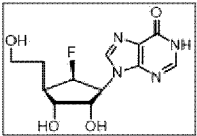
[도5]

Compound No.	Structure	MERS-CoV (in vero cells)		SARS-CoV		CHIKV		ZIKV	
		IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)
화학식 8a		ND	ND	ND	ND	> 50	> 100	> 50	> 100
화학식 8b		ND	ND	ND	ND	> 50	> 100	> 50	> 100
화학식 8c		> 50	> 50	ND	ND	> 50	> 100	> 50	> 100
화학식 9a		ND	ND	ND	ND	> 50	> 100	> 50	> 100

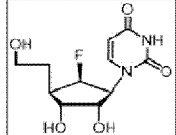
[도6]

Compound No.	Structure	MERS-CoV (in vero cells)		SARS-CoV		CHIKV		ZIKV	
		IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)
화학식 9b		> 50	> 50	ND	ND	> 50	> 100	> 50	> 100
화학식 10a		ND	ND	ND	ND	> 50	ND	> 50	> 100
화학식 10b		> 50	> 50	ND	ND	> 50	> 100	> 50	> 100
화학식 15a		ND	12.5	ND	> 100	0,12	> 250	ND	ND

[도7]

Compound No.	Structure	MERS-CoV (in vero cells)		SARS-CoV		CHIKV		ZIKV	
		IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)
화학식 15b		ND	>100	ND	>100	ND	>25	ND	ND
화학식 16a									
화학식 16b									
화학식 17									

[도8]

Compound No.	Structure	MERS-CoV (in vero cells)		SARS-CoV		CHIKV		ZIKV	
		IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)
화학식 18		ND	ND	ND	ND	ND	>100	ND	>100

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2018/000644

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07H 19/167(2006.01)i, C07H 19/04(2006.01)i, A61K 31/7076(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07H 19/167; A61K 31/52; A61K 31/505; C07H 19/04; A61K 31/7076

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal), STN (Registry, CAplus), Google & Keywords: carbocyclic nucleoside, anti-virus, cyclopentane, purine, pyrimidine

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 4605659 A (VERHEYDEN, J. P. H. et al.) 12 August 1986 See claims 20-22, 44.	1-14
X	YANG, M. et al., "5'-Homoaristeromycin. Synthesis and Antiviral Activity against Orthopox Virus", Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2005, vol. 15, pages 149-151 See abstract; figure 1.	1-14
X	YIN, X.-Q. et al., "Chiral Syntheses of 6'- β -fluoroaristeromycin, 6'- β -fluoro-5'-noraristeromycin and Aristeromycin", Tetrahedron Letters, 2005, vol. 46, pages 7535-7538 See page 7535, left column, first paragraph; figure 1.	1-14
X	COOLS, M. et al., "Mechanism of Antiviral and Cytotoxic Action of ($\pm$)-6' β -fluoroaristeromycin, a Potent Inhibitor of S-Adenosylhomocysteine Hydrolase", Molecular Pharmacology, 1991, vol. 39, pages 718-724 See abstract; figure 1.	1-14
X	YANG, M. et al., "6'-Methyl-5'-homoaristeromycin: A Structural Variation of the Anti-orthopox Virus Candidate 5'-homoaristeromycin", Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2013, vol. 21, pages 4374-4377 See abstract; figure 1.	1-14



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

31 MAY 2018 (31.05.2018)

Date of mailing of the international search report

31 MAY 2018 (31.05.2018)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Sconsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

Information on patent family members

PCT/KR2018/000644

03/11/1987

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

C07H 19/167(2006.01)i, C07H 19/04(2006.01)i, A61K 31/7076(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

C07H 19/167; A61K 31/52; A61K 31/505; C07H 19/04; A61K 31/7076

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템), STN(Registry, Cplus), Google & 키워드: 카보사이클릭 뉴클레오사이드, 항바이러스, 사이클로펜탄, 퓨린, 피리미딘

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	US 4605659 A (VERHEYDEN, J. P. H. 등) 1986.08.12 청구항 20-22, 44 참조.	1-14
X	YANG, M. 등, "5'-Homoaristeromycin. Synthesis and antiviral activity against orthopox viruses", Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2005, 15권, 페이지 149-151 초록; 도면 1 참조.	1-14
X	YIN, X.-Q. 등, "Chiral syntheses of 6'-β-fluoroaristeromycin, 6'-β-fluoro-5'-noraristeromycin and aristeromycin", Tetrahedron Letters, 2005, 46권, 페이지 7535-7538 페이지 7535, 왼쪽 컬럼, 첫번째 단락; 도면 1 참조.	1-14
X	COOLS, M. 등, "Mechanism of Antiviral and Cytotoxic Action of (±)-6'-β-Fluoroaristeromycin, a Potent Inhibitor of S-Adenosylhomocysteine Hydrolase", Molecular Pharmacology, 1991, 39권, 페이지 718-724 초록; 도면 1 참조.	1-14
X	YANG, M. 등, "6'-Methyl-5'-homoaristeromycin: A structural variation of the anti-orthopox virus candidate 5'-homoaristeromycin", Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2013, 21권, 페이지 4374-4377 초록; 도면 1 참조.	1-14

☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

"A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

"T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

"E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

"X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

"L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

"Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

"O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

"&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

"P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

국제조사의 실제 완료일

2018년 05월 31일 (31.05.2018)

국제조사보고서 발송일

2018년 05월 31일 (31.05.2018)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소



대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

남의호

전화번호 +82-42-481-5580



국제출원번호
PCT/KR2018/000644

PCT/KR2018/000644

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
US 4605659 A	1986/08/12	US 4704392 A	1987/11/03