



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2015년07월09일
(11) 등록번호 10-1535691
(24) 등록일자 2015년07월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/7076 (2006.01) A61K 31/7052 (2006.01)
A61P 31/16 (2006.01) C07C 233/52 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2010-7006286
(22) 출원일자(국제) 2008년08월29일
심사청구일자 2013년07월11일
(85) 번역문제출일자 2010년03월23일
(65) 공개번호 10-2010-0074156
(43) 공개일자 2010년07월01일
(86) 국제출원번호 PCT/US2008/074914
(87) 국제공개번호 WO 2009/029888
국제공개일자 2009년03월05일
(30) 우선권주장
60/969,491 2007년08월31일 미국(US)
61/048,507 2008년04월28일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
KR1019980703600 A*
WO1991016320 A1
Tetrahedron. 2002. Vol.58, pp.7573-7581.
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
아카데미아 시니카
대만 11529 타이페이 난강 섹션 2 아카데미아 로드 128
(72) 발명자
왕, 치-휴이
미국 캘리포니아 92067 란초 산타페 피.오.박스 8154
광, 짐-민
중국 대만 106 타이페이 창 싱 스트리트 넘버 62-3 4층
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
김해중, 홍순우, 윤석운

전체 청구항 수 : 총 11 항

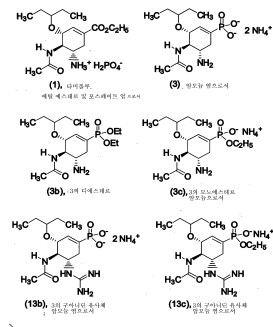
심사관 : 허명숙

(54) 발명의 명칭 항 - 인플루엔자 활성을 갖는 포스포네이트 동중체를 함유하는 오셀타미비르의 합성

(57) 요약

신규 포스포네이트 화합물이 기재되어 있다. 이 화합물은 H1N1 및 H5N1 바이러스의 야생형 및 H274Y 돌연변이체에 대하여 뉴라미니다아제 억제제로서 활성을 갖는다. 본 출원은 또한 D-크실로오스를 통하여, 공지된 뉴라미니다아제 억제제 오셀타미비르 및 항-독감 약물 타미플루® 뿐만 아니라 신규 포스포네이트 화합물에 대한 에난티오 선택적 합성 경로를 제공한다. 타미플루 및 고도의 강력한 뉴라미니다아제 억제제 타미포스포르의 효과적이고 유연한 합성은 11 단계로 달성되며 또 용이하게 입수할 수 있는 발효 생성물 (1S-시스)-3-브로모-3,5-시클로헥사디엔-1,2-디올로부터 20% 전체 수율을 얻는다. 대부분의 반응 중간체는 정가신 정제 과정없이 결정으로 얻었다. 주요 변환은 브로모아렌시스-디히드로디올의 초기 입체선택적 및 입체선택적 브로모아미드화 뿐만 아니라 최종 팔라듐-촉매작용된 카보닐화 및 포스포닐화를 포함한다.

대표도 - 도2



(72) 발명자

샤이, 지운-지에

중국 대만 220 반시아오 시티 송장 스트리트 라인
72 넘버 30-3

첵, 이-슌, 에드몬드

중국 대만 115 타이페이 웬-초우 스트리트 79 5층
넘버3

잔, 지아-짜롱

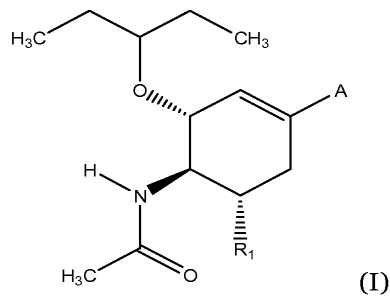
중국 대만 231 타이페이 신디안 라이밍 로드 넘버
84-비1

명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식(I)의 화합물:



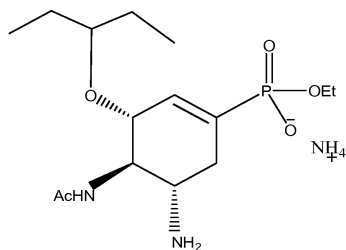
식 중에서,

A는 PO(OR)(OR')이고, R 및 R'는 독립적으로 H, C1-C6 알킬, 아릴 및 X로부터 선택되며, X는 암모늄, 메틸암모늄, 디메틸암모늄, 트리메틸암모늄, 테트라메틸암모늄, 에탄올-암모늄, 디시클로헥실암모늄, 구아니디늄, 에틸렌디아민 양이온, 리튬 양이온, 나트륨 양이온, 칼륨 양이온, 세슘 양이온, 베릴륨 양이온, 마그네슘 양이온, 및 칼슘 양이온, 아연 양이온으로 구성된 군으로부터 선택된 양이온성 대이온(cationic counterion)이고;

R₁은 NH₂, NH₃⁺, H₂PO₄⁻, 또는 NH(C=NH)NH₂ 임.

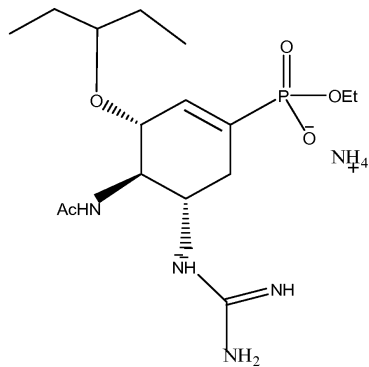
청구항 2

제 1항에 있어서, 화학식(I)이 다음 화합물인 화합물:



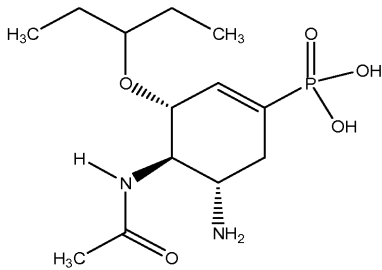
청구항 3

제 1항에 있어서, 화학식(I)이 다음 화합물인 화합물:



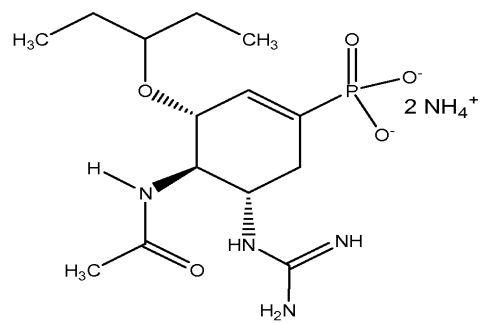
청구항 4

제 1항에 있어서, 화학식(I)이 다음 화합물인 화합물:



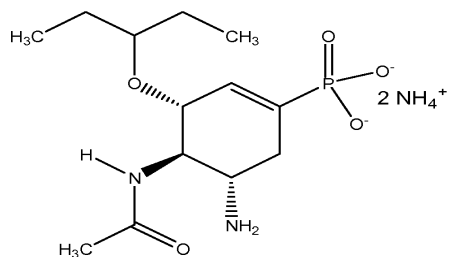
청구항 5

제 1항에 있어서, 화학식(I)이 다음 화합물인 조성물:



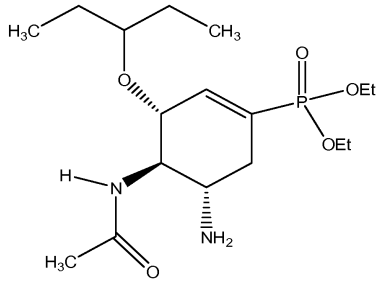
청구항 6

제 1항에 있어서, 화학식(I)이 다음 화합물인 화합물:



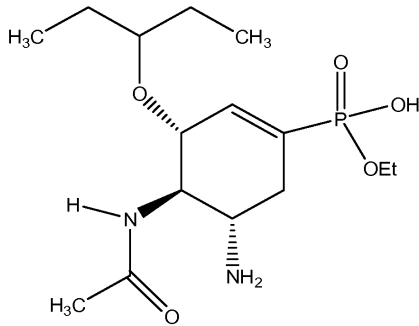
청구항 7

제 1항에 있어서, 화학식(I)이 다음 화합물인 화합물:



청구항 8

제 1항에 있어서, 화학식(I)이 다음 화합물인 화합물:



청구항 9

치료학적 유효량의 제 1항 내지 제 8항 중 어느 한 항의 화합물을 포함하며, 화합물이 생물(organism)에서 인플루엔자 바이러스 감염증을 치료하기 위한 뉴라미니다아제(neuraminidase) 억제제로서 사용되는 조성물.

청구항 10

제 9항에 있어서, 생물이 동물인 조성물.

청구항 11

제 10항에 있어서, 생물이 인간인 조성물.

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 이 출원은 2007년 8월 31일 출원된 미국 가출원 번호 60/969,491호; 및 2008년 4월 28일 출원된 미국 가출원 번호 61/048,507호를 기준으로 하여 파리 조약에 따른 우선권을 주장하여 특허청구하고 있다.

[0002] 신규 포스포네이트 화합물이 기재되어 있다. 이 화합물은 H1N1 및 H5N1 바이러스의 야생형 및 H274Y 돌연변이체에 대한 뉴라미니다아제(neuraminidase) 억제제로서 활성을 갖는다. 본 발명은 또한 공지된 뉴라미니다아제 억제제 오셀타미비르 및 항-독감 약물 타미플루[®] 뿐만 아니라 신규 포스포네이트 화합물에 대하여 D-크실로오스 또는 브로모벤젠을 통한 2개의 에난티오선택적(enantioselective) 합성 경로를 제공한다.

배경 기술

[0003] 인플루엔자는 인간 및 동물에 대한 주요한 건강 문제로 남아 있다(Kaye and Pringle, *Clin. Infect. Dis.* 2005, 40, 108; and Beigel et al., *N. Engl. J. Med.* 2005, 353, 1374). 현재, 인플루엔자 예방과 치료용으로 4개 약물이 인가되어 있다: 아만타딘 및 리만타딘은 M2 이온 채널 차단제로서 작용하는 반면에, 타미플루[®] (오셀타미비르 에틸 에스테르의 포스포네이트 염, 로쉐 레보라토리즈 인코포레이티드 제조) 및 Relenza[™] (자나미비르, 글락소 웰컴 인코포레이티드 제조)는 뉴라미니다아제(NA)의 활성을 억제한다(Moscona, A. *N. Engl. J. Med.*

2005, 353, 1363; Ward et al., *J. Antimicrob. Chemother.* 2005, 55, Suppl. S1, i5; 및 De Clercq, E. *Nature Rev. Drug Discov.* 2006, 5, 1015.) 타미플루® 치료를 받는 어린이에서 약물 내성 조류 독감 감염 및 부작용에 대한 최근의 보고는 유행성 독감의 위협으로부터 싸움을 위해 뉴라미니다아제 억제제에 대한 새로운 화학적 확인이 필요함을 제시한다. 가능한 조류 독감 유행을 방지하는 안전하고 효과적인 백신을 입수할 수 있기 이전에, 뉴라미니다아제 억제제는 몇 개의 가능한 치료방법 중의 하나이다.

[0004]

NA 억제제(NAI)는 (옥사)시클로헥센 지지체가 시알산의 효소 절단에서 옥소늄 전이-상태를 모방하도록 고안된다 (von Itzstein, M. et al. *Nature* 1993, 363, 418; Lew et al., *Curr. Med. Chem.* 2000, 7, 663; 및 Russell et al., *Nature* 2006, 443, 45). 타미플루®(1, 도식 1에 도시됨)는 경구 투여되는 항-인플루엔자 약물이다. (Kim et al., *J. Am. Chem. Soc.* 1997, 119, 681; Rohloff et al., *J. Org. Chem.* 1998, 63, 4545; Karpf and Trussardi, *J. Org. Chem.* 2001, 66, 2044; Harrington et al., *Org. Process Res. Dev.* 2004, 8, 86; Yeung et al., *J. Am. Chem. Soc.* 2006, 128, 6310; Fukuta et al., *J. Am. Chem. Soc.* 2006, 128, 6312; Farina and Brown, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2006, 45, 7330; Mita et al., *Org. Lett.* 2007, 9, 259; Yamatsugu et al., *Tetrahedron Lett.* 2007, 48, 1403). 간 에스테라아제에 의한 가수분해시, 활성 카복실레이트, 오셀타미비르 (2, GS4071으로도 공지됨)는 NA의 활성 부위에서 3개의 아르기닌 잔기(Arg118, Arg292 및 Arg371)와의 상호작용에 노출된다. (von Itzstein, et al., 1993; Lew et al., 2000, and Russell et al., 2006).

[0005]

포스포네이트 기는 일반적으로 약물 디자인에서 카복실레이트의 동족체(bioisostere)로서 사용된다.(White et al., *J. Mol. Biol.* 1995, 245, 623; Streicher et al., *Tetrahedron* 2001, 57, 8851; Streicher, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2004, 14, 361; Schug and Lindner, *W. Chem. Rev.* 2005, 105, 67; Streicher and Busseb, *Bioorg. Med. Chem.* 2006, 14, 1047). 공지된 N1 결정 구조(PDB 코드: 2HU4)(Russell et al., 2006)를 사용하는 예비적 분자 도킹 실험(도 1)은 추정된 포스포네이트 억제제 3a가 NA-오셀타미비르 착물과 유사한 결합 포켓(pocket)에 있는 C₃-펜틸옥시, C₄-아세타미도 및 C₅-아미노 기에 의해 발휘되는 다른 상호작용 이외에, NA의 3개의 아르기닌 잔기와 강하게 결합됨을 보여준다. 카복실레이트-구아니디늄 이온 쌍과 대조적으로, 포스포네이트 이온은 구아니디늄 이온과 더 강한 정전 상호작용을 나타낸다. 오셀타미비르/타미플루의 합성에 대하여 이전에 보고된 방법(예컨대, 본 명세서에 참고문헌으로 포함된 Bischofberger et al., US 5,763,483호 포함)은 C₁ 카복실 기를 포스포네이트 기로 교환하기가 어렵다; 따라서, 공지된 및 신규한 뉴라미니다아제 억제제를 합성하기 위한 신규 방법이 요망된다.

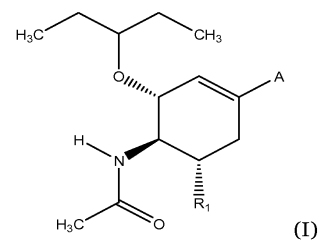
발명의 내용

[0006]

신규 포스포네이트 화합물이 기재되어 있다. 이 화합물은 H1N1 및 H5N1 바이러스의 야생형 및 H274Y 돌연변이체에 대한 뉴라미니다아제(뉴라미니다아제) 억제제로서 활성을 갖는다. 본 발명은 또한 공지된 뉴라미니다아제 억제제 오셀타미비르 및 항-독감 약물 타미플루® 뿐만 아니라 신규 포스포네이트 화합물에 대하여 D-크실로오스를 통한 2개의 에난티오선택적 합성 경로를 또한 제공한다. 타미플루 및 아주 강력한 뉴라미니다아제 억제제 타미포스포의 다른 효과적이고 유연한 합성은 11 단계로 달성되며 또 용이하게 이용할 수 있는 발효 생성물 (1S-시스)-3-브로모-3,5-시클로헥사디엔-1,2-디올로부터 >20% 전체 수율을 달성하였다. 대부분의 반응 중간체는 까다로운 정제 과정없이도 결정으로 얻었다. 주요 변환은 브로모아렌시스-디히드로디올의 초기의 위치선택적 및 입체선택적 브로모아미드화뿐만 아니라 최종 팔라듐-촉매작용된 카보닐화 및 포스포닐화를 포함한다.

[0007]

본 발명의 특징에 따르면, 치료 유효량의 하기 화학식(I)의 화합물 및 약학적 담체를 포함하는 조성물이 기재되어 있다:



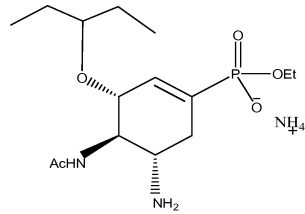
[0008]

[0009]

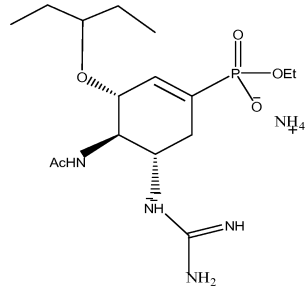
식 중에서, A는 PO(OR)(OR')이고, R 및 R'는 독립적으로 H, C1-C6 알킬, 아릴 및 X로부터 선택되며, X는 암모늄, 메틸암모늄, 디메틸암모늄, 트리메틸암모늄, 테트라메틸암모늄, 에탄올-암모늄, 디시클로헥실암모늄,

구아니디늄, 에틸렌디아모늄 양이온, 리튬 양이온, 나트륨 양이온, 칼륨 양이온, 세슘 양이온, 베릴륨 양이온, 마그네슘 양이온, 및 칼슘 양이온, 아연 양이온으로 구성된 군으로부터 선택된 양이온성 대이온(cationic counterion)이고; 또 R₁은 NH₂, NH₃⁺H₂PO₄⁻, 또는 NH(C=NH)NH₂ 임.

[0010] 본 발명의 특징에 따르면, 치료 유효량의 하기 화합물 중의 적어도 1개 및 약학적 담체를 포함하는 조성물이 기재되어 있다:

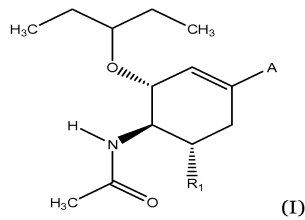


및



[0011]

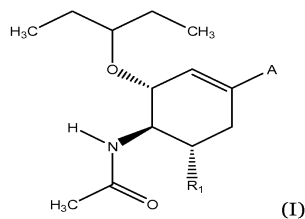
[0012] 본 발명의 특징에 따르면, 도 3 내지 도 5의 도식 중의 적어도 1개에 따라서 하기 화학식(I)의 조성물을 제조하는 것을 포함하는 방법이 기재되어 있다:



[0013]

[0014] 식 중에서, A는 PO(OR)(OR')이고, R 및 R'는 독립적으로 H, C1-C6 알킬, 아릴 및 X로부터 선택되며, X는 암모늄, 메틸암모늄, 디메틸암모늄, 트리메틸암모늄, 테트라메틸암모늄, 에탄올-암모늄, 디시클로헥실암모늄, 구아니디늄, 에틸렌디아모늄 양이온, 리튬 양이온, 나트륨 양이온, 칼륨 양이온, 세슘 양이온, 베릴륨 양이온, 마그네슘 양이온, 및 칼슘 양이온, 아연 양이온으로 구성된 군으로부터 선택된 양이온성 대이온이고; 또 R₁은 NH₂, NH₃⁺H₂PO₄⁻, 또는 NH(C=NH)NH₂ 임. 상기 방법에 의한 생성물이 유사하게 고려된다.

[0015] 본 발명의 특징에 따르면, 뉴라미니다아제의 활성을 억제하기 위하여 생물에 투여되는 하기 화학식(I)의 조성물 치료 유효량을 제공하는 것을 포함하는 방법이 기재되어 있다:

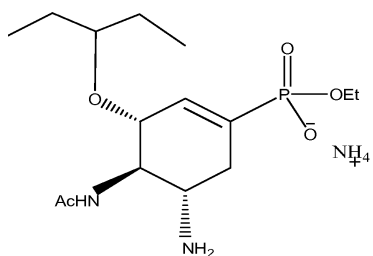


[0016]

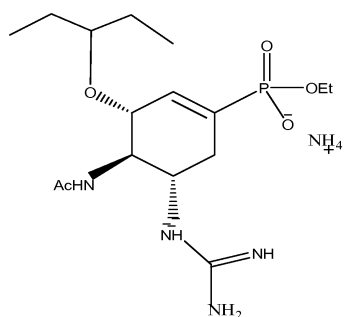
[0017] 식 중에서, A는 PO(OR)(OR')이고, R 및 R'는 독립적으로 H, C1-C6 알킬, 아릴 및 X로부터 선택되며, X는 암모늄, 메틸암모늄, 디메틸암모늄, 트리메틸암모늄, 테트라메틸암모늄, 에탄올-암모늄, 디시클로헥실암모늄, 구아니디늄, 에틸렌디아모늄 양이온, 리튬 양이온, 나트륨 양이온, 칼륨 양이온, 세슘 양이온, 베릴륨 양이온,

마그네슘 양이온, 및 칼슘 양이온, 아연 양이온으로 구성된 군으로부터 선택된 양이온성 대이온이고; 또 R₁은 NH₂, NH₃⁺H₂PO₄⁻, 또는 NH(C=NH)NH₂ 임.

[0018] 본 발명의 특징에 따르면, 뉴라미니다아제의 활성을 억제하기 위하여 생물에 투여되는, 하기 화합물 중의 적어도 1개의 치료 유효량을 갖는 조성물을 제공하는 것을 포함하는 방법이 기재되어 있다:

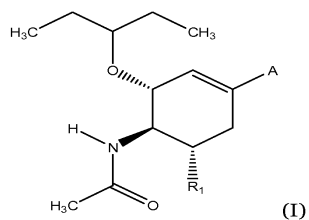


[0019] 및



[0020]

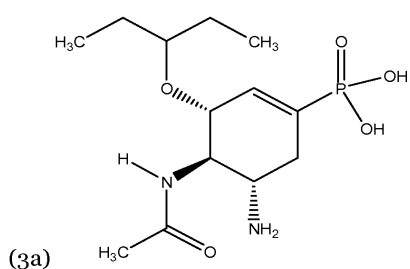
[0021] 일 구체예로서, 본 발명은 하기 화학식(I)의 화합물을 제공한다:



[0022]

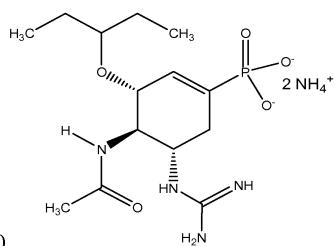
[0023] 식 중에서, A는 PO(OR)(OR')이고, R 및 R'는 독립적으로 H, C1-C6 알킬, 아릴 및 X로부터 선택되며, X는 암모늄, 메틸암모늄, 디메틸암모늄, 트리메틸암모늄, 테트라메틸암모늄, 에탄올-암모늄, 디시클로헥실암모늄, 구아니디늄, 에틸렌디아민 양이온, 리튬 양이온, 나트륨 양이온, 칼륨 양이온, 세슘 양이온, 베릴륨 양이온, 마그네슘 양이온, 및 칼슘 양이온, 아연 양이온으로 구성된 군으로부터 선택된 양이온성 대이온이고; 또 R₁은 NH₂, NH₃⁺H₂PO₄⁻, 또는 NH(C=NH)NH₂ 임.

[0024] 특정 요지로서, 상기 화합물은 다음 화합물이다:



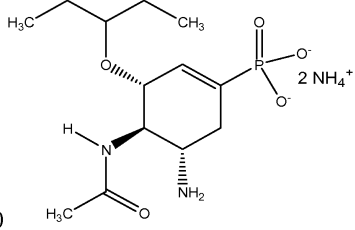
[0025]

[0026] 다른 특정 요지로서, 상기 화합물은 다음 화합물이다:



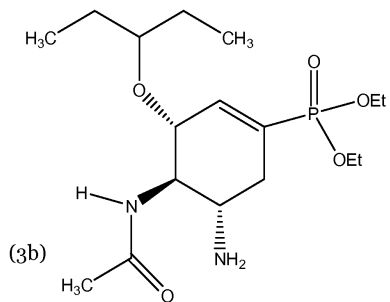
[0027]

[0028] 다른 특정 요지로서, 상기 화합물은 다음 화합물이다:



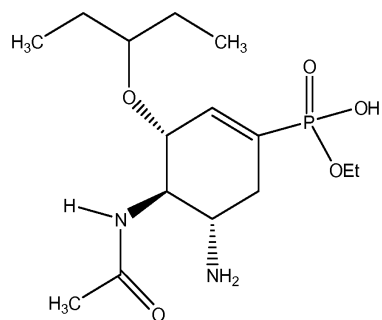
[0029]

[0030] 다른 특정 요지로서, 상기 화합물은 다음 화합물이다:



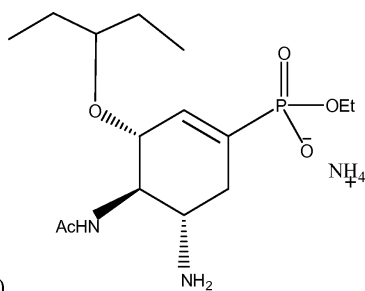
[0031]

[0032] 다른 특정 요지로서, 상기 화합물은 다음 화합물이다:

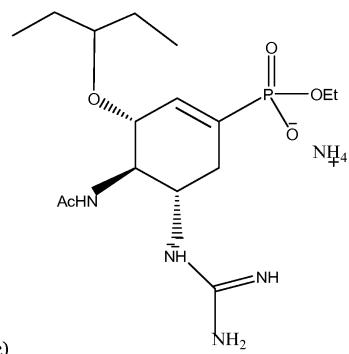


[0033]

[0034] 본 발명의 다른 구체예는 하기 화학식(3c)의 화합물을 제공한다:

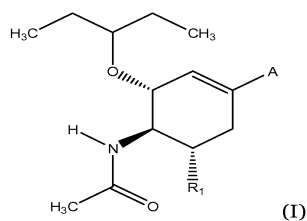


[0035]
[0036] 본 발명의 다른 구체예는 하기 화학식(13c)의 화합물을 제공한다:



[0037]
[0038] 일 구체예로서, 본 발명은 A가 PO(OR)(OR')이고, R 및 R'는 독립적으로 H, C1-C6 알킬, 아릴 및 X로부터 선택되며, X는 암모늄, 메틸암모늄, 디메틸암모늄, 트리메틸암모늄, 테트라메틸암모늄, 에탄올-암모늄, 디시클로헥실암모늄, 구아니디늄, 에틸렌디아민 양이온, 리튬 양이온, 나트륨 양이온, 칼륨 양이온, 세슘 양이온, 베릴륨 양이온, 마그네슘 양이온, 및 칼슘 양이온, 아연 양이온으로 구성된 군으로부터 선택된 양이온성 대이온이고; 또 R₁은 NH₂, NH₃⁺H₂PO₄⁻, 또는 NH(C=NH)NH₂ 인 화학식(I)의 화합물, 3, 3a, 3b, 13a, 및 13b 중의 어느 하나, 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 조성물을 제공한다.

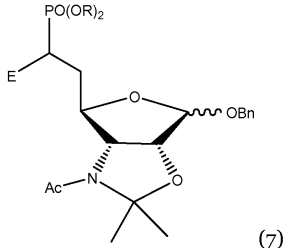
- [0039] 다른 구체예로서, 본 발명은
- [0040] (a) D-크실로오스를 키랄 전구체로 이용하여 하기 전구체 화합물(7)을 제조하고;
- [0041] (b) 중간체 화합물(7)을 분자내 호너-워드스위쓰-에몬스(Horner-Wadsworth-Emmons) 반응을 실시하도록 처리하여 하기 중간체 화합물(8)을 형성하며;
- [0042] (c) 하기 중간체(8)를 디페닐포스포릴 아지드와 처리하여 히드록시 기를 아지도 기로 치환하면서 구조 전환시켜 하기 중간체(9)를 형성하고;
- [0043] (d) 중간체 화합물(9)를 Tf₂O, 염기 및 크라운 에테르로 처리하여 히드록시 기를 전환시켜 하기 중간체 화합물(10)을 형성하며;
- [0044] (e) 중간체(10)를 처리하여 하기 화학식(I)의 화합물을 형성하는 것을 포함하는, 하기 화학식(I)의 화합물의 제조 방법을 제공한다:



[0045]

[0046]

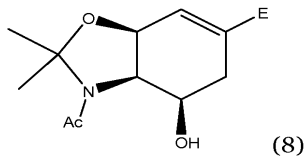
식 중에서, A는 CO₂R 또는 PO(OR)(OR')이고, R 및 R'는 독립적으로 H, C1-C6 알킬, 아릴 및 X로부터 선택되며, X는 암모늄, 메틸암모늄, 디메틸암모늄, 트리메틸암모늄, 테트라메틸암모늄, 에탄올-암모늄, 디시클로헥실암모늄, 구아니디늄, 에틸렌디아모늄 양이온, 리튬 양이온, 나트륨 양이온, 칼륨 양이온, 세슘 양이온, 베릴륨 양이온, 마그네슘 양이온, 및 칼슘 양이온, 아연 양이온으로 구성된 군으로부터 선택된 양이온성 대이온이고; 또 R₁은 NH₂, NH₃⁺H₂PO₄⁻, 또는 NH(C=NH)NH₂ 임;



[0047]

[0048]

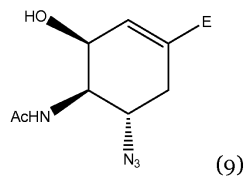
식 중에서, E는 CO₂R 또는 PO(OR)(OR')이고, R 및 R'는 독립적으로 C1-C6 알킬 및 아릴로부터 선택됨;



[0049]

[0050]

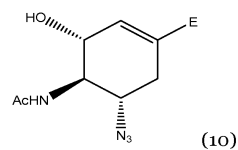
식 중에서, E는 CO₂R 또는 PO(OR)(OR')이고, R 및 R'는 독립적으로 C1-C6 알킬 및 아릴로부터 선택됨;



[0051]

[0052]

식 중에서, E는 CO₂R 또는 PO(OR)(OR')이고, R 및 R'는 독립적으로 C1-C6 알킬 및 아릴로부터 선택됨;



[0053]

[0054]

식 중에서, E는 CO₂R 또는 PO(OR)(OR')이고, R 및 R'는 독립적으로 C1-C6 알킬 및 아릴로부터 선택됨.

[0055]

본 발명의 다른 구체예는 뉴라미니다아제를 A가 PO(OR)(OR')이고, R 및 R'는 독립적으로 H, C1-C6 알킬, 아릴 및 X로부터 선택되며, X는 암모늄, 메틸암모늄, 디메틸암모늄, 트리메틸암모늄, 테트라메틸암모늄, 에탄올-암모늄, 디시클로헥실암모늄, 구아니디늄, 에틸렌디아모늄 양이온, 리튬 양이온, 나트륨 양이온, 칼륨 양이온, 세슘 양이온, 베릴륨 양이온, 마그네슘 양이온, 및 칼슘 양이온, 아연 양이온으로 구성된 군으로부터 선택된 양이온성 대이온이고; 또 R₁은 NH₂, NH₃⁺H₂PO₄⁻, 또는 NH(C=NH)NH₂ 인 화학식(I)의 화합물, 3, 3a, 3b, 13a, 및 13b 중의 어느 하나와 접촉시키는 것을 포함하는, 뉴라미니다아제의 활성을 억제하는 방법을 제공한다.

[0056]

일 요지로서, 상기 뉴라미니다아제는 생체 내(in vivo)의 인플루엔자 뉴라미니다아제이다. 다른 요지로서, 상기 뉴라미니다아제는 시험관 내(in vitro) 인플루엔자 뉴라미니다아제이다.

[0057]

다른 구체예로서, 본 발명은 A가 PO(OR)(OR')이고, R 및 R'는 독립적으로 H, C1-C6 알킬, 아릴 및 X로부터 선택되며, X는 암모늄, 메틸암모늄, 디메틸암모늄, 트리메틸암모늄, 테트라메틸암모늄, 에탄올-암모늄, 디시클로헥실암모늄, 구아니디늄, 에틸렌디아모늄 양이온, 리튬 양이온, 나트륨 양이온, 칼륨 양이온, 세슘 양이온, 베릴

류 양이온, 마그네슘 양이온, 및 칼슘 양이온, 아연 양이온으로 구성된 군으로부터 선택된 양이온성 대이온이고; 또 R₁은 NH₂, NH₃⁺H₂PO₄⁻, 또는 NH(C=NH)NH₂ 인 화학식(I)의 화합물, 3, 3a, 3b, 13a, 및 13b 중의 어느 하나를 치료 유효량 포함하는 조성물을 치료를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 치료를 필요로 하는 환자에서 인플루엔자를 치료하는 방법을 제공한다. 일 요지로서, 상기 조성물은 약학적으로 허용되는 담체를 더 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0058]

본 발명의 상술한 특징 및 목적은 동일 참조번호는 동일 요소를 나타내는 첨부한 도면과 조합하여 이하의 기재 를 참조하면 더욱 분명해질 것이다.

도 1은 인플루엔자 바이러스 뉴라미니다아제 (N1 서브타입)의 활성 부위에서 오셀타미비르 2(A) 및 포스포네이트 화합물 3a (B)의 분자 모델을 도시한다;

도 2는 화합물 1, 3, 3b, 3c, 13b, 및 13c의 분자 모델을 도시한다;

도 3은 타미플루[®] 1, 오셀타미비르 2, 구아니딘 유사체 13a, 및 포스포네이트 동종체 3, 3b 및 13b를 합성하기 위한 신규 경로를 도시한다;

도 4는 타미플루[®] 1 및 포스포네이트 동종체 타미포스포르 3을 합성하기 위한 신규 경로를 도시한다;

도 5는 타미플루[®] 1 및 포스포네이트 동종체 타미포스포르 3을 합성하기 위한 신규 경로를 도시한다;

도 6은 타미플루[®] 1 및 포스포네이트 동종체 타미포스포르 3, 및 13b을 합성하기 위한 신규 경로를 도시한다;

도 7은 포스포네이트 동종체 3c를 합성하기 위한 신규 경로를 도시한다;

도 8은 포스포네이트 동종체 13c를 합성하기 위한 신규 경로를 도시한다;

도 9는 10 MLD₅₀의 A/WSN/33(H1N1) 인플루엔자 바이러스가 접종되고 10 mg/kg/일의 약물 투여량으로 처리된 마우스의 생존율(패널 a) 및 평균 체중의 변화(패널 b)를 도시한다;

도 10은 10 MLD₅₀의 A/WSN/33(H1N1) 인플루엔자 바이러스가 접종되고 또 1 mg/kg/일의 약물 투여량으로 처리된 마우스의 생존율(패널 a) 및 평균 체중의 변화(패널 b)를 도시한다;

도 11은 10 MLD₅₀의 A/WSN/33(H1N1) 인플루엔자 바이러스가 접종되고 또 0.1 mg/kg/일의 약물 투여량으로 처리된 마우스의 생존율(패널 a) 및 평균 체중의 변화(패널 b)를 도시한다;

도 12는 10 MLD₅₀의 A/WSN/33(H1N1) 인플루엔자 바이러스가 접종되고 또 0.01 mg/kg/일의 약물 투여량으로 처리된 마우스의 생존율(패널 a) 및 평균 체중의 변화(패널 b)를 도시한다;

도 13은 10 MLD₅₀의 NIBRG-14(H5N1) 인플루엔자 바이러스가 접종되고 또 10 mg/kg/일의 약물 투여량으로 처리된 마우스의 생존율(패널 a) 및 평균 체중의 변화(패널 b)를 도시한다;

도 14는 10 MLD₅₀의 NIBRG-14(H5N1) 인플루엔자 바이러스가 접종되고 또 1 mg/kg/일의 약물 투여량으로 처리된 마우스의 생존율(패널 a) 및 평균 체중의 변화(패널 b)를 도시한다;

도 15는 10 MLD₅₀의 NIBRG-14(H5N1) 인플루엔자 바이러스가 접종되고 또 0.1 mg/kg/일의 약물 투여량으로 처리된 마우스의 생존율(패널 a) 및 평균 체중의 변화(패널 b)를 도시한다;

도 16은 10 MLD₅₀의 NIBRG-14(H5N1) 인플루엔자 바이러스가 접종되고 또 0.01 mg/kg/일의 약물 투여량으로 처리된 마우스의 생존율(패널 a) 및 평균 체중의 변화(패널 b)를 도시한다;

도 17은 10 MLD₅₀의 A/WSN/33(H1N1) 인플루엔자 바이러스가 접종되고 또 10 mg/kg/일의 약물 투여량으로 처리된 마우스의 생존율(패널 a) 및 평균 체중의 변화(패널 b)를 도시한다;

도 18은 10 MLD₅₀의 A/WSN/33(H1N1) 인플루엔자 바이러스가 접종되고 또 1 mg/kg/일의 약물 투여량으로 처리된

- 마우스의 생존율(패널 a) 및 평균 체중의 변화(패널 b)를 도시한다;
- 도 19는 10 MLD₅₀의 A/WSN/33(H1N1) 인플루엔자 바이러스가 접종되고 또 0.1 mg/kg/일의 약물 투여량으로 처리된 마우스의 생존율(패널 a) 및 평균 체중의 변화(패널 b)를 도시한다;
- 도 20은 10 MLD₅₀의 A/WSN/33(H1N1) 인플루엔자 바이러스가 접종되고 또 0.01 mg/kg/일의 약물 투여량으로 처리된 마우스의 생존율(패널 a) 및 평균 체중의 변화(패널 b)를 도시한다;
- 도 21은 화합물 5의 ¹H NMR 스펙트럼 (600 MHz, CDCl₃)을 도시한다;
- 도 22는 화합물 5의 ¹³C NMR 스펙트럼 (150 MHz, CDCl₃)을 도시한다;
- 도 23은 화합물 6의 ¹H NMR 스펙트럼 (600 MHz, CDCl₃)을 도시한다;
- 도 24는 화합물 6의 ¹³C NMR 스펙트럼 (150 MHz, CDCl₃)을 도시한다;
- 도 25는 화합물 7a의 ¹H NMR 스펙트럼 (600 MHz, CDCl₃)을 도시한다;
- 도 26은 화합물 7b의 ¹H NMR 스펙트럼 (600 MHz, CDCl₃)을 도시한다;
- 도 27은 화합물 8a의 ¹H NMR 스펙트럼 (600 MHz, CDCl₃)을 도시한다;
- 도 28는 화합물 8a의 ¹³C NMR 스펙트럼 (150 MHz, CDCl₃)을 도시한다;
- 도 29는 화합물 9a의 ¹H NMR 스펙트럼 (600 MHz, CDCl₃)을 도시한다;
- 도 30은 화합물 9a의 ¹³C NMR 스펙트럼 (150 MHz, CDCl₃)을 도시한다;
- 도 31은 화합물 10a의 ¹H NMR 스펙트럼 (600 MHz, CDCl₃)을 도시한다;
- 도 32는 화합물 10a의 ¹³C NMR 스펙트럼 (150 MHz, CDCl₃)을 도시한다;
- 도 33은 화합물 10b의 ¹H NMR 스펙트럼 (600 MHz, CDCl₃)을 도시한다;
- 도 34는 화합물 10b의 ¹³C NMR 스펙트럼 (150 MHz, CDCl₃)을 도시한다;
- 도 35는 화합물 10b의 ³¹P NMR 스펙트럼 (162 MHz, CDCl₃)을 도시한다;
- 도 36은 화합물 11a의 ¹H NMR 스펙트럼 (600 MHz, CDCl₃)을 도시한다;
- 도 37은 화합물 11a의 ¹³C NMR 스펙트럼 (150 MHz, CDCl₃)을 도시한다;
- 도 38은 화합물 11b의 ¹H NMR 스펙트럼 (600 MHz, CDCl₃)을 도시한다;
- 도 39는 화합물 11b의 ¹³C NMR 스펙트럼 (150 MHz, CDCl₃)을 도시한다;
- 도 40은 화합물 11b의 ³¹P NMR 스펙트럼 (162 MHz, CDCl₃)을 도시한다;
- 도 41은 화합물 1, 타미플루®의 ¹H NMR 스펙트럼 (600 MHz, D₂O)을 도시한다;

- 도 42는 화합물 1, 타미플루®의 ^{13}C NMR 스펙트럼 (150 MHz, D_2O)을 도시한다;
- 도 43은 화합물 1, 타미플루®의 ^{31}P NMR 스펙트럼 (162 MHz, D_2O)을 도시한다;
- 도 44는 화합물 2, 오셀타미비르의 ^1H NMR 스펙트럼 (600 MHz, D_2O)을 도시한다;
- 도 45는 화합물 2, 오셀타미비르의 ^{13}C NMR 스펙트럼 (150 MHz, D_2O)을 도시한다;
- 도 46은 화합물 3의 ^1H NMR 스펙트럼 (600 MHz, D_2O)을 도시한다;
- 도 47은 화합물 3의 ^{13}C NMR 스펙트럼 (150 MHz, D_2O)을 도시한다;
- 도 48은 화합물 3의 ^{31}P NMR 스펙트럼 (162 MHz, D_2O)을 도시한다;
- 도 49는 화합물 12a의 ^1H NMR 스펙트럼 (600 MHz, CDCl_3)을 도시한다;
- 도 50은 화합물 12a의 ^{13}C NMR 스펙트럼 (150 MHz, CDCl_3)을 도시한다;
- 도 51은 화합물 12b의 ^1H NMR 스펙트럼 (600 MHz, CDCl_3)을 도시한다;
- 도 52는 화합물 12b의 ^{13}C NMR 스펙트럼 (150 MHz, CDCl_3)을 도시한다;
- 도 53은 화합물 12b의 ^{31}P NMR 스펙트럼 (162 MHz, CDCl_3)을 도시한다;
- 도 54는 화합물 13a의 ^1H NMR 스펙트럼 (600 MHz, D_2O)을 도시한다;
- 도 55는 화합물 13a의 ^{13}C NMR 스펙트럼 (150 MHz, D_2O)을 도시한다;
- 도 56은 화합물 13b의 ^1H NMR 스펙트럼 (600 MHz, D_2O)을 도시한다;
- 도 57은 화합물 13b의 ^{13}C NMR 스펙트럼 (150 MHz, D_2O)을 도시한다;
- 도 58은 화합물 13b의 ^{31}P NMR 스펙트럼 (162 MHz, D_2O)을 도시한다;
- 도 59는 화합물 14a의 ^1H NMR 스펙트럼 (600 MHz, D_2O)을 도시한다;
- 도 60은 화합물 14a의 ^{13}C NMR 스펙트럼 (150 MHz, D_2O)을 도시한다;
- 도 61은 화합물 14b의 ^1H NMR 스펙트럼 (600 MHz, D_2O)을 도시한다;
- 도 62는 화합물 14b의 ^{13}C NMR 스펙트럼 (150 MHz, D_2O)을 도시한다;
- 도 63은 화합물 14b의 ^{31}P NMR 스펙트럼 (162 MHz, D_2O)을 도시한다;
- 도 64는 화합물 20의 ^1H NMR 스펙트럼 (600 MHz, CDCl_3)을 도시한다;
- 도 65는 화합물 20의 ^{13}C NMR 스펙트럼 (150 MHz, CDCl_3)을 도시한다;

- 도 66은 화합물 22의 ^1H NMR 스펙트럼 (600 MHz, CDCl_3)을 도시한다;
- 도 67은 화합물 22의 ^{13}C NMR 스펙트럼 (150 MHz, CDCl_3)을 도시한다;
- 도 68은 화합물 23의 ^1H NMR 스펙트럼 (600 MHz, CDCl_3)을 도시한다;
- 도 69는 화합물 23의 ^{13}C NMR 스펙트럼 (150 MHz, CDCl_3)을 도시한다;
- 도 70은 화합물 24의 ^1H NMR 스펙트럼 (600 MHz, CDCl_3)을 도시한다;
- 도 71은 화합물 24의 ^{13}C NMR 스펙트럼 (150 MHz, CDCl_3)을 도시한다;
- 도 72는 화합물 25의 ^1H NMR 스펙트럼 (600 MHz, CDCl_3)을 도시한다;
- 도 73은 화합물 25의 ^{13}C NMR 스펙트럼 (150 MHz, CDCl_3)을 도시한다;
- 도 74는 화합물 26의 ^1H NMR 스펙트럼 (600 MHz, CDCl_3)을 도시한다;
- 도 75는 화합물 26의 ^{13}C NMR 스펙트럼 (150 MHz, CDCl_3)을 도시한다;
- 도 76은 화합물 27의 ^1H NMR 스펙트럼 (600 MHz, CDCl_3)을 도시한다;
- 도 77은 화합물 27의 ^{13}C NMR 스펙트럼 (150 MHz, CDCl_3)을 도시한다;
- 도 78은 화합물 29의 ^1H NMR 스펙트럼 (600 MHz, CDCl_3)을 도시한다;
- 도 79는 화합물 29의 ^{13}C NMR 스펙트럼 (150 MHz, CDCl_3)을 도시한다;
- 도 80은 화합물 31a의 ^1H NMR 스펙트럼 (600 MHz, CDCl_3)을 도시한다;
- 도 81은 화합물 31a의 ^{13}C NMR 스펙트럼 (150 MHz, CDCl_3)을 도시한다;
- 도 82는 화합물 31b의 ^1H NMR 스펙트럼 (600 MHz, CDCl_3)을 도시한다;
- 도 83은 화합물 31b의 ^{13}C NMR 스펙트럼 (150 MHz, CDCl_3)을 도시한다;
- 도 84는 화합물 31b의 ^{31}P NMR 스펙트럼 (202 MHz, CDCl_3)을 도시한다;
- 도 85는 화합물 3c의 ^1H NMR 스펙트럼 (600 MHz, D_2O)을 도시한다;
- 도 86은 화합물 3c의 ^{13}C NMR 스펙트럼 (150 MHz, D_2O)을 도시한다;
- 도 87은 화합물 31b의 ^{31}P NMR 스펙트럼 (242 MHz, D_2O)을 도시한다;
- 도 88은 화합물 13c의 ^1H NMR 스펙트럼 (600 MHz, D_2O)을 도시한다;
- 도 89는 화합물 13c의 ^{13}C NMR 스펙트럼 (150 MHz, D_2O)을 도시한다;

도 90은 화합물 3b의 ¹H NMR 스펙트럼 (600 MHz, CDCl₃)을 도시한다;

도 91은 화합물 3b의 ¹³C NMR 스펙트럼 (150 MHz, CDCl₃)을 도시한다; 및

도 92는 화합물 3b의 ³¹P NMR 스펙트럼 (162 MHz, CDCl₃)을 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0059] 본 발명의 실시하기 위한 이하의 상세한 기재에서, 유사 번호는 유사 요소를 나타내며, 또 본 발명이 실시될 수 있는 특정 실시예를 나타내기 위하여 나타낸 첨부한 도면을 참조할 수 있다. 이들 실시는 본 발명을 실시하기 위하여 당업자가 실시할 수 있도록 충분히 자세하게 기재되며, 또 본 발명의 범위로부터 벗어나지 않는 한 다른 실시에도 이용될 수 있고 또 논리적, 기계적, 전기적, 기능적, 조성적 및 기타 변화가 가능함을 알 것이다. 따라서, 이하의 상세한 기재는 본 발명을 제한하려는 것이 아니며, 또 본 발명의 범위는 첨부한 도면에 의해서만 정의된다. 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "or"는 논리적 분리로서 정의되는 것으로 이해되며 또 특별히 다르게 나타내지 않거나 또는 "xor"로서 나타내지 않는 한 배타적 분리를 의미하는 것이 아니다.

[0060] 본 발명은 공지된 뉴라미니다아제 억제제 오셀타미비르 및 항-독감 약물 타미플루® 뿐만 아니라 신규 포스포네이트 동중체에 대한 신규 합성 경로를 제공한다. D-크실로오스는 공지 및 신규 활성 뉴라미니다아제 억제제 합성을 위한 키랄 전구체로서 이용되었다. 신규 포스포네이트 동중체는 H1N1 및 H5N1 바이러스의 야생형 및 H274Y 돌연변이체의 뉴라미니다아제를 억제하는 것에 의해 타미플루®에 비하여 더 우수한 항-독감 활성을 나타낸다.

[0061] 현재 타미플루의 공업적 합성은 출발물질인 천연 산출의 시키믹산(shikimic acid)에 따라 다르다. 그러나, 일정한 순도를 갖는 시키믹산의 유용성은 문제를 초래할 수 있다. 이 합성은 또한 폭발성 아지드 시약 및 중간체의 조작에서 결점을 갖는다. 타미플루의 몇 가지 신규 합성 방법은 시키믹산-독립적 방법을 추구하였다. 타미플루 중의 시클로헥센카복실레이트의 코어 구조를 확립하기 위하여, 다양한 형태의 딜스-알더 반응이 적용되었다. 예컨대, 푸란과 아크릴레이트 사이의 상기 딜스-알더 반응을 실시한 다음, 효소 용해에 의해 타미플루 합성을 위한 키랄 중간체를 얻었다. 유사하게, 1-트리메틸실릴옥시-1,3-부타디엔과 염화 푸마릴의 딜스-알더 반응은 코어 구조를 작성하기 위하여 이용된다; 그러나, 키랄 HPLC에 의해 주요 중간체의 라세미 혼합물을 분리하는 것이 상기 합성 순서에서 필요하다. 다르게는, 촉매적 에난티오머선택적 딜스-알더 반응은 타미플루 합성을 위해 소망하는 키랄 시클로헥센카복실레이트를 얻는다.

[0062] 일 구체예로서, 본 발명은 타미플루, 오셀타미비르, 다양한 포스포네이트 동중체 및 구아니딘 유사체를 에난티오머선택적으로 합리적인 고수율(5.2-13.5%)로 합성하기 위한 신규 합성 방법을 제공한다. 이 합성 경로는 도 3(도식 1)에 나타낸다. 분자내 호너-와드스위츠-에몬스 반응을 실시하여 시클로헥센 카복실레이트 8a 및 포스포네이트 8b를 제공한다. 미쓰노부 방법에 따라 디페닐포스포릴 아지드를 사용하여 치료할 때, 8a/8b 중의 히드록실기는 역전 구조를 갖게 아지도 기에 의해 성공적으로 치환되었다. 일 요지로서, 나트륨 아지드의 유해한 시약은 상기 과정에서 피할 수 있다. 바람직한 요지로서, 합성 도식은 후기 작용화를 허용하며, 이는 의약 화학적 관점에서 활성으로 만든다.

[0063] 신규 합성 도식은 도 3에 도시한다. 도 3에 기재된 시약 및 단계는 다음과 같다: (a) Me₃CCOCl, 피리딘, 0°C, 8h; 89%. (b) PDC, Ac₂O, 환류, 1.5h; HONH₂-HCl, 피리딘, 60°C, 24h; 82%. (c) LiAlH₄, THF, 0°C, 이어 환류 1.5h; 88%. (d) Ac₂O, 피리딘, 25°C, 3h; HCl/1,4-디옥산 (4 M), BnOH, 툴루엔, 0-25°C, 24h; 85%. (e) 2,2'-디메톡시프로판, 툴루엔, 촉매 p-TsOH, 80°C, 4h; 90%. (f) Tf₂O, 피리딘, CH₂Cl₂, -15°C, 2h; EtO₂CCH₂PO(OEt)₂ 또는 H₂C[PO(OEt)₂]₂, NaH, 촉매 15-크라운-5, DMF, 25°C, 24h; 7a의 경우 80% 및 7b의 경우 73%. (g) H₂, Pd/C, EtOH, 25°C, 24h; NaH, THF, 25°C, 1h, 8a의 경우 83%; 또는 NaOEt, EtOH, 25°C, 5h, 8b의 경우 80%. (h) (PhO)₂PON₃, (i-Pr)N=C=N(i-Pr), PPh₃, THF, 25°C, 48h. (i) HCl, EtOH, 환류, 1h; 9a의 경우 83% 및 9b의 경우 74%. (j) Tf₂O, 피리딘, CH₂Cl₂, -15 내지 -10°C, 2h; KNO₂, 18-크라운-6, DMF, 40°C, 24h; 10a의 경우 70% 및 10b의 경우 71%. (k) Cl₃CC(=NH)OCH₂Et₂, CF₃SO₃H, CH₂Cl₂, 25°C, 24h; 11a의 경우 78% 및 11b의 경우 82%. (l) H₂, 린들러 촉매, EtOH, 25°C, 16 h; 3b의 경우 85%. (m) H₃PO₄, EtOH, 40°C, 1h; 1의 경우 91%. (n)

KOH, THF/H₂O, 0-25°C, 1h; 2의 경우 88% 및 14a의 경우 81%. (o) TMSBr, CHCl₃, 25°C, 24h; 수성 NH₄HCO₃, 동결건조; 3의 경우(암모늄 염으로서) 85%, 13b의 경우 72% 및 14b의 경우 75%. (p) N,N'-비스(tert-부톡시카보닐)티오우레아, HgCl₂, Et₃N, DMF, 0-25°C, 10-16 시간; 12a의 경우 78% 및 12b의 경우 58%. (q) TFA, CH₂Cl₂, 0°C, 1h; 13a의 경우 88%. 각 단계에 대한 시약, 반응 조건 및 수율은 이하의 실험 부분에 자세하게 기재되어 있다.

[0064]

다른 방법으로서, 1,4-시클로헥사디엔의 메소-아지리딘 유도체를 제조하여 트리메틸실릴 아지드를 사용한 촉매적 비대칭 개환반응처리시켜 타미플루를 합성하기 위한 플랫폼 방법으로서 작용한다. 치환된 이소프탈산 디에스테르의 Ru-Al₂O₃ 촉매작용된 수소화반응은 모든 치환기 및 디에스테르를 시스-경향으로 갖는 시클로헥산 코어 구조를 제공한다. 메소-디에스테르는 이어 효소적으로 가수분해하여 광학적 활성 모노-산을 얻으며, 이것은 타미플루 합성을 위한 주요한 중간체로 작용한다. 타미플루의 합성은 시클로헥사디엔카복실레이트의 키랄 양이온 철 착물의 아미노화와 함께 개시되는 것으로 밝혀졌고, (1R,2S)-2-페닐시클로헥산올에 의해 유도된 부분입체이성질체의 HPLC 분리에 의해 얻는다. 마지막으로, 5-옥사-비시클로[3.2.1]헥센-4-온의 팔라듐-촉매작용된 비대칭 알릴성 아미노화는 타미플루의 합성에서 주요 단계로 나타난다.

[0065]

본 발명자들은 D-크실로오스를 저렴한 출발물질로서 사용하여 타미플루 및 타미포스포르를 합성하는 것을 발견하였다. 표적 화합물의 시클로헥센 코어는 분자내 호너-와드스위쓰-에몬스 반응에 의해 구조화된다. 이 유연한 합성 방법은 합리적인 전체 수율(5-13%)로 타미플루와 타미포스포르를 제공하지만, 긴 경로(18-19 반응 단계)는 대규모 합성에는 이상적이지 않다. 타미플루 및 타미포스포르를 합성하기 위한 보다 간결하고 실질적인 경로는 도 4에 도시되어 있다.

[0066]

이 과정에서, 에난티오순수한 브로모아렌 시스-1,2-디히드로디올(17)의 출발물질은 시중에서 입수할 수 있고, 또 브로모벤젠의 미생물 산화에 의해 대규모로 용이하게 생성된다. 이들의 독특한 기능 조합으로 인하여, 할로아렌 시스-디히드로디올은 다양한 천연 생성물 및 관련 분자의 합성에 성공적으로 적용되어 왔다. 또한, 브롬 원자는 합성 경로의 후기 단계에서 카복실레이트 및 포스포네이트를 비롯한 다양한 작용기로 전환될 수 있다. 따라서, 이 합성 도식은 타미플루, 타미포스포르 및 기타 유도체에 대한 주축으로서 보통 중간체, 예컨대 26 및 29를 사용하는데 유용하다. 이러한 후기 작용화는 의약 화학적 관점에서 특히 매력적이다.

[0067]

이 합성 계획을 기초로, (1S,2S)-시스-디올 17의 아세트아미드는 0°C에서 CH₃CN 중의 N-브로모아세트아미드 (NB A)과의 SnBr₄-촉매작용된 브로모아세트아미드화 반응에 처리하여 도 4에 도시된 바와 같이 위치선택적 및 입체선택적 방식으로 브로모아미드 19를 생성하였다. 19의 구조는 X-선 회절 분석에 의해 확인한다 (실시예 31 이하 참조). 이 반응은 입체장애가 덜된 면 상에서 브로모늄 이온을 형성한 다음, 알릴성 C-5 위치에서 아세트아미드의 선택적 후면 공격에 의해 진행하였다. LHMDS (1.1 당량) 존재하에서, 브로모아미드 19는 아지리딘 20으로 전환되고, 3-펜탄올을 사용한 BF₃-매개된 개환반응에 처리되어 화합물 22를 73% 수율로 얻었다. 보호기제거 후, 시스-디올 23은 α-아세톡시이소부틸릴 브로마이드와 처리되어 상응하는 트랜스-2-브로모시클로헥실 아세테이트 24를 얻었다. 진술한 예와 유사하게, 상기 반응은 아세톡시늄 이온의 중간체 형성, 및 알릴성 C2 위치에서 브로마이드 이온의 후면(backside) 공격을 포함할 수 있다. 24와 3 당량의 LiBHET₃(Super-Hydrate®)의 반응은 C1 및 C2 위치에서 아세틸기 및 브롬 원자의 동시 환원에 의해 투명 생성물 25을 82% 수율(23으로부터)로 얻었다. 미쓰노부의 방법에 따라 디페닐포스포릴 아지드(DPPA)를 사용한 치료시, 25에 있는 히드록실 기는 성공적으로 역전(inversed) 구조의 아지도기에 의해 치환되어, 26을 84% 수율로 얻었다. 소량(2%)의 디엔 27이 또한 물 분자의 제거에 의해 생성된 부생성물로서 발견되었다. 주축 화합물 26은 유기금속 커플링반응처리되어 소망하는 카복실 및 포스포닐 기를 혼입한다. 따라서, EtOH 존재하에서 26과 Ni(CO)₂(PPh₃)₂의 반응은 에틸 에스테르 28a를 81% 수율로 얻었다. 반면에, 26과 디에틸 포스파이트의 포스포닐화는 Pd(PPh₃)₄의 촉매작용에 의해 달성되어 포스포네이트 28b를 83% 수율로 얻었다. 28a 및 28b 중의 아지도 기를 아민으로 환원한 후, 앞에서 보고한 과정에 따라서 타미플루 및 타미포스포르를 합성하였다.

[0068]

상술한 합성방법은 아지드-유리 과정에 의해 더욱 개선된다. 본 발명자들은 테트라부틸암모늄 시아네이트가 도 5에 도시된 바와 같이 아민 작용성의 양호한 공급원이라는 것을 알아내었다. 도 5에 도시된 바와 같이, 알코올 25은 Bu₄NOCN/PPh₃/DDQ 와 반응하여 이소시아네이트 중간체를 생성하며, 이것은 다시 t-BuOH에 의해 처리되어 카바메이트 29를 78% 수율로 얻었다. 디에틸 포스파이트를 사용한 Pd-촉매작용된 커플링 반응을 실시하여 포스포네이트 31b를 형성하며, 또 온화한 조건하의 TMSBr를 이용하여 Boc 및 에틸 기를 동시에 제거하는 것에 의해

타미포스포르를 합성하였다. 독성 $\text{Ni}(\text{CO})_2(\text{PPh}_3)_2$ 의 화학양론적 양 사용을 피하기 위하여, 29의 Pd-촉매작용된 카보닐화를 시도하였으나, 성공하지는 못했다. 다르게는, 브로마이드 29는 더욱 활성인 요오다이드 유사체 30로 전환되며, 또 Pd-촉매작용된 카보닐화는 고 수율로 실현되어, 카복실레이트 31a를 생성하였다. 마지막으로, 31a를 H_3PO_4 와 처리하여 원-팟(one-pot) 작업으로 Boc 기의 절단 및 포스포네이트 염의 형성을 통하여 타미플루를 생성하였다.

[0069] 결론적으로, 타미플루 및 타미포스포르는 브로모벤젠의 미생물 산화로부터 공급될 수 있는 브로모아렌 시스-디올 19의 용이하게 입수가 가능한 물질을 사용하여 11-단계 반응 수순을 통하여 전체 수율 21-26%로 합성하였다. 모든 반응은 위험한 중간체 또는 독성 시약을 사용하지 않고 취급되었다. 대부분의 반응이 위치선택적 및 입체선택적 방식으로 생겨서 결정성 생성물을 생성하기 때문에, 단리(isolation) 과정이 비교적 간단하고, 비용 효과적이다. 이 연구에서는 그램 규모의 합성만이 도시되었지만, 타미플루 및 타미포스포르의 대규모 합성은 항-독감 약물의 개발을 위해 유망하다.

[0070] 포스포네이트 디에스테르의 기본적 가수분해를 이용하여 포스포네이트 모노에스테르를 얻는 것은 당해 분야에 공지되어 있다. 따라서 포스포네이트 모노에스테르는 본 발명의 제1 요지로서 고려될 수 있다. 모노에스테르의 합성은 화합물 3c에 대해서는 도 7에 도시되어 있고 또 화합물 13c에 대해서는 도 8에 도시되어 있다. 이들 각각은 화합물 3c 및 13c를 각각 합성하기 위한 출발 화합물 31b 또는 12b로부터 본 명세서에 기재된 다른 합성 과정으로부터 용이하게 합성된다.

[0071] 본 발명의 조성물은 경우에 따라 본 명세서에 기재된 화합물의 염, 특히 예컨대, Na^+ , Li^+ , K^+ , Ca^{++} 및 Mg^{++} 를 함유하는 약학적으로 허용되는 비-독성 염을 포함한다. 이러한 염은 알칼리 및 알칼리 토금속 이온 또는 암모늄 및 산 음이온 잔기를 갖는 4급 아미노 이온과 같은 적절한 양이온의 조합에 의해 유도된 것을 포함할 수 있다.

[0072] 금속 염은 금속 산화물을 본 발명의 화합물과 반응시켜 제조할 수 있다. 이 방식으로 제조된 금속 염의 예는 Na^+ , Li^+ , K^+ 를 함유하는 염이다.

[0073] 또한, 염은 특정 유기산 및 무기산, 예컨대, HCl , HBr , H_2SO_4 , 또는 유기 설폰산을 염기성 중앙, 전형적으로 아민, 또는 산성 기에 산 부가하는 것으로부터 형성될 수 있다. 마지막으로, 본 발명의 조성물은 이온화되지 않은 본 발명의 화합물 뿐만 아니라 쯔비터 이온형의 화합물 및 수화물에서와 같이 화학양론적 양의 물과 조합된 형태인 화합물을 포함하는 것으로 이해된다. 본 발명의 다른 요지는 뉴라미니디아제를 함유하는 것으로 추정되는 샘플을 본 발명의 화합물로 처리하는 단계를 포함하는 뉴라미니디아제의 활성을 억제하는 방법에 관한 것이다.

[0074] 본 발명의 화합물은 통상의 실시예에 따라 선택될 수 있는 통상적인 담체 및 부형제와 함께 제형화된다. 제형은 부형제, 운할제, 충전제, 결합제 등을 함유할 것이다. 수성 제형은 멸균 형태로 제조되며, 또 경구 투여 이외에 의해 전달하려고 할 때, 일반적으로 등장일 것이다. 모든 제형은 본 명세서에 참고문헌으로 포함된 "Handbook of Pharmaceutical Excipients" (1986)에 기재된 것과 같은 부형제를 경우에 따라 함유할 것이다. 부형제는 아스코르브산 및 기타 산화방지제; EDTA와 같은 킬레이트제; 텍스트린, 히드록시알킬셀룰로오스, 히드록시알킬메틸셀룰로오스, 스테아르산 등과 같은 탄수화물을 포함한다. 제형의 pH는 약 pH 3 내지 약 pH 11 범위이지만, 통상은 약 pH 7 내지 pH 10이다.

[0075] 본 발명의 1 이상의 화합물(활성성분으로 지칭함)은 치료할 조건에 적절한 경로에 의해 투여될 수 있다. 적합한 경로는 경구 투여, 직장 투여, 경비투여, 국소투여 (볼내 투여 및 설하투여 포함), 질내투여 및 비경구 투여(피하투여, 근육내 투여, 정맥내 투여, 경피 투여, 경막내 투여 및 경질막내 투여) 등을 포함한다. 바람직한 경로는 예컨대 수용자의 상태에 따라 다를 수 있음은 잘 알고 있을 것이다.

[0076] 활성성분은 단독으로 투여될 수 있지만, 약학적 제형으로 제공하는 것이 바람직할 수 있다. 수의과용 및 인간 사용을 위한 본 발명의 제형은 상기 정의된 바와 같은 적어도 1개의 활성 성분과 함께 1 이상의 허용되는 담체 및 경우에 따라 다른 치료 성분을 포함한다. 담체는 제형의 다른 성분과 혼화성이고 또 수용자에 대해 생리학적으로 무독성인 점에서 "허용가능"해야 한다.

[0077] 제형은 상술한 투여 경로에 적합한 것을 포함한다. 제형은 단일 투여 형태로 유리하게 제공될 수 있고 또 약학 분야에 잘 공지된 방법에 의해 제조될 수 있다. 일반적인 수법 및 제형은 Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Co., Easton, Pa.)에서 찾아 볼 수 있다. 이러한 방법은 1 이상의 보조 성분을 구

성하는 담체와 활성성분을 조합하기 위한 단계를 포함한다. 일반적으로 제형은 활성성분을 액체 담체 또는 미세하게 분쇄된 고체 담체 또는 이들 모두와 균일하게 또 긴밀하게 조합한 다음, 필요에 따라, 생성물을 성형하는 것에 의해 제조한다.

- [0078] 경구 투여에 적합한 본 발명의 제형은 소정량의 활성성분을 함유하는 캡셀, 카세제 또는 정제와 같은 불연속 단위; 분말 또는 과립으로서; 수성 액체 또는 비수성 액체 중의 용액 또는 현탁액; 또는 o/w 액체 에멀전 또는 w/o 액체 에멀전으로서 제조한다. 활성성분은 또한 볼루스(bolus), 연질약 또는 페이스트로서 제공될 수 있다.
- [0079] 정제는 경우에 따라 1 이상의 보조 성분과 함께 압축 또는 성형하는 것에 의해 제조한다. 압축된 정제는 적합한 기기에서 경우에 따라 결합제, 윤활제, 불활성 회석제, 보존제, 표면 활성 또는 분산제와 혼합된 분말 또는 과립과 같은 유리 자유 유동 형태로 압축함으로써 제조할 수 있다. 성형 정제는 적합한 기기에서 불활성 액체 회석제에 의해 습윤화된 분말화된 활성 성분의 혼합물을 성형하는 것에 의해 제조할 수 있다. 정제는 경우에 따라 코팅되거나 또는 스코어링될 수 있고 또 경우에 따라 제형화되어 활성성분의 느린 또는 제어되는 방출을 제공한다.
- [0080] 눈 또는 기타 외부 조직, 예컨대 입과 피부의 감염에 대해서는, 제형은 바람직하게는 예컨대, 0.075 내지 20% w/w (0.1% 내지 20% 범위의 활성성분 포함, 0.6% w/w, 0.7% w/w, 등과 같이 0.1% w/w 증가하는), 바람직하게는 0.2 내지 15% w/w 또 가장 바람직하게는 0.5 내지 10% w/w의 양으로 활성성분을 함유하는 국소 연고 또는 크림으로서 도포된다. 연고로서 제형화될 때, 활성성분은 파라핀 또는 물 혼화성 연고 염기에 의해 적용된다. 다르게는, 활성성분은 o/w 크림 베이스를 갖는 크림으로 제형화될 수 있다.
- [0081] 필요한 경우, 크림 베이스의 수성 상은 예컨대, 적어도 30% w/w의 다가 알코올, 즉 프로필렌 글리콜, 부탄 1,3-디올, 만니톨, 소르비톨, 글리세롤 및 폴리에틸렌 글리콜 (PEG 400 포함) 및 그의 혼합물과 같은 2 이상의 히드록실기를 갖는 알코올을 포함할 수 있다. 국소 제형은 바람직하게는 피부 또는 기타 영향을 받는 영역을 통하여 활성성분의 흡수 또는 침투를 향상시키는 화합물을 포함할 수 있다. 이러한 경피 침투 향상제의 예는 디메틸실록사이드 및 관련된 유사체를 포함한다.
- [0082] 본 발명의 에멀전의 오일 상은 공지 성분으로부터 공지 방식으로 구성될 수 있다. 상기 상은 유화제(이노제로서도 공지됨)를 포함할 수 있는 한편, 적어도 1개의 유화제와 지방 또는 오일과의 혼합물을 포함한다. 바람직하게는, 친수성 유화제는 안정화제로서 작용하는 친유성 유화제와 함께 포함된다. 오일 및 지방을 모두 포함하는 것이 또한 바람직하다. 함께, 안정화제를 갖거나 또는 갖지 않는 유화제는 소위 유화 왁스를 구성하며, 또 오일 및 지방과 함께 왁스는 크림 제형의 오일 분산된 상을 형성하는 소위 유화 연고 베이스를 구성한다.
- [0083] 본 발명의 제형에 사용하기에 적합한 이노제 및 에멀전 안정화제는 Tween™ 60, Span™ 80, 세토스테아릴 알코올, 벤질 알코올, 미리스틸 알코올, 글리세릴 모노-스테아레이트 및 나트륨 라우릴 설페이트를 포함한다.
- [0084] 제형용으로 적합한 오일 또는 지방의 선택은 소망하는 화장품 특성을 달성하는 것을 기본으로 한다. 크림은 튜브 또는 기타 용기로부터 누출을 피하기 위하여 바람직하게는 적합한 컨시스턴시를 갖는 비-지성, 비염색 및 세정성 생성물이어야 한다. 직쇄 또는 측쇄, 일- 또는 이염기성 알킬 에스테르, 예컨대 코코넛 지방산의 디이소아디페이트, 이소세틸 스테아레이트, 프로필렌 글리콜 디에스테르, 이소프로필 미리스테이트, 데실 올레에이트, 이소프로필 팔미테이트, 부틸 스테아레이트, 2-에틸헥실 팔미테이트 또는 Crodamol CAP로 공지된 측쇄 에스테르의 블렌드가 사용될 수 있고, 가장 나중엔 언급한 3개가 바람직한 에스테르이다. 이들은 단독으로 사용되거나 또는 필요한 특성에 따라서 조합되어 사용될 수 있다. 다르게는, 백색 연질 파라핀 및/또는 액체 파라핀 또는 기타 미네랄 오일과 같은 고융점 지질이 사용된다.
- [0085] 눈에 국소 투여하기에 적합한 제형은 점안제(eye drops)를 포함하며, 이때 활성성분은 적합한 담체, 특히 활성성분에 대한 수성 용매에 용해되거나 현탁된다. 활성성분은 바람직하게는 0.5 내지 20%, 유리하게는 0.5 내지 10%, 특히 약 1.5% w/w의 농도로 그러한 제형에 존재한다.
- [0086] 입에 국소 투여하기에 적합한 제형은 향미 기체의 활성 성분, 통상 수크로오스 및 아카시아 또는 트라가칸트를 포함하는 로젠지; 불활성 기체의 활성 성분, 예컨대 젤라틴 및 글리세린, 또는 수크로오스 및 아카시아를 포함하는 파스틸; 및 적합한 액체 담체 중에 활성성분을 포함하는 구강세정제를 포함한다.
- [0087] 직장 투여에 적합한 제형은 예컨대 코코아 버터 또는 살리실레이트를 포함하는 적합한 베이스를 갖는 좌약을 포함한다.
- [0088] 폐 내 또는 코 내에 투여하기에 적합한 제형은 예컨대 0.1 내지 500 미크론 범위의 입자 크기(0.5, 1, 30 미크

론, 35 마이크론 등과 같이 마이크론 증분으로 증가하여 0.1 내지 500 마이크론 범위의 입자 크기를 포함)를 가지며, 코 통로를 통한 급속한 흡입에 의해 또는 폐포낭에 도달하기 위하여 입을 통한 흡입에 의해 투여된다. 적합한 제형은 활성성분의 수성 또는 오일성 용액을 포함한다. 에어로졸 또는 건조 분말 투여에 적합한 제형은 통상의 방법에 따라 제조될 수 있으며 또 인플루엔자 A 또는 B 감염의 치료 또는 예방에 지금까지 사용된 화합물과 같은 다른 치료제와 함께 전달될 수 있다.

[0089] 질내 투여에 적합한 제형은 활성성분 이외에 당해 분야에 적절한 것으로 공지된 담체를 함유하는, 페서리(pessaries), 탐폰, 크림, 젤, 페이스트, 폼, 또는 스프레이 제형으로서 제공될 수 있다.

[0090] 비경구 투여에 적합한 제형은 제형이 의도하는 수용자의 혈액과 등장이 되게 하는 산화방지제, 완충액, 세균발육저지제 및 용질을 함유할 수 있는 수성 및 비수성 멸균 주사용액; 및 현탁제 및 증점제를 포함할 수 있는 수성 및 비수성 멸균 현탁액을 포함한다.

[0091] 상기 제형들은 예컨대 밀봉된 앰플 및 바이얼과 같이 단일 투여량 또는 다수투여량 용기에 제공되며, 또 멸균 액체 담체의 부가, 예컨대 주사액의 경우 사용하기 직전에 물의 부가만을 필요로 하는 냉동-건조된(동결건조된) 조건에서 저장될 수 있다. 앞에서 기재한 종류의 멸균 분말, 과립 및 정제로부터 즉각적인 주사용액 및 현탁액을 제조한다. 바람직한 단위 투여 제형은 본 명세서에 기재한 바와 같이 매일의 투여량 또는 단위 매일 투여량 이하를 함유하거나, 또는 활성성분의 적절한 일부를 함유할 수 있다.

[0092] 특히 상술한 성분 이외에, 본 발명의 제형은 고려하는 제형의 유형에 관하여 당해 분야에서 통상적인 다른 물질을 포함할 수 있으며, 예컨대 경구 투여에 적합한 것은 향미제를 포함할 수 있음을 이해해야 한다.

[0093] 본 발명은 또한 상기 정의한 적어도 1개의 활성 성분과 함께 그를 위한 수의과 담체를 포함하는 수의과용 조성물을 제공한다. 수의과용 담체는 조성물을 투여하기 목적에 유용한 물질이며 또 활성성분에 불활성이거나 수의과 분야에서 허용되며 또 활성성분과 혼화성인 고체, 액체 또는 기체상 물질일 수 있다. 이들 수의과용 조성물은 경구적으로, 비경구적으로 또는 기타 다른 바람직한 경로에 의해 투여될 수 있다. 본 발명의 화합물은 활성성분의 방출이 제어되고 또 투여 빈도를 적게 하거나 또는 프로드럭 또는 소정 활성성분의 독성 프로파일을 개선하도록 조절되는 본 발명의 1 이상의 화합물을 활성 성분으로 함유하는 방출 제어 약학적 제형("제어 방출 제형")을 제공하기 위해 사용된다. 활성성분의 효과적인 투여량은 처리할 상태의 성질, 독성, 화합물이 예방적으로 (더 적은 투여량) 사용되는지 아니면 활성 인플루엔자 감염에 대하여 사용되는지 여부, 전달 방법, 및 약학적 제형에 따라서 달라지며, 또 통상적인 투여량 증진 연구를 이용하여 임상가가 결정할 것이다. 약 0.0001 내지 약 100 mg/kg 체중/일일 것으로 예상될 수 있다. 전형적으로, 약 0.01 내지 약 10 mg/kg 체중/일이다. 더욱 전형적으로, 약 0.01 내지 약 5 mg/kg 체중/일이다. 더욱 전형적으로, 약 0.05 내지 약 0.5 mg/kg 체중/일. 예컨대, 흡입의 경우 약 70 kg 체중의 성인 인간에 대한 매일 투여량 후보는 1 mg 내지 1000 mg, 바람직하게는 5 mg 내지 500 mg이며, 또 단일 또는 다수 투여량 형태를 취할 수 있다.

[0094] 일 구체예로서, 본 발명의 활성성분은 다른 활성성분과 조합되어 사용된다. 이러한 조합은 치료할 상태, 성분의 교차반응성 및 조합물의 약리학적 특성을 기초로 하여 선택된다. 예컨대, 호흡계의 바이러스 감염을 치료할 경우, 특히 인플루엔자 감염의 경우, 본 발명의 조성물은 항바이러스제(예컨대 아만티딘, 리만타딘 및 리바비린), 점액용해제, 거담제, 기관지확장제, 항생물질, 해열제, 또는 진통제와 조합될 수 있다. 보통, 항생물질, 해열제, 및 진통제는 본 발명의 화합물과 함께 투여된다.

[0095] 본 발명의 다른 구체예는 본 명세서에 기재된 화합물의 생체내 대사 생성물도 포함하며, 이러한 생성물은 종래 기술에 비하여 신규하고 비자명해야 한다. 이러한 생성물은 투여된 화합물의 예컨대 산화, 환원, 가수분해, 아미노화, 에스테르화 등에 의해 얻으며, 주로 효소적 방법에 기인한다. 따라서 본 발명은 본 발명의 화합물을 그의 대사성 생성물을 얻기에 충분한 시간 동안 포유동물과 접촉시키는 것을 포함하는 방법에 의해 생성된 신규하고 비자명한 화합물을 포함한다. 이러한 생성물은 전형적으로 본 발명의 방사성표지된 (예컨대 ¹³C 또는 ³H) 화합물을 제조하고, 이것을 검출가능한 양(예컨대 약 0.5 mg/kg 이상)으로 비경구적으로 랫트, 마우스, 기니아 피그, 원숭이, 또는 사람에게 투여하고, 대사가 일어나기에 충분한 시간(전형적으로 약 30초 내지 30 시간)을 보낸 다음 요, 혈액 또는 기타 생물학적 샘플로부터 그의 전환 생성물을 분리하는 것에 의해 확인한다. 이들 생성물은 방사능표지되어 있기 때문에 용이하게 분리할 수 있다 (다른 것들은 대사물에서 생존하는 항원결정인자를 결합할 수 있는 항체를 사용하여 분리함). 대사물 구조는 예컨대 MS 또는 NMR 분석과 같은 통상의 방식으로 결정한다. 일반적으로, 대사물의 분석은 당업자에게 공지된 통상의 약물 대사 연구에서 실시되는 방식으로 실시한다. 전환 생성물이 생체 내에서 발견되지 않는 한 전환 생성물은 이들 자신의 뉴라미니다아제 억제제 활성을 보

유하지 않더라도 본 발명의 화합물의 치료 투여량에 대한 진단 에세이에서 유용하다.

- [0096] 신규 포스포네이트 동종체의 프로드럭(prodrug)도 고려할 수 있다. 극성 포스포네이트 및 구아니디늄 기는 프로드럭 및/또는 약역학 특성을 향상시키기 위하여 당해 분야에 공지된 수법에 의해 경우에 따라 더욱 작용화될 수 있다. 예컨대, 프로드럭의 제형 및 용도, 예컨대 아실옥시메틸- 및 아릴 포스포네이트 에스테르는 경구 생체이용율을 향상시키기 위하여 이용될 수 있다 (Krise and Stella, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 1996, 19, 287).
- [0097] 본 발명의 일 요지로서, 뉴라미니다아제를 함유할 것으로 추정되는 샘플은 살아있는 생물; 조직 또는 세포 배양액; 생물학적 샘플, 예컨대 생물학적 물질 샘플(혈액, 혈청, 요, 뇌척수액, 눈물, 가래, 타액, 조직 샘플, 등); 실험실 샘플; 식품, 물, 또는 공기 샘플; 바이오프로덕트(bioprodukt) 샘플, 예컨대 세포 추출물, 특히 소망하는 당단백질을 합성하는 재조합 세포 등과 같은 천연 또는 인간이 만든 물질을 포함한다. 전형적으로, 샘플은 뉴라미니다아제를 생성하는 생물, 흔히 바이러스와 같은 병원성 생물을 함유하는 것으로 추정된다. 샘플은 물 및 유기 용매/물 혼합물을 포함하는 배지에 함유될 수 있다. 샘플은 인간과 같은 살아있는 생물, 및 세포 배양액과 같은 인간이 만든 물질을 포함한다.
- [0098] 본 발명의 처리 단계는 본 발명의 조성물을 샘플에 추가하는 것을 포함하거나 또는 상기 조성물의 전구체를 샘플에 추가하는 것을 포함한다. 상기 추가 단계는 상술한 바와 같은 투여 방법을 포함한다. 필요한 경우, 조성물의 적용 이후 뉴라미니다아제의 활성은 뉴라미니다아제 활성을 검출하는 직접적인 방법 및 간접적인 방법을 비롯한 임의 방법으로 관찰할 수 있다. 뉴라미니다아제 활성을 측정하는 정량적, 정성적 및 반정량적 방법을 모두 고려할 수 있다. 전형적으로, 상술한 스크리닝 방법 중의 하나를 적용하지만, 생존 생물의 생리학적 특성을 관찰하는 것과 같은 다른 방법도 또한 적용할 수 있다.
- [0099] 뉴라미니다아제를 함유하는 생물은 세균 [비브리오 콜레라에(*Vibrio cholerae*), 클로스트리듐 퍼프링겐스(*Clostridium perfringens*), 스트렙토코커스 뉴모니아에(*Streptococcus pneumoniae*), 및 아르트로박터 시알로필루스(*Arthrobacter sialophilus*)] 및 바이러스[특히 오르쏘믹소바이러스(*orthomyxo virus*) 또는 파라믹소바이러스(*paramyxo virus*), 예컨대 인플루엔자 바이러스 A (예컨대 H1N1, H5N1), 및 비. 파라인플루엔자 바이러스, 볼거리 바이러스, 뉴캐슬병 바이러스, 가금류 유행병 바이러스, 및 센다이 바이러스]를 포함한다. 이들 생물에서 유래하거나 발견되어 얻어지는 뉴라미니다아제 활성의 억제체는 본 발명의 범위에 속한다. 인플루엔자 바이러스의 바이러스학은 "Fundamental Virology" (Raven Press, New York, 1986), Chapter 24 에 기재되어 있다. 본 발명의 화합물은 오리 및 기타 조류, 설치류, 돼지와 같은 동물, 또는 인간에서 기존의 인플루엔자 감염의 예방 또는 인플루엔자 감염의 치료에 유용하다.
- [0100] 본 발명의 조성물은 효소 활성을 평가하기 위한 통상의 수법에 의해 뉴라미니다아제에 대한 억제 활성에 대해 스크리닝된다. 본 발명의 범위내에서, 전형적으로 시험관에서 뉴라미니다아제 억제체를 나타내는 조성물을 먼저 스크리닝하고 또 억제 활성을 나타내는 조성물을 스크리닝한 다음 생체내에서 활성인 조성물을 스크리닝한다. 약 5×10^{-6} M 미만, 전형적으로 약 5×10^{-7} M 미만, 바람직하게는 약 5×10^{-8} M 미만의 시험관 내 K_i (억제 상수)를 갖는 조성물이 생체내 사용에 바람직하다.
- [0101] 시험관내 스크린에 유용한 것은 자세히 기재되어 있고 여기에는 포함시키지 않는다. (Itzstein, M. von et al.; "Nature", 363 (6428):418-423(1993); Potier, M.; et al.; "Analyt. Biochem.", 94:287-296(1979); Chong, A. K. J.; et al.; "Biochem. Biophys. Acta", 1077:65-71(1991); and Colman, P. M.; et al.; 국제 공보 번호 WO 92/06691(Int. App. No. PCT/AU90/00501, 공고일 1992년 4월 30일).
- [0102] 생체내 스크린은 또한 예컨대, Itzstein, et al., 1993, 특히 421 페이지, 칼럼 2, 첫 번째 단락 내지 423 페이지, 칼럼 2, 첫 번째 부분적 단락, 및 Colman, p. 36에 자세하게 기재되어 있다. 본 명세서의 NAI는 다양한 인플루엔자 바이러스 뉴라미니다아제에 대한 억제 활성에 대해 시험하였다. 표 1은 야생형 및 돌연변이체 인플루엔자 바이러스 뉴라미니다아제에 대한 억제 활성을 나타낸다.

표 1

화합물	뉴라미니다아제 억제, IC ₅₀ (nM)			
	Wt (WSN) ^a	Mut (WSN) ^b	Wt (하노이) ^c	Mut (하노이) ^d
2	5.90 (± 0.62)	295 (± 31)	62.9 (± 5.7)	971 (± 54)
3^e	0.30 (± 0.05)	526 (± 44)	13.3 (± 1.0)	1210 (± 490)
13a	4.10 (± 0.51)	252 (± 31)	160 (± 32)	1150 (± 380)
13b^e	0.12 (± 0.02)	7.39 (± 0.67)	1.82 (± 0.11)	19.5 (± 1.4)
14a	36700	ND ^f	ND ^f	ND ^f
14b^e	3200	ND ^f	ND ^f	ND ^f

[0103]

[0104]

^a인플루엔자 바이러스 A/WSN/1933(H1N1)으로부터 뉴라미니다아제(NA). ^b인플루엔자 바이러스 A/WSN/1933 (H1N1)으로부터 NA(H274Y). ^c인플루엔자 바이러스 A/하노이/30408/2005 (H5N1)로부터 NA. ^d인플루엔자 바이러스 A/하노이/30408/2005 (H5N1)으로부터 NA (H274Y). ^e도 3에서 도시된 암모늄으로서. ^f측정되지 않음.

[0105]

포스포네이트 동종체, 3(타미포스포르) 대 오셀타미비르 2 및 구아니딘 13b 대 13a의 더 강력한 효능은 H1N1 및 H5N1 인플루엔자 바이러스의 야생형 뉴라미니다아제에서 관찰되었다(표 1). 화합물 3 및 2는 야생형 효소에 비하여 H274Y의 NAI 내성 돌연변이체에 대하여 현저히 적은 효능을 나타낸다. 그럼에도 불구하고, 포스포네이트 화합물 13b는 낮은 nM 농도에서 돌연변이체 효소를 억제하는 효과적인 억제제이다. 2 및 3과 비교하여 3-히드록실 위치에서 펜틸옥시기가 결여된 화합물 14a 및 14b는 열등한 NAI 활성을 나타낸다. 표 2는 오셀타미비르 2, 포스포네이트 동종체 3 및 관련 유사체의 뉴라미니다아제 억제, 항-인플루엔자, 및 세포독성 활성을 나타낸다.

표 2

화합물	K _i (nM) ^a	EC ₅₀ (nM) ^b	CC ₅₀ (μM) ^c	S.I. ^d
2	2.90 (± 0.30)	31.3 (± 3..5)	> 100	> 3200
3^e	0.15 (± 0.02)	4.67 (± 0.68)	74 (± 5.7)	15800
13a	2.02 (± 0.25)	5.60 (± 1.2)	> 100	> 17800
13b^e	0.06 (± 0.01)	0.09 (± 0.02)	~ 5	~ 56000

[0106]

[0107]

^a인플루엔자 바이러스 A/WSN/1933(H1N1)으로부터 뉴라미니다아제 억제. K_i 값은 프프루소프(Cheng-Prusoff) 방정식을 이용하여 측정하였다. ^b독감(A/WSN/1933) 감염에 기인한 CPE 효과의 50% 보호에 대한 NA 억제 농도. ^c사용된 최고 농도는 MDCK 세포에 대한 세포독성의 에세이에서 100 μM이다. ^d선택율 지수, EC₅₀에 대한 CC₅₀의 비율. ^e도 3에 도시된 암모늄 염으로서.

[0108]

본 발명의 일 실시양태로서, 포스포네이트 3은 K_i 및 EC₅₀값이 0.15 및 4.67 nM (표 2)인 인플루엔자 H1N1 바이러스에 대한 강력한 NA 억제제 및 항-독감제이다. 대조적으로, 포스포네이트 3은 오셀타미비르에 비하여 NA 억제 및 항-독감 에세이에서 19배 내지 7배 정도 더 강력하다. 포스포네이트 3은 다수의 농도에서 숙주 MDCK 세포에 대한 성장 억제를 결정하기 위하여 더욱 평가하였다. 포스포네이트 3의 연역된 CC₅₀ 값은 74 μM이었다.

15800 이상의 높은 선택율을 나타내는 포스포네이트 3은 숙주 MDCK 세포에 대하여 독성을 갖지 않는 H1N1 바이러스에 대하여 강력한 항균제이다. 3에 있는 아미노기를 구아니디노 기로 치환함으로써, 포스포네이트 13b은 항상된 NA 억제($K_i = 0.06 \text{ nM}$) 및 항-독감 활성 ($EC_{50} = 0.09 \text{ nM}$)를 나타낸다. 앞에서 보고한 것과 유사하게, 구아니디늄 기는 Glu119, Asp151 및 Glu227의 잔기와 강한 정전 상호작용을 발휘할 수 있다.

[0109] 일 요지로서, 본 연구에 기재된 포스포네이트 동종체는 H1N1 및 H5N1의 야생형 뉴라미니다아제에 대하여 카복실레이트 동종체보다 훨씬 더 강력하다. 또한, 화합물 13b는 H5N1 뉴라미니다아제의 H274Y 돌연변이체에 대하여 19 nM에서 효과적인 억제제이다.

[0110] 본 발명의 다른 구체예에서, 본 발명의 화합물은 생체내에서 인플루엔자 감염을 치료하기 위해 사용된다. 본 발명의 NAI는 마우스 생체내에서 시험하였다. 마우스는 경구 위관영양(gavage)으로 매일 2회씩 5일간 약물로 처리하였다. 약물을 처음 투여한 지 4시간 후, 마우스에 10 MLD₅₀ 25 μL의 감염성 인플루엔자 바이러스 [A/WSN/33(H1N1) 또는 NIBRG-14(H5N1)]에 의해 접종하였다. 이 마우스들을 생존 및 체중에 대하여 14일간 매일 관찰하였다. 표 3은 화합물 3 및 3b, 그리고 타미플루를 사용한 마우스에서 A/WSN/33(H1N1) 인플루엔자 바이러스 감염 치료의 효과를 나타낸다.

표 3

화합물	투여량 (mg/kg/일) ^a	% 생존율 ^b	치사에 이르기까지 평균 일수 ^c
		0 (0) ^b	4.6
1 (타미플루)	10	0 (100) ^b	9.8
	1	0 (40) ^b	7.1
	0.1	0 (20) ^b	6.4
	0.01	0 (0) ^b	5.6
3	10	90 (100) ^b	11
	1	50 (100) ^b	9.8
	0.1	0 (100) ^b	9.3
	0.01	0 (10) ^b	4.7
3b	10	0 (100) ^b	9.6
	1	0 (100) ^b	8.9
	0.1	0 (60) ^b	7.8
	0.01	0 (30) ^b	7.0

[0111]

[0112] ^a 화합물은 표시한 인플루엔자 바이러스로 감염되기 4시간 전에 하루에 2회씩 5일간경구 투여하였다

[0113] ^b 생존자 수/처리한 전체 수. 첫 번째 수는 14일에서 % 생존율을 나타내고, 또 괄호 안에 나타낸 수는 7일에서 % 생존율을 나타낸다.

[0114] ^c 14일 이전에 죽어가는 마우스가 치사에 이르는 평균 일수

[0115] 마우스에서 NIBRG-14(H5N1) 인플루엔자 A 바이러스 감염에 대한 화합물 3 및 3b, 그리고 타미플루를 사용한 생존율의 치료 효과는 표 4에 나타낸다.

표 4

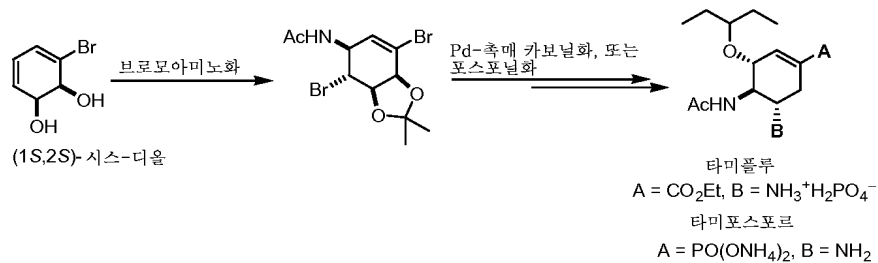
화합물	투여량 (mg/kg/day) ^a	% 생존율 ^b	치사에 이르는 평균 일수 ^c
대조군		0 (0) ^b	3.9
1 (타미플루)	10	10 (100) ^b	9.4
	1	0 (40) ^b	7.6
	0.1	0 (0) ^b	5.3
	0.01	0 (0) ^b	5.3
3	10	10 (100) ^b	9.1
	1	0 (60) ^b	8.7
	0.1	0 (0) ^b	5.6
	0.01	0 (0) ^b	5.7
3b	10	0 (100) ^b	9.5
	1	0 (20) ^b	7.3
	0.1	0 (0) ^b	5.3
	0.01	0 (0) ^b	4.9

[0116]

- [0117] ^a 화합물은 표시한 인플루엔자 바이러스로 감염되기 4시간 전에 하루에 2회씩 5일간경구 투여하였다
- [0118] ^b 생존자 수/처리한 전체 수. 첫 번째 수는 14일에서 % 생존율을 나타내고, 또 괄호 안에 나타낸 수는 7일에서 % 생존율을 나타낸다.
- [0119] ^c 14일 이전에 죽어가는 마우스가 치사에 이르는 평균 일수

[0120] NA와의 착물에서 화합물 3의 분자 모델링은 화합물 3을 인플루엔자 바이러스 뉴라미니다아제 (N1 서브타입, PDB 코드: 2HU4)의 결정학적 구조에 도킹(docking)시키는 것을 통하여 작성하였다. 화합물 3의 3-D 구조는 오셀타미비르 2(2HU4로부터)의 3-D 구조를 SYBYL 7.3를 이용하여 변경함으로써 작성하였다. 본 발명의 일 요지로서, 뉴라미니다아제-포스포네이트 착물의 분자 모델링은 포스포네이트와 활성 부위 중의 3개 아르기닌 잔기와 관련 결합을 나타낸다. 공지된 N1 결정 구조(PDB 코드: 2HU4)를 사용하여 예비적 분자 결합 실험(도 1)은, NA-오셀타미비르 착물과 유사하게 결합 포켓에서 C₃-펜틸옥시, C₄-아세트아미도 및 C₅-아미노 기에 의해 발휘되는 기타 상호작용 이외에, 추정의 포스포네이트 억제제 3a는 실제로 NA의 삼-아르기닌 잔기와 강하게 결합함을 나타낸다. 도 1은 인플루엔자 바이러스 뉴라미니다아제(N1 서브타입)의 활성 부위에서 오셀타미비르 2(A) 및 포스포네이트 화합물 3a(B)의 분자 모델을 도시한다. 포스포네이트 화합물 3a의 착물은 오셀타미비르-NA 착물(6 쌍의 리간드-NA H-결합)보다 NA 활성 부위에서 주요 잔기와 더욱 강력한 수소 결합 상호작용(8쌍 리간드-NA H-결합)을 갖는다.

[0121] 본 명세서에는 타미플루[®] 및 매우 강력한 뉴라미니다아제 억제제 타미포스포르를 합성하기 위한 신규하고 개선된 방법이 개시되어 있다. 본 명세서에서 앞서 기재한 바와 같이, 인플루엔자 치료를 위한 인기있는 약물인 타미플루[®] (오셀타미비르 포스페이트, 15 · H₂PO₄)는 경구 투여되는 프로드럭이며, 간 에스테라아제에 의해 용이하게 가수분해되어 인플루엔자 바이러스에 대한 뉴라미니다아제의 활성 억제제로서 상응하는 카복시산(16, 도 6)을 생성한다. 심대 환자들이 정신 질환에 걸리게 하는 타미플루의 부작용 및 조류 독감의 약물 내성 균주의 출현으로 인하여, 인플루엔자 바이러스에 대한 화학적 성분의 개발은 유행성 독감의 치료에 대한 본 발명자들의 싸움에 절실하게 필요하다. 이하에 요약한 합성은 도 4에 충분하게 나타낸다.



- [0122]
- [0123] 타미포스포르 (3)은 조류 독감 및 인간 인플루엔자 모두에 대하여 싸우는 유망한 약물이다. 오셀타미비르 내의 카복실기를 포스포네이트 기로 교체함으로써, 타미포스포르는 뉴라미니다아제의 삼-아르기닌 잔기와 강하게 상호작용하며, 또 H1N1 및 H5N1 바이러스의 야생형 뉴라미니다아제에 대하여 더욱 강력하다. 또한, 구아니딘 유사체 3b는 H5N1 뉴라미니다아제의 H274Y 돌연변이체에 대하여 효과적인 억제제(Ki = 19 nM)이다. 또한, 예비적인 연구는 타미포스포르가 인플루엔자 바이러스에 의한 치명적인 도전으로부터 마우스를 보호하는데 경구적으로 생체유용함을 나타낸다. 마우스의 생존율과 평균 생존 시간을 비교함으로써(데이터 제시되지 않음), 타미포스포르는 H1N1 인간 인플루엔자 바이러스에 대하여 타미플루보다 더욱 효과적이며 또 재조합 H5N1(NIBRG14) 바이러스에 대하여 적어도 동일하게 효과적이다.
- [0124] 화합물 3 및 13의 모노에스테르 유도체는 또한 인플루엔자를 해결하는데 특히 효과적인 것으로 드러났다. 표 5에 나타낸 바와 같이, 마우스 연구는 모노에스테르 화합물 3c 및 13c이 인플루엔자를 갖는 마우스를 치료하는데 효과적임을 나타내었다. 표 4는 마우스에서 인플루엔자 A[A/WSN/33(H1N1)] 바이러스 감염에 대한 타미플루(1), 타미포스포르(3), 타미포스포르 모노에스테르(3c), 타미포스포르 구아니딘(13b) 및 타미포스포르 구아니딘 모노에스테르(13c)를 사용한 코 안에서 치료 효과를 나타낸다. 모노에스테르 3c 및 13c는 낮은 농도에서 향상된 생존율과 효능을 가져 특히 효과적인 것으로 나타난다.

표 5

화합물	투여량 (mg/kg/일) ^a	% 생존율 ^b	치사에 이르는 평균일수 ^c
대조군(물)	~	0 (20) ^b	5.4
1 (타미플루)	10	90 (100) ^b	10
	1	0 (80) ^b	8.7
	0.1	0 (20) ^b	5.8
	0.01	0 (0) ^b	4.6
3 (타미포스포르)	10	100 (100) ^b	~
	1	50 (100) ^b	8.2
	0.1	0 (10) ^b	5.9
	0.01	0 (10) ^b	5.3
3c (타미포스포르 모노에스테르)	10	100 (100) ^b	~
	1	70 (100) ^b	9.3
	0.1	40 (50) ^b	6.2
	0.01	0 (0) ^b	4.8
13b (타미포스포르 구아니딘)	10	100 (100) ^b	~
	1	50 (90) ^b	9.8
	0.1	0 (10) ^b	5.9
	0.01	0 (10) ^b	4.8
13c (타미포스포르 구아니딘 모노에스테르)	10	100 (100) ^b	~
	1	100 (100) ^b	~
	0.1	40 (60) ^b	6.8
	0.01	0 (20) ^b	5.7

[0125]

[0126]

^a 화합물은 표시한 인플루엔자 바이러스로 감염되기 4시간 전에 하루에 2회씩 5일간경구 투여하였다

[0127]

^b 생존자 수/처리한 전체 수. 첫 번째 수는 14일에서 % 생존율을 나타내고, 또 괄호 안에 나타난 수는 7일에서 % 생존율을 나타낸다.

[0128]

^c 14일 이전에 죽어가는 마우스가 치사에 이르는 평균 일수

[0129]

도 17-20은 화합물 3 및 13b과 비교한 모노에스테르 화합물 3c 및 13c의 효율을 그래프적으로 도시한다. 상기 화합물은 향상된 생존 랫트 및 향상된 체중 유지를 나타내었다. 10 mg/kg/일 내지 0.1 mg/kg/일의 농도 범위에 걸쳐서 경향을 관찰하였다. 낮은 농도에서 (도 20), 모노에스테르는 화합물 3 및 13b와 동일하게 효과가 없었고, 또 대조군 결과를 근접 모방하고 있는데, 이는 이러한 낮은 농도에서 포스포네이트 동종체의 유리한 효과가 아마도 상실된 것을 제시한다.

[0130]

실시예

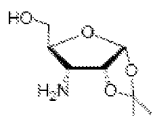
[0131]

모든 시약은 시중에서 구입할 수 있으며 또 특별히 다르게 나타내지 않는 한 더 이상 정제하지 않고 사용된다. 모든 용매는 다르게 나타내지 않는 한 무수 등급이었다. 디이소프로필 아지도카복실레이트(DIAD)는 감압하의 Na₂SO₄ 상에서 증류에 의해 정제하였다. 모든 비-수성 반응은, 다르게 나타내지 않는 한, 아르곤의 약간 양성 압력하에서 오븐-건조된 글래스웨어에서 실시하였다. 반응을 자기적으로 교반하였고 또 실리카겔 상에서 박층 크로마토그래피에 의해 모니터링하였다. 플래쉬 크로마토그래피는 60-200 μm 입자 크기의 실리카겔 상에서 실시하였다. 수득한 것은 분광학적으로 순수한 화합물로 보고되었다. 용점은 전열 MEL-TE용점® 1101D 용점 장치에서 기록하였고 또 보정은 하지 않았다. NMR 스펙트럼은 Bruker AVANCE 600 및 400 분광계에서 기록하였다. 화학적

변동은 테트라메틸실란(TMS)에 대한 값으로 나타낸다; 커플링 상수 J는 Hz로 나타낸다. 내부 표준은 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼의 경우 CDCl_3 ($\delta_{\text{H}} = 7.24$) 또는 D_2O ($\delta_{\text{H}} = 4.79$)이었고, $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼의 경우 CDCl_3 ($\delta_{\text{H}} = 77.0$)이었고, 또 $^{31}\text{P-NMR}$ 스펙트럼의 경우 D_2O 중의 H_3PO_4 ($\delta_{\text{P}} = 0.00$)이었다. 스플릿팅 패턴은 s (싱글렛), d (더블렛), t (트리플렛), q (쿼테트), m (멀티플), br (브로드) 및 dd (더블렛의 더블)로 나타낸다. IR 스펙트럼은 Thermo Nicolet 380 FT-IR 분광계에 기록하였다. 광학 회전은 퍼킨-엘머 모델 341 편광계에 기록하였고, $[\alpha]$ 및 c에 대한 단위는 각각 $\text{deg cm}^3\text{g}^{-1}\text{dm}^{-1}$ 및 gcm^{-3} 이었다. 고해상 ESI 질량 스펙트럼은 Bruker Daltonics 분광계에 기록하였다.

[0132] 합성 과정 및 생성물 특징화.

[0133] **실시예 1.** 1,2-O-이소프로필리덴-3-아미노-3-데옥시- α -D-리보푸라노사이드(5). (Nair, and Emanuel, *J. Am. Chem. Soc.* 1977, 99, 1571-1576.)



[0134]

[0135] 보고된 과정에 따르면, (Suhara et al., *J. Org. Chem.* 2001, 66, 8760-8771), D-크실로오스(50 g), 무수 CuSO_4 (70 g) 및 진한 H_2SO_4 (5 mL)가 아세톤(1L)에 현탁된 현탁액을 실온에서 24시간 동안 교반하고, 이어 40°C 의 HCl 수용액(110 mL, 0.1 M) 중에서 2시간 동안 부분적으로 가수분해시켜 1,2-O-이소프로필리덴- α -D-크실로푸라노오스(4, 61 g)를 무색 시럽으로 얻었다. 화합물 4(10 g, 52.6 밀리몰)를 피리딘(50 mL) 중의 염화 피발로일(6.6 g, 54.8 밀리몰)로 0°C 에서 8시간 동안 처리하여 1,2-O-이소프로필리덴-5-O-피발로일- α -D-크실로푸라노사이드(13 g, D-크실로오스로부터 85% 수율)를 무색 오일로서 얻었다.

[0136] 피리딘함 디크로메이트(PDC, 8.92 g, 23.7 밀리몰) 및 Ac_2O (12.2 mL, 130 밀리몰)를 CH_2Cl_2 (160 mL) 중의 피발로일 에스테르 (10.8 g, 39.4 밀리몰)에 추가하였다. 이 혼합물을 환류하에서 1.5 시간 동안 가열하고, 또 이어 감압하에서 농축시켰다. 잔류물을 EtOAc(30 mL)에 용해시키고 또 EtOAc에 의한 용출에 의해 실리카겔 패드를 통하여 여과하였다. 여액을 농축시키고 또 톨루엔(2 x)을 사용하여 공동증발시켜 Ac_2O 를 제거하였다. 조 케톤 생성물(10.2 g)은 무수 피리딘 (75 mL)에서 히드록실아민 히드로클로리드(18.15 g, 260 밀리몰)와 함께 60°C 에서 24시간 동안 교반하였다. 이 혼합물을 감압하에서 농축시키고, 또 잔류물을 EtOAc에 용해시켰다. 유기층을 물로 세척하고, 또 수성층은 EtOAc (3 x)에 의해 추출하였다. 모아진 유기층을 MgSO_4 상에서 건조시키고 여과하고, 또 농축하였다. 잔류 오일은 실리카겔 상에서 플래시 칼럼 크로마토그래피(EtOAc/헥산, 1:3)에 의해 정제하여 상응하는 옥심(9.27 g, 2 단계에 대해 82% 수율)을 syn/anti 이성질체 (70:30) 혼합물로 수득하였다. 무색 오일; TLC (EtOAc/헥산, 1:4) Rf= 0.4; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +162.5$ (c = 1, CHCl_3); IR (니트) 3501, 2988, 1769, 1292 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) (syn/anti 이성질체 = 7:3) δ 8.05(0.3H, br s), 7.97(0.7 H, br s), 5.98(0.7 H, d, J = 4.3Hz), 5.96(0.3H, d, J = 4.3Hz), 5.27-5.25(1H, m), 4.99(1H, dd, J = 4.2, 1.3Hz), 4.97-4.96(0.3H, m), 4.55(0.7H, dd, J = 11.1, 2.6 Hz), 4.33(0.3H, dd, J = 11.1, 2.6 Hz), 4.23-4.20(1H, m), 1.47(3H, s), 1.42(3H, s), 1.16(9H, s); $^{13}\text{C NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ 178.1/177.9, 158.4/157.3, 114.2/113.7, 105.0/104.8, 78.4/73.5, 75.8/75.6, 38.7/38.6, 27.7, 27.4, 27.3, 27.2, 27.19, 27.15; $\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{NO}_6(\text{M}^+\text{H})$ 에 대한 HRMS 계산치: 288.1444, 실측치: m/z 288.1452.

[0137] 옥심(2.88 g, 10 밀리몰)을 냉(0°C) THF(60 mL)에서 교반하고, 또 LiAlH_4 (THF 중의 1.0M 용액, 25 mL, 25 밀리몰)를 추가하였다. 이 혼합물을 3시간 동안 환류시키고, 실온에서 12시간 동안 교반하며, 또 이어 EtOAc에 의해 급랭(qunech)시켰다. 혼합물을 셀라이트(Celite)를 통하여 여과하였다. 여액을 농축하고, 또 잔류 오일은 실리카겔 상에서 플래시 칼럼 크로마토그래피($\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$, 1:9)에 의해 정제하여 아민 5(1.67 g, 88 %)을 황색 시럽으로 얻었다. TLC ($\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$, 1:9) Rf= 0.1; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +54.6$ (c = 1, CHCl_3) [lit. s₁ $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +41$ (c =

1.15, CH₃OH)]; IR (니트) 3359, 2911, 1756, 1298 cm⁻¹; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 5.77(1H, d, J = 3.7 Hz), 4.45(1H, dd, J = 4.2, 2.1Hz), 3.87(1H, dd, J = 11.8, 3.7 Hz), 3.77-3.70(2H, m), 3.17(1H, dd, J = 9.5, 4.6 Hz), 1.52(3H, s), 1.35(3H, s); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 112.1, 104.3, 80.7, 80.6, 61.5, 55.2, 26.6, 26.4; C₈H₁₆ONO₄(M_r + H)에 대한 HRMS 계산치: 190.1079, 실측치: m/z 190.1080.

[0138] **실시예 2.** 0-벤질-2,3-O,N-이소프로필리덴-3-아세트아미도-3-데옥시-α-D-리보푸라노사이드(6).



[0139]

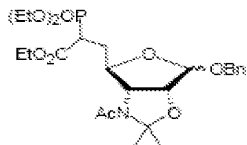
[0140]

아민 5(1.67 g, 8.8 밀리몰)를 피리딘 (10 mL)중의 Ac₂O(5 mL)와 함께 실온에서 3시간 동안 교반하였다. MeOH(5 mL)를 부가하여 반응을 급랭시켰다. 혼합물을 농축하고 또 톨루엔(3x)을 사용하여 공동증발시켜 Ac₂O 및 피리딘을 제거하였다. 잔류하는 고체 샘플을 EtOAc로부터 재결정화시켜 아세틸화 생성물(2.35 g)을 얻었다. 아세틸화 생성물과 벤질 알코올(5.84 g, 54 밀리몰)이 톨루엔(16 mL)에 용해된 냉각 용액(0℃)을 1,4-디옥산(7.5 mL, 30 밀리몰) 중의 HCl 용액(4.0 M)으로 처리하고, 또 실온에서 24시간 동안 교반하였다. 이 반응 혼합물을 Et₂O(100 mL)에 붓고, 또 포화 NaHCO₃ 용액(80 mL)을 사용하여 0℃에서 중화시켰다. 유기층을 분리하고, 또 물(3 x) 및 염수로 세척하였다. 모아진 수성 세척물은 Et₂O(6 x)로 추출하였다. 이 유기 추출물을 모으고, MgSO₄ 상에서 건조시키며, 여과하고, 또 감압하에서 농축하였다. 잔류 오일은 실리카겔 상에서 플래시 칼럼 크로마토그래피(MeOH/CH₂Cl₂, 1:19)에 의해 정제하여 2.10 g(2단계에 대하여 85% 수율)의 디올 생성물 0-벤질-3-아세트아미도-3-데옥시-α-D-리보푸라노사이드를, ¹H NMR 분석에 의해 나타난 바와 같이, 아노머(α/β=7:3)의 혼합물로서 얻었다. α-아노머의 분석 샘플은 실리카겔 상에서 재-크로마토그래피(MeOH/CH₂Cl₂, 1:99), Rf= 0.2에 의해 얻었다. 무색 고체, 융점 95-97℃; [α]_D²⁰ = -72.8(c = 0.5, CHCl₃); IR (니트) 3487, 2955, 1712, 1265 cm⁻¹; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 7.35-7.27(5H, m), 6.38(1H, d, J = 8.0 Hz), 4.74(1H, d, J = 11.9 Hz), 4.52(1H, d, J = 11.9 Hz), 4.24(1H, dd, J = 7.9, 3.1Hz), 3.99(1H, d, J = 12.4Hz), 3.92(1H, s), 3.74-3.71(2H, m), 3.41(1H, br s), 3.00(1H, br s), 2.01(3H, s); ¹³C NMR(150 MHz, CDCl₃) δ 170.1, 136.9, 128.5(3 x), 128.0(2 x), 98.9, 69.8, 69.1, 68.4, 63.6, 46.3, 23.4; C₁₄H₂₀NO₅(M_r + H)에 대한 HRMS 계산치 : 282.1341, 실측치: m/z 282.1343.

[0141]

디올(2.10 g, α/β 아노머의 혼합물로서 7.5 밀리몰), 2,2-디메톡시프로판 (10 mL) 및 p-톨루엔설포산 일수화물(-0.2 g)이 톨루엔(20 mL)에 용해된 용액을 80℃에서 4시간 동안 교반하였다. 이 혼합물을 감압하에서 농축시키고, 또 잔류물을 Et₂O로부터 재결정화하여 아노머(α/β=7:3)의 혼합물로서 ¹H NMR 분석에 의해 나타나는 바와 같은 알코올 6(2.17 g, 90%)을 얻었다. α-아노머의 분석 샘플은 실리카겔(EtOAc/헥산, 1:9)상에서 재크로마토그래피에 의해 얻었다. 무색 결정, 융점 82-85℃; TLC(EtOAc/헥산, 1:1) Rf= 0.35; [α]_D²⁰ = -125.6(c = 1, CHCl₃); IR (니트) 3501, 2988, 1732, 1288 cm⁻¹; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃, 2개 로타머(rotamers)(1:1)) δ 7.36-7.27(5H, m), 5.20(0.5H, s), 5.15(0.5H, s), 4.74(0.5H, d, J = 11.6 Hz), 4.68(0.5H, d, J = 11.6 Hz), 4.64(0.5H, d, J = 5.9 Hz), 4.61(0.5H, dd, J = 5.9, 2.5Hz), 4.59-4.57(1.5H, m), 4.45(0.5H, d, J = 11.6 Hz), 4.34-4.33(0.5H, m), 4.22(0.5H, dd, J = 8.1, 4.0 Hz), 4.02(0.5H, d, J = 9.1Hz), 3.81-3.74(1H, m), 3.69-3.66(1H, m), 2.72(0.5H, dd, J = 9.1, 2.6 Hz), 2.14(1.5H, s), 2.06(1.5H, m), 1.67(1.5H, s), 1.63(1.5H, s), 1.53(1.5H, s), 1.52(1.5H, s); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 167.6/167.3, 136.5/136.1, 128.7/128.6(2 x), 128.4/128.29, 128.27/128.1(2 x), 106.2/105.0, 98.2/95.7, 89.2/89.1, 84.2/82.4, 70.4/69.4, 65.1/61.7, 64.4, 28.2/26.3, 26.0/24.4, 24.2/21.9; C₁₇H₂₃NNaO₅(M⁺ Na)에 대한 HRMS 계산치: 344.1474, 실측치: m/z 344.1477.

[0142] **실시예 3.** 에틸 (0-벤질-2,3-O,N-이소프로필리덴-3-아세트아미도-3,5,6-트리데옥시-6-디에톡시포스포릴-D-리보-헵토후라노사이드)우로네이트 (7a).



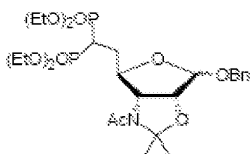
[0143]

[0144] 알코올 6(2.17 g, 6.76 밀리몰) 및 피리딘 (1.2 mL, 14.73 밀리몰)이 CH₂Cl₂(20 mL)에 용해된 용액을 -15°C에서 교반하는 한편, 트리플루오로메탄설포산 무수물(Tf₂O, 1.49 mL, 8.86 밀리몰)을 30분간에 걸쳐 적가하였다. 이 혼합물을 -15°C에서 2시간 더 교반하고, MeOH (1 mL)에 의해 급랭시키고, 또 빙수 및 냉각 KH₂PO₄ 수용액(1M)으로 연속적으로 세정하였다. 수성층은 EtOAc (3 x)으로 추출하였다. 모아진 유기 상은 MgSO₄ 상에서 건조시키고, 여과하며, 농축하고, 또 톨루엔을 사용하여 공동증발시켜 피리딘을 제거하였다. 조 트리플레이트 생성물(3.06 g)은 추가의 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

[0145] NaH(0.41 g, 10.2 밀리몰; 오일 중 60% 분산액)를 질소 분위기하에서 무수 헥산(3 x)으로 세정하고, DMF(30 mL)를 부가하며, 또 얼음욕 중, 0°C에서 교반하였다. 트리에틸 포스포노아세테이트(1.95 g, 10.9 밀리몰)가 DMF (10 mL)에 용해된 용액을 30분간에 걸쳐 적가하였다. 얼음욕을 제거하고, 또 혼합물을 2시간 동안 교반하여 투명한 황색 용액을 얻었다. DMF (10 mL) 중의 상기 제조한 트리플레이트(3.06 g, ~6.76 밀리몰)를 부가한 다음 2 방울의 15-크라온-5를 부가하였다. 생성한 용액을 실온에서 24시간 동안 교반하고, 0°C로 냉각한 다음 수성 KH₂PO₄(1M 용액)으로 급랭시켰다. 이 혼합물은 CH₂Cl₂(5 x)에 의해 추출하였다. 모아진 유기층을 물로 세척하고, MgSO₄ 상에서 건조시키며, 여과하고, 또 감압하에서 농축하였다. 잔류하는 갈색 오일은 실리카겔(EtOAc/헥산 구배, 1:4 내지 1:1)상에서 플래쉬 칼럼크로마토그래피에 의해 정제하여 생성물 7a(2.85 g, 6으로부터 80% 수율)을 α/β 아노머의 혼합물로서 얻었다.

[0146] 실리카겔(EtOAc/헥산, 1:4) 상에서 재크로마토그래피에 의해 α-아노머의 분석 샘플을 제조하였다. TLC (MeOH/CH₂Cl₂, 1:19) Rf = 0.2; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃, 부분입체이성질체의 로타머로서) δ 7.33-7.26(5H, m), 5.15(1H, s), 4-74(1H, d, J = 11.9 Hz), 4.68(1H, d, J = 5.8Hz), 4.46(1H, d, J = 11.9 Hz), 4.29-4.19(4H, m), 4.12-4.05(3H, m), 4.00(1H, d, J = 12.4Hz), 3.41(1H, dd, J = 12.4, 10.3Hz), 2.45-2.35(1H, m), 2.22-2.18(1H, m), 2.12(3H, s), 1.60(3H, m), 1.48(3H, s), 1.31-1.24(9 H, m); C₂₅H₃₉NO₉P (M⁺ + H)에 대한 HRMS 계산치: 528.2362, 실측치: m/z 528.2366.

[0147] **실시예 4.** 0-벤질-2,3-O,N-이소프로필리덴-3-아세트아미도-3,5,6-트리데옥시-6,6-비스(디에톡시포스포릴)-D-리보-헥소후라노오스(7b).

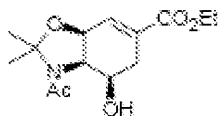


[0148]

[0149] 7a와 유사한 과정에 의해, 테트라에틸 메틸렌디포스포네이트 (3.14 g, 10.9 밀리몰)는 DMF (35 mL) 중의 NaH(0.31 g, 7.75 밀리몰; 오일 중의 60% 분산액)으로 2시간 동안 처리한 다음 15-크라온-5(2 방울) 존재하에서 알코올 6(8 mL의 DMF 중의 2.26 g)의 트리플레이트와 반응시켰다. 이 반응 혼합물을 실온에서 24시간 동안 교반하고, 처리하며, 또 실리카겔(EtOAc/헥산 구배, 1:4 내지 1:1)상에서 플래쉬 칼럼크로마토그래피에 의해 정제하여 생성물 7b (2.16 g, 6으로부터 73% 수율)을 α/β 아노머의 혼합물로 얻었다. α-아노머의 분석 샘플은 실리카겔(MeOH/CH₂Cl₂, 1:99) 상에서 재크로마토그래피에 의해 제조하였다. TLC (MeOH/CH₂Cl₂, 1:19) Rf= 0.14; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃, 2개의 로타머로서) δ 7.37-7.27(5H, m), 5.15(1H, s), 4.79-4.74(1H, m), 4.69-4.67(1H, m), 4.59-4.57(1H, m), 4.49-4.44(2H, m), 4.22-4.04(8H, m), 2.86-2.76(1H, m), 2.47-2.35(1H, m), 2.30-

2.21(1H, m), 2.11(3H, s), 1.61(3H, s), 1.50(3H, s), 1.33-1.29(12H, m); C₂₆H₄₃NNaO₁₀P₂(M_r + Na)에 대한 HRMS 계산치: 614.2260, 실측치: m/z 614.2268.

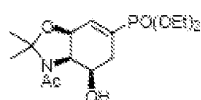
[0150] **실시예 5.** 에틸 (3S,4R,5R)-3,4-O,N-이소프로필리덴-4-아세트아미도-3,5-디히드록시-1-시클로헥센-1-카복실레이트 (8a).



[0151]

[0152] 포스포네이트 7a (2.85 g, 5.4 밀리몰)는 에탄올(30 mL) 중의 Pd/C (0.5 g)를 이용하여 교반하는 것에 의해 수소 분위기하, 실온에서 24시간 동안 가수소분해처리하였다. 이 혼합물을 셀라이트(Celite)를 통하여 여과하고, 또 여액을 농축하여 소망하는 락톤(2.36 g)을 담황색 시럽으로 얻었다. 질소 분위기하에서, THF (10 mL) 중의 락톤 (2.36 g)의 용액을 THF (20 mL) 중의 NaH (7.0 밀리몰, 헥산에 의해 3회 예비세척된 0.28 g의 60% 오일 분산액) 분산액에 적가하였다. 이 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하여 분자내 비티히-호너-에몬스 반응을 완료하였다. 이 혼합물을 0°C로 냉각하고, 수성 KH₂PO₄ (1M 용액)으로 급랭시키고, 또 CH₂Cl₂ (5 x)으로 추출하였다. 모아진 유기 층은 MgSO₄ 상에서 건조시키고, 여과하며, 또 감압하에서 농축하였다. 잔류물은 플래쉬 칼럼 크로마토그래피 (EtOAc/헥산, 1:1)에 의해 정제하여 시클로헥센카복실레이트 8a (1.27 g, 7a로부터 83% 수율)를 무색 오일로 얻었다. TLC (EtOAc) Rf= 0.3; [α]_D²⁰ = -15.6(c = 2.6, CHCl₃); IR (니트) 3492, 1769, 1655, 1221 cm⁻¹; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃, 2개의 로타머로서) δ 7.07(0.8H, d, J = 3.4Hz), 6.99(0.2H, d, J = 3.4Hz), 4.61(0.8H, d, J = 5.9 Hz), 4.56(0.8H, d, J = 5.9 Hz), 4.47(0.2H, dd, J = 6.0, 3.4Hz), 4.28-4.19(3H, m), 4.47(0.8H, dd, J = 6.0, 3.4Hz), 3.03(0.8H, dd, J = 18.0, 2.8Hz), 2.84(0.2H, dd, J = 18.0, 2.8Hz), 2.38-2.27(1H, m), 2.19(0.6 H, s), 2.14(2.4H, s), 2.09(0.8H, d, J = 9.2Hz), 1.98(0.2H, d, J = 9.2Hz), 1.70(3H, s), 1.62(3H, s), 1.31-1.27(3H, m); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 168.0/167.4, 166.1/165.9, 132.2/131.8, 131.4/130.7, 95.8/93.7, 68.7/68.4, 64.2/62.6, 61.3/61.1, 59.6/59.3, 31.1/30.6, 27.4/25.1, 26.3/23.8, 23.2/22.6, 14.1; C₁₄H₂₂NO₅ (M_r + H)에 대한 HRMS 계산치: 284.1498, 실측치: m/z 284.1500.

[0153] **실시예 6.** 디에틸 (3S,4R,5R)-3,4-O,N-이소프로필리덴-4-아세트아미도-3,5-디히드록시-1-시클로헥센-1-포스포네이트 (8b).



[0154]

[0155] 비스포스포네이트 7b(3.55 g, 6 밀리몰)를 에탄올 (35 mL) 중의 Pd/C (1 g)와 함께 수소 분위기하, 실온에서 24시간 동안 교반하였다. 이 혼합물을 셀라이트(Celite)를 통하여 여과하고, 또 에톡시화 나트륨(25 mL, 에탄올 중의 21%)을 여액에 부가하였다. 이 반응 혼합물을 5시간 동안 교반하고, 포화 수성 NH₄Cl 용액으로 급랭시키고, 또 감압하에서 농축하였다. 잔류물은 CH₂Cl₂에 의해 희석시키고 또 포화 수성 NH₄Cl 용액으로 세정하였다. 수성층을 CH₂Cl₂(3 x)에 의해 추출하였다. 모아진 유기 상은 MgSO₄ 상에서 건조시키고, 여과하며 또 농축하였다. 잔류물은 플래쉬 칼럼 크로마토그래피(MeOH/CH₂Cl₂, 1:99)에 의해 정제하여 시클로헥센포스포네이트 8b (1.67 g, 80%)를 무색 오일로 얻었다.

[0156] **실시예 7.** 에틸 (3S,4R,5S)-4-아세트아미도-5-아지도-3-히드록시-1-시클로헥센-1-카복실레이트 (9a).



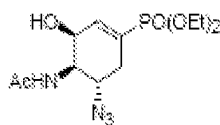
[0157]

[0158]

8a (1.27 g, 4.5 밀리몰), 트리페닐포스핀 (2.36 g, 9.0 밀리몰), 디이소프로필 아지도카복실레이트 (DIAD, 1.82 g, 9.0 밀리몰, 새로이 증류됨) 및 디페닐포스포릴 아지드(DPPA, 2.48 g, 9.0 밀리몰)가 THF (40 mL)에 용해된 용액을 실온에서 48시간 동안 교반하였다. 감압하에서 회전 증발에 의해 용매를 제거하고 또 잔류물을 플래쉬 칼럼크로마토그래피(EtOAc/헥산, 1:3)에 의해 정제하여 5S 구조를 갖는 상응하는 아지드 생성물(1.21 g, 87% 수율)을 얻었다. 무색 고체, 융점 91-93°C; TLC (EtOAc/헥산, 1:1) Rf= 0.4; $[\alpha]_D^{20} = +61.07(c = 3.2, CHCl_3)$; IR (니트) 2101, 1749, 1655, 1261 cm^{-1} ; 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$, 2개의 로타머로서) δ 6.92-6.91(1H, m), 4.57-4.56(1H, m), 4.24-4.19(2H, m), 3.71-3.66(2H, m), 3.02(1H, dd, J = 15.4, 3.8Hz), 2.26(3H, s), 2.23-2.19(1H, m), 1.66(3H, s), 1.62(3H, s), 1.28(3H, t, J = 7.1Hz); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ 168.8, 165.1, 133.3, 132.0, 95.9, 70.8, 61.4, 60.7, 60.1, 29.9, 27.8, 24.2, 23.7, 14.1; $C_{14}H_{21}N_4O_4(M_+ + H)$ 에 대한 HRMS 계산치: 309.1563, 실측치: m/z 309.1562. 에탄올 (20 mL) 중의 아지드 화합물 (1.21 g, 3.93 밀리몰)을 HCl 수용액 (5 mL, 1M)과 함께 환류하에서 1시간 동안 가열하였다. 이 혼합물을 감압하에서 농축시키고, 또 잔류물을 플래쉬 칼럼크로마토그래피(EtOAc)에 의해 정제하여 생성물 9a (1.01 g, 95% 수율)을 얻었다. 무색 고체, 융점 51-53°C; TLC (EtOAc) Rf = 0.3; $[\alpha]_D^{20} = +83.0(c = 1, CHCl_3)$; IR (니트) 3491, 2105, 1722, 1655, 1251 cm^{-1} ; 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ 6.86(1H, s), 6.21(1H, d, J = 8.1Hz), 4.42(1H, d, J = 3.5Hz), 4.19(2H, q, J = 7.1Hz), 4.11-4.07(1H, m), 3.79-3.74(1H, m), 2.86(1H, dd, J = 18.1, 5.1Hz), 2.33(1H, dd, J = 18.1, 8.7 Hz), 2.04(3H, s), 1.27(3H, t, J = 7.1Hz); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ 171.1, 165.8, 136.1, 130.4, 64.8, 61.3, 56.3, 52.1, 29.6, 23.3, 14.1; $C_{11}H_{17}N_4O_4(M_+ + H)$ 에 대한 HRMS 계산치: 269.1250, 실측치: m/z 269.1253.

[0159]

실시예 8. 디에틸 (3S,4R,5S)-4-아세트아미도-5-아지도-3-히드록시-1-시클로헥센-1-포스포네이트 (9b).



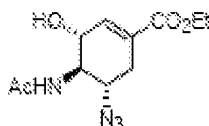
[0160]

[0161]

9a에 대한 과정과 유사한 과정에 의해, 화합물 8b (1.67 g, 4.8 밀리몰)를 Ph_3P (2.42 g, 9.2 밀리몰), 새로이 증류된 DIAD (1.86 g, 9.2 밀리몰) 및 THF (45 mL) 중의 DPPA (2.54 g, 9.2 밀리몰)에 의해 실온에서 48시간 동안 처리하여 플래쉬 칼럼크로마토그래피 (60% EtOAc/헥산, 3:2)에 의해 정제한 후 상응하는 아지드 생성물 (1.39 g, 78% 수율)을 얻었다. 환류성 EtOH/HCl (1M 수성 용액) 중에서 가수분해하여 소망하는 생성물 9b (1.18 g, 95% 수율)을 얻었고, 이것은 10b를 제조하기 위해 직접 사용되었다.

[0162]

실시예 9. 에틸 (3R,4R,5S)-4-아세트아미도-5-아지도-3-히드록시-1-시클로헥센-1-카복실레이트 (10a).



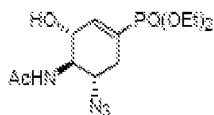
[0163]

[0164]

9a (53.7 mg, 2 밀리몰) 및 피리딘 (1.3 mL, 16 밀리몰)이 CH_2Cl_2 (10 mL)에 용해된 냉각 (-15°C) 용액에 CH_2Cl_2 (5 mL) 중의 Tf_2O (0.67 mL, 4 밀리몰)를 적가하고, -15 ~ -10°C에서 2시간 동안 교반하였다. 이 혼합물을 수성 KH_2PO_4 (1 M 용액, 2 x), 포화 수성 $NaHCO_3$, 물 및 염수로 세척하였다. 유기층을 $MgSO_4$ 상에서 건조시키고 또 진공에서 농축시켜 상응하는 트리플레이트 (0.82 g)를 얻었다. 트리플레이트를 KNO_3 (85.6 mg, 10 밀리몰) 및 무수 DMF (40 mL) 중의 18-크라운-6 (3 방울)과 함께 40°C에서 24시간 동안 교반하였다. 반응 말기에, 혼합물을 CH_2Cl_2 를 사용하여 희석시키고 또 염수로 세정하였다. 유기층을 $MgSO_4$ 상에서 건조시키고 또 감압하에서 농축하였다. 잔류물을 플래쉬 칼럼 크로마토그래피 (EtOAc/헥산, 4:1)에 의해 정제하여 3R 구조를 갖는 생성물 10a (0.3752 g, 70% 수율)를 얻었다. 무색 고체, 융점 40-42°C; TLC (EtOAc) Rf= 0.35; $[\alpha]_D^{20} = +45.5(c = 0.6,$

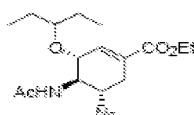
CHCl₃); IR (니트) 3501, 2101, 1699, 1538, 1214 cm⁻¹; ¹H NMR(600 MHz, CDCl₃) δ 6.80(1H, d, J = 2.4Hz), 5.97(1H, br s), 5.20(1H, d, J = 3.2Hz), 4.38(1H, d, J = 3.2Hz), 4.21(2H, q, J = 7.2Hz), 3.65-3.57(2H, m), 2.95(1H, dd, J = 16.3, 4.3Hz), 2.45-2.40(1H, m), 2.09(3H, s), 1.28(3H, t, J = 7.2Hz); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 173-7, 165.6, 138.3, 127.8, 71.2, 61.3, 57.9, 57.5, 29.5, 23.2, 14.1; C₁₁H₁₇N₄O₄(M₊ + H)에 대한 HRMS 계산치: 269.1250, 실측치: m/z 269.1257.

[0165] **실시예 10.** 디에틸 (3R,4R,5S)-4-아세트아미도-5-아지도-3-히드록시-1-시클로헥센-1-포스포네이트 (10b).



[0166]
[0167] 10a에 대한 과정과 유사한 과정에 의해, 상기 제조한 화합물 9b (1.18 g, 3.55 밀리몰)를 CH₂Cl₂(10 mL) 중의 Tf₂O (1.2 mL, 7.1 밀리몰) 및 피리딘 (2.3 mL, 28.5 밀리몰)과 함께 -15 내지 -10°C에서 교반하여 상응하는 트리플레이트 (1.65 g)를 얻으며, 이어 KNO₂(1.52 g, 17.3 밀리몰) 및 무수 DMF (50 mL) 중의 18-크라운-6(3 방울)으로 40°C에서 24시간 동안 처리하여 5S 구조를 갖는 생성물 10b(83.8 mg, 71% 수율)를 얻었다. 무색 오일; TLC (MeOH/CH₂Cl₂, 1:9) R_f = 0.2; [α]_D²⁰ = -11.3(c = 2.0, CDCl₃); IR (니트) 3499, 2108, 1755, 1634, 1240 cm⁻¹; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 6.56(1H, d, J_{p-2} = 19.4Hz), 6.13(1H, d, J = 5.2Hz), 4.95(1H, br s), 4.35(1H, dd, J = 5.5, 3.4Hz), 4.12-4.05(4H, m), 3.74-3.70 (1H, m), 3.64-3.60(1H, m), 2.79-2.74(1H, m), 2.36-2.30(1H, m), 2.07(3H, s), 1.32(6 H, t, J = 7.1Hz); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 172.7, 142.3, 125-5(C₋₁, d, J_{p-1} = 184Hz), 71.5, 62.5, 62.3, 57.9, 57.5, 29.9, 23.4, 16.39, 16.35; ³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 16.54; C₁₂H₂₁N₄NaO₅P (M₊ + Na)에 대한 HRMS 계산치: 355.1147, 실측치: m/z 355.1152.

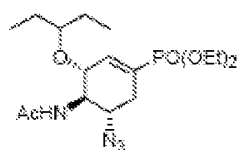
[0168] **실시예 11.** 에틸 (3R,4R,5S)-4-아세트아미도-5-아지도-3-(1-에틸프로폭시)-1-시클로헥센-1-카복실레이트 (11a).(Rohloff et al., *J. Org. Chem.* 1998, 63, 4545-4550.)



[0169]
[0170] 3-펜틸 트리클로로아세트이미데이트는 다음과 같이 제조하였다. 질소 분위기하, 무수 Et₂O(14 mL) 중의 3-펜탄올(8.815 g, 100 밀리몰) 용액을 Et₂O(10 mL)에 현탁된 NaH(0.4 g, 10 밀리몰; 헥산에 의해 예비세척된 60% 오일 분산액)에 적가하였다. 혼합물을 실온에서 10분간 교반하고, 또 질소 분위기하에서 Et₂O(20 mL) 중의 트리클로로아세트니트릴(15 mL, 150 밀리몰) 냉각(-5°C) 용액에 20분간에 걸쳐 적가하였다. 이 반응 혼합물을 실온으로 승온하고, 또 2시간 동안 교반하였다. 용매를 제거한 후, 잔류물은 급격하게 교반하면서 MeOH/헥산(1:19, 10 mL)과 함께 1분간 분쇄하여 석출물을 얻었고, 여과제거하며 또 냉각 헥산으로 세척하였다. 여액을 건조될 때까지 감압하에서 증발시켜 3-펜틸 트리클로로아세트이미데이트(16 g, 70% 수율)를 담갈색 오일로서 얻었다. TLC (EtOAc/헥산, 1:4) R_f= 0.3; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 8.17(1H, br s, NH), 4.89(1H, m, J = 6.0 Hz), 1.69(4H, qd, J = 7.4, 6.0 Hz), 0.94(6 H, t, J = 7.4 Hz); ¹³C NMR(150 MHz, CDCl₃) δ 162.7, 92.2, 81.9, 25.7(2 x), 9.4(2 x); C₇H₁₃Cl₃NO (M⁺ + H)에 대한 HRMS 계산치: 232.0063, 실측치: m/z 232.0067. 질소 분위기하에서, 새로이 제조된 3-펜틸 트리클로로아세트이미데이트(350 mg, 1.5 밀리몰) 및 CF₃SO₃H (13 μL, 0.15 밀리몰)를 CH₂Cl₂(15 mL) 중의 알코올 10a(321 mg, 1.2 밀리몰) 용액에 부가하였다. 이 반응 혼합물을 실온에서 24시간 동안 교반하고, 그 동안 이미데이트 및 CF₃SO₃H (350 mg and 13 μL 밀리몰)을 매 4시간 마다 5회 부가하

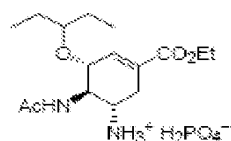
였다. 이 반응은 수성 NaHCO₃ 용액 (5%)에 의해 급랭시켰다. 수성층은 CH₂Cl₂(2 x)에 의해 추출하였다. 모아진 유기 상을 염수로 세척하고, MgSO₄ 상에서 건조시키고 또 진공에서 농축시켰다. 잔류물은 플래쉬 칼럼크로마토그래피(EtOAc/헥산, 3:7)에 의해 알킬화 생성물 11a (317 mg, 78% 수율)을 얻었다. 무색 고체, 융점 115-117°C; TLC (EtOAc/헥산, 1:1) R_f = 0.4; [α]_D²⁰ = -48.9(c = 1.1, CHCl₃); IR (니트) 2101, 1712, 1655 cm⁻¹; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 6.75(1H, s), 5.98(1H, d, J = 7.4Hz), 4.53(1H, d, J = 5.0 Hz), 4.51-4.16(3H, m), 3.33-3.28(2H, m), 2.82(1H, dd, J = 17.6, 5.6 Hz), 2.22-2.16(1H, m), 2.00(3H, s), 1.49-1.45(4H, m), 1.25(3H, t, J = 7.1Hz), 0.95-0.80(6 H, m); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 171.1, 165.8, 137.9, 128.1, 82.0, 73.4, 61.0, 58.0, 57.2, 30.5, 26.2, 25.6, 23.5, 14.1, 9.5, 9.3; C₁₀H₂₇N₄O₄(M₊ + H)에 대한 HRMS 계산치: 339.2032, 실측치: m/z 339.2035.

[0171] **실시예 12.** 디에틸 (3R,4R,5S)-4-아세트아미도-5-아지도-3-(1-에틸프로폭시)-1-시클로헥센-1-포스포네이트 (11b).



[0172] 11a에 대한 과정과 유사한 과정에 의해, 알코올 10b (498 mg, 1.5 밀리몰)를 CF₃SO₃H (15.6 μL, 0.18 밀리몰)의 존재하에서 3-펜틸 트리클로로아세트아미데이트(420 mg, 1.8 밀리몰)와 반응시킨 다음, 이미데이트 및 CF₃SO₃H의 배치와 반응시켜 알킬화 생성물 11b (495 mg, 82% 수율)을 얻었다. 무색 오일; TLC (EtOAc/헥산, 1:1) R_f = 0.2; [α]_D²⁰ = -61.3(c = 0.65, CDCl₃); IR (니트) 2100, 1756, 1634, 1246 cm⁻¹; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 6.56(1H, d, J_{p-2} = 21.6 Hz), 5.71(1H, d, J = 6.9 Hz), 4.52(1H, d, J = 7.8Hz), 4.34-4.30(1H, m), 4.11-4.01(4H, m), 3-31-3-23(2H, m), 2.69-2.64(1H, m), 2.12-2.08(1H, m), 2.01(3H, s), 1.51-1.43(4H, m), 1.39-1.31(6 H, m), 0.90-0.81(6 H, m); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 171.0, 141.7, 126.3(C₋₁, d, J_{p-1} = 182Hz), 81.9, 73.7, 62.14, 62.10, 54.3, 57.1, 31.0, 26.2, 25.4, 23.6, 16.4, 16.3, 9.6, 9.2; ¹³C NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 16.99; C₁₇H₃₂N₄O₅P (M₊ + H)에 대한 HRMS 계산치: 403.2110, 실측치: m/z 403.2111.

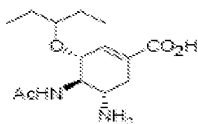
[0174] **실시예 13.** 에틸 (3R,4R,5S)-4-아세트아미도-5-아미노-3-(1-에틸프로폭시)-1-시클로헥센-1-카복실레이트 포스페이트 (1, 타미플루®)



[0175] 에탄올(20 mL) 중의 아지드 11a (170 mg, 0.5 밀리몰) 용액을 수소 분위기하, 실온에서 린들러 촉매(100 mg)와 16시간 동안 처리하였다. 이 반응 혼합물을 셀라이트(Celite)를 통하여 여과하고, 또 에탄올로 행구었다. 여액을 감압하에서 증발시켜 무색 폼(155 mg)을 얻으며, 이것을 에탄올(3 mL)에 용해시키고 또 에탄올(5 mL) 중의 인산 (85%, 115 mg, 0.6 밀리몰)의 뜨거운(55°C) 용액에 서서히 소량씩 추가하였다. 수분 내에 결정화를 개시하였다. 0°C로 냉각한 후, 석출물을 여과에 의해 수집하고 또 냉각 아세톤(2 x)으로 세척하여 1(187 mg, 91% 수율)을 얻었다. 백색 결정, 융점 189-191°C [lit. (Fukuta et al., *J. Am. Chem. Soc.* 2006, 128, 6312-6313) 융점 184-186°C]; [α]_D²⁰ = -35.8(c = 1, H₂O) [lit.(Rohloff et al., *J. Org. Chem.* 1998, 63, 4545-4550.) [α]_D = -39.9(c = 1, H₂O); 또는 lit. (Fukuta et al., 2006) [α]_D²² = -30.5(c = 0.480, H₂O)]; IR (니트) 3501, 1734, 1612, 1150 cm⁻¹; ¹H NMR (600 MHz, D₂O) δ 6.91(1H, s), 4.39(1H, d, J = 8.0 Hz), 4.32-4.30(2H, m), 4.11(1H, dd, J = 10.5, 5.7 Hz), 3.67-3.59(2H, m), 3.01(1H, dd, J = 17.4, 5.4Hz), 2.60-

2.56(1H, m), 2.14(3H, s), 1.61-1.50(4H, m), 1.34(3H, t, J = 7.1Hz), 0.94(3H, t, J = 7.3Hz), 0.89(3H, t, J = 7.3Hz); ¹³C NMR (150 MHz, D₂O) δ 178.1, 170.3, 140.7, 130.4, 87.2, 77.9, 65.2, 55.4, 52.0, 30.9, 28.3, 27.9, 25.2, 16.1, 11.36, 11.30; ³¹P NMR (162 MHz, D₂O) δ 0.43; C₁₆H₂₉N₂O₄(M⁺ - H₃PO₄ + H)에 대한 HRMS 계산치: 313.2127, 실측치: m/z 313.2123. 분석. C₁₆H₃₁N₂O₃P에 대한 계산치: C, 46.83; H, 7.61; N, 6.83. 실측치: C, 46.70; H, 7.69; N, 6.74.

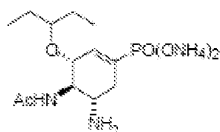
[0177] **실시예 14.** (3R,4R,5S)-4-아세트아미도-5-아미노-3-(1-에틸프로폭시)-1-시클로헥센-1-카복시산 (2, 오셀타미비르).



[0178] [0179] 아지드 11a(110 mg, 0.3 밀리몰)가 에탄올(15 mL)에 용해된 용액을 수소 분위기하, 실온에서 16시간 동안 린들러 촉매(70 mg)로 처리하였다. 이 반응 혼합물을 셀라이트(Celite)를 통하여 여과하고, 또 에탄올로 행구었다. 여액을 감압하에서 증발시켜 무색 폼(95 mg)을 얻으며, 이것을 THF(10 mL)에 용해시키고 또 수성 KOH 용액(1M, 0.5 mL, 0.5 밀리몰)으로 0°C에서 처리하였다. 이 반응 혼합물을 실온으로 승온하고, 1시간 동안 교반하였다. 그 후, 이 혼합물을 Amberlite IR-120으로 pH 5로 산성화시키고, 여과하며 또 수성 에탄올(95%)로 행구었다. 여액을 감압하에서 농축하였다. 잔류물은 C₁₈ 칼럼(CH₃CN/H₂O, 1:19)상에서 정제하여 2(75 mg, 88% 수율)을 얻었다. 백색 고체, 융점 185-187°C; [α]_D²⁰ = -143.2(c = 0.4, H₂O); IR (니트) 3525, 2991, 1751, 1611,

1050 cm⁻¹; ¹H NMR (600 MHz, D₂O) δ 6.50(1H, s), 4.28(1H, d, J = 8.4Hz), 4.05(1H, dd, J = 9.6, 4.8Hz), 3.57-3.52(2H, m), 2.89(1H, dd, J = 17.4, 5.4Hz), 2.48(1H, dd, J = 17.4, 10.8Hz), 2.09(3H, s), 1.61-1.52(3H, m), 1.50-1.43(1H, m), 0.90(3H, t, J = 7-5Hz), 0.87(3H, t, J = 7.5Hz); ¹³C NMR (150 MHz, D₂O) δ 175.1, 173.8, 133.0, 132.4, 84.2, 75.6, 52.9, 49.7, 29.5, 25.4, 25.1, 22.3, 8.54, 8.45; C₁₄H₂₄N₂NaO₄(M⁺ + Na)에 대한 HRMS 계산치: 307.1634, 실측치: m/z 307.1633. 분석. C₁₄H₂₄N₂O₄에 대한 계산치: C, 59.13; H, 8.51; N, 9.85. 실측치: C, 59.04; H, 8.58; N, 9.79.

[0180] **실시예 15.** 암모늄 (3R,4R,5S)-4-아세트아미도-5-아미노-3-(1-에틸프로폭시)-1-시클로헥센-1-포스포네이트 (3, 타미포스포르).

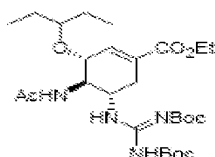


[0181] [0182] 아지드 11b(203 mg, 0.5 밀리몰)이 에탄올(18 mL)에 용해된 용액을 수소 분위기하, 실온에서 16시간 동안 린들러 촉매(80 mg)로 처리하였다. 이 반응 혼합물을 셀라이트(Celite)를 통하여 여과하고, 또 에탄올로 행구었다. 여액을 감압하에서 증발시켜 무색 폼(185 mg)을 얻으며, 이것을 CHCl₃(15 mL)에 용해시키고 또 브로모트리메틸 실란(2 mL, 15 밀리몰)으로 0°C에서 처리하였다. 이 반응 혼합물을 실온으로 승온하고 또 24시간 동안 교반하였다. 그 다음에, 그 혼합물을 감압하에서 농축시켰다. 잔류물을 물(10 mL)에 용해시키고, 실온에서 2시간 동안 교반한 다음, 냉동건조처리시켰다. 잔류하는 담황색 고체는 C₁₈ 칼럼 상에서 수성 NH₄HCO₃(0.1M 용액)으로 용출에 의해 정제하여 암모늄 포스포네이트 3(150 mg, 85% 수율)를 얻었다. 백색 고체, 융점 240°C (분해); [α]_D²⁰

= -56.0(c = 0.8, H₂O); IR (니트) 3532, 3001, 1701, 1656, 1120 cm⁻¹; ¹H NMR (600 MHz, D₂O) δ 6.15(1H, d, J_{p-2} = 18.8Hz), 4.12(1H, d, J = 8.1Hz), 3.94(1H, dd, J = 11.6, 9.2Hz), 3.45-3.40 (2H, m), 2.73-2.68(1H, m), 2.39-2.34(1H, m), 1.97(3H, s), 1.46-1.40(3H, m), 1.38-1.29(1H, m), 0.77(3H, t, J = 7.3Hz), 0.73(3H,

t, J = 7.3Hz); ¹³C NMR (150 MHz, D₂O) δ 175.0, 133.1, 132.9(C₋₁, d, J_{p-1} = 170 Hz), 84.3, 76.0, 52.9, 49.7, 29.3, 25.3, 25.0, 22.2, 8.5, 8.3; ³¹P NMR(162 MHz, D₂O) δ 10.35; C₁₃H₂₄N₂O₅P [M + H - 2 NH₄]⁺에 대한 HRMS 계산치: 319.1434, 실측치: m/z 319.1709. 분석. C₁₃H₃₁N₄O₅P · H₂O에 대한 계산치: C, 41.93; H, 8.93; N, 15.04. 실측치: C, 41.87; H, 8.99; N, 15.01.

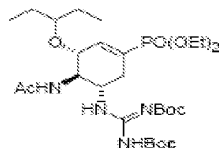
[0183] **실시예 16.** 에틸 (3R,4R,5S)-4-아세트아미도-5-[N₂,N₃-비스(tert-부톡시카보닐)구아니디노]-3-(1-에틸프로폭시)-1-시클로헥센-1-카복실레이트(12a).



[0184]

[0185] 아지드 11a(150 mg, 0.41 밀리몰)가 에탄올(20 mL)에 용해된 용액을 수소 분위기하, 실온에서 16시간 동안 린들러 촉매(80 mg)로 처리하였다. 이 반응 혼합물을 셀라이트(Celite)를 통하여 여과하고, 또 에탄올로 행구었다. 여액을 감압하에서 증발시켜 무색 폼(110 mg)을 얻으며, 이것을 무수 DMF(20 mL)에 용해시키고 또 N,N-비스(tert-부톡시카보닐)티오우레아(148 mg, 0.51 밀리몰) 및 Et₃N(148 μL, 1.03 밀리몰)으로 처리하였다. 이 혼합물을 0°C로 냉각하고 또 HgCl₂(138 mg, 0.51 밀리몰)를 서서히 부가하였다. 이 현탁액을 실온으로 가온시키고 또 10시간 동안 교반하였다. 이어, 반응을 EtOAc로 희석시키고 또 셀라이트 패드를 통하여 여과하였다. 여액을 농축시키고 또 플래쉬 칼럼크로마토그래피(EtOAc/헥산, 3:7)에 의해 정제하여 구아니딘 12a(177 mg, 78% 수율)을 얻었다. 무색 폼; TLC (EtOAc/헥산, 1:1) R_f= 0.4; [α]_D²⁰ = -81.6° (c = 1.0, CHCl₃); IR (니트) 3302, 1724, 1635, 1612, 1120 cm⁻¹; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 11.36(1H, s), 8.60(1H, d, J = 8.1Hz), 6.78(1H, s), 6.21(1H, d, J = 9.0 Hz), 4.37-4.34(1H, m), 4.17(2H, q, J = 7.1Hz), 4.14-4.08(1H, m), 3.98(1H, dd, J = 4.3, 1.3Hz), 3.32-3.30(1H, m), 2.74(1H, dd, J = 17.8, 5.3Hz), 2.35(1H, dd, J = 17.8, 9.4Hz), 1.87(3H, s), 1.50-1.44(22H, m), 1.24(3H, t, J = 7.1Hz), 0.86(3H, t, J = 7.4Hz), 0.83(3H, t, J = 7.4Hz); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 170.2, 165.9, 163.1, 156.8, 152.5, 137.9, 128.6, 83.4, 82.6, 79.5, 76.1, 60.9, 54.3, 48.0, 30.4, 28.3(3 x), 28.0(3 x), 26.0, 25.7, 23.2, 14.1, 9.5, 9.3; C₂₇H₄₇N₄O₈ (M⁺ + H)에 대한 HRMS 계산치: 555-3394, 실측치: m/z 555-3398.

[0186] **실시예 17.** 디에틸 (3R,4R,5S)-4-아세트아미도-5-[N₂, N₃-비스(tert-부톡시카보닐)구아니디노]-3-(1-에틸프로폭시)-1-시클로헥센-1-포스포네이트(12b).



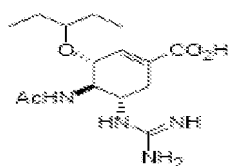
[0187]

[0188] 아지드 11b(320 mg, 0.8 밀리몰)가 에탄올(25 mL)에 용해된 용액을 수소 분위기하, 실온에서 16시간 동안 린들러 촉매(85 mg)로 처리하였다. 이 반응 혼합물을 셀라이트(Celite)를 통하여 여과하고, 또 에탄올로 행구었다. 여액을 감압하에서 증발시켜 무색 폼(255 mg)을 얻으며, 이것을 무수 DMF(30 mL)에 용해시키고 또 N,N-비스(tert-부톡시카보닐)티오우레아(278 mg, 0.96 밀리몰) 및 Et₃N (267 μL, 1.92 밀리몰)에 의해 처리하였다. 이 혼합물을 0°C로 냉각하고 또 HgCl₂ (260 mg, 0.96 밀리몰)을 서서히 부가하였다. 이 현탁액을 실온으로 가온시키고 또 16시간 동안 교반하였다. 이어, 반응을 EtOAc에 의해 희석시키고 또 셀라이트 패드를 통하여 여과하였다. 여액을 농축시키고 또 플래쉬 칼럼크로마토그래피(MeOH/CH₂Cl₂, 3:97)에 의해 정제하여 구아니딘 12b(287

mg, 58% 수율)를 얻었다. 무색 품; TLC (MeOH/CH₂Cl₂, 1:19) Rf = 0.3; [α]_D²⁰ = -76.8(c = 1.6, CDCl₃); IR (니트) 3310, 1801, 1734, 1642, 1253 cm⁻¹; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 11.36(1H, s), 8.61(1H, d, J = 8.2Hz), 6.62(1H, d, J_{p-2} = 21.7 Hz), 6.38(1H, d, J = 8.9 Hz), 4.44-4.38(1H, m), 4.19-3.92(6 H, m), 3.32-3.28(1H, m), 2.68-2.61(1H, m), 2.29-2.24(1H, m), 1.91(3H, s), 1.49-1.46(22H, m), 1.29(6 H, t, J = 7.1Hz), 0.86(3H, t, J = 7.3Hz), 0.82(3H, t, J = 7.3Hz); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 170.8, 162.8, 156.9, 152.6, 142.1, 126.4(C-1, d, J_{p-1} = 181Hz), 83.8, 82.6, 80.1, 76.3, 62.2, 62.1, 54.4, 48.2, 30.9, 28.2(3 x), 28.0(3 x), 26.0, 25.6, 23.4, 16.4, 16.3, 9.7, 9.2; ³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 17.20; C₂₈H₅₂N₄O₉P (M⁺ + H)에 대한 HRMS 계산치: 619.3472, 실측치: m/z 619.3476.

[0189]

실시예 18. (3R,4R,5S)-4-아세트아미도-5-구아니디닐-3-(1-에틸프로폭시)-1-시클로헥센-1-카복시산 (13a) (Kim et al., *J. Med. Chem.* 1998, 41, 2451-2460.).



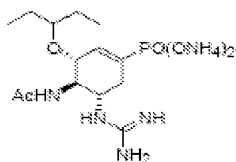
[0190]

[0191]

12a(177 mg, 0.32 밀리몰)이 THF(10 mL)에 용해된 용액에 0°C에서 수성 KOH(1M 용액 0.5 mL)을 추가하였다. 이 혼합물을 실온으로 가온시키고 또 1시간 동안 교반한 다음, Amberlite IR-120(산성 수지)로 처리하였다. 이 혼합물을 여과하고, 또 수성 에탄올(95%)으로 행구었다. 그 여액을 농축시켰다; 잔류물을 CH₂Cl₂(10 mL)에 용해시키고 또 0°C로 냉각하였다. 트리플루오로아세트산(5 mL)을 적가하고, 또 그 혼합물을 0°C에서 1시간 동안 교반하였다. 이어, 그 혼합물을 감압하에서 농축시키고, 또 잔류물을 C₁₈ 칼럼(CH₃CN/H₂O, 1:19) 상에서 정제하여 산 13a(92 mg, 88% 수율)을 얻었다. 백색을 띄는 고체, 융점 90-92°C; [α]_D²⁰ = -190.5(c = 0.36, H₂O); IR (니트) 3502, 2989, 1733, 1625, 1213 cm⁻¹; ¹H NMR (600 MHz, D₂O) δ 6.86(1H, s), 4.36(1H, d, J = 8.2Hz), 3.94(1H, dd, J = 10.1, 5.2Hz), 3.87-3.82(1H, m), 3.56-3.54(1H, m), 2.87(1H, dd, J = 17.5, 5.0 Hz), 2.42(1H, dd, J = 17.5, 10.1Hz), 2.05(3H, s), 1.60-1.54(3H, m), 1.50-1.44(1H, m), 0.91(3H, t, J = 7.2Hz), 0.86(3H, t, J = 7.2Hz); ¹³C NMR (150 MHz, D₂O) δ 174.7, 169.3, 156.8, 138.2, 128.7, 84.3, 75.3, 54.8, 50.5, 29.8, 25.6, 25.2, 21.9, 8.55, 8.50; C₁₅H₂₇N₄O₄(M⁺ + H)에 대한 HRMS 계산치: 327.2032, 실측치: m/z 327.2035. 분석. C₁₅H₂₆N₄O₄에 대한 계산치: C, 55.20; H, 8.03; N, 17.17. 실측치: C, 55.10; H, 8.11; N, 17.14.

[0192]

실시예 19. 암모늄 (3R,4R,5S)-4-아세트아미도-5-구아니디닐-3-(1-에틸프로폭시)-1-시클로헥센-1-포스포네이트 (13b).



[0193]

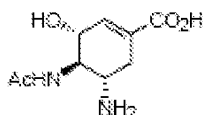
[0194]

브로모트리메틸실란(5 mL, 38 밀리몰)을, 12b(287 mg, 0.46 밀리몰)가 CHCl₃(20 mL)에 용해된 냉각(0°C) 용액에 추가하였다. 이 혼합물을 실온에서 24시간 동안 교반하고, 또 이어 감압하에서 농축시켰다. 잔류물을 물(15 mL)에 용해시키고, 실온에서 2시간 동안 교반한 다음, 동결건조시켰다. 잔류물을 C₁₈ 칼럼(0.1M 수성 NH₄HCO₃ 용액) 상에서 정제하여 암모늄 포스포네이트 13b(132 mg, 72% 수율)를 얻었다. 백색 고체, 융점 220-223°C; [α]_D²⁰ = -55.3(c = 1.5, H₂O); IR (니트) 3512, 2901, 1716, 1101 cm⁻¹; ¹H NMR (600 MHz, D₂O) δ 6.12(1H, d,

$J_{p-2} = 19.0$ Hz), 4.12(1H, d, $J = 6.9$ Hz), 3.80(1H, dd, $J = 10.0, 5.0$ Hz), 3.71-3.62(1H, m), 3.41(1H, br s), 2.62-2.59(1H, m), 2.28-2.23(1H, m), 1.91(3H, s), 1.46-1.44(3H, m), 1.34-1.28(1H, m), 0.77(3H, t, $J = 7.3$ Hz), 0.72(3H, t, $J = 7.3$ Hz); ^{13}C NMR (150 MHz, D_2O) δ 174.5, 156.6, 134.3(C_{-1} , d, $J_{p-1} = 168$ Hz), 132.7, 84.2, 76.3, 55.2, 51.0, 30.8, 25.5, 25.2, 21.8, 8.6, 8.2; ^{13}C NMR (162 MHz, D_2O) δ 10.92; $\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_5\text{P}$ [$\text{M} + \text{H} - 2 \text{NH}_4$] $^+$ 에 대한 HRMS 계산치: 361.1652, 실측치: 361.1637. 분석. $\text{C}_{14}\text{H}_{33}\text{N}_6\text{O}_5\text{P} \cdot (2\text{H}_2\text{O})$ 에 대한 계산치: C, 38.88; H, 8.62; N, 19.43. 실측치: C, 38.74; H, 8.71; N, 19.39.

[0195]

실시예 20. (3R,4R,5S)-4-아세트아미도-5-아미노-3-히드록시-1-시클로헥센-1-카복시산 (14a) (Kim et al., *J. Med. Chem.* 1998, 41, 2451-2460).



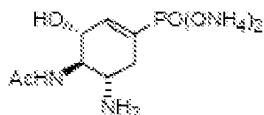
[0196]

[0197]

아지드 10a(81 mg, 0.3 밀리몰)가 에탄올(15 mL)에 용해된 용액을 수소 분위기하, 실온에서 16시간 동안 린들러 촉매(75 mg)로 처리하였다. 이 반응 혼합물을 셀라이트(Celite)를 통하여 여과하고, 또 에탄올로 행구었다. 여액을 감압하에서 증발시켜 무색 폼(95 mg)을 얻으며, 이것을 THF (10 mL)에 용해시키고 또 수성 KOH 용액(1M 용액의 0.5 mL)에 의해 0°C에서 처리하였다. 이 혼합물을 실온으로 가온시키고, 1시간 동안 교반하며, Amberlite IR-120을 사용하여 pH 5로 산성화시켰다. 이 혼합물을 여과하고 또 수성 에탄올(95%)로 행구었다. 여액을 농축하고, 또 잔류물을 C_{18} 칼럼($\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$, 1:19)상에서 정제하여 산 14a(52 mg, 81% 수율)을 얻었다. 백색 고체, 융점 220°C (분해); $[\alpha]_D^{20} = -96.9$ ($c = 0.7$, H_2O); IR (니트) 3511, 1711, 1610 cm^{-1} ; ^1H NMR (600 MHz, D_2O) δ 6.85(1H, s), 4.48(1H, d, $J = 8.7$ Hz), 4.06(1H, dd, $J = 11.5, 5.6$ Hz), 3.64-3.59(1H, m), 2.96(1H, dd, $J = 17.3, 5.6$ Hz), 2.57-2.51(1H, m), 2.10(3H, s); ^{13}C NMR (150 MHz, D_2O) δ 175.6, 169.0, 139.4, 127.5, 68.7, 53.6, 49.0, 28.2, 22.2; $\text{C}_9\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_4(\text{M}^+ + \text{H})$ 에 대한 HRMS 계산치: 215.1032, 실측치: m/z 215.1035.

[0198]

실시예 21. 암모늄 (3R,4R,5S)-4-아세트아미도-5-아미노-3-히드록시-1-시클로헥센-1-포스포네이트 (14b).



[0199]

[0200]

아지드 10b(101 mg, 0.3 밀리몰)가 에탄올(15 mL)에 용해된 용액을 수소 분위기하, 실온에서 16시간 동안 린들러 촉매(50 mg)로 처리하였다. 이 반응 혼합물을 셀라이트(Celite)를 통하여 여과하고, 또 에탄올로 행구었다. 여액을 감압하에서 증발시켜 무색 폼(90 mg)을 얻으며, 이것을 CHCl_3 (10 mL)에 용해시키고 또 브로모트리메틸실란(1 mL, 7.6 밀리몰)으로 0°C에서 처리하였다. 이 혼합물을 실온으로 가온시키고, 24시간 동안 교반한 다음 또 감압하에서 농축하였다. 그 잔류물을 물(10 mL)에 용해시키고, 실온에서 24시간 동안 교반하며, 또 동결건조처리시켰다. 그 잔류물을 C_{18} 칼럼(0.1M 수성 NH_4HCO_3 용액) 상에서 정제하여 암모늄 포스포네이트 14b(64 mg, 85% 수율)을 얻었다. 무색 고체, 융점 190-192°C; $[\alpha]_D^{20} = -56.3$ ($c = 1.0$, H_2O); IR (니트) 3500, 2891, 1728, 1159 cm^{-1} ; ^1H NMR (600 MHz, D_2O) δ 6.29(1H, d, $J_{p-2} = 19.1$ Hz), 4.40(1H, d, $J = 7.0$ Hz), 4.06(1H, dd, $J = 10.6, 5.3$ Hz), 3.90(1H, dd, $J = 6.8, 3.4$ Hz), 3.60(1H, br), 2.88-2.80(1H, m), 2.57-2.53(1H, m), 2.13(3H, s); ^{13}C NMR (150 MHz, D_2O) δ 175.6, 135.0, 132.3(C_{-1} , d, $J_{p-1} = 172$ Hz), 69.4, 54.1, 49.6, 29.3, 22.3; ^{31}P NMR (162 MHz, D_2O) δ 13.52; $\text{C}_8\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_5\text{P}$ [$\text{M} + \text{H} - 2 \text{NH}_4$] $^+$ 에 대한 HRMS 계산치: 249.0651, 실측치: m/z

249.0869.

- [0201] **실시예 22.** 바이러스
- [0202] 인플루엔자 A/WSN/1933(H1N1)(타이완의 상 공 대학 신-루 쉬 박사로부터 구입)를 10일령의 함자충(embryonated) 계란의 요막강(allantoic cavities)에서 72시간동안 배양하고, 수크로오스 구배 원심분리에 의해 정제하였다.
- [0203] **실시예 23.** 세포.
- [0204] 마딘-다비(Madin-Darby) 개 신장(MDCK) 및 293T 세포는 아메리칸 타입 컬처 콜렉션(American Type Culture Collection)(Manassas, Va)으로부터 구입하였고, 또 10% 소태아 혈청(GibcoBRL) 및 페니실린-스트렙토마이신(GibcoBRL)을 함유하는 DMEM(둘베코의 변성 이글 배지, GibcoBRL)에서 5% CO₂ 하37℃에서 성장시켰다.
- [0205] **실시예 24.** 인플루엔자 바이러스 TCID₅₀의 결정
- [0206] TCID₅₀(50% 조직 배양 감염 투여량)은 96-웰 마이크로플레이트에서 1 x 10⁵ 세포/mL 비율로 100 μL MDCK 세포 상에서 인플루엔자 바이러스 스톡(stock)의 일련의 희석물에 의해 결정하였다. 감염된 세포는 5.0% C 하, 37℃에서 48시간 동안 배양하고 또 웰 당 100 μL의 CellTiter 96 수성 비 방사성 활성 세포 증식 에세이 시약(Promega 제조)이 들어 있는 각 웰에 부가하였다. 37℃에서 15분간 배양한 후, 490 nm에서 흡수를 플레이트 판독기 상에서 읽었다. 인플루엔자 바이러스 TCID₅₀은 레드-무엔히 방법(Reed and Muench, H. Am. J. Hyg. 1938, 27, 493-497)을 이용하여 측정하였다.
- [0207] **실시예 25.** NAI 평가를 위한 재조합 뉴라미니다아제 효소의 제조
- [0208] 2개의 N1 그룹 뉴라미니다아제 및 이들의 H274Y 돌연변이체 형태를 제조하였다. A/WSN/1933(H1N1) 및 A/Hanoi/30408/2005(H5N1)의 NA 유전자로부터 유도된 NA(WNS) 및 NA(Hanoi)에 대한 cDNA는 각각 킹-송젠 박사(Institute of Molecular Biology, Academia Sinica) 및 포-후양 리양 박사(Institute of Biological Chemistry, Academia Sinica)로부터 입수하였다. NA 유전자는 또한 제조자의 지시에 따라서 GeneTailor Site-Directed Mutagenesis System (Invitrogen, CaI, USA)에 의해 H274Y 돌연변이를 도입하도록 돌연변이처리되었다. NA(WSN) 및 그의 돌연변이체 유전자를 pC_{neo}(Promega, Wis, USA)에 클로닝하고, 또 NA(Hanoi) 및 그의 돌연변이체 유전자를 pCDNA6(Invitrogen)에 클로닝하였다. NA 유전자의 플라스미드 DNA를 사용하여 293T 세포를 형질감염시켜 세포 표면에서 재조합 뉴라미니다아제를 발현하게 하였다. 형질감염된 세포를 48 시간 수집하고, PBS (pH 7.4)로 2회 세척하고 또 뉴라미니다아제 억제제의 평가에 사용하였다.
- [0209] **실시예 26.** NA 활성의 측정
- [0210] 뉴라미니다아제 활성은 인플루엔자 A/WSN/1933(H1N1) 감염된 함자충란의 희석된 요막액을 사용하여 측정하였다. 형광 에세이를 이용하여 형광 기질 2'-(4-메틸움벨리페릴)-α-D-N-아세틸뉴라미닌산(MUNANA; Sigma)에 의한 NA 활성을 측정하였다. 방출된 4-메틸움벨리페론의 형광은 여기 및 방출 파장 365 및 460 nm를 각각 이용하여 인비전 플레이트 리더(Envision plate reader) (Perkin-Elmer, Wellesley, MA)로 측정하였다. 뉴라미니다아제 활성은 200 μL의 MUNANA에서 측정하였다. 효소 활성은 실온에서 15분간 배양하는 동안 형광 증가로서 표시하였다.
- [0211] **실시예 27.** NA 억제제의 IC₅₀ 및 K_i의 측정
- [0212] NA 억제제는 억제제 및 뉴라미니다아제를 실온에서 10분간 혼합한 다음 200 μM의 기질을 부가함으로써 결정하였다. 억제제 IC₅₀ 값은 NA 활성의 억제 % 대 억제제 농도를 그래프 패드 프리즘 4(Graph Pad Prism 4)을 이용하여 플롯팅하여 얻은 투여량-반응 곡선으로부터 결정하였다. 억제제 K_i 값은 식 $K = IC_{50}/(1 + [S]/K_m)$ (Cheng, Y.-C; Prusoff, W. H. *Biochem. Pharmacol.* 1973, 22, 3099-3108)에 의해 결정하였고, 이때 [S]는 IC₅₀ 측정 실험에 사용된 기질(MUNANA; Sigma) 농도이고, 또 K_m은 최대 속도의 절반을 생성하는 기질의 농도이다. K_m은 미켈리스-멘텐(Michaelis-Menten) 방정식을 이용하여 플롯팅함으로써 결정하였다.
- [0213] **실시예 28.** NA 억제제의 EC₅₀ 및 CC₅₀의 측정
- [0214] 뉴라미니다아제 억제제의 항-독감 활성은 H1N1 CPE 활성의 50% 보호에 대한 NA 억제제의 농도인 EC₅₀ 값에 의해 측정하였다. 100 TCID₅₀에서 50 μL의 희석 H1N1를 동 부피의 NA 억제제와 다양한 농도로 혼합하였다. 이 혼합물

을 사용하여 100 μ L의 MDCK 세포를 96-웰에서 1×10^5 세포/mL로 감염시켰다. 37°C에서 48 시간 동안 5.0% CO₂ 하에서 배양한 후, 상기 기재한 바와 같은 CellTiter 96® Aqueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay(수성 비방사성 활성 세포 증식 에세이) 시약을 사용하여 세포변성(cytopathic) 효과를 측정하였다. 억제제 EC₅₀ 값은 그래프 패드 프리즘 4를 이용하여 CPE % 대 NA 억제제의 농도의 곡선을 맞추어서 측정하였다. CC₅₀ 값은 MCDCK 세포에 대한 NA 억제제의 독성을 측정하였고 또 바이러스 감염없이 EC₅₀ 측정과 유사하게 결정하였다.

[0215] **실시예 29.** 시험관내 에세이

[0216] 자성 BALB/c 마우스(4-5주령)을 줄레틸로 마취시키고 25 μ L/ml 감염성 인플루엔자 바이러스를 코 안으로 접종하였다. 포스포네이트 화합물 3 및 3b 그리고 타미플루를 10 그룹의 마우스에게 0.01, 0.1, 1.0 및 10 mg/kg 체중/일의 투여량으로 경구 위관영양법에 의해 5일 동안 매일 2회 투여하였다. 대조군(위약) 마우스에게는 동일 계획으로 멸균수를 투여하였다. 첫 번째 약물을 투여한지 4시간 후, 마우스에 10 MLD₅₀의 인플루엔자 바이러스 [A/WSN/33 (H1N1) 또는 NIBRG-14(H5N1)]를 접종하였다. 이들 마우스를 14일 동안 매일 생존율과 체중을 관찰하였다. 평균 생존율에 대한 결과를 표 3 및 4에 나타낸다. 개별 생존율 및 평균 체중에 대한 결과는 도 9 내지 20에 도시한다.

[0217] **실시예 30.** N1 뉴라미니다아제 억제제의 컴퓨터 모델링

[0218] NA와의 복합체에서 화합물 3의 모델은 화합물 3을 인플루엔자 대 뉴라미니다아제의 결정학 구조에 도킹시키는 것을 통하여 작성하였다 (N1 서브타입, PDB 코드: 2HU4)(Russell et al., *Nature* 2006, 443, 45-49). 화합물 3의 3-D 구조는 오셀타미비르 2(또한 2HU4로부터)의 3-D 구조를 SYBYL 7.3 프로그램에 따라 조절함으로써 작성하였다. (SYBYL 7.3; The Tripos Associates: St. Louis, MO. SYBYL 컴퓨터작업은 National Center for High Performance Computing, Taiwan에서 실시하였다). GOLD 3.1.1(Jones et al., *J. Mol. Biol.* 1995, 245, 43-53; Jones et al., *J. Mol. Biol.* 1997, 267, 727-748)을 이용하여 화합물 3을 유연한 도킹 선택을 갖도록 단백질 상에 도킹시켰다. 콜만-모든 원자 전하(Cornell et al., *J. Am. Chem. Soc.* 1995, 117, 5179-5197.)는 단백질 원자에 할당되며, 또 가슈타이거-후켈 (Gasteiger and Marsili, *Tetrahedron* 1980, 36, 3219-3228.; Marsili and Gasteiger, *Croat. Chem. Acta* 1980, 53, 601-614; Purcell and Singer, *J. Chem. Eng. Data* 1967, 12, 235-246) 전하는 SYBYL 7.3 프로그램을 이용하여 리간드 원자에 할당되었다(Jones et al., *J. Mol. Biol.* 1997, 267, 727-748). 컴퓨터 작업의 초기 1000 독립적 유전자 알고리즘 주기는 -180 내지 180도로 다양한 리간드 토션각으로 실시하였다. 연구 효율은 200%로 설정하여 결합 구조 공간에 대하여 가장 소모적인 연구를 확실히 하였다. 모든 다른 변수는 디폴트 셋팅으로서 동일하게 유지하였다. 결합 과정은 Intel(R) Xeon(TM) CPU 3.00 GHz CPUs를 갖는 40-프로세서 리눅스 클러스터(processor Linux cluster)에 분포되었다. 생성한 리간드-단백질 복합체 구조는 골드스코어 스코어링 작용(GOLDScore scoring function)에 의해 순위를 매겨서 상위 1000 히트를 결정하였다. 상부 구조의 목측 관찰로 도 1b에 도시된 바와 같은 콘센서스 구조가 분명함을 확인하였다. 결과는 NA 중의 주요 아르기닌과 화합물 3 중의 포스페이트 기 사이의 강한 상보적 정전 상호작용에 의해 판단하여 예측되었다. 분자 모델은 PyMOL 소프트웨어 (DeLano WL (2002) The PyMOL molecular graphics system San Carlos (California): DeLano Scientific)에 의해 표시하였다. 도 1에는, 리간드 상의 중심에 있는 7Å 반경 내에서 NA 잔기의 측쇄에 있는 탄소 원자가 분명히 도시되어 있다. 일시적인 수소결합 공여체-수용체 쌍은 점선으로 연결되었다. 포스포네이트 화합물 3a의 복합체는 오셀타미비르-NA 복합체(6 쌍 리간드-NA H-결합)에 비하여 NA 활성 부위에 있는 주요 잔기를 갖는 더욱 강력한 수소결합 상호작용(8 쌍 리간드-NA H-결합)을 갖는다.

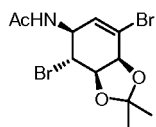
[0219] **실시예 31.** 하기 합성 과정 실시예에 대한 원료 및 생성물 특성화

[0220] 하기 실시예에 있어서, 모든 시약은 시중에서 입수할 수 있으며 또 특별히 다르게 나타내지 않는 한, 더 이상 정제하지 않고 사용된다. 모든 용매는 다르게 나타내지 않는 한, 무수 등급이었다. 디이소프로필 아조디카복실레이트(DIAD)는 Na₂SO₄ 상에서 증류에 의해 정제하였다. 모든 비-수성 반응은, 다르게 나타내지 않는, 아르곤의 약간 양성 압력하, 오븐-건조된 글래스웨어에서 실시하였다. 반응을 자기적으로 교반하고 또 실리카겔 상에서 박층 크로마토그래피에 의해 모니터링하였다. 플래쉬 크로마토그래피는 60-200 μ m 입자 크기의 실리카겔 상에서 실시하였다. 수득한 것은 분광학적으로 순수한 화합물로 보고되었다. 용점은 Electrothermal MEL-TE MP 1101D 용점 장치 상에 기록하였고 보정되지 않았다. NMR 스펙트럼은 Bruker AVANCE 600 및 400 분광계 상에 기록하였다. 화학적 변동은 테트라메틸실란(TMS)에 대한 δ 값으로 나타낸다; 커플링 상수 J는 Hz로 나타낸다. 내부 표

준은 ¹H-NMR 스펙트럼의 경우 CDCl₃ (δ H = 7.24), CD₃OD (δ H = 3.31) 또는 D₂O (δ H = 4.79)이었고, ¹³C-NMR 스펙트럼의 경우 CDCl₃ (δ c = 77.0) 또는 CD₃OD (δ c = 49.15)이었으며, 또 ³¹P-NMR 스펙트럼의 경우 D₂O 중의 H₃PO₄ (δ P = 0.00)이었다. 스플릿팅 패턴은 s(싱글렛), d(더블렛), t(트리플렛), q(쿼테트), m(멀티플), br(브로드) 및 dd(더블렛의 더블)으로 나타내었다. IR 스펙트럼은 Thermo Nicolet 380 FT-IR 분광계 상에 기록하였다. 광학 회전은 퍼킨-엘머 모델 341 편광계 상에 기록하였다. [α]_D 값은 10⁻¹ deg cm² g⁻¹으로 나타내었다. 고해상도 ESI 질량 스펙트럼은 Bruker Daltonics 분광계 상에 기록하였다.

[0221] 부록 A는 이것이 하기 실시예에 관련되는 한 참고문헌으로 포함된다.

[0222] **실시예 31.** N-[(1S,4S,5R,6R)-3,6-디브로모-4,5-(이소프로필리덴-디옥시)시클로헥스-2-엔-1-일] 아세트아미드 (19).

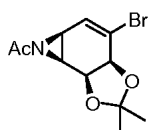


[0223]

[0224] 시스-디히드로디올 17(8.0 g, 42.1 밀리몰)이 아세톤 (20 mL) 및 2,2-디메톡시프로판(40 mL)의 혼합물에 용해된 냉각(0°C) 용액에 p-톨루엔설폰산 일수화물(100 mg, 0.52 밀리몰)을 부가하여 처리하였다. 이 반응 혼합물을 실온에서 30분간 교반한 후, NaHCO₃ 포화 수용액(60 mL)을 부가하여 급랭시켰다. 유기 용매는 감압하에서 제거하고, 또 잔류하는 수성 상은 Et₂O (3 x 100 mL)에 의해 추출하였다. 모아진 유기 추출물은 염수(100 mL)로 세척하고, MgSO₄ 상에서 건조시키며, 여과하고 또 진공에서 농축시켜 (가열하지 않음) 조 아세트아미드를 담황색 오일 (8.92 g)로 얻었다.

[0225] N-브로모아세트아미드 (NBA, 6.49 g, 47 밀리몰)가 무수 아세트니트릴(250 mL)에 용해된 용액에, SnBr₄(CH₂Cl₂ 중의 1M 용액 4.7 mL, 4.7 밀리몰) 및 물 (0.72 mL, 40 밀리몰)을 0°C 암소에서 부가하였다. 상기 제조한 아세트니트릴(150 mL) 중의 아세트아미드 (8.92 g, 38.8 밀리몰)는 1시간에 걸쳐 동일 온도에서 NBA-SnBr₄ 혼합물에 적가하였다. 이 반응을 0°C에서 8시간 동안 급격하게 교반한 다음 포화 수성 NaHCO₃(100 mL) 및 Na₂SO₃(100 mL)에 의해 급랭시켰다. 생성한 혼합물을 30분 동안 실온으로 가온시켰다. 유기 상을 분리한 후, 수성 상은 CH₂Cl₂(3 x 300 mL)에 의해 추출하였다. 모아진 유기 층은 물(3 x 200 mL) 및 염수 (300 mL)로 세척한 다음 MgSO₄ 상에서 건조시키며, 여과하고 또 진공에서 농축시켰다. 조 생성물은 Et₂O/CH₂Cl₂로부터 재결정처리하여 브로모아세트아미드 19(11.66 g, 디히드로디올 17로부터 75%)를 무색 결정성 고체로 얻었다; 융점 150-152°C (분해); TLC (EtOAc/헥산, 1:1) R_f = 0.40; [α]_D²⁰ = +176.6(c = 1.63, CHCl₃); IR (필름) 3209, 2988, 1655, 1225 cm⁻¹; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 6.19(1H, d, J = 9.1Hz), 6.15(1H, d, J = 5.0 Hz), 4.93-4.90(1H, m), 4.66(1H, d, J = 5.0 Hz), 4.58(1H, dd, J = 5.2, 2.6 Hz), 4.19(1H, dd, J = 3.9; 2.0 Hz), 1.95(3H, s), 1.49(3H, s), 1.40(3H, s); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 168.9, 127.9, 124.7, 112.0, 77.9, 75.8, 50.2, 44.3, 27.8, 26.5, 23.3; C₁₁H₁₀Br₂NO₃(M⁺ + H)에 대한 HRMS 계산치: 367.9497, 실측치: m/z 367.9499.

[0226] **실시예 32.** (1S,4S,5S,6S)-7-아세틸-3-브로모-4,5-이소프로필리덴-디옥시-7-아자비시클로[4.1.0]헵트-2-엔 (20)



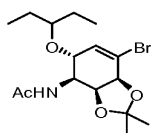
[0227]

[0228] 리튬 비스(트리메틸실릴)아미드(THF 중의 1.0 M 용액 THF, 35 밀리몰)를, 질소 분위기하의 -10°C에서 브로모아세트아미드 19(11.66 g, 31.8 밀리몰)가 THF (150 mL)에 용해되어 교반되는 용액에 적가하였다. 생성한 용액을

0℃로 승온시키고 또 30분간 교반하여 갈색 현탁액을 얻었다. 이 완충 용액(100 mL, pH 7)을 부가한 후, 혼합물을 Et₂O(4 x 150 mL)로 추출하였다. 모아진 유기 추출물은 염수로 세척하고, MgSO₄ 상에서 건조시키며, 여과하고 또 농축하였다. 조 아지리딘 20(8.32 g)은 추가의 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

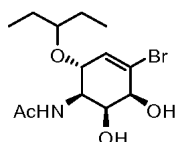
[0229] 분석을 위한 순수한 샘플 20은 실리카겔(EtOAc/헥산, 2:3)상에서 조 생성물의 플래쉬 칼럼크로마토그래피에 의해 제조하였다. 무색 고체; 융점 110-112℃; TLC(EtOAc/헥산, 1:1) R_f = 0.42; [α]_D²⁰ = -77.6(c = 0.47, CHCl₃); IR (필름) 2967, 1980, 1706, 1233, 1072 cm⁻¹; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 6.69(1H, d, J = 4-7 Hz), 4.72(1H, dd, J = 7.0, 1.1Hz), 4.45(1H, dd, J = 7.0, 4.2Hz), 3.19(1H, dd, J = 5.9, 5.0 Hz), 3.10(1H, dd, J = 5.6, 2.8Hz), 2.16(3H, s), 1.55(3H, s), 1.41(3H, s); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 181.7, 129.9, 122.7, 108.5, 76.5, 71.9, 39.5, 36.7, 27.0, 24.8, 23.2; C₁₁H₁₄BrNNaO₃(M⁺ + Na)에 대한 HRMS 계산치: 310.0055, 실측치: m/z 310.0058.

[0230] **실시예 33.** N-[(1S,2R,5S,6S)-4-브로모-2-(1-에틸프로폭시)-5,6-(이소프로필리덴디옥시)시클로헥스-3-엔-1-일]아세트아미드 (22).



[0231] 조 아지리딘 20(8.32 g, 28.8 밀리몰)이 3-헥탄올(50 mL)에 용해된 용액에, 붕소 트리플루오라이드 에테레이트 (4.68 mL, 36 밀리몰)를 -10℃에서 적가하였다. 이 반응 혼합물을 0℃로 가온시키고, 또 6시간 동안 교반하며, 또 감압하에서 농축하였다. 잔류물을 EtOAc(200 mL)에 용해시키고, 또 유기층은 포화 수성 NaHCO₃(50 mL)으로 세척하였다. 수성층은 EtOAc(3 x 100 mL)으로 추출하고, 또 모아진 유기층은 물(200 mL) 및 염수(200 mL)로 세척하였다. 유기 추출물을 MgSO₄ 상에서 건조시키고, 여과하며 또 농축하였다. 잔류 오일은 실리카겔 상에서 플래시 칼럼 크로마토그래피(EtOAc/헥산, 3:7)에 의해 정제하여 에테르 생성물 22(8.82 g, 20으로부터 73%)를 무색 폼으로 얻었다. TLC(EtOAc/헥산, 1:1) R_f = 0.35; [α]_D²⁰ = -123(c = 1.42, CHCl₃); IR (필름) 3221, 2988, 1921, 1711, 1199, 1075 cm⁻¹; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 6.15(1H, d, J = 2.1Hz), 5.70(1H, d, J = 9.0 Hz), 4.59(1H, dd, J = 5.2, 1.7 Hz), 4.42(1H, dd, J = 5.2, 2.6 Hz), 4.31(1H, ddd, J = 11.5, 8.8, 2.6 Hz), 3.90-3.88(1H, m), 3.27-3.23(1H, m), 2.01(3H, s), 1.50-1.45(4H, m), 1.40(3H, s), 1.36(3H, s), 0.89-0.85(6 H, m); ¹³C NMR(150 MHz, CDCl₃) δ 169.9, 132.6, 122.7, 110.0, 82.3, 76.9, 76.1, 73.5, 51.3, 27.3, 26.3, 26.0, 25.6, 23.2, 9.5, 9.2; C₁₆H₂₇BrNO₄(M⁺ + H)에 HRMS 계산치: 376.1123, 실측치: m/z 376.1129.

[0233] **실시예 34.** N-[(1R,2R,5S,6S)-4-브로모-2-(1-에틸프로폭시)-5,6-디히드록시시클로헥스-3-엔-1-일]아세트아미드 (23).

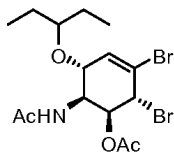


[0234] 아세트니드 22(8.82 g, 23.4 밀리몰)가 메탄올(100 mL)에 용해된 용액에, 진한 HCl 용액(2 mL)을 부가하였다. 이 반응 혼합물은 TLC 분석에 의해 나타나는 바와 같이 보호기 제거 완료시까지 50℃에서 약 6시간 동안 교반하였다. 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 용매는 감압하에서 증발시키고 또 잔류하는 고체는 Et₂O/THF로부터 재결정화하여 디히드록시 아세트아미드 23(7.42 g, 94%)을 무색 결정성 고체로 얻었다; 융점 131-133℃(분해);

TLC(EtOAc) Rf = 0.35; $[\alpha]_D^{20} = -101.2$ (c = 0.67, MeOH); IR (필름) 3678, 3206, 2972, 1971, 1698, 1208, 1072 cm^{-1} ; ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ 6.04(1H, d, J = 3.1Hz), 4.13(1H, dd, J = 1.7, 0.9 Hz), 3.95(1H, dd, J = 4.3, 2.2Hz), 3.92-3.89(2H, m), 3.32-3.29(1H, m), 1.86(3H, s), 1.44-1.33(4H, m), 0.85-0.79(6 H, m); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ 173.3, 132.0, 128.1, 83.4, 75.9, 72.7, 70.8, 55.1, 27.5, 27.3, 23.0, 10.1, 9.9; $\text{C}_{13}\text{H}_{23}\text{BrNO}_4(\text{M}^+ + \text{H})$ 에 대한 HRMS 계산치: 336.0810, 실측치: m/z 336.0818

[0236]

실시예 35. (1S,2R,5R,6S)-6-아세트아미도-2,3-디브로모-5-(1-에틸-프로폭시)-시클로헥스-3-엔-1-일 아세테이트 (24).



[0237]

[0238]

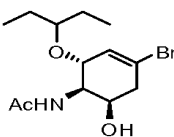
디올 23(7.42 g, 22.1 밀리몰)이 THF (150 mL)에 용해된 교반되는 용액에, 질소 분위기하 0°C에서 α -브롬화 아세톡시이소부틸(4.1 mL, 27.8 밀리몰)을 10분간에 걸쳐 적가하였다. 이 반응 혼합물을 동일 온도에서 30분간 교반한 다음, 3.5 시간 동안 교반하면서 실온으로 가온시켰다. 용매는 증발시키고, 잔류하는 오일은 EtOAc(200 mL)와 5% 수성 NaHCO_3 (50 mL) 사이에 분배시켰다. 유기층을 물(100 mL)로 세척하고, MgSO_4 상에서 건조시키며, 여과하고 또 농축시켜 조 브로모아세테이트 24(9.05 g)를 얻었다. 조 생성물은 추가의 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

[0239]

분석을 위한 순수한 샘플 24는 실리카겔(EtOAc/헥산, 2:1)상에서 조 생성물의 플래쉬 칼럼크로마토그래피에 의해 정제하였다. 담황색 폼; TLC(EtOAc/헥산, 2:1) Rf = 0.33; $[\alpha]_D^{20} = -43.2$ (c = 1.28, CHCl_3); IR (필름) 3279, 2981, 1927, 1702, 1687, 1221, 1093 cm^{-1} ; ^1H NMR(600 MHz, CDCl_3) δ 6.17 (1H, d, J = 2.3 Hz), 5.85(1H, br s), 5.29(1H, s), 4.78-4.75(1H, m), 4.54 (1H, d, J = 2.8 Hz), 4.03(1H, d, J = 8.6 Hz), 3.26(1H, dd, J = 11.3, 5.6 Hz), 2.09(3H, s), 1.96(3H, s), 1.49-1.43(4H, m), 0.89-0.81(6H, m); ^{13}C NMR(150 MHz, CDCl_3) δ 170.0, 169.9, 133.9, 121.1, 82.4, 75.4, 74.5, 48.8, 47.3, 26.2, 25.8, 23.4, 20.9, 9.4, 9.3; $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{Br}_2\text{NO}_4(\text{M}^+ + \text{H})$ 에 대한 HRMS 계산치: 440.0072, 실측치: m/z 440.0076.

[0240]

실시예 36. N-[(1R, 2R, 6R)-4-브로모-2-(1-에틸프로폭시)-6-히드록시시클로헥스-3-엔-1-일] 아세트아미드 (25).



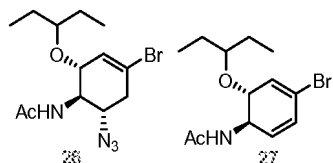
[0241]

[0242]

Super-Hydride[®] (LiBHET_3 , THF 중의 1M 용액 61.5 mL, 61.5 밀리몰)를, 브로모아세테이트 24(9.05 g, 20.5 밀리몰)가 THF (100 mL)에 용해된 교반되는 용액에 질소 분위기하 0°C에서 적가하였다. 생성한 용액을 실온으로 가온시키고, 2시간 동안 교반한 다음 포화 수성 NH_4Cl (50 mL)로 세척하였다. 수성층을 분리하고, EtOAc (6 x 100 mL)로 추출하였다. 모아진 유기층을 물(2 x 200 mL) 및 염수(200 mL)로 세척하였다. 유기 상을 MgSO_4 상에서 건조시키며, 여과하고 또 농축시켜 담황색 폼 잔류물을 얻었다. 이 조 생성물을 Et_2O 로부터 재결정화에 의해 정제하여 히드록시아세트아미드 25(5.78 g, 디올 23으로부터 82%)를 백색 결정성 고체로서 얻었다; 용점 102-104°C; TLC(EtOAc) Rf = 0.35; $[\alpha]_D^{20} = -107.7$ (c = 1.1, CHCl_3); IR (필름) 3595, 3217, 2923, 1984, 1707, 1286, 1021 cm^{-1} ; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 6.03(1H, d, J = 3.1Hz), 5.89(1H, d, J = 6.7 Hz), 4.23(1H, br s),

4.07(1H, br s), 3.98 (1H, br s), 3.93(1H, dd, J = 7.5, 2.1Hz), 3.29-3.26(1H, m), 2.82(1H, dd, J = 18.2, 4.7 Hz), 2.50(1H, dd, J = 18.2, 5.8Hz), 2.01(3H, s), 1.51-1.42(4H, m), 0.89-0.85(6 H, m); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 172.0, 127.9, 122.5, 81.7, 74.0, 67.7, 54.2, 41.7, 26.3, 26.0, 23.4, 9.7, 9.5; HRMS 계산치 for C₁₃H₂₂BrNNaO₃(M⁺ + Na): 342.0681, 실측치: m/z 342.0688.

[0243] **실시예 37.** N-[(1R, 2R, 6S)-4-브로모-2-(1-에틸프로폭시)-6-아지도-시클로헥스-3-엔-1-일] 아세트아미드 (26) 및 N-[(1R,6R)-4-브로모-6-(1-에틸프로폭시)시클로헥사-2,4-디엔-1-일] 아세트아미드 (27).



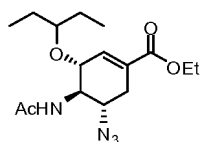
[0244]

[0245] 25(5.78 g, 18.1 밀리몰), 트리페닐포스핀(9.96 g, 38.0 밀리몰), 새로이 증류된 디이소프로필 아조디카복실레이트(7.68 g, 38.0 밀리몰) 및 디페닐포스포릴아지드(10.51 g, 38.0 밀리몰)가 THF(120 mL)에 용해된 용액을 40°C에서 24시간 동안 교반하였다. 감압하에서 회전 증발에 의해 용매를 제거하고 또 잔류물을 플래쉬 칼럼크로마토그래피(EtOAc/헥산, 1:2)에 의해 정제하여 6S 구조를 갖는 상응하는 아지드 생성물 26(5.23 g, 84% 수율)을 디엔 27(108 mg, 0.36 밀리몰)의 부 생성물 2%와 함께 얻었다.

[0246] 아지드 26: 백색 고체, 융점 138-140°C; TLC(EtOAc/헥산, 1:1) R_f = 0.45; [α]_D²⁰ = -33.4(c = 0.7, CHCl₃); IR (필름) 3119, 2927, 2178, 1902, 1698, 1277, 1054 cm⁻¹; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 6.33(1H, d, J = 7.8Hz), 5.98(1H, d, J = 2.2Hz), 4.27(1H, d, J = 8.2Hz), 4.22-4.17(1H, m), 3.44-3.40(1H, m), 3.23-3.20(1H, m), 2.77(1H, dd, J = 17.4, 5.8Hz), 2.52-2.46(1H, m), 1.99(3H, s), 1.47-1.42(4H, m), 0.86-0.82(6 H, m); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 171.2, 130.3, 119.0, 82.0, 74.7, 57.5, 56.9, 40.4, 26.2, 25.6, 23.5, 9.6, 9.2; C₁₃H₂₂BrN₄O₂(M⁺ + H)에 대한 HRMS 계산치: 345.0926, 실측치: m/z 345.0931.

[0247] 디엔 27: 무색 고체, 융점 68-70°C; TLC (EtOAc/헥산, 2:1) R_f = 0.60; [α]_D²⁰ = -215.6(c = 0.98, CHCl₃); IR (필름) 3331, 1721, 1607, 1088 cm⁻¹; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 6.16(1H, d, J = 5.2Hz), 6.09(1H, dd, J = 9.8, 1.3Hz), 5.81(1H, dd, J = 9.8, 5.2Hz), 5.52(1H, d, J = 7-7 Hz), 4.60(1H, ddd, J = 8.9, 4.8, 2.4Hz), 3.91(1H, dd, J = 4.8, 2.4Hz), 3.43-3.39(1H, m), 1.94(3H, s), 1.49-1.41(4H, m), 0.88-0.82(6 H, m); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 169.9, 129.9, 128.0, 126.7, 120.0, 80.8, 74.8, 47.0, 26.6, 26.5, 23.3, 9.9, 9.5; C₁₃H₂₁BrNO₂ (M⁺ + H)에 대한 HRMS 계산치: 302.0756, 실측치: m/z 302.0761.

[0248] **실시예 38.** 에틸 (3R,4R,5S)-4-아세틸아미노-5-아지도-3-(1-에틸-프로폭시)-1-시클로헥센-1-카복실레이트 (28a).

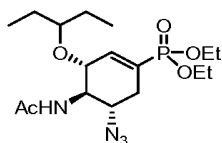


[0249]

[0250] 26(349 mg, 1 밀리몰), N,N-디이소프로필에틸아민(2.5 mL, 15.2 밀리몰) 및 비스(트리페닐포스핀)디카보닐 니켈(0) (960 mg, 1.5 밀리몰)이 에탄올(3 mL) 및 THF(15 mL)에 용해된 용액을 질소 분위기하 80°C에서 24 시간 동안 교반하였다. 이 반응 혼합물 실온으로 냉각시키고, 또 용매를 증발시켰다. 잔류하는 오일은 EtOAc(20 mL)으로 희석시키고, 또 혼합물을 셀라이트 패드를 통하여 여과하였다. 여액을 증발시켜 담황색 오일을 얻으며, 이것을 플래쉬 칼럼크로마토그래피 (EtOAc/헥산, 3:7)에 의해 정제하여 에스테르 28a(274 mg, 81%)를 무색 고체로

얻었다; 융점 115-117°C; TLC(EtOAc/헥산, 1:1) Rf = 0.4; $[\alpha]_D^{20} = -48.9$ (c = 1.1, CHCl₃); IR (필름) 3401, 2101, 1712, 1655, 1273 cm⁻¹; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 6.75(1H, s), 5.98(1H, d, J = 7 A Hz), 4.53(1H, d, J = 5.0 Hz), 4.51-4.16(3H, m), 3.33-3.28(2H, m), 2.82(1H, dd, J = 17.6, 5.6 Hz), 2.22-2.16(1H, m), 2.00(3H, s), 1.49-1.45(4H, m), 1.25(3H, t, J = 7.1Hz), 0.95-0.80(6H, m); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 171.1, 165.8, 137.9, 128.1, 82.0, 73.4, 61.0, 58.0, 57.2, 30.5, 26.2, 25.6, 23.5, 14.1 9.5, 9.3; C₆₁₆H₂₇N₄O₄(M⁺ + H)에 대한 HRMS 계산치: 339.2032, 실측치: m/z 339.2039.

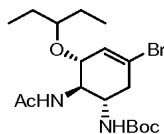
[0251] **실시예 39.** 디에틸 (3R,4R,5S)-4-아세트아미도-5-아지도-3-(1-에틸-프로폭시)-1-시클로헥센 포스포네이트 (28b).



[0252]

[0253] 무수 톨루엔 (50 mL) 중의 26(1.72 g, 10 밀리몰), 디에틸 포스파이트(2.07 g, 15 밀리몰) 및 1,4-디아자비시클로[2.2.2]옥탄(3.37 g, 30 밀리몰)의 혼합물을 질소와 함께 10분간 기포발생시키는 것에 산소제거 (deoxygenate)한 다음, 질소 분위기하의 원형 바닥 플라스크 내에 들어 있는 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐 (0) (867 mg, 0.75 밀리몰)에 추가하였다. 생성한 용액을 서서히 90°C로 가열하고 또 상기 온도에서 12시간 동안 유지시켰다. 이 반응 혼합물을 셀라이트(Celite)를 통하여 여과하고, 또 그 여액을 감압하에서 증발시켜 무색 품(3.91 g)을 얻으며, 이것은 플래쉬 칼럼크로마토그래피(EtOAc/헥산, 1:1 내지 2:1)에 의해 정제되어 포스포네이트 28b(3.33 g, 83%)를 무색 오일로 얻었다. TLC (EtOAc/헥산, 1:1) Rf = 0.2; $[\alpha]_D^{20} = -62.4$ (c = 1.2, CHCl₃); IR (필름) 3357, 2108, 1754, 1651, 1247 cm⁻¹; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 6.56(1H, d, JP₋₂ = 21.6 Hz), 5.71(1H, d, J = 6.9 Hz), 4.52(1H, d, J = 7.8Hz), 4.34-4.30(1H, m), 4.11-4.01(4H, m), 3.31-3.23(2H, m), 2.69-2.64(1H, m), 2.12-2.08(1H, m), 2.01(3H, s), 1.51-1.43(4H, m), 1.39-1.31(6 H, m), 0.90-0.81(6 H, m); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 171.0, 141.7, 126.3(C₋₁, d, JP₋₁ = 182Hz), 81.9, 73.7, 62.14, 62.10, 54.3, 57.1, 31.0, 26.2, 25.4, 23.6, 16.4, 16.3, 9.6, 9.2; ¹³C NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 16.99; C₁₇H₃₂N₄O₃P (M⁺ + H)에 대한 HRMS 계산치: 403.2110, 실측치: m/z 403.2117.

[0254] **실시예 40.** tert-부틸 (1S,5R,6R)-6-아세트아미도-3-브로모-5-(1-에틸프로폭시)시클로헥스-3-엔-1-일 카바메이트 (29).

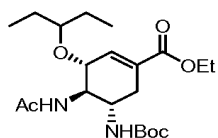


[0255]

[0256] 2,3-디클로로-5,6-디시아노-1,4-벤조퀴논(1.37 g, 6 밀리몰) 및 트리페닐포스핀(1.57 g, 6 밀리몰)이 무수 아세트니트릴(30 mL)에서 혼합된 혼합물에 실온에서 테트라부틸암모늄 시아네이트(1.71 g, 6 밀리몰)를 추가한 다음 알코올 25(1.58 g, 5 밀리몰)을 추가하였다. 그 혼합물을 실온에서 반응이 완료될 때까지 18시간 동안 교반하였다. 그 용매는 증발시키고 또 흑색 잔류물은 tert-부탄올 (20 mL)에 용해시켰다. 생성한 용액을 환류하에서 24시간 동안 가열하였다. 용매를 감압하에서 증발시키고, 또 그 잔류물은 플래쉬 칼럼크로마토그래피(EtOAc/헥산, 3:7)에 의해 정제하여 카바메이트 29(1.63 g, 78%)를 백색 고체로 얻었다; 융점 153-155°C; TLC(EtOAc/헥산, 1:1) Rf = 0.5; $[\alpha]_D^{20} = -49.7$ (c = 1.35, CHCl₃); IR (필름) 3327, 2919, 1708, 1682, 1523, 1244 cm⁻¹; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 6.24(1H, d, J = 9.1Hz), 6.00(1H, s), 5.48(1H, d, J = 9.1Hz), 4.01(1H, dd, J =

17.0, 9.3Hz), 3.85-3.81(2H, m), 3.28-3.24(1H, m), 2.71(1H, dd, J = 17.6, 4.8Hz), 2.57(1H, dd, J = 17.6, 8.6 Hz), 1.93(3H, s), 1.46-1.39(4H, m), 1.36(9 H, s), 0.85-0.80(6 H, m); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 170.8, 156.0, 129.5, 121.2, 81.9, 79.6, 76.4, 53.1, 49.8, 40.6, 28.3(3 x), 26.0, 25.7, 23.2, 9.5, 9.2; C₁₈H₃₁BrN₂NaO₄(M⁺ + Na)에 대한 HRMS 계산치: 441.1365, 실측치: m/z 441.1368.

[0257] **실시예 41.** 에틸(3R,4R,5S)-4-아세트아미도-5-tert-부톡시-카보닐아미노-3-(1-에틸프로폭시)-1-시클로헥센 카복실레이트 (31a).

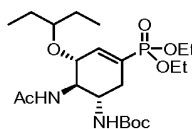


[0258]

[0259] 브롬화 비닐 29(2.11 g, 5 밀리몰), 요오드화 칼륨 (1.66 g, 10 밀리몰) 및 요오드화 구리(I) (477 mg, 2.5 밀리몰)가 n-부탄올 (35 mL)에서 혼합된 혼합물을 질소와 함께 10분간 기포발생시키는 것에 의해 산소제거시킨 다음 질소 분위기하에서 원형 바닥 플라스크에 들어있는 N'-디메틸에틸렌디아민 (54 μL, 0.5 밀리몰)에 추가하였다. 이 반응 혼합물을 120°C에서 24시간 동안 교반하였다. 실온으로 냉각시킨 후, 용매를 감압하에서 증발시켰다. 잔류물은 EtOAc(50 mL)와 희석 수성 암모니아 용액(50 mL) 사이에 분배시켰다. 유기 상은 물(3 x 30 mL)로 세척하고, MgSO₄ 상에서 건조시키며 또 농축시켰다. 잔류물을 실리카겔(EtOAc/헥산, 1:1)의 짧은 칼럼을 통하여 여과하여 조 요오드화비닐의 무색 고체 샘플 30(2.29 g)을 얻으며, 이것은 추가의 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

[0260] 팔라듐(II) 아세테이트(90 mg, 0.4 밀리몰)를 상기 제조한 요오드화비닐 30(2.29 g, 4.9 밀리몰) 및 아세트산나트륨(1.64 g, 20 밀리몰)이 무수 에탄올(50 mL)에 용해된 용액에 추가하였다. 이 반응 혼합물을 실온에서 일산화 탄소 분위기하에서 24시간 동안 교반하였다. 용매를 증발시키고, 또 잔류물은 플래쉬 칼럼크로마토그래피 (EtOAc/헥산, 3:7)에 의해 정제하여 31a(1.69 g, 29로부터 82%)를 백색 고체로 얻었다; 융점 142-144°C [lit.^{s3} 융점 138-139°C]; TLC(EtOAc/헥산, 1:1) Rf = 0.35; [α]_D²⁰ = -76.3(c = 1.67, CHCl₃) [lit.^{s3} [α]_D²⁵ = -68.9(c = 1.0, CDCl₃)]; IR (필름) 3312, 2951, 1713, 1688, 1651, 1244 cm⁻¹; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 6.70(1H, s), 6.24(1H, J = 9.2Hz), 5.26(1H, d, J = 9.3Hz), 4.18-4.12(2H, m), 4.03-3.98(1H, m), 3.95-3.94(1H, m), 3.75-3.72(1H, m), 3.30(1H, t, J = 5.6 Hz), 2.67(1H, dd, J = 17.8, 5.1Hz), 2.27-2.23(1H, m), 1.93(3H, s), 1.48-1.42(4H, m), 1.37(9 H, s), 1.24(3H, t, J = 7.2Hz), 0.86-0.81(6 H, m); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 170.9, 165.9, 156.3, 137-7, 129-2, 82.2, 79.5, 75.8, 60.9, 54.4, 49.2, 30.8, 28.3(3 x), 26.1, 25.6, 23.3, 14.1, 9.5, 9.2; C₂₁H₃₆N₂NaO₆(M⁺ + Na)에 대한 HRMS 계산치: 435.2471, 실측치: m/z 435.2477.

[0261] **실시예 42.** 디에틸 (3R,4R,5S)-4-아세트아미도-5-tert-부톡시-카보닐아미노-3-(1-에틸프로폭시)-1-시클로헥센 포스포네이트 (31b).



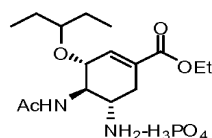
[0262]

[0263] 28b의 과정과 유사한 과정에 의해, 브롬화 비닐 29(4.21 g, 10 밀리몰), 디에틸 포스파이트(2.12 g, 15 밀리몰), 1,4-디아자비시클로[2.2.2]옥탄 (3.43 g, 30 밀리몰)이 무수 톨루엔 (50 mL) 및 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐(0) (872 mg, 0.75 밀리몰)에서 혼합된 혼합물을 90°C에서 12시간 동안 가열하였다. 이 반응 혼합물을 셀라이트 패드를 통하여 여과하고, 또 그 여액을 EtOAc(50 mL)와 물(30 mL) 사이에 분배시켰다. 유기 상은 물 (30 mL) 및 염수(30 mL)로 다시 세척하고, MgSO₄ 상에서 건조시키며 또 농축시켜 조 생성물을 얻으며, 이것은

Et₂O/CH₂Cl₂ 으로부터 재결정에 의해 정제되어 포스포네이트 31b(4.05 g, 85%)를 백색 결정성 고체로 얻었다; 융점 167-169°C; TLC (EtOAc) R_f = 0.31; [α]_D²⁰ = -88.8(c = 1.14, CHCl₃); IR (필름) 3378, 2901, 1733, 1626, 1262, 1159 cm⁻¹; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 6.57(1H, d, J_{P-2} = 21.6 Hz), 5.81(1H, d, J = 9.0 Hz), 5.06(1H, d, J = 8.9 Hz), 4.06-4.01(5H, m), 3.88(1H, br s), 3.79-3.75(1H, m), 3.30(1H, t, J = 5.3Hz), 2.60-2.57(1H, m), 2.20-2.16(1H, m), 1.95(3H, s), 1.48-1.44(4H, m), 1.39(9 H, s), 1.30-1.27(6 H, m), 0.87-0.82(6 H, m); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 170.9, 156.2, 141.5, 126.8(C₋₁, d, J_{p-1} = 181Hz), 82.1, 79.6, 76.0, 62.0, 61.9, 54.2, 49.1, 31.0, 28.3(3 x), 26.0, 25.5, 23.3, 16.37, 16.33, 9.5, 9.1; ³¹P NMR (202 MHz, CDCl₃) δ 17.25; C₂₂H₄₂N₂O₇P (M⁺ + H)에 대한 HRMS 계산치: 477.2730, 실측치: m/z 477.2732.

[0264]

실시예 43. 에틸 (3R,4R,5S)-4-아세트아미도-5-아미노-3-(1-에틸-프로폭시)-1-시클로헥센 카복실레이트 포스페이트 (15 · H₃PO₄, 타미플루®)



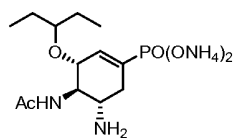
[0265]

[0266]

화합물 31a(1.24 g, 3 밀리몰)를 에탄올(20 mL)에 용해시키고 또 인산 (에탄올 중의 1M 용액 10 mL, 10 밀리몰)의 뜨거운(50°C) 용액에 소량씩 서서히 부가하였다. 이 용액을 50°C에서 6시간 동안 교반하였다. 0°C로 냉각한 후, 석출물은 여과에 의해 수집하며 또 냉각 아세톤(3 x 5 mL)으로 세척하여 타미플루(998 mg, 81%)를 백색 결정으로 얻었다; 융점 187-190°C [lit. 융점 184-186°C]; [α]_D²⁰ = -36.7(c = 1, H₂O) [lit. [α]_D = -39.9(c = 1, H₂O); 또는 lit. [α]_D²² = -30.5 (c = 0.480, H₂O)]; IR (필름) 3501, 1734, 1612, 1150 cm⁻¹; ¹H NMR (600 MHz, D₂O) δ 6.91(1H, s), 4.39(1H, d, J = 8.0 Hz), 4.32-4.30(2H, m), 4.11(1H, dd, J = 10.5, 5.7 Hz), 3.67-3.59(2H, m), 3.01(1H, dd, J = 17.4, 5.4Hz), 2.60-2.56(1H, m), 2.14(3H, s), 1.61-1.50(4H, m), 1.34(3H, t, J = 7.1Hz), 0.94(3H, t, J = 7.3Hz), 0.89(3H, t, J = 7.3Hz); ¹³C NMR(150 MHz, D₂O) δ 178.1, 170.3, 140.7, 130.4, 87.2, 77.9, 65.2, 55.4, 52.0, 30.9, 28.3, 27.9, 25.2, 16.1, 11.36, 11.30; ³¹P NMR (162 MHz, D₂O) δ 0.43; C₁₆H₂₉N₂O₄(M⁺ - H₃PO₄ + H)에 대한 HRMS 계산치: 313.2127, 실측치: m/z 313.2132. 분석. C₁₆H₃₁N₂O₈P에 대한 계산치: C, 46.83; H, 7.61; N, 6.83. 실측치: C, 46.72; H, 7.68; N, 6.75.

[0267]

실시예 44. 암모늄 (3R,4R,5S)-4-아세트아미도-5-아미노-3-(1-에틸프로폭시)-1-시클로헥센 포스포네이트 (3, 타미포스포르).



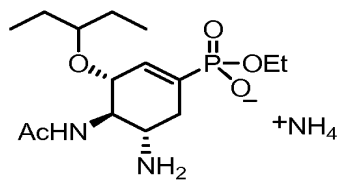
[0268]

[0269]

디에틸 포스포네이트 31b(2.38 g, 5 밀리몰)를 CH₂Cl₂(50 mL)에 용해시키고 또 0°C에서 브로모트리메틸실란 (6.67 mL, 50 밀리몰)으로 처리하였다. 이 반응 혼합물을 실온으로 승온하고, 18시간 동안 교반하고 또 감압하에서 농축하였다. 잔류물을 물(10 mL)에 용해시키고, 실온에서 2시간 동안 교반한 다음 동결건조처리하였다. 잔류하는 담황색 고체 잔류물을 Et₂O (3 x 20 mL)으로 세척하여 백색 고체를 얻으며, 이것을 수성 NH₄HCO₃(0.1 M 용액, 20 mL)에 용해시키고, 실온에서 1시간 동안 교반한 다음 동결건조처리시켜 타미포스포르 3(1.56 g, 88% 수율)를 백색 고체로 얻었다; 융점 238-240°C(분해); [α]_D²⁰ = -56.7(c = 1.2, H₂O); IR (필름) 3521, 3212,

2987, 1712, 1686, 1121 cm^{-1} ; ^1H NMR (600 MHz, D_2O) δ 6.15(1H, d, $J_{P-2} = 18.8\text{Hz}$), 4.12(1H, d, $J = 8.1\text{Hz}$), 3.94(1H, dd, $J = 11.6, 9.2\text{Hz}$), 3.45-3.40(2H, m), 2.73-2.68(1H, m), 2.39-2.34(1H, m), 1.97(3H, s), 1.46-1.40(3H, m), 1.38-1.29(1H, m), 0.77(3H, t, $J = 7.3\text{Hz}$), 0.73(3H, t, $J = 7.3\text{Hz}$); ^{13}C NMR (150 MHz, D_2O) δ 175-0, 133-1, 132.9(C_{-1} , d, $J_{P-1} = 170\text{ Hz}$), 84.3, 76.0, 52.9, 49.7, 29.3, 25.3, 25.0, 22.2, 8.5, 8.3; ^{31}P NMR (162 MHz, D_2O) δ 10.35; $\text{C}_{13}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_5\text{P}$ [$\text{M} + \text{H} - 2\text{NH}_4$] $^+$ 에 대한 HRMS 계산치: 319.1423, 실측치: m/z 319.1429. 분석. $\text{C}_{13}\text{H}_{31}\text{N}_4\text{O}_5\text{P} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 에 대한 계산치: C, 41.93; H, 8.93; N, 15.04. 실측치: C, 41.89; H, 8.99; N, 15.07.

[0270] **실시예 45.** 에틸 (3R,4R,5S)-4-아세트아미도-5-아미노-3-(1-에틸프로폭시)-1-시클로헥센-1-포스포네이트 암모늄 염 (3c).

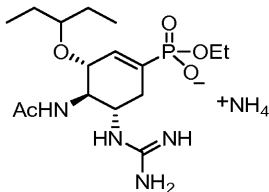


[0271]

[0272] 디에틸 에스테르 31b(1.43 g, 3 밀리몰)가 에탄올(50 mL)에 용해된 용액에, 질소 분위기하에서, 에탄올 중의 나트륨 에타노에이트(4.5 밀리몰, 1M 용액 4.5 mL)를 부가하여 처리하였다. 이 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반한 다음, Amberlite IR-120(H^+ -형태)를 이용하여 산성화시켰다. 이질 용액을 40°C에서 2시간 동안 교반하고, 여과하며 또 진공에서 농축시켰다. 잔류하는 오일을 물(15 mL)에 용해시키고 또 동결건조처리하였다. 잔류하는 무색 고체를 냉각 아세톤(20 mL x 3)으로 세척하며, 수성 NH_4HCO_3 (0.1M 용액 15 mL)에 용해시키며, 실온에서 1시간 동안 교반한 다음, 동결건조시켜 타미포스포르 모노에스테르의 암모늄 염(898 mg, 82%)을 백색 고체로 얻었다.

[0273] $\text{C}_{15}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_5\text{P}$, 융점 65-67°C; $[\alpha]_D^{20} = -36.2$ ($c = 0.7, \text{H}_2\text{O}$); IR (니트) 3503, 3211, 2921, 1714, 1658, 1121 cm^{-1} ; ^1H NMR(600 MHz, D_2O) δ 6.33(1H, d, $J_{P-2} = 19-2\text{Hz}$), 4.23(1H, d, $J = 9.4\text{Hz}$), 3.99(1H, dd, $J = 10.2, 5.1\text{Hz}$), 3.86-3.84(2H, m), 3.53(1H, br s), 3.48-3.45(1H, m), 2.76-2.73(1H, m), 2.41-2.37(1H, m), 2.07(3H, s), 1.61-1.40(4H, m), 1.24(3H, t, $J = 6.8\text{Hz}$), 0.89(3H, t, $J = 7.1\text{Hz}$), 0.84(3H, t, $J = 7.1\text{Hz}$); ^{13}C NMR (150 MHz, D_2O) δ 175.1, 136.4, 130.3(C_{-1} , d, $J_{P-1} = 168\text{Hz}$), 84.2, 76.2, 76.1, 61.3, 53.6, 49.6, 29.9, 25.5, 25.2, 22.3, 15.8, 8.5; ^{31}P NMR (242 MHz, D_2O) δ 12.89; $\text{C}_{15}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{NaO}_5\text{P}$ [$\text{M} + \text{Na} - \text{NH}_4$] $^+$ 에 대한 HRMS 계산치: 370.1639, 실측치: m/z 370.1643.

[0274] **실시예 46.** 에틸 (3R,4R,5S)-4-아세트아미도-5-구아니디닐-3-(1-에틸프로폭시)-1-시클로헥센-1-포스포네이트 암모늄 염 (13c).



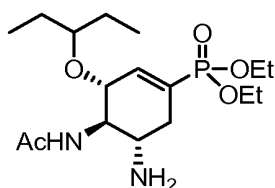
[0275]

[0276] 디에틸 에스테르 12b(2.73 g, 4 밀리몰)가 에탄올(60 mL)에 용해된 용액에, 질소 분위기하에서 에탄올 중의 나트륨 에타노에이트(6 밀리몰, 1M 용액 6 mL)을 부가하여 처리하였다. 이 혼합물을 실온에서 18시간 동안 교반한 다음, Amberlite IR-120(H^+ -형태)로 산성화시켰다. 이 이질 용액을 40°C에서 3시간 동안 교반하고, 여과하며 또 진공에서 농축시켰다. 잔류하는 오일을 물(15 mL)에 용해시키고 또 동결건조처리시켰다. 잔류하는 무색 고체는 냉각 아세톤(20 mL x 3)으로 세척하고, 수성 NH_4HCO_3 (0.1M 용액 15 mL)에 용해시키며, 실온에서 1시간 동안 교

반한 다음 동결건조처리하여 타미포스포르 구아니딘 모노에스테르의 암모늄 염 13c(1.22 g, 75%)을 백색 고체로 수득하였다.

[0277] $C_{16}H_{34}N_5O_5P$, 융점 70-72°C; $[\alpha]_D^{20} = -11.5$ ($c = 0.6$, H_2O); IR (니트) 3521, 1931, 1756, 1623, 1210 cm^{-1} ; 1H NMR (600 MHz, D_2O) δ 6.29(1H, d, $J_{p-2} = 19.1Hz$), 4.25-4.22(1H, m), 3.91-3.82(4H, m), 3.51(1H, br s), 2.57-2.55(1H, m), 2.24-2.20(1H, m), 2.01(3H, s), 1.63-1.49(3H, m), 1.44-1.40(1H, m), 1.24 (3H, t, $J = 6.9$ Hz), 0.88(3H, t, $J = 7.0$ Hz), 0.82(3H, t, $J = 7.0$ Hz); ^{13}C NMR (150 MHz, D_2O) δ 174.5, 160.3, 136.5, 131-8(C_{-1} , d, $J_{p-1} = 171$ Hz), 84.2, 76.9, 76.8, 61.2, 55.6, 51.0, 31.6, 25.6, 25.3, 22.0, 15.7, 8.5; $C_{16}H_{30}N_4NaO_5P$ ($M + Na - NH_4$)⁺에 대한 HRMS 계산치: 412.1857, 실측치: m/z 412.1859.

[0278] **실시예 47.** 디에틸 (3R,4R,5S)-4-아세트아미도-5-아미노-3-(1-에틸프로폭시)-1-시클로헥센-1-포스포네이트 (3b).



[0279]

[0280] 아지드 11b(204 mg, 0.5 밀리몰)이 에탄올(18 mL)에 용해된 용액을 수소 분위기하, 실온에서 16시간 동안 린들러 촉매(80 mg)로 처리하였다. 이 반응 혼합물을 셀라이트(Celite)를 통하여 여과하고, 또 에탄올로 행구었다. 여액을 감압하에서 증발시켜 무색 폼(183 mg)을 얻으며, 플래쉬 칼럼크로마토그래피($MeOH/CH_2Cl_2$, 1:4)에 의해 정제하여 디에틸 포스포네이트 3b(141 mg, 75% 수율)를 얻었다. 담황색 오일; $[\alpha]_D^{20} = -50.6$ ($c = 2$, $CHCl_3$); IR (니트) 3321, 2911, 1702, 1663, 1510 cm^{-1} ; 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ 6.51(1H, d, $J_{p-2} = 21.7$ Hz), 6.29(1H, d, $J = 7.4Hz$), 4.06-4.00(5H, m), 3.55(1H, dd, $J = 18.5, 9.4Hz$), 3.28-3.26(1H, m), 3.19-3.09(1H, m), 2.59-2.56(1H, m), 2.28(3H, br s), 2.06-2.01(1H, m), 1.98(3H, s), 1.55-1.40(3H, m), 1.38-1.25(6 H, m), 0.85-0.81(6 H, m); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ 171.2, 141.7, 127.3(C_{-1} , d, $J_{p-1} = 180$ Hz), 81.8, 75.4, 62.1, 62.0, 58.4, 49.6, 33.6, 26.1, 25.5, 23.5, 16.35, 16.32, 9.5, 9.2; ^{31}P NMR(162 MHz, $CDCl_3$) δ 17.69; $C_{17}H_{34}N_2O_5P$ [$M + H$]에 대한 HRMS 계산치: 377.2205, 실측치: m/z 377.2207.

[0281] 가장 실질적이고 바람직한 실시양태로 고려되는 조성물 및 방법이 개시되었지만, 본 명세서에는 기재된 실시양태에 한정되는 것은 아님을 알아야 한다. 특허청구범위의 정신과 범위 내에 드는 다양한 변형 및 유사 사항을 포괄하는 것으로 보이며, 그 범위는 이러한 모든 변형과 유사 구조에 대하여 가장 넓은 해석에 일치해야 한다. 본 명세서는 이하의 특허청구범위의 모든 실시를 포함한다.

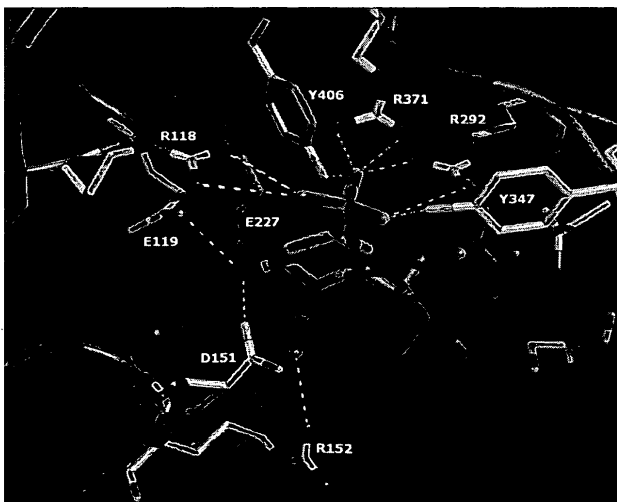
[0282]

도면

도면1

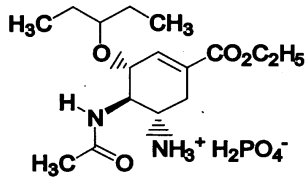


도 1a

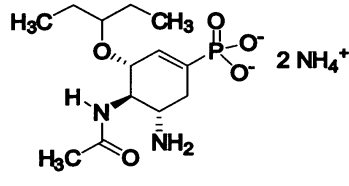


도 1b

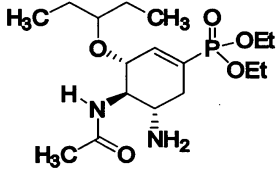
도면2



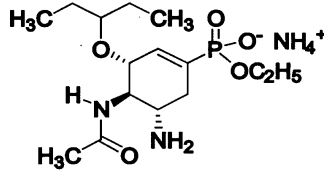
(1), 타미플루,
에틸 에스테르 및 포스페이트 염으로서



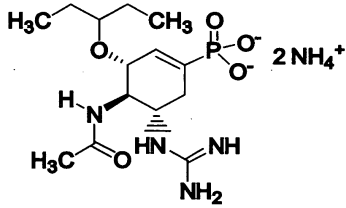
(3), 암모늄 염으로서



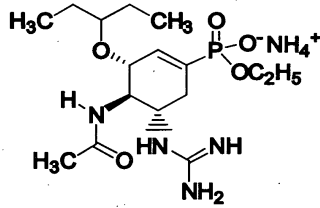
(3b), 3의 디에스테르



(3c), 3의 모노에스테르
암모늄으로서

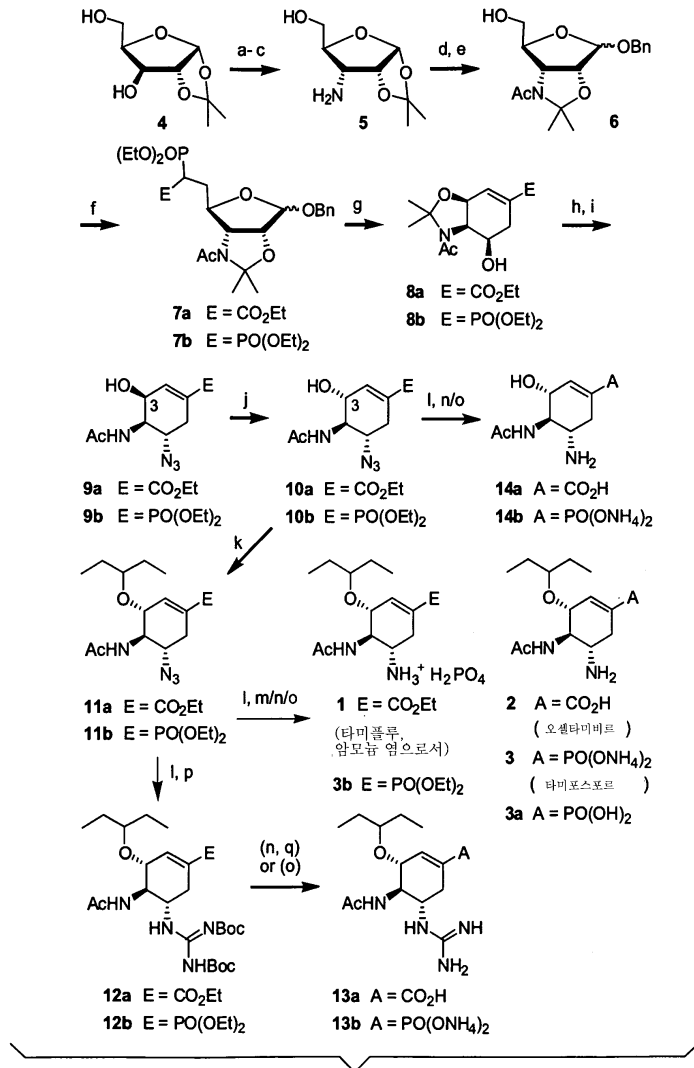


(13b), 3의 구아니딘 유사체
암모늄 염으로서

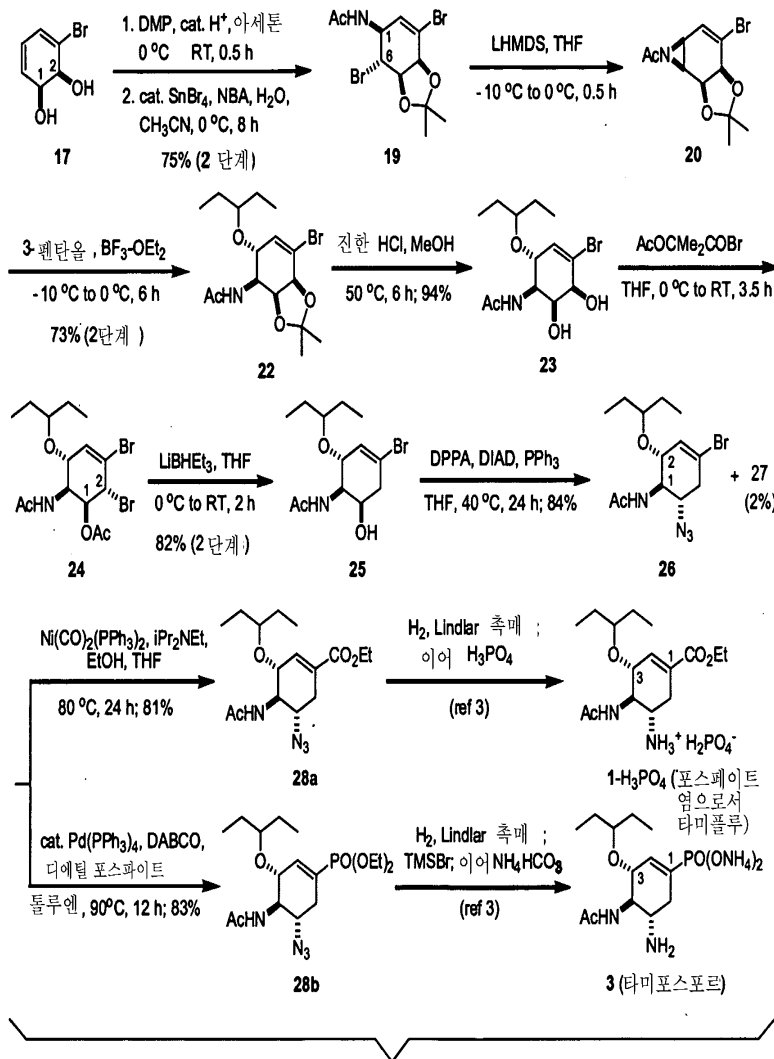


(13c), 3의 구아니딘 유사체
암모늄 염으로서

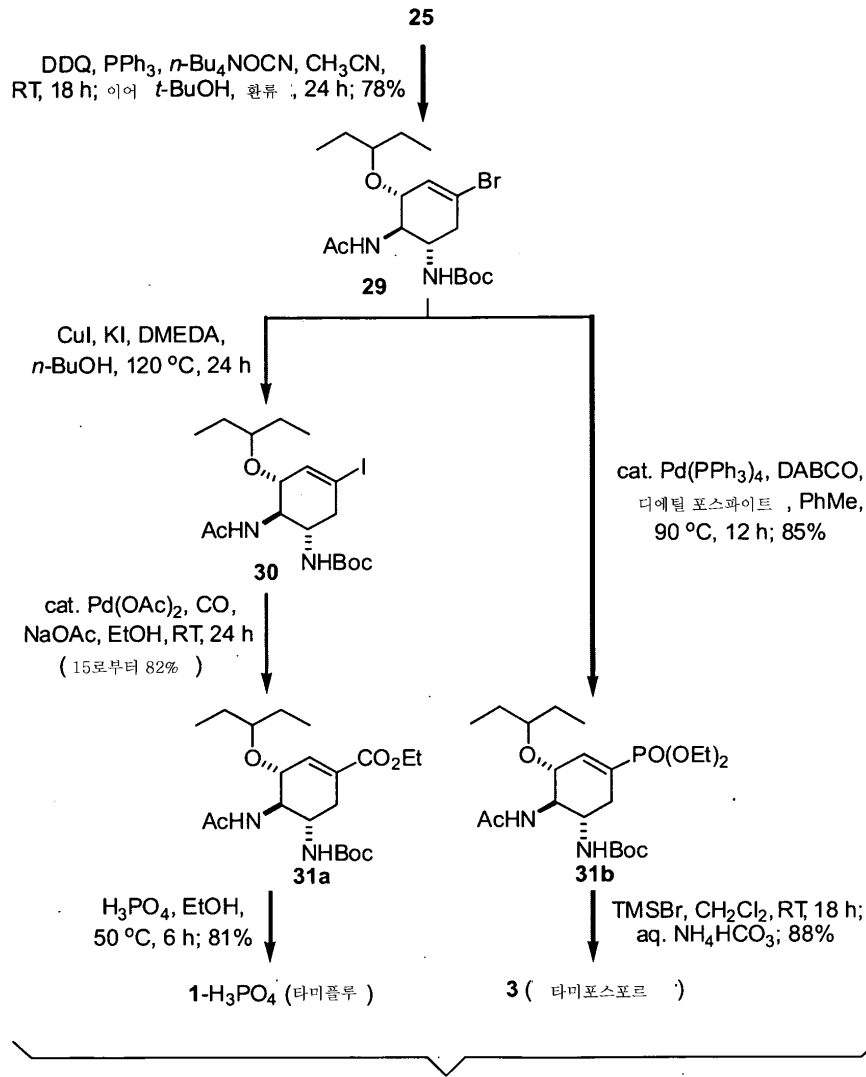
도면3



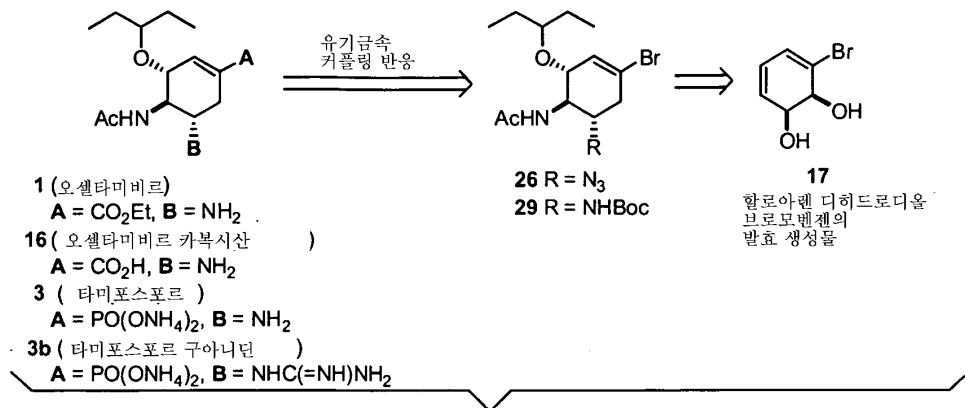
도면4



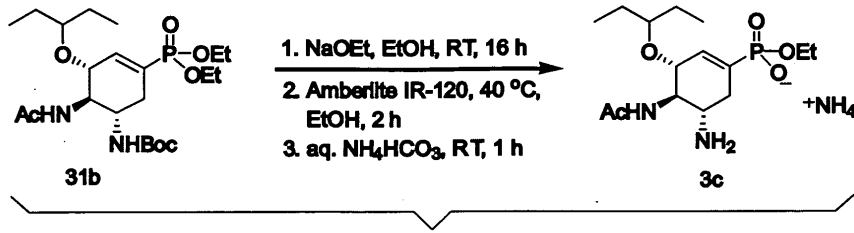
도면5



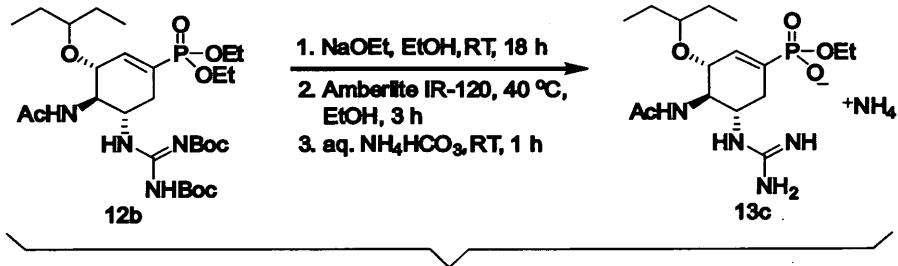
도면6



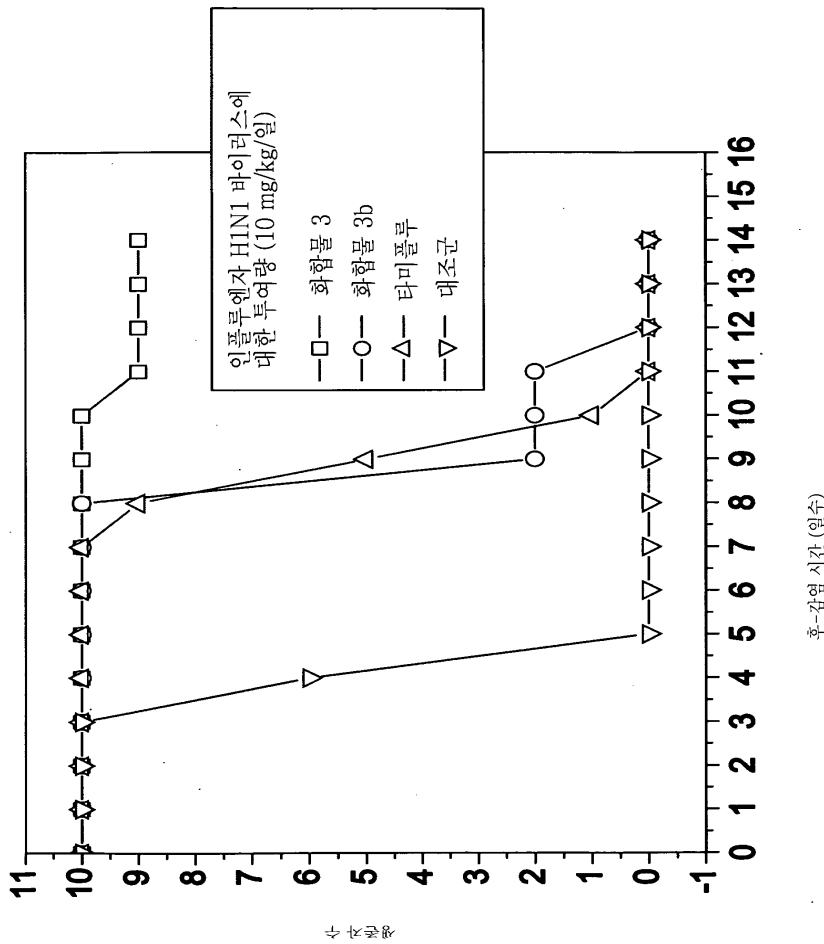
도면7



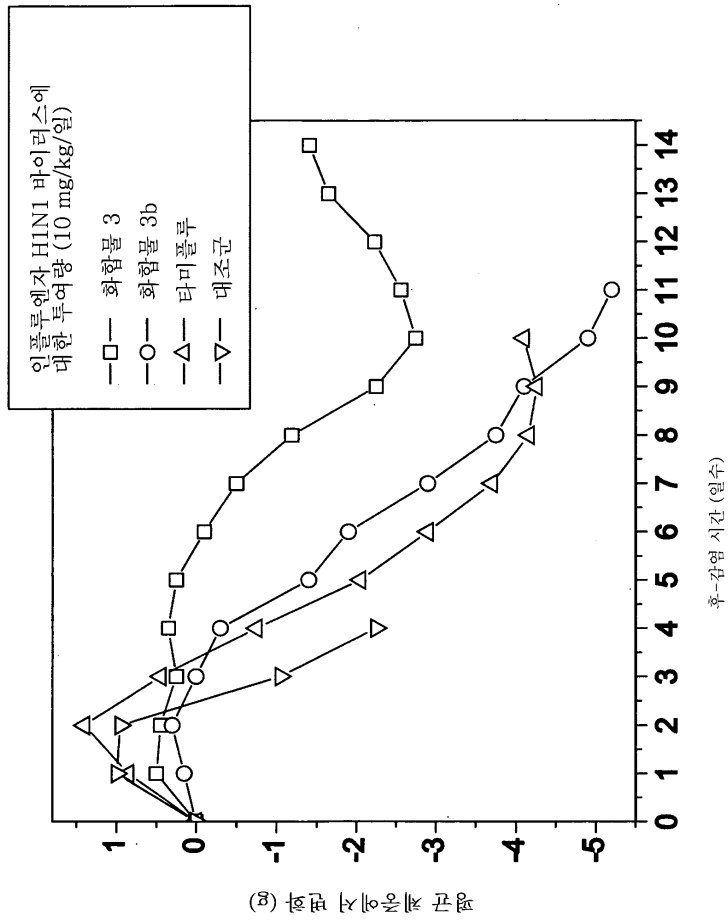
도면8



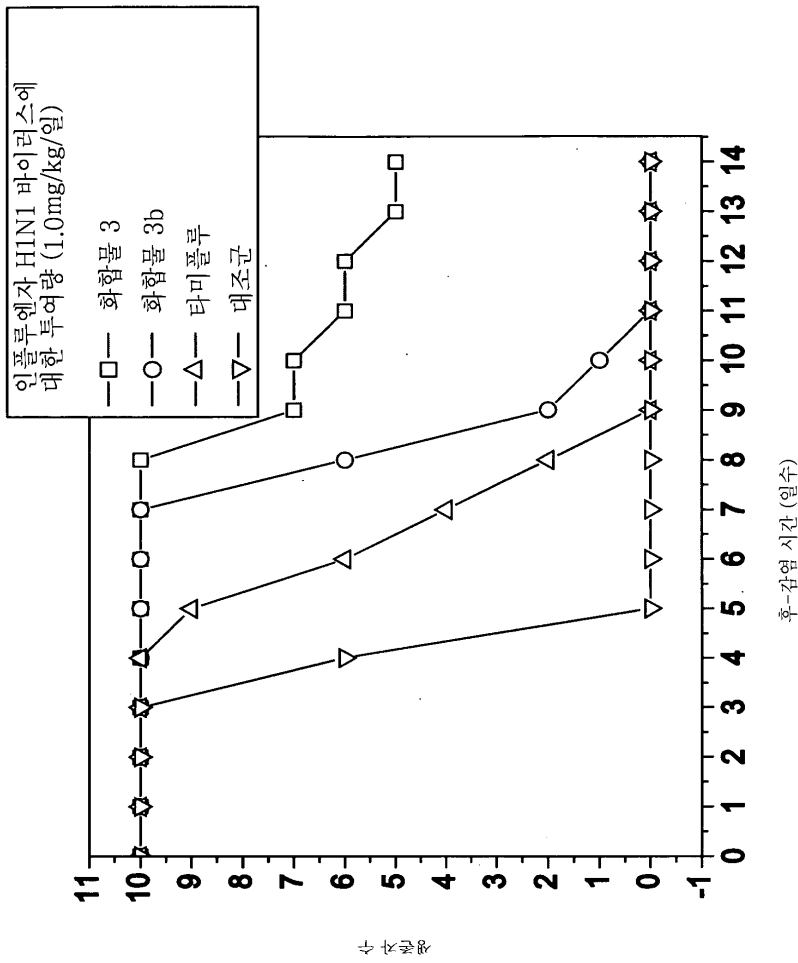
도면9a



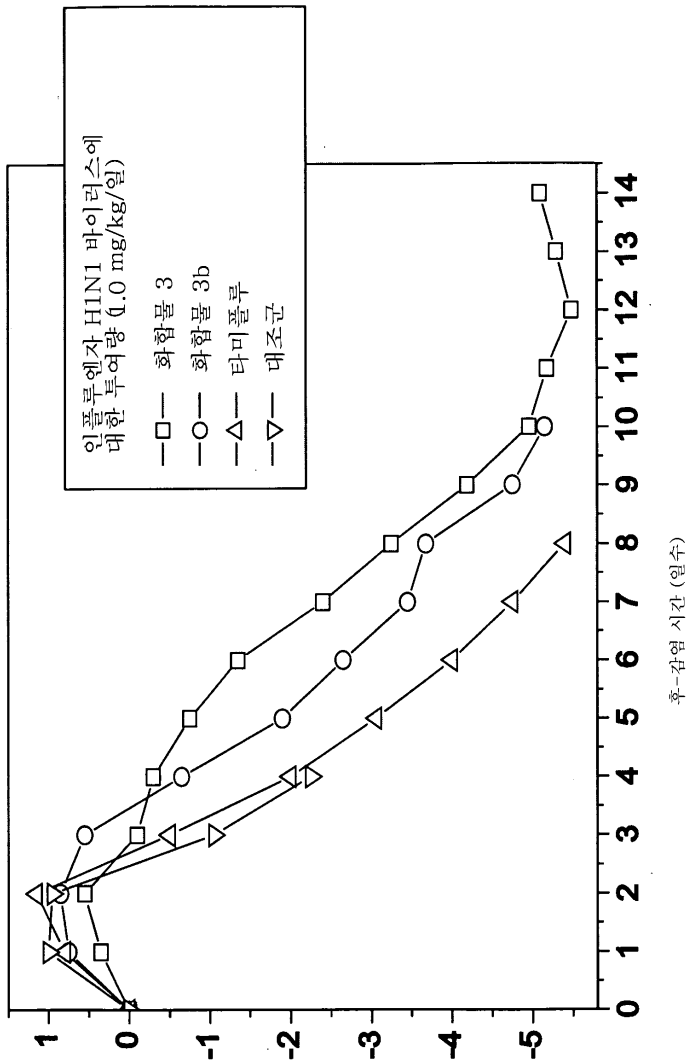
도면9b



도면10a

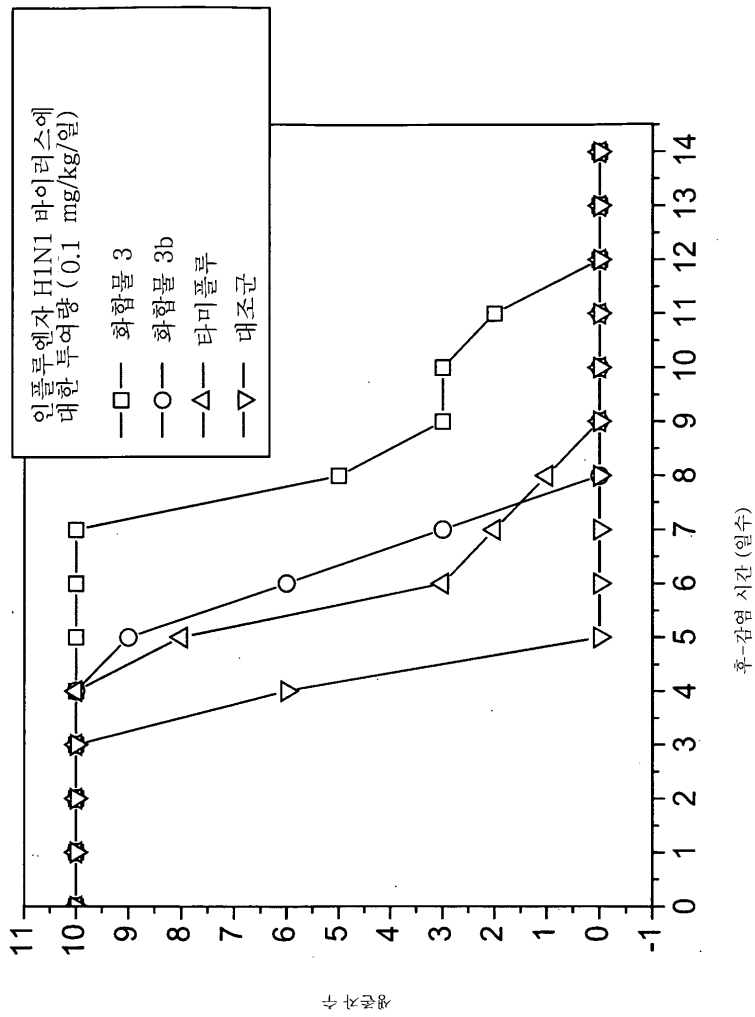


도면10b

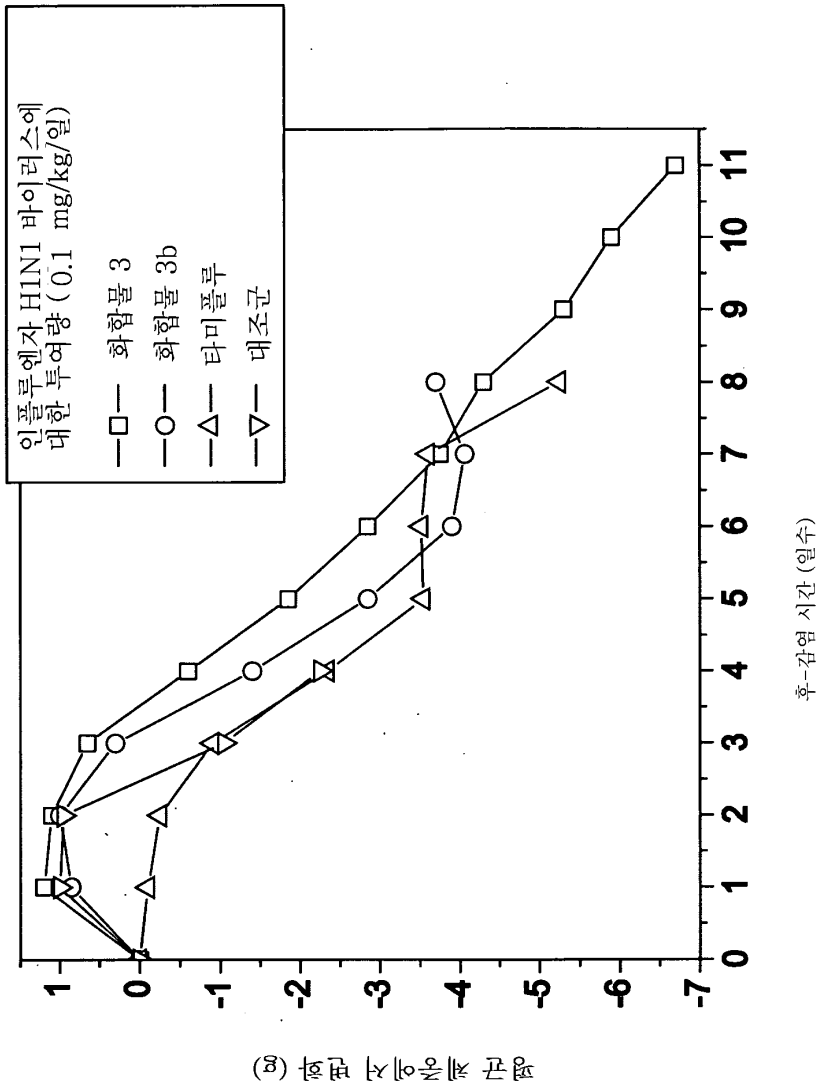


(a) 평균 바이러스 부하

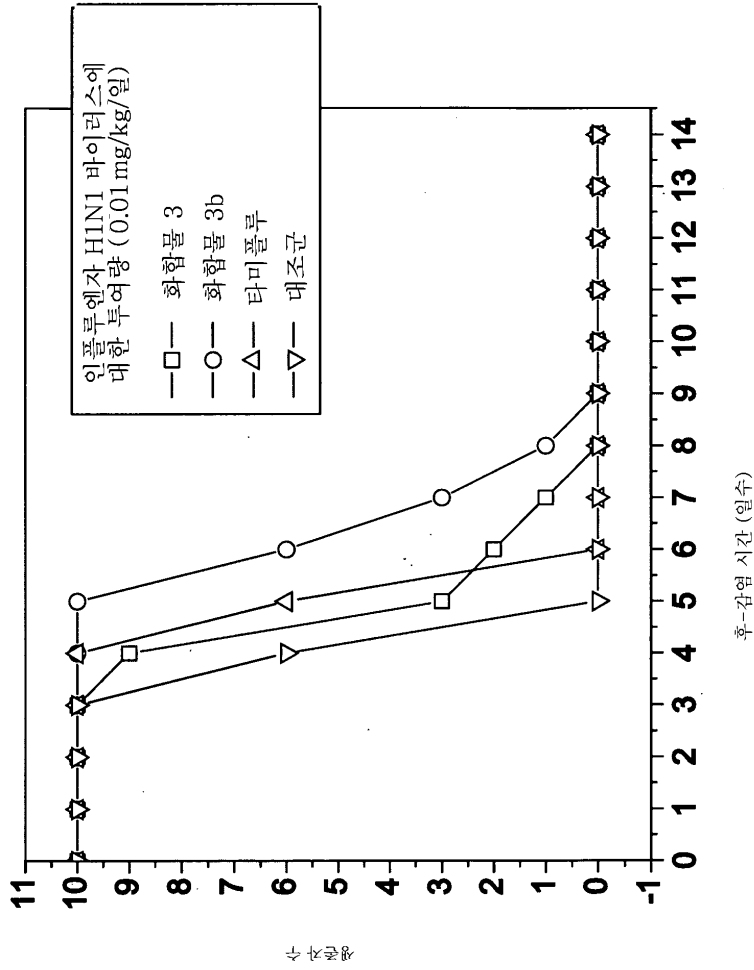
도면11a



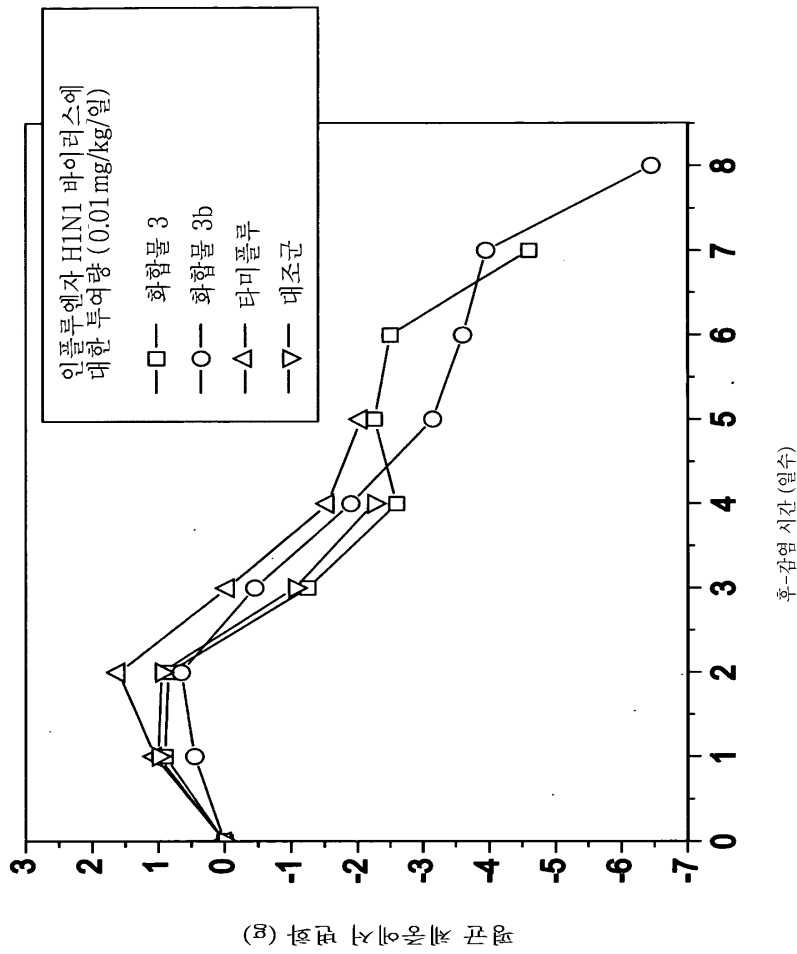
도면11b



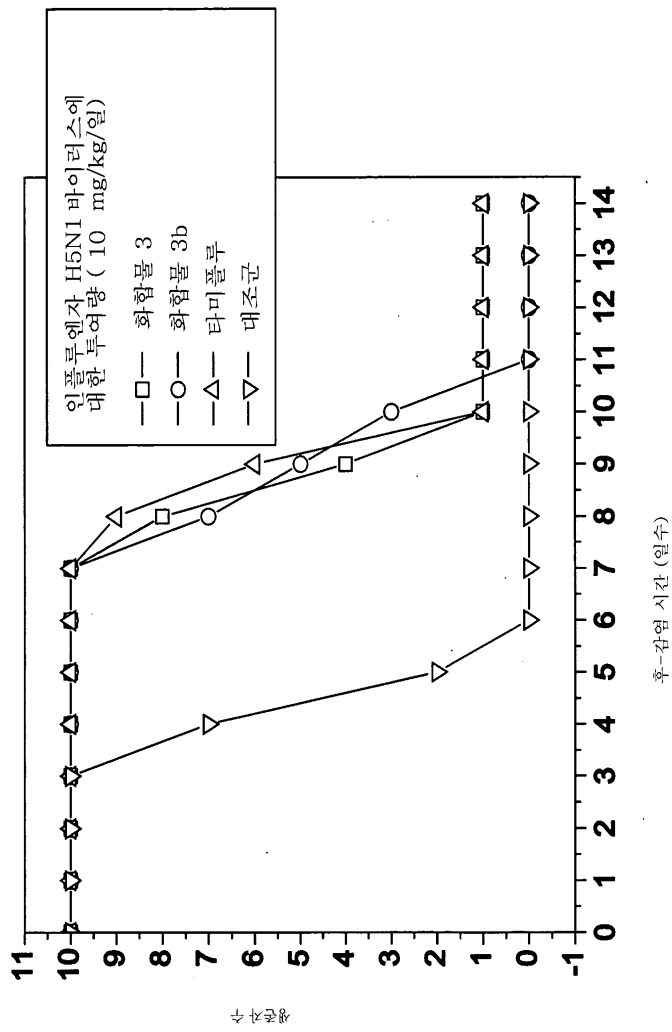
도면12a



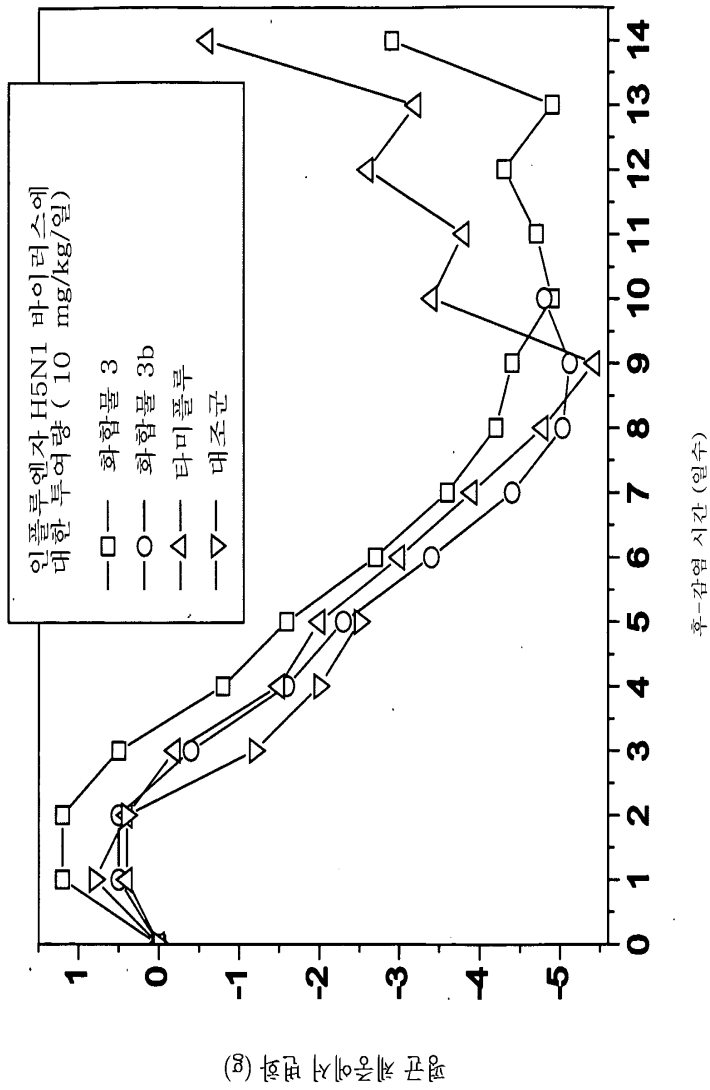
도면12b



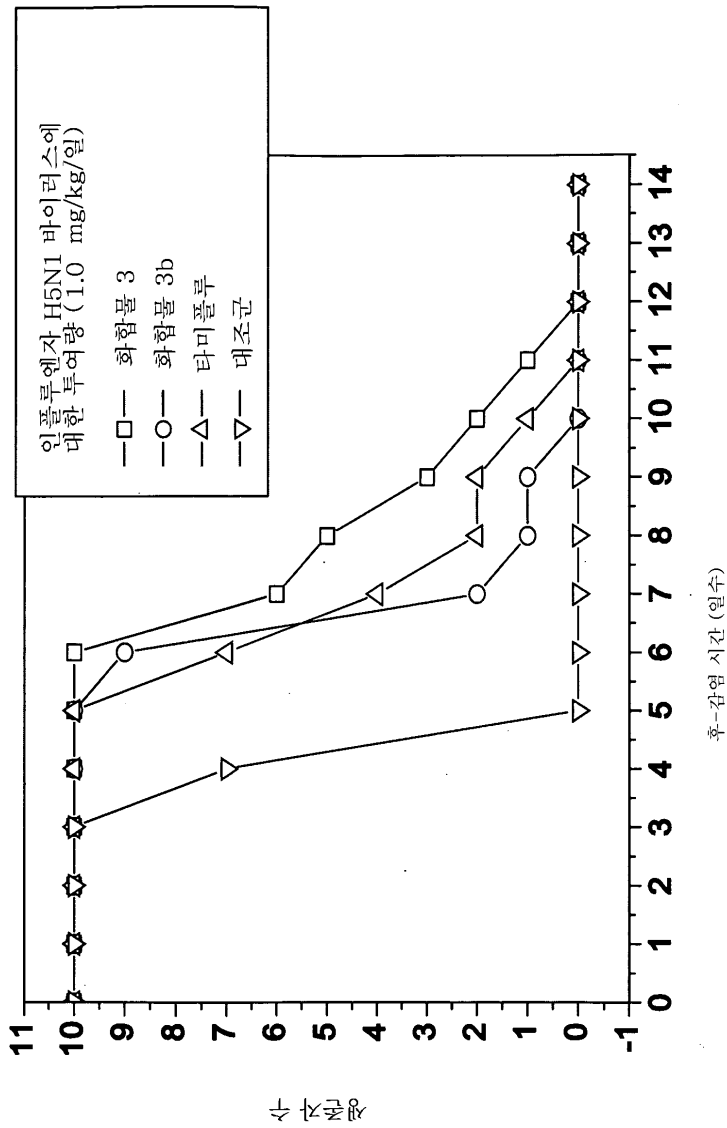
도면13a



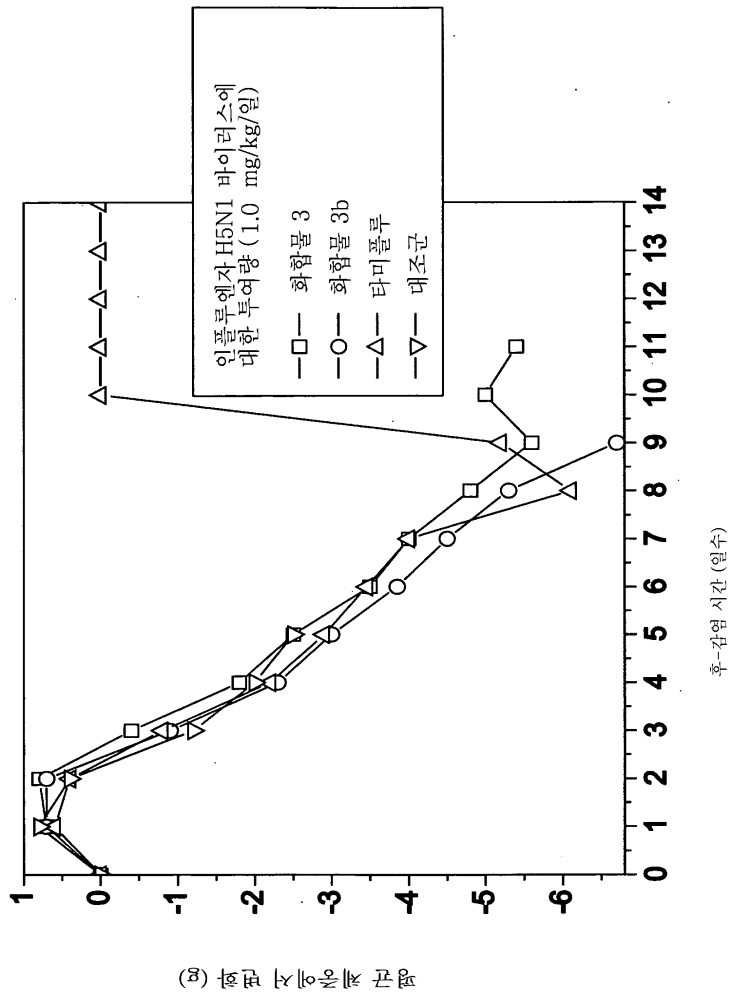
도면13b



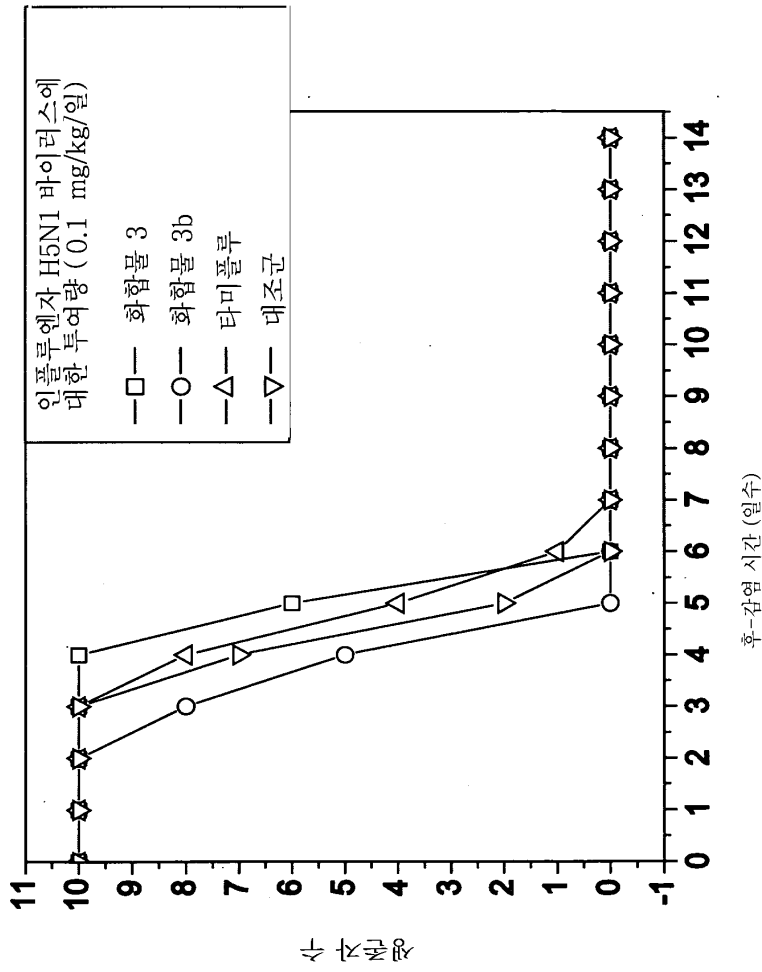
도면14a



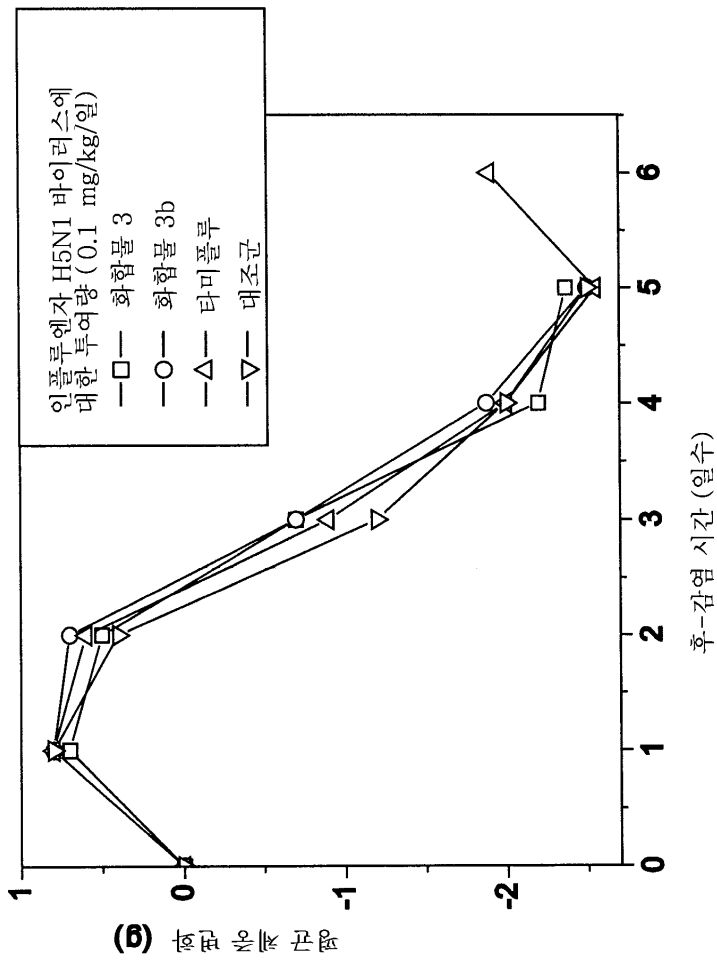
도면14b



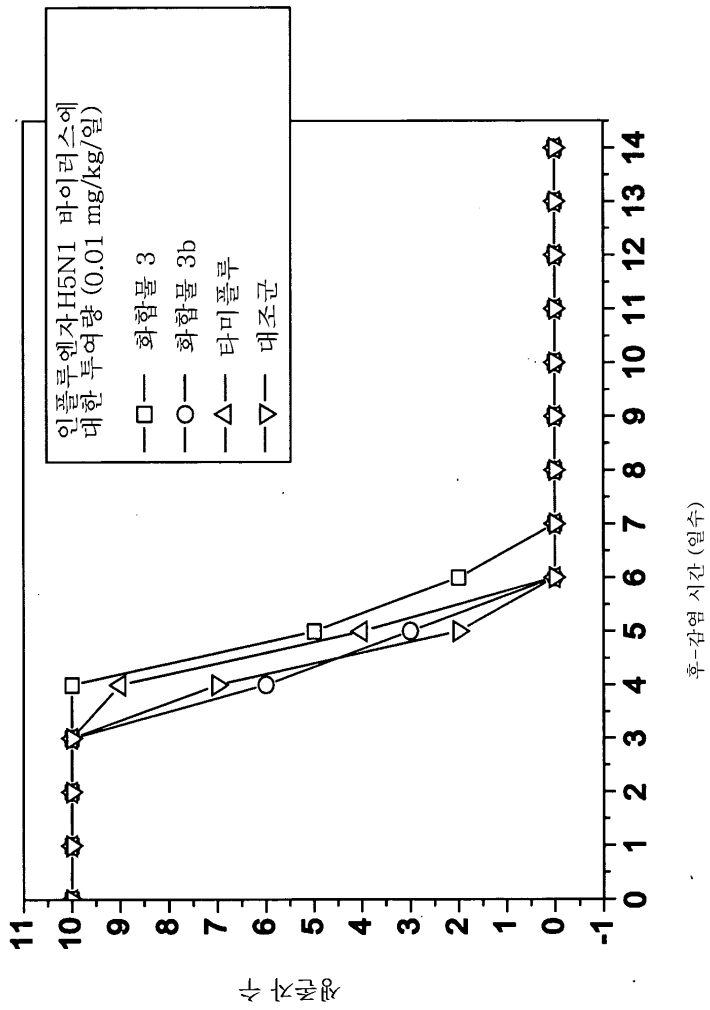
도면15a



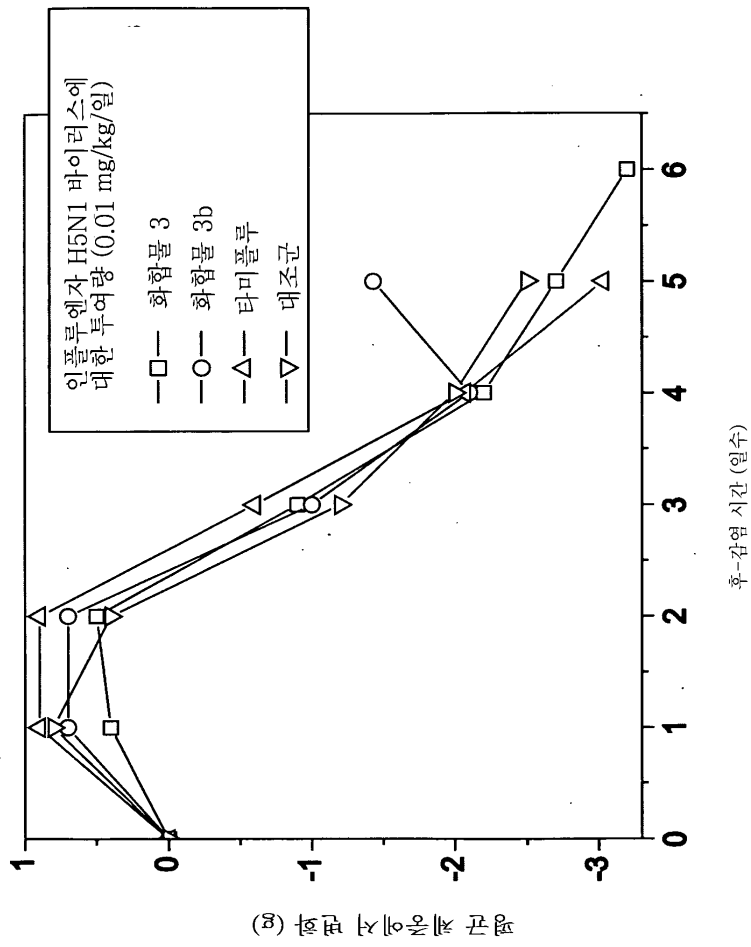
도면15b



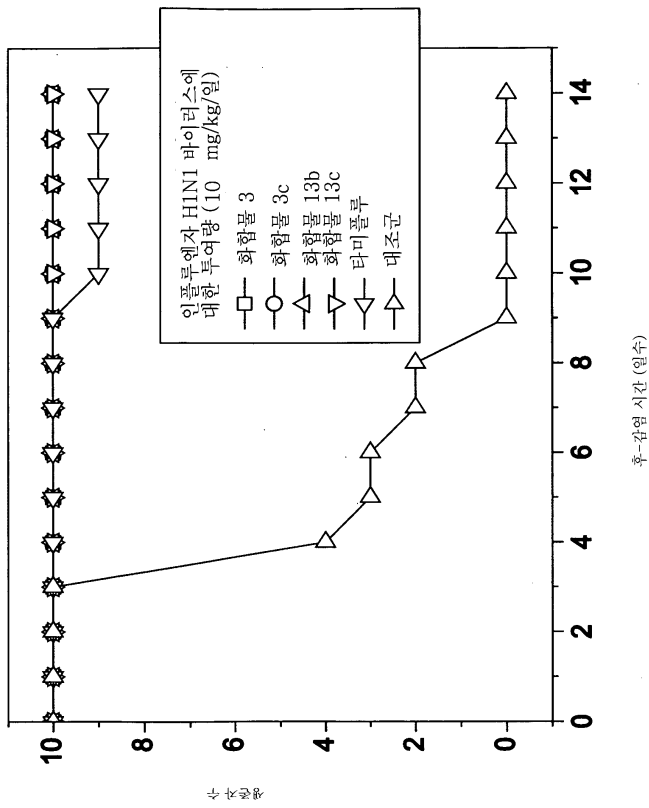
도면16a



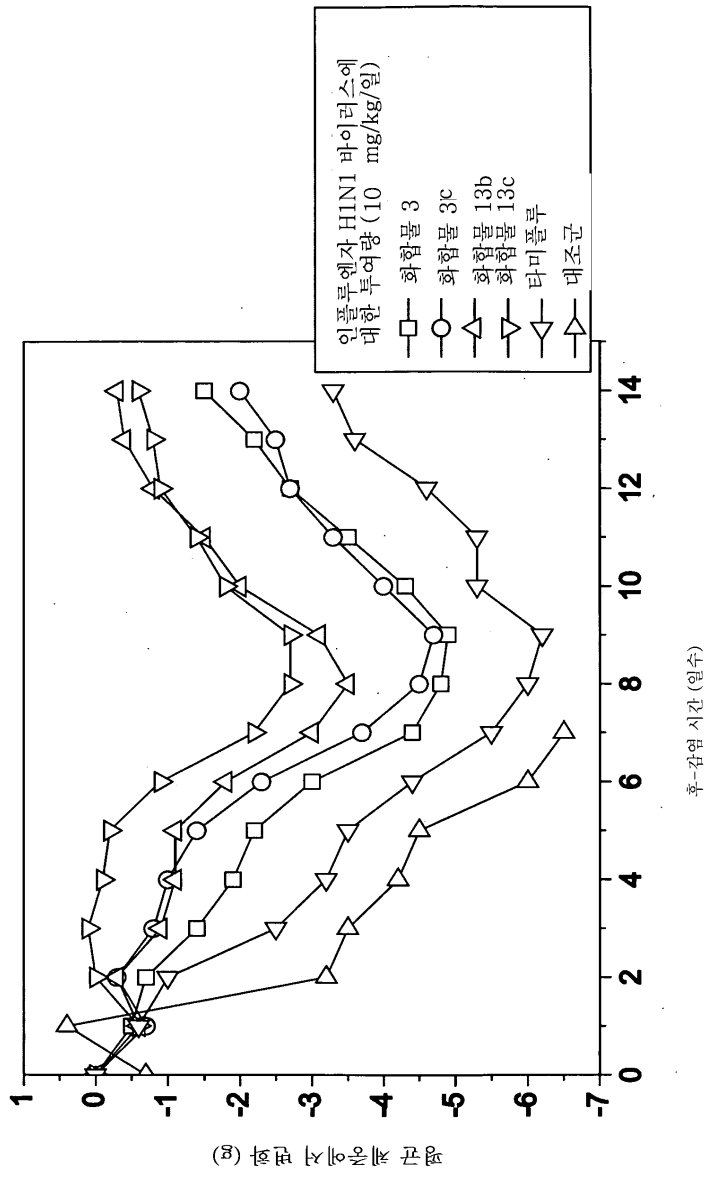
도면16b



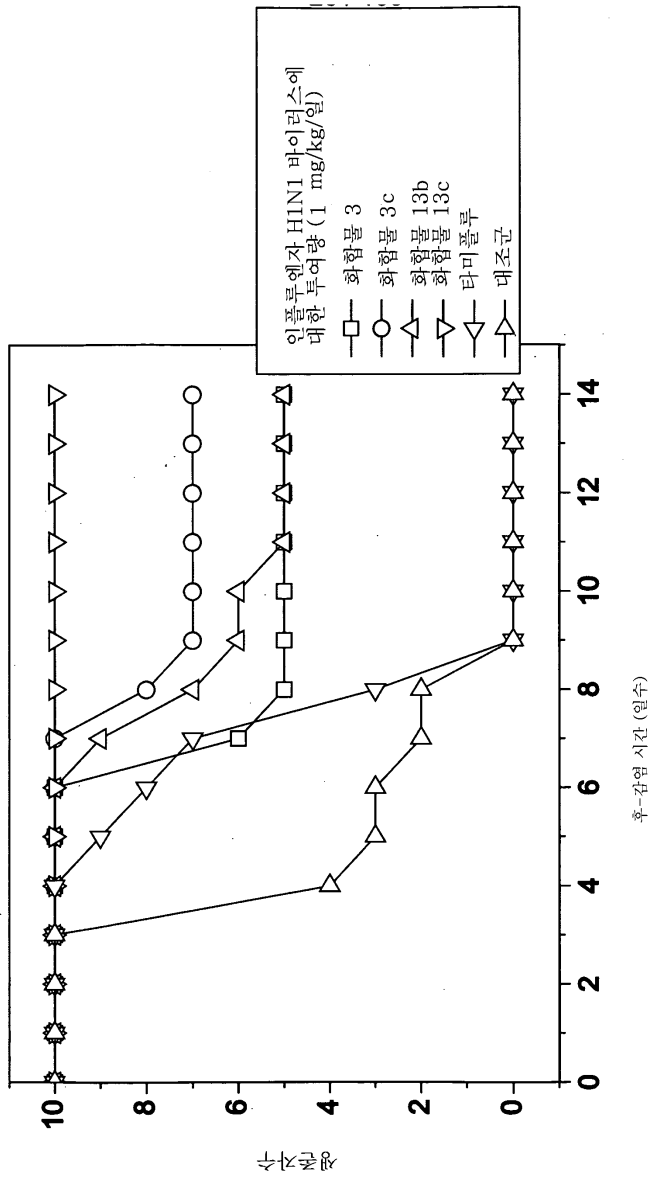
도면17a



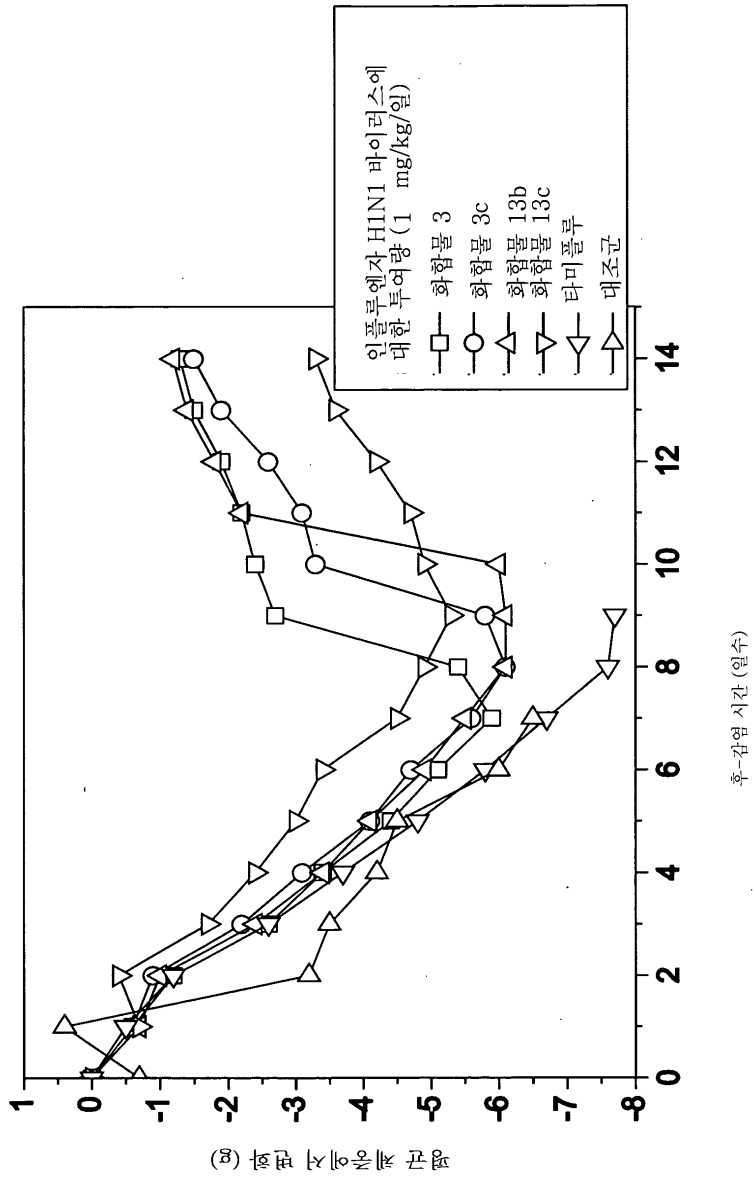
도면17b



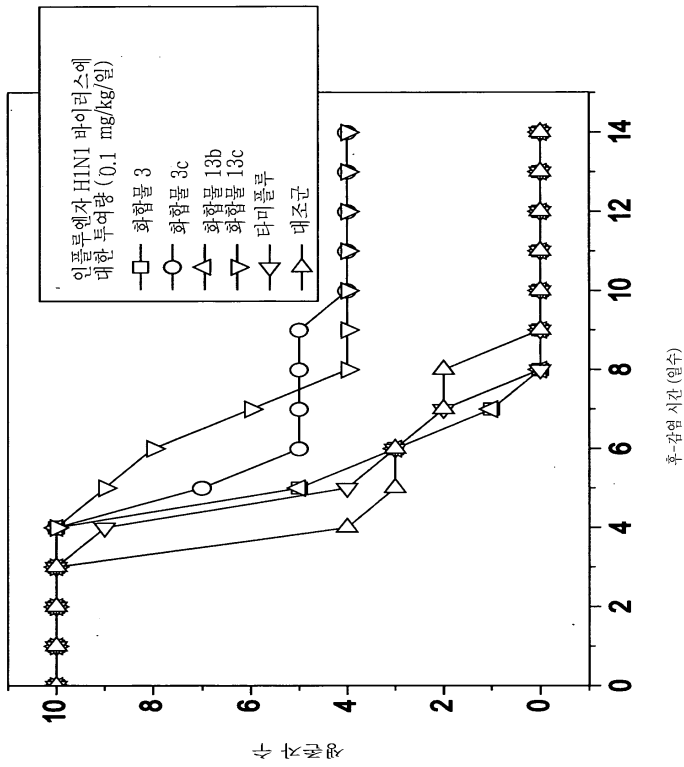
도면18a



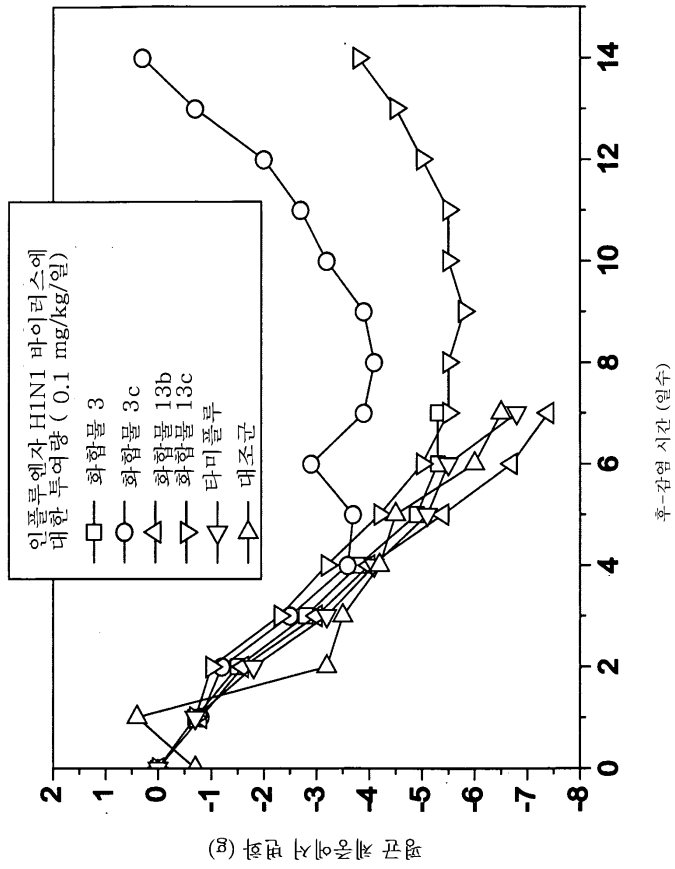
도면18b



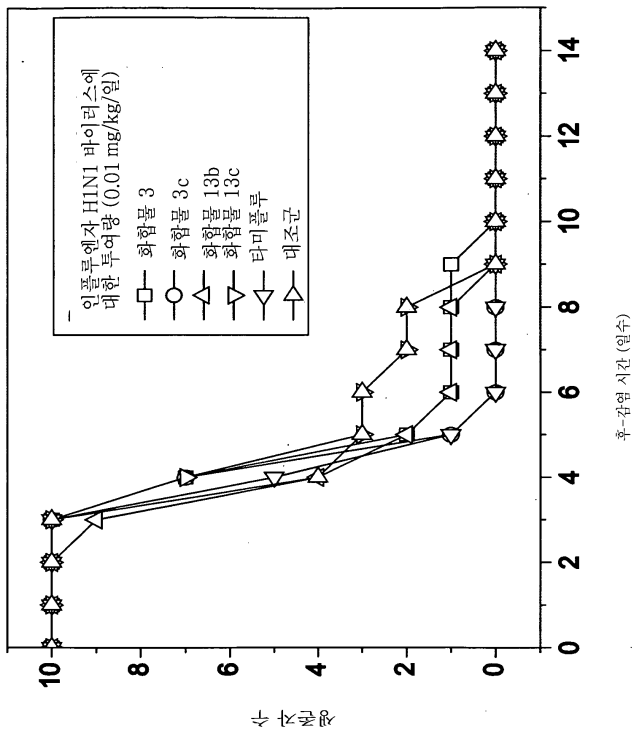
도면19a



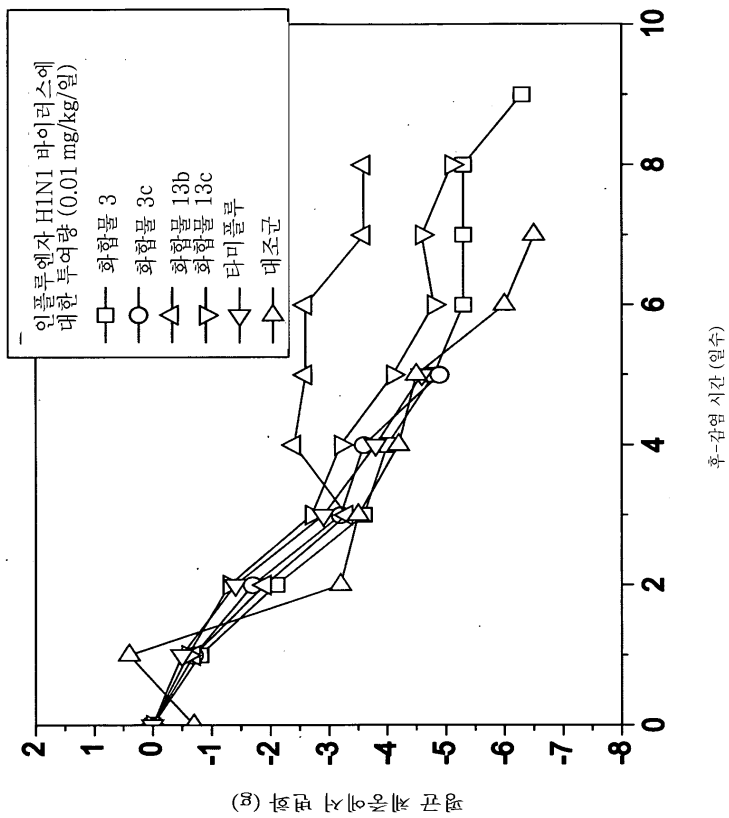
도면19b



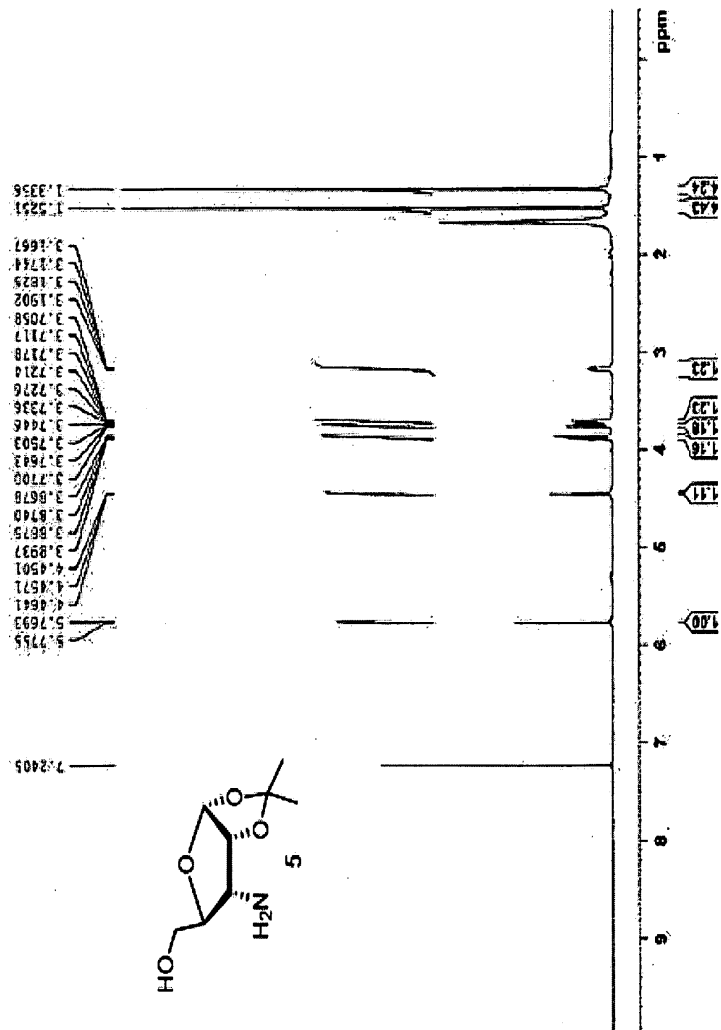
도면20a



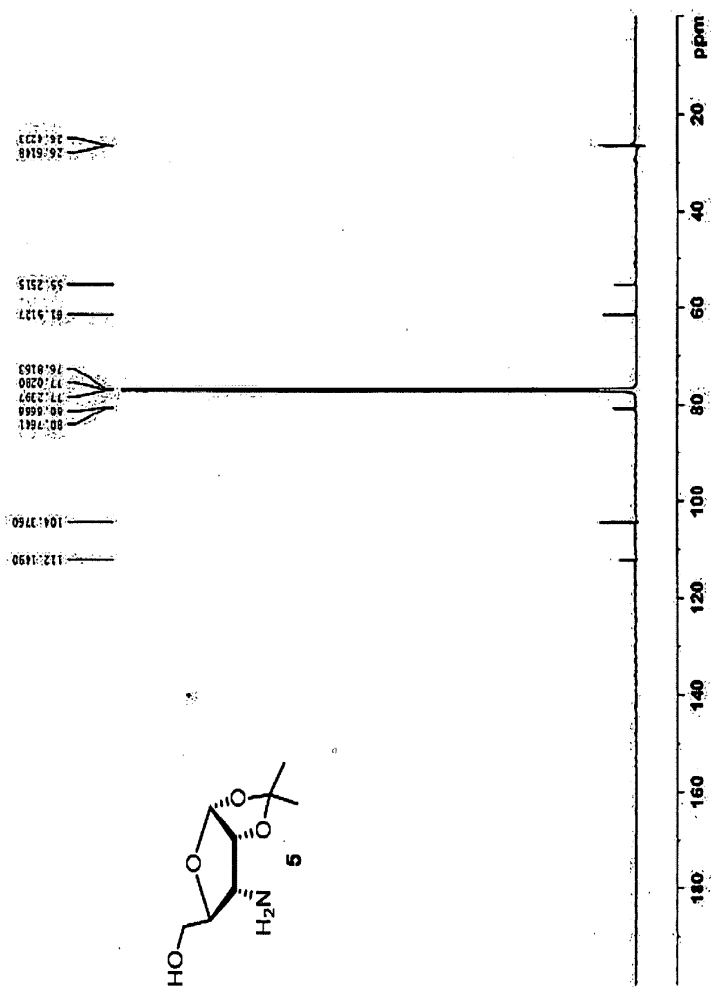
도면20b



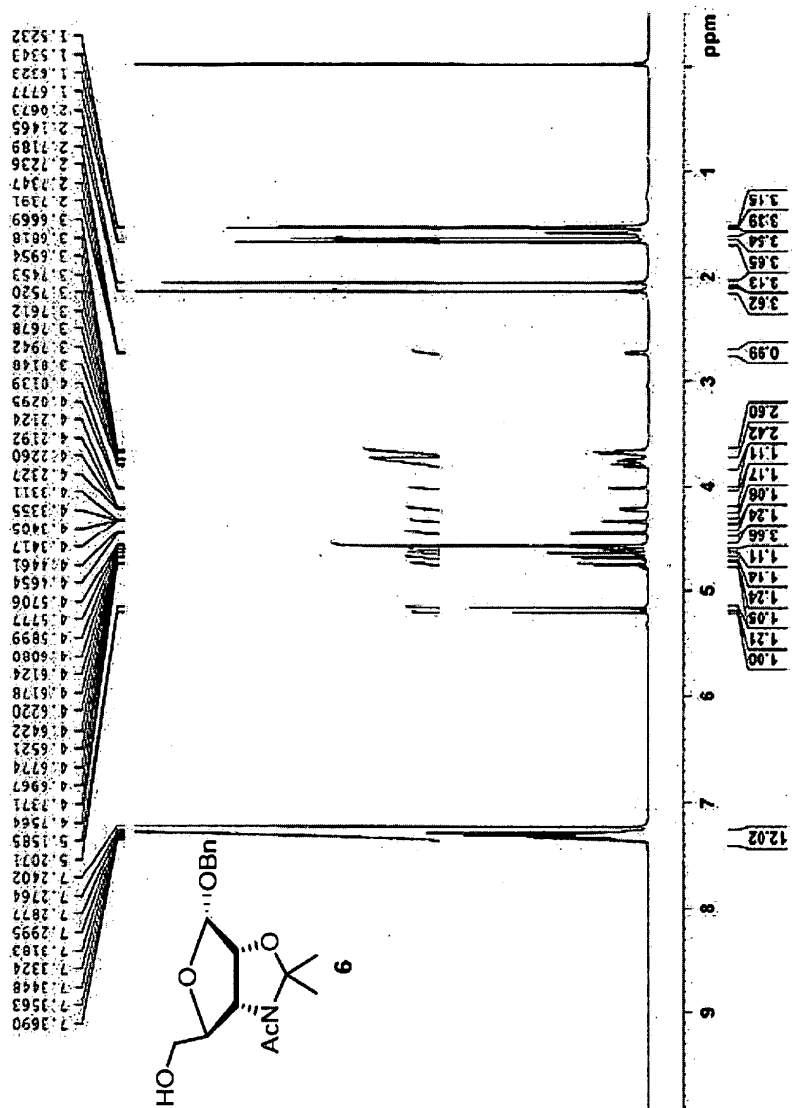
도면21



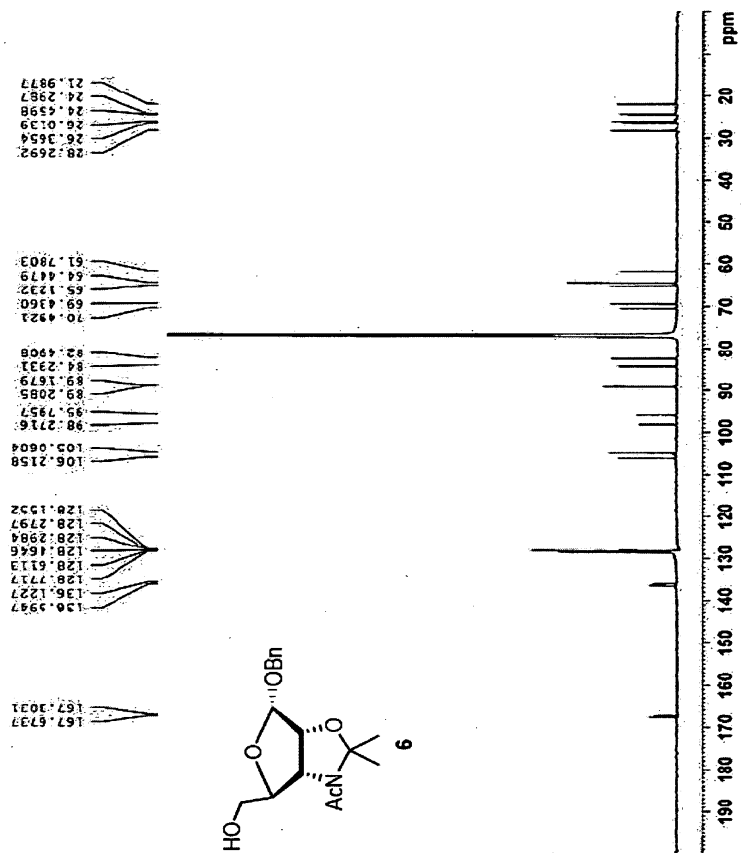
도면22



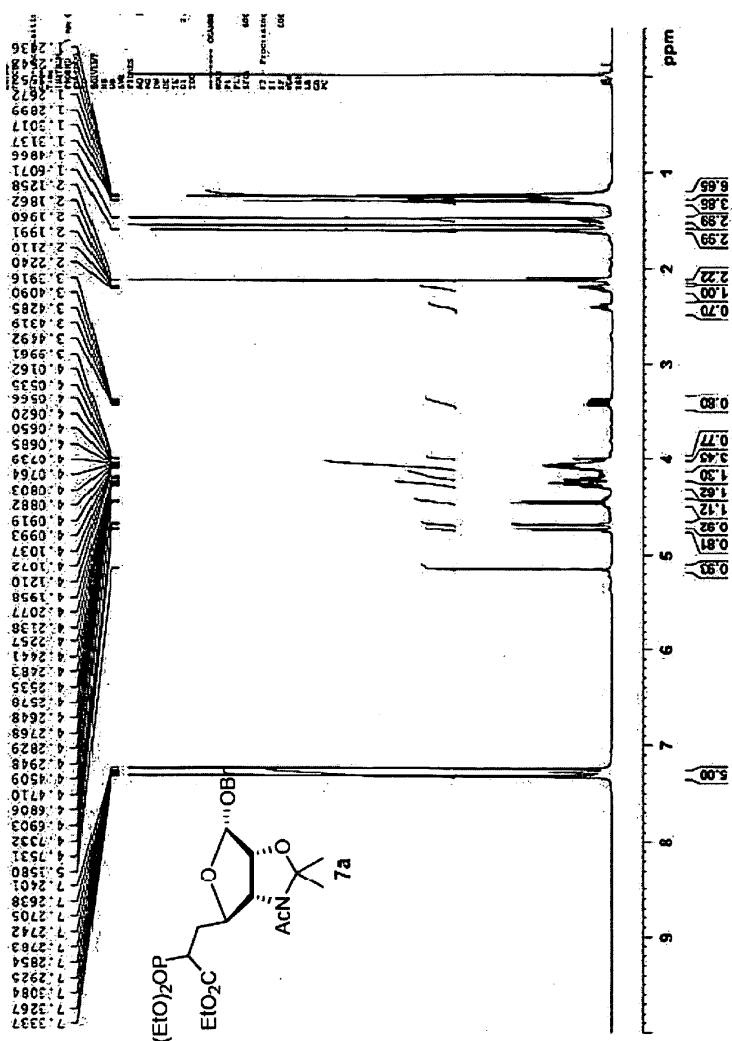
도면23



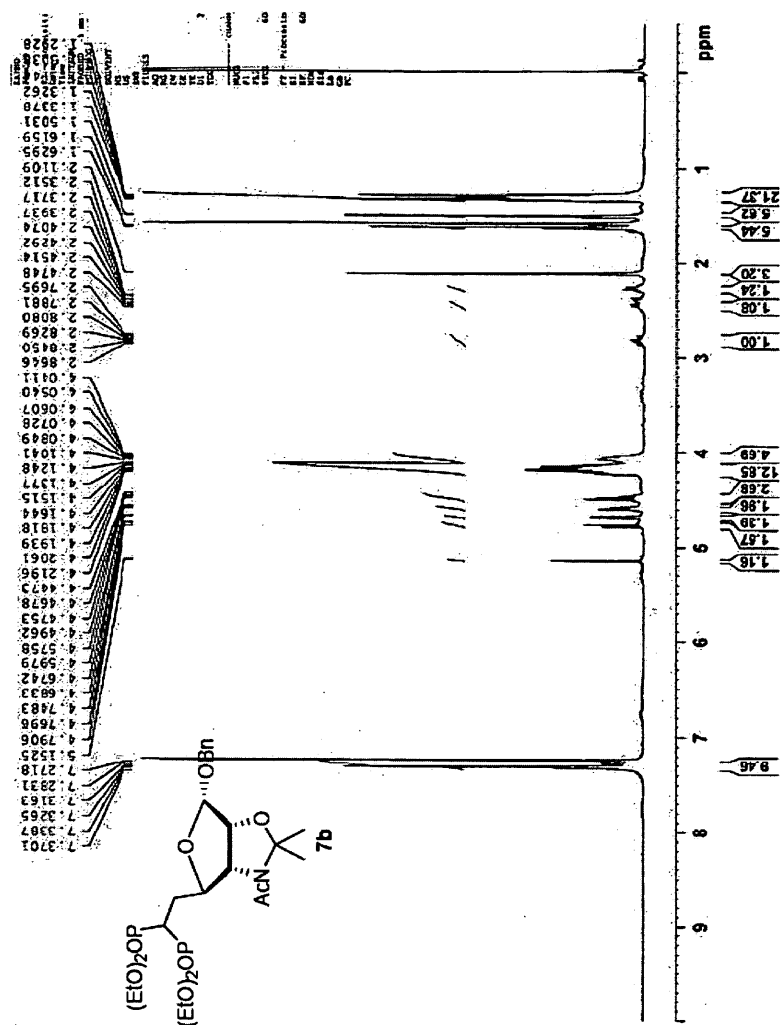
도면24



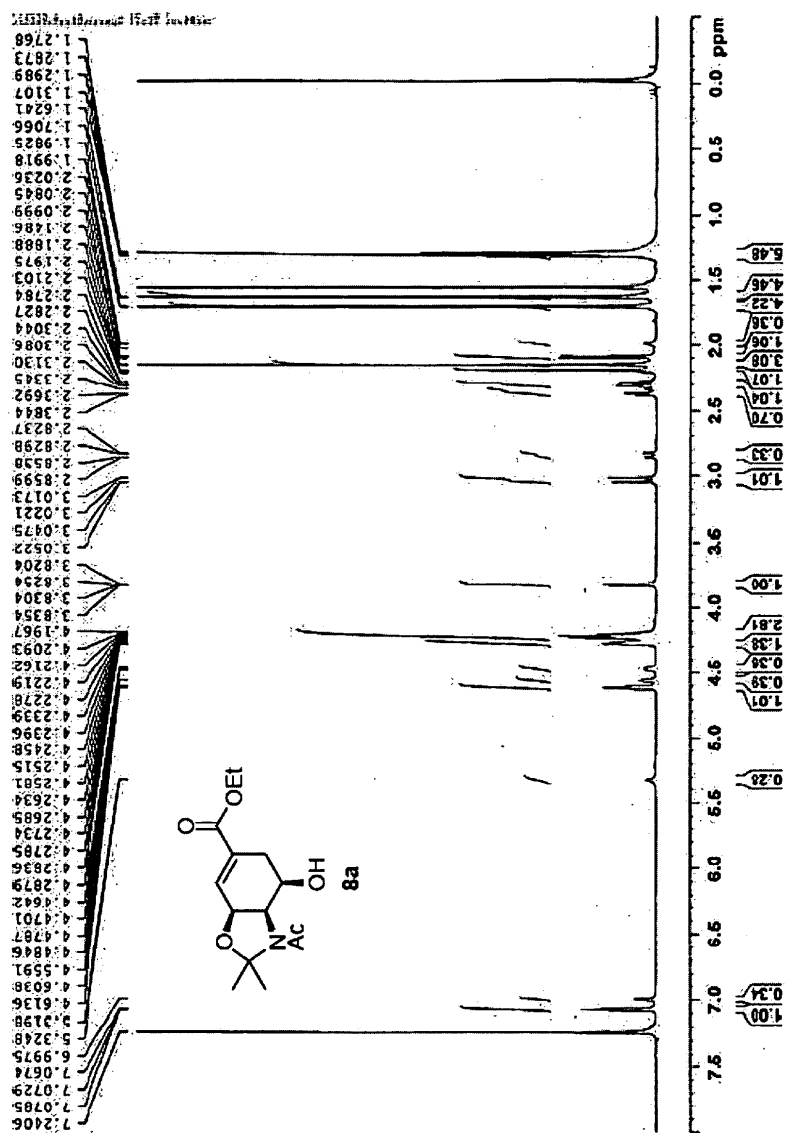
도면25



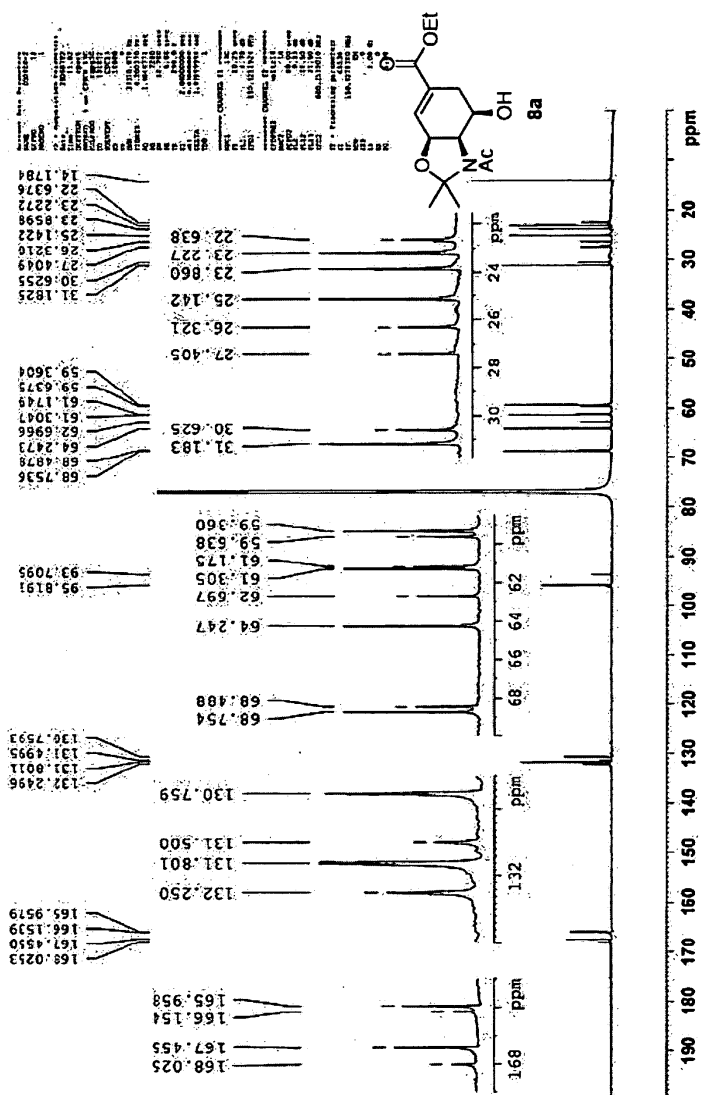
도면26



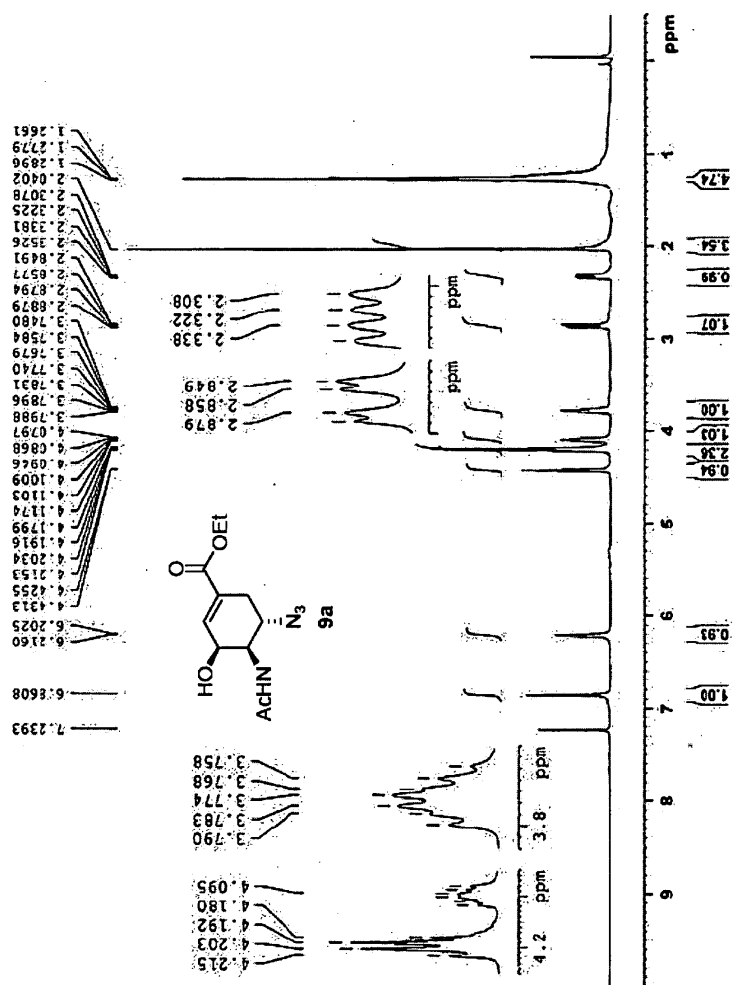
도면27



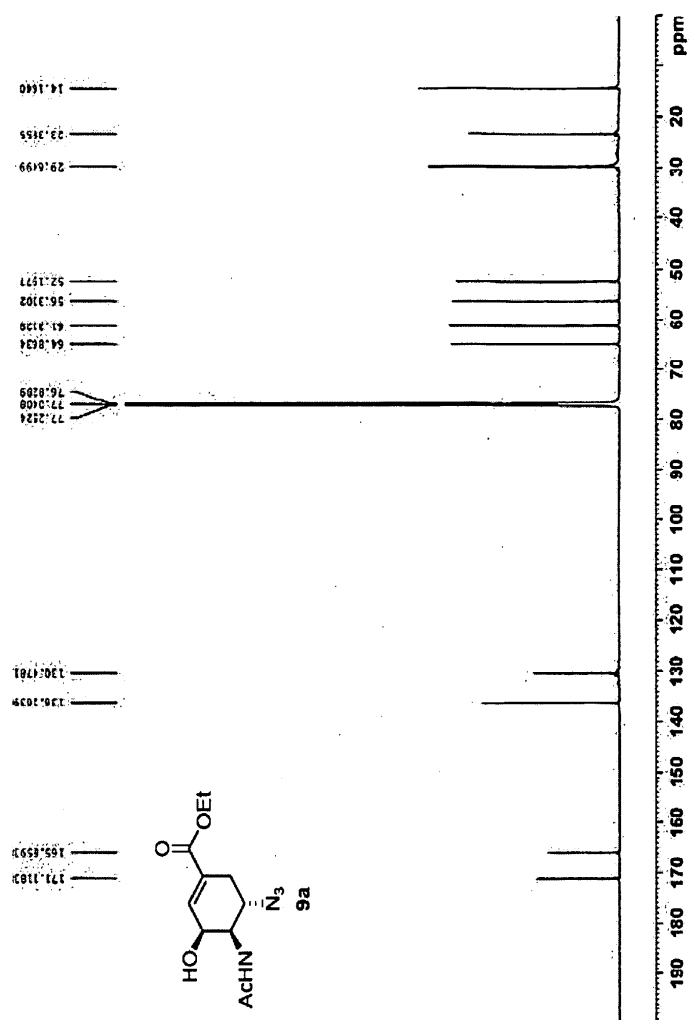
도면28



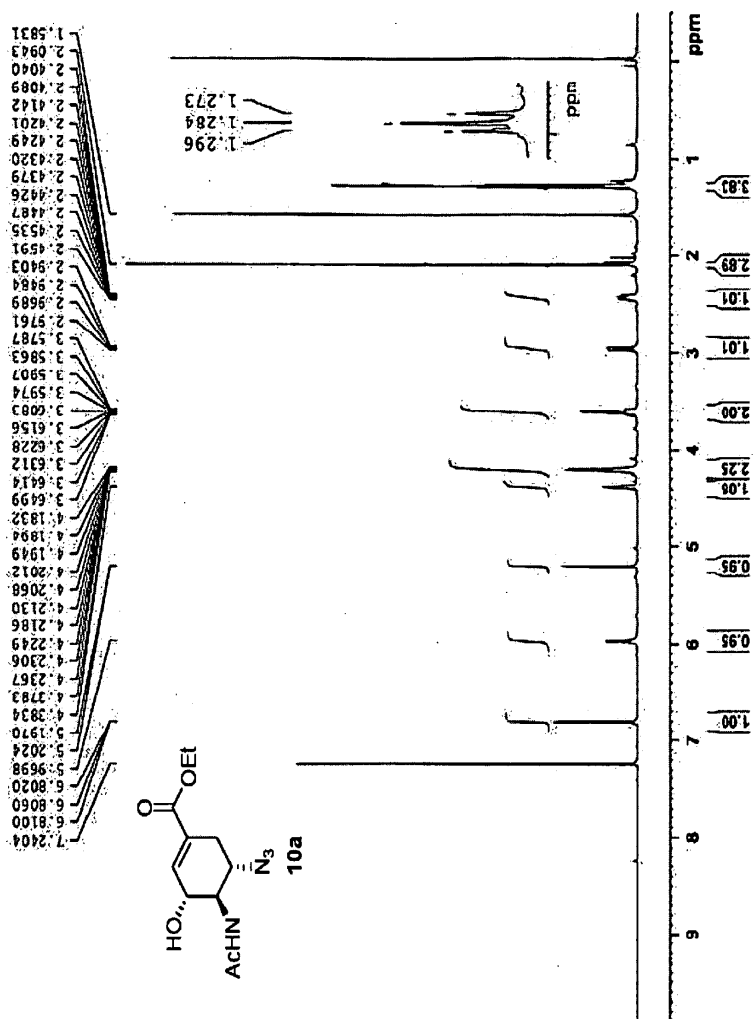
도면29



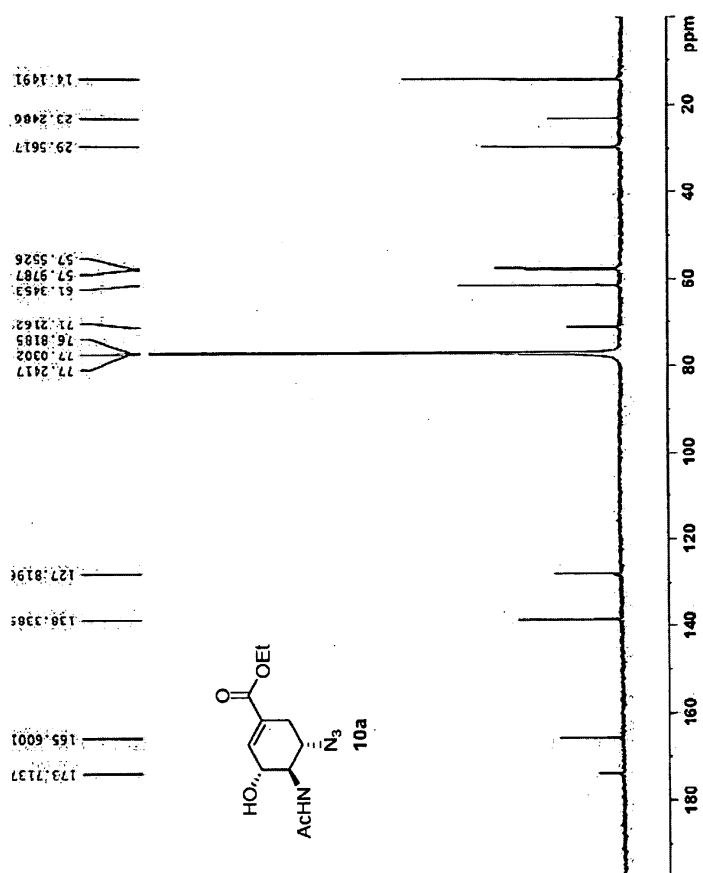
도면30



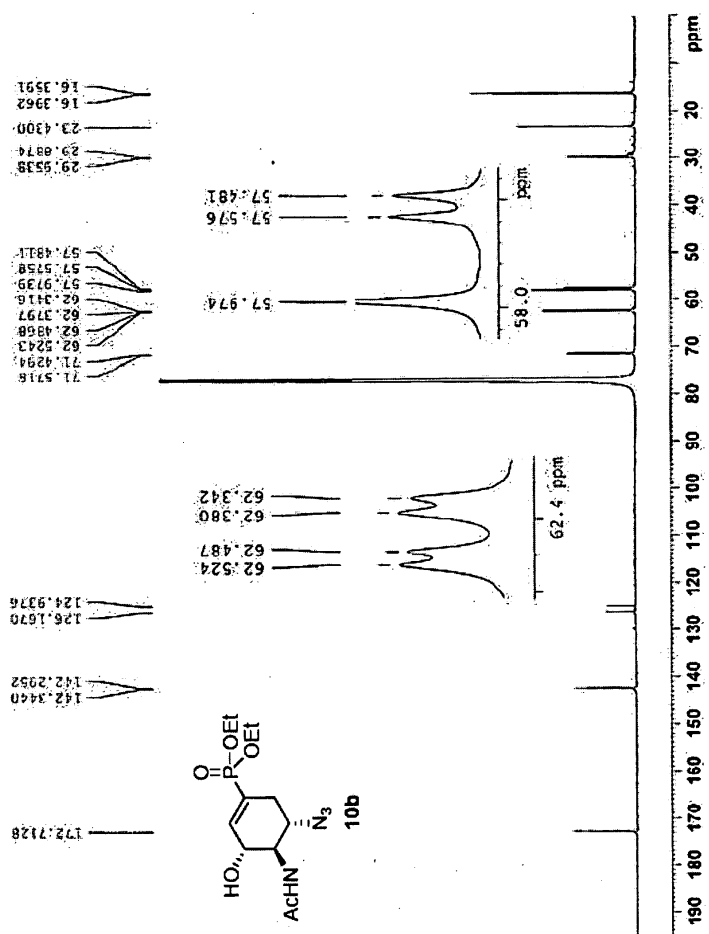
도면31



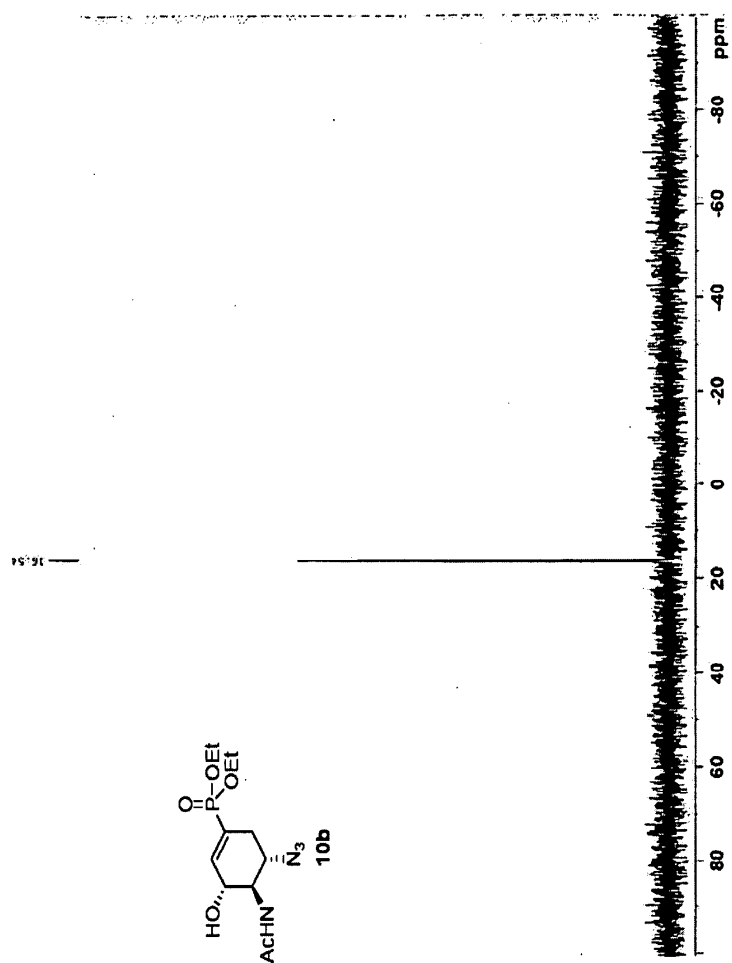
도면32



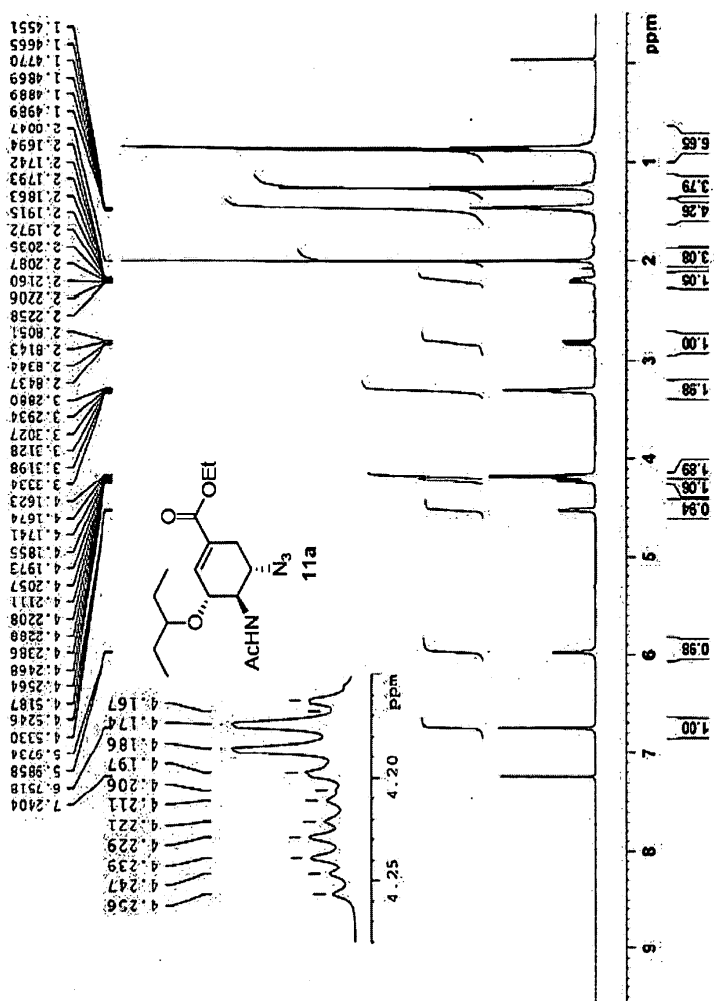
도면34



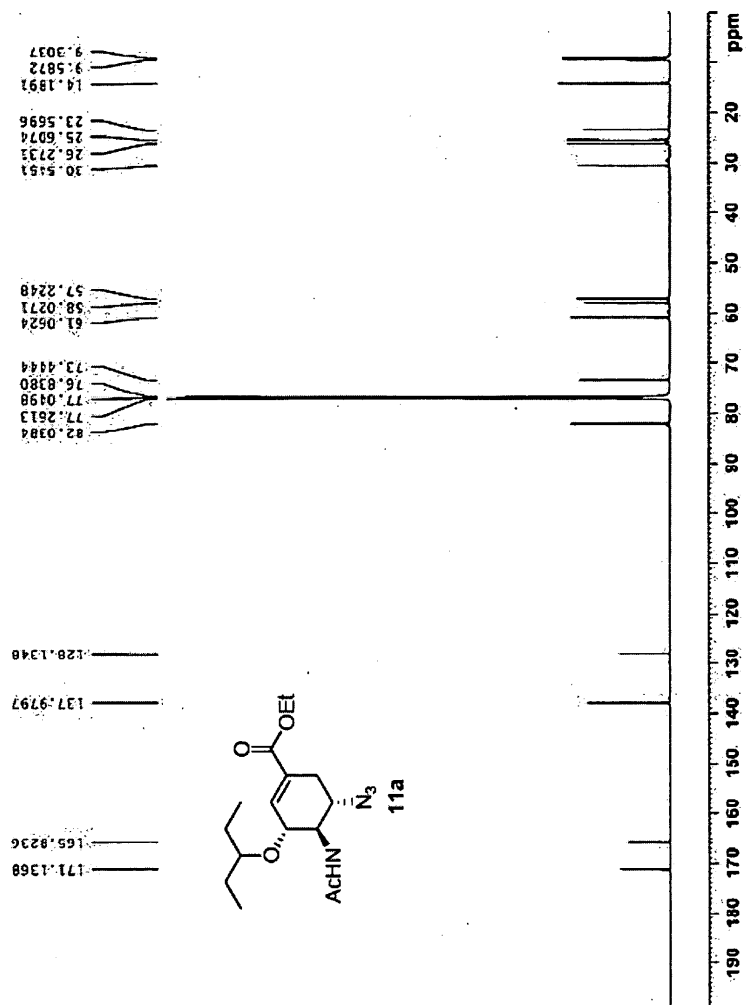
도면35



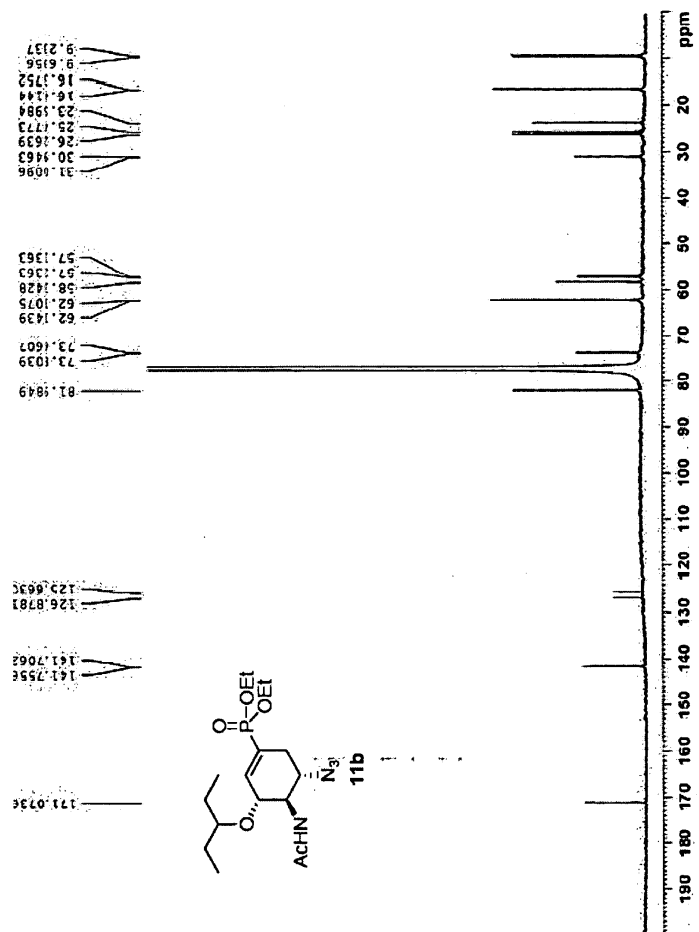
도면36



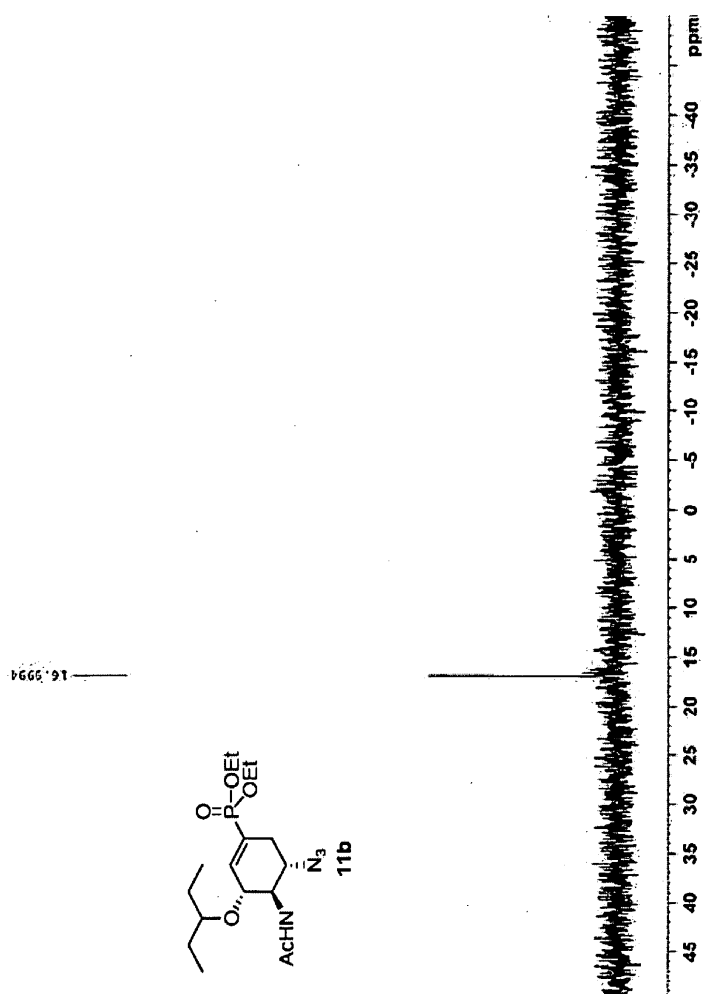
도면37



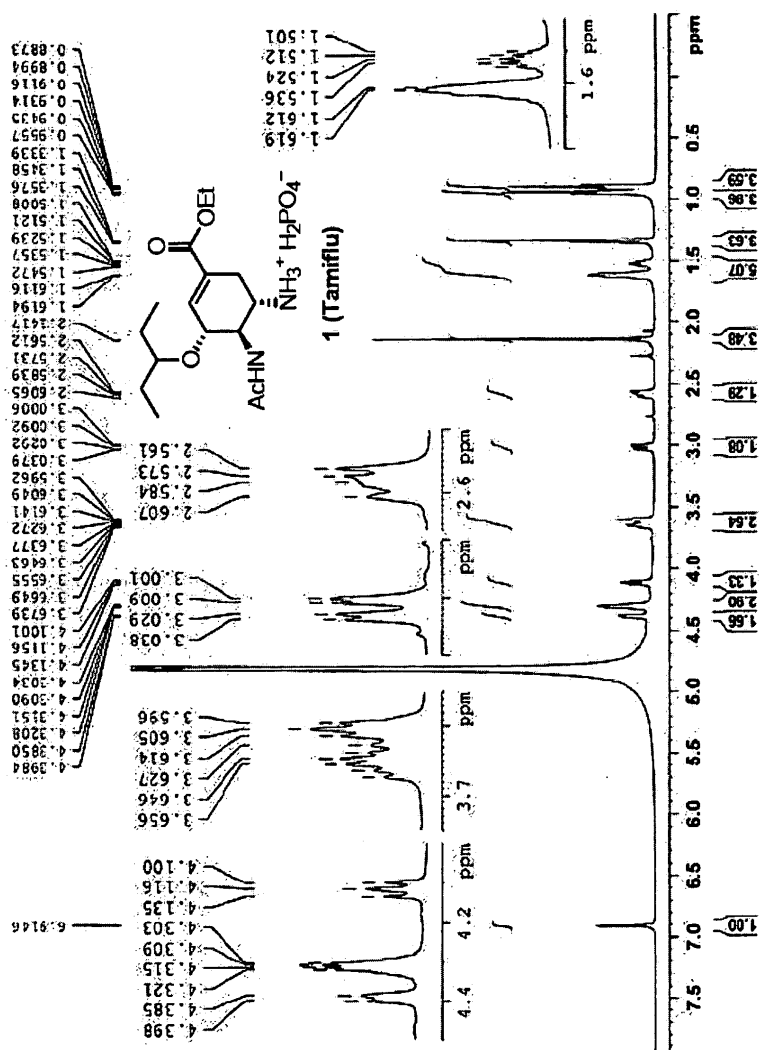
도면39



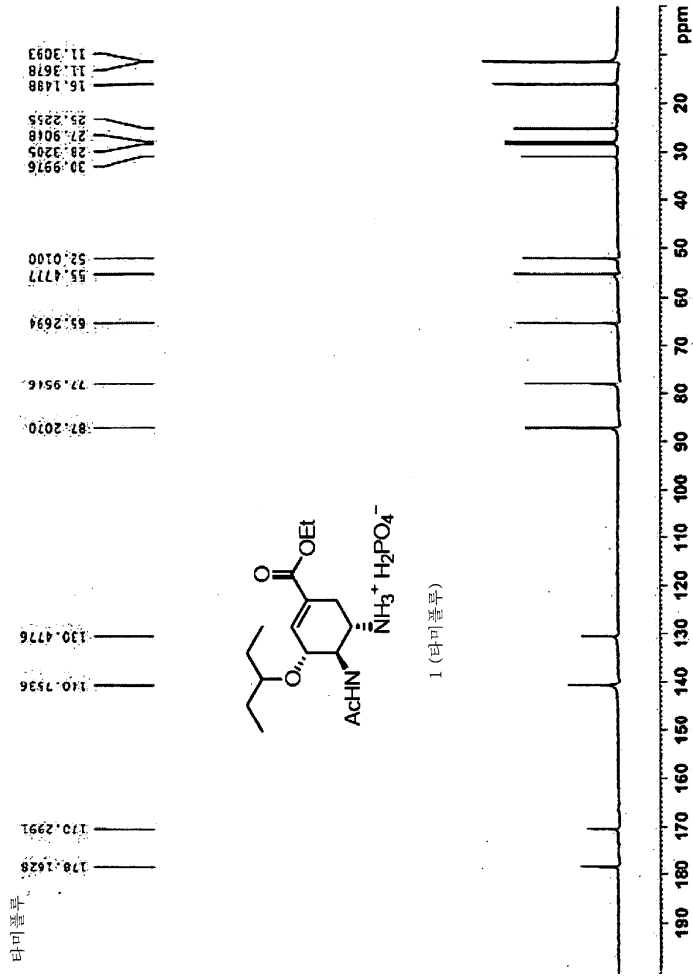
도면40



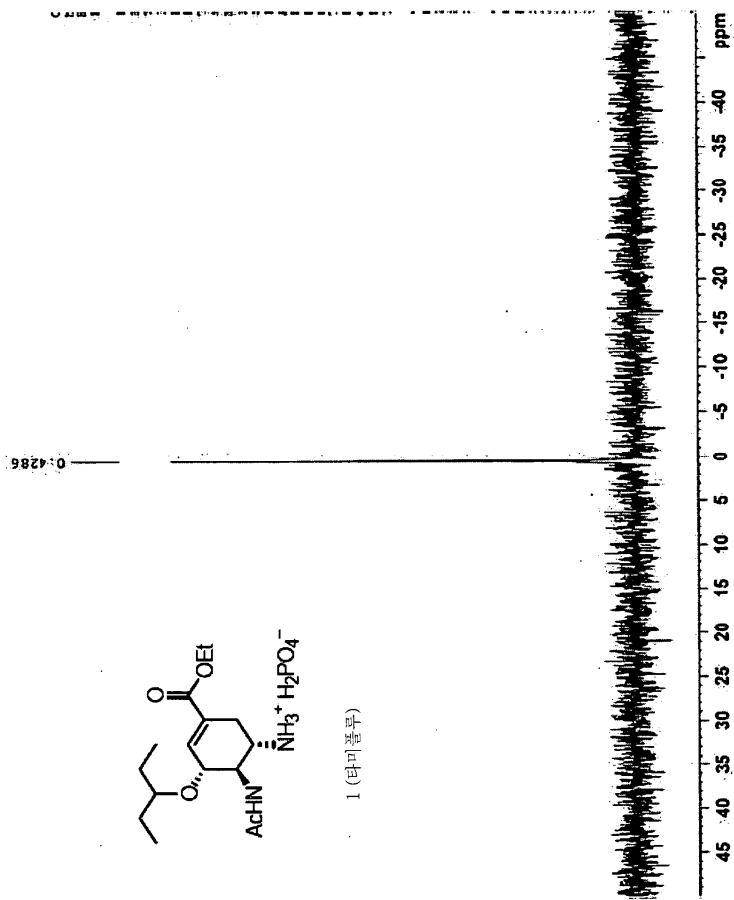
도면41



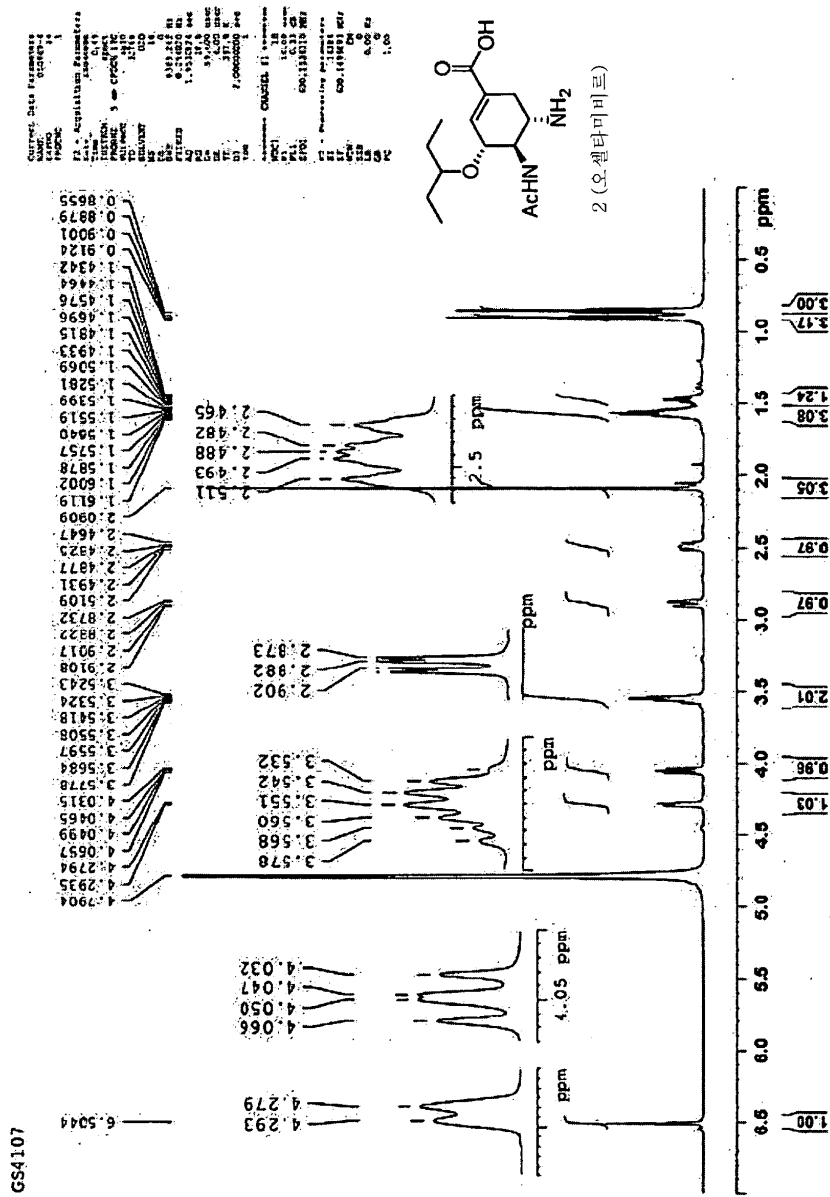
도면42



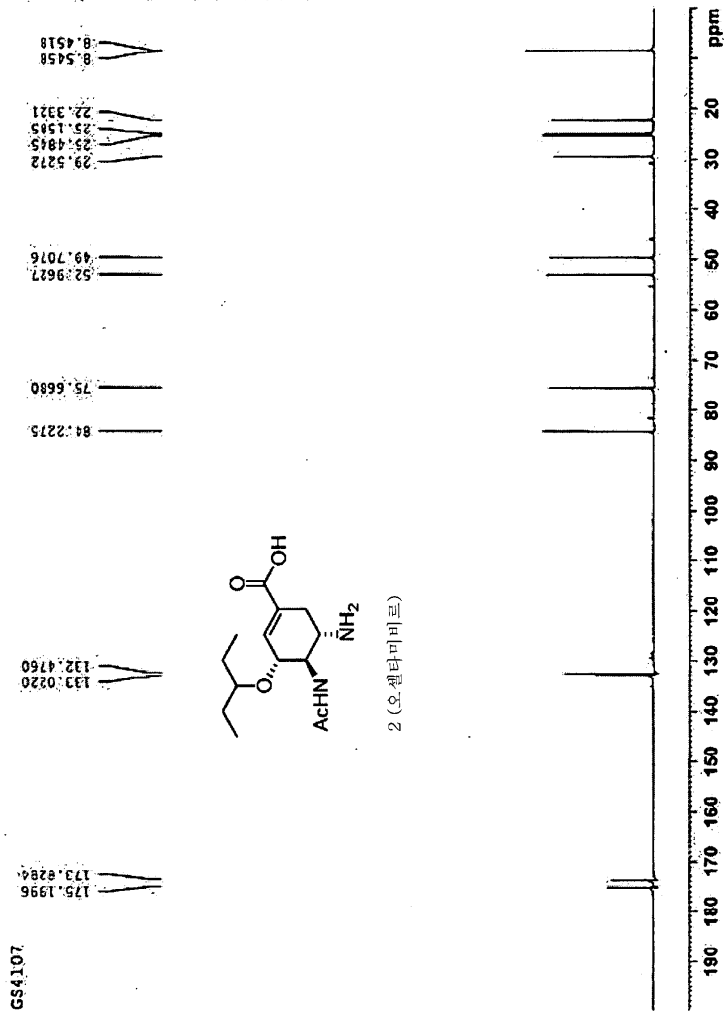
도면43



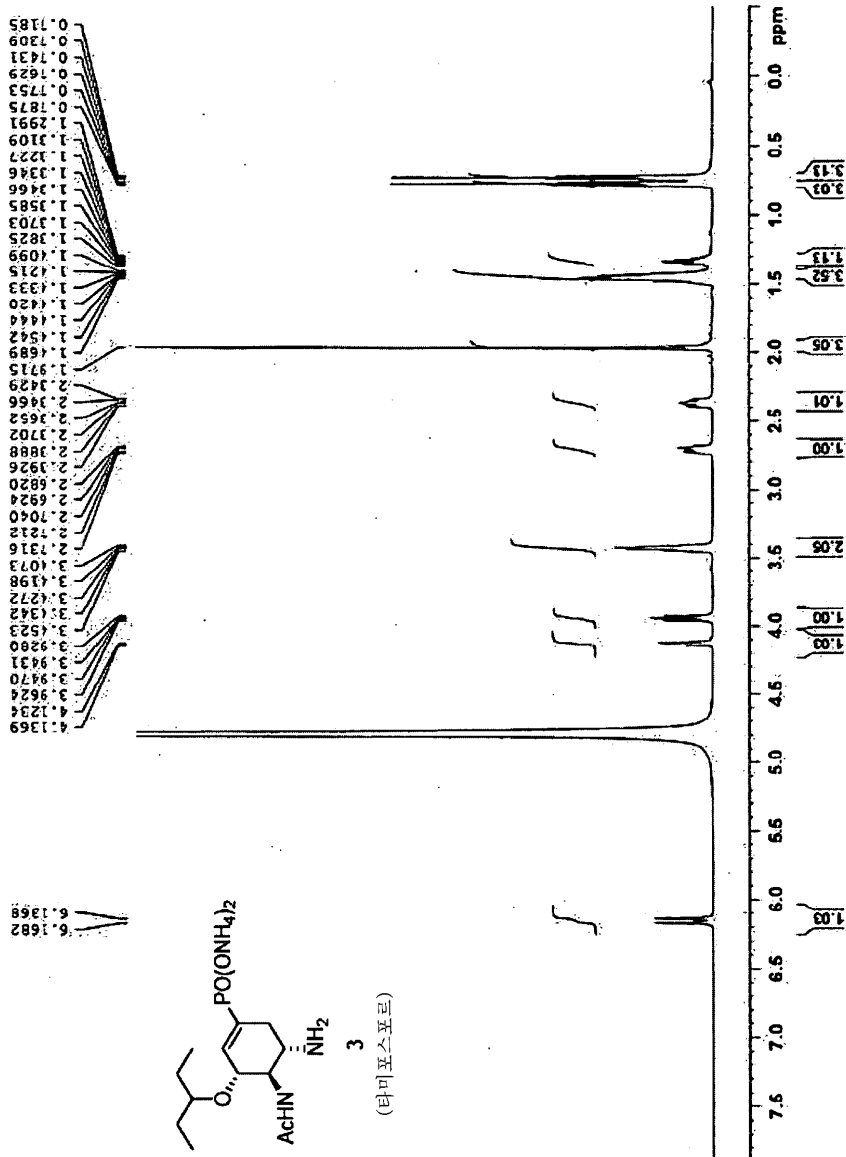
도면44



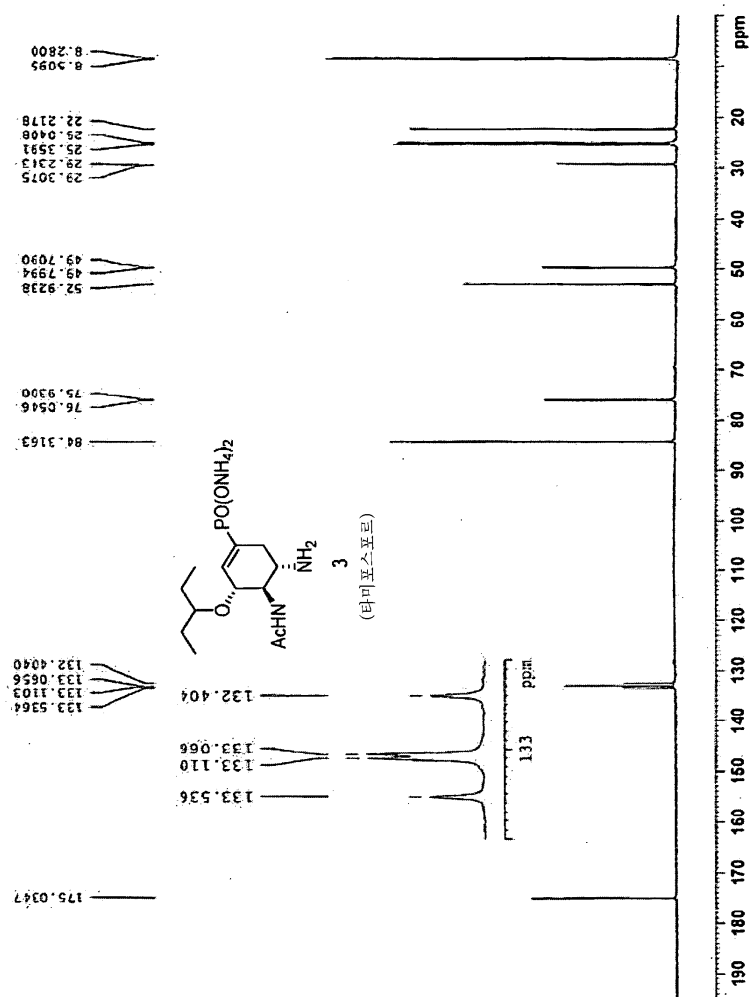
도면45



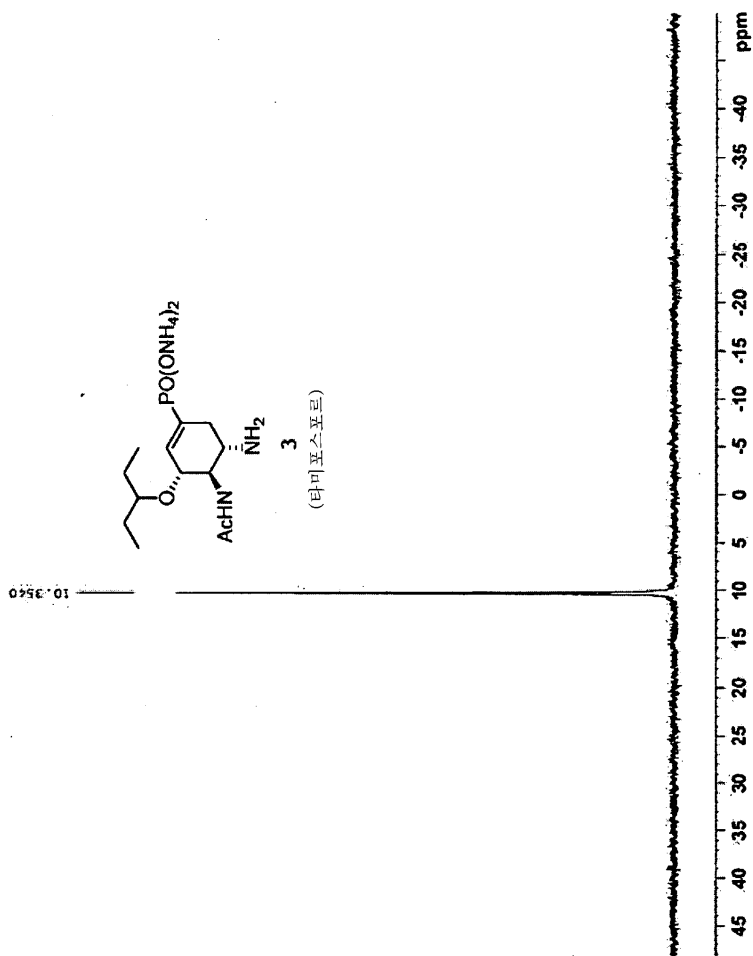
도면46



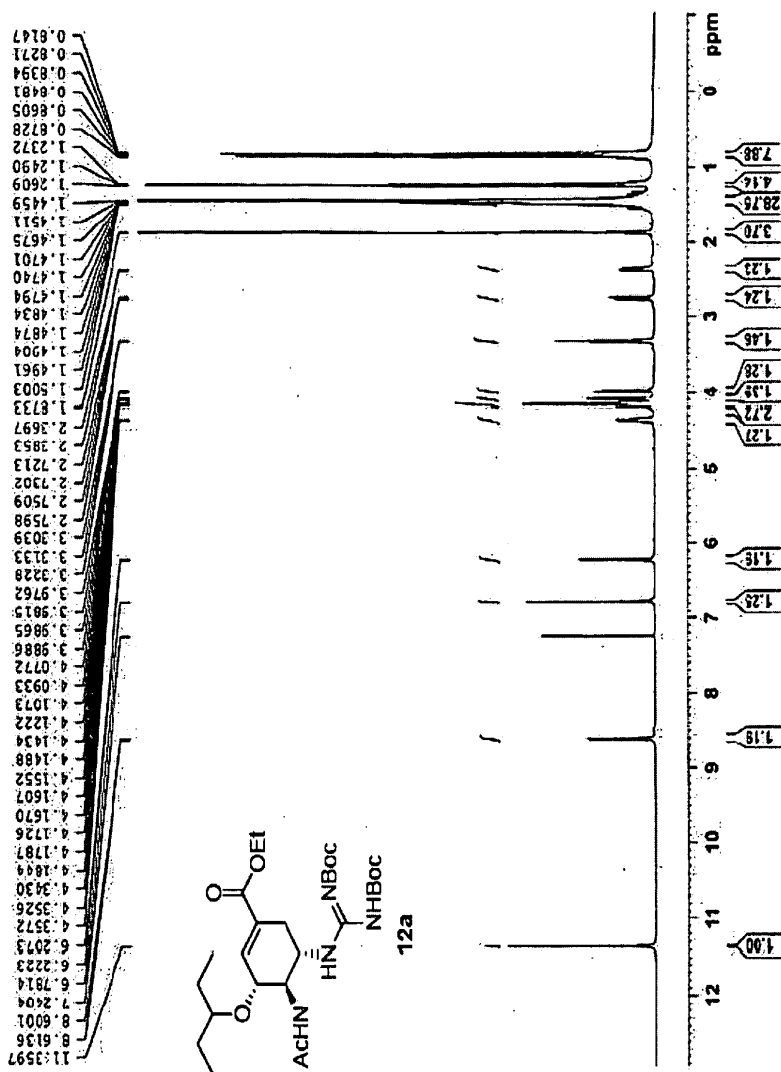
도면47



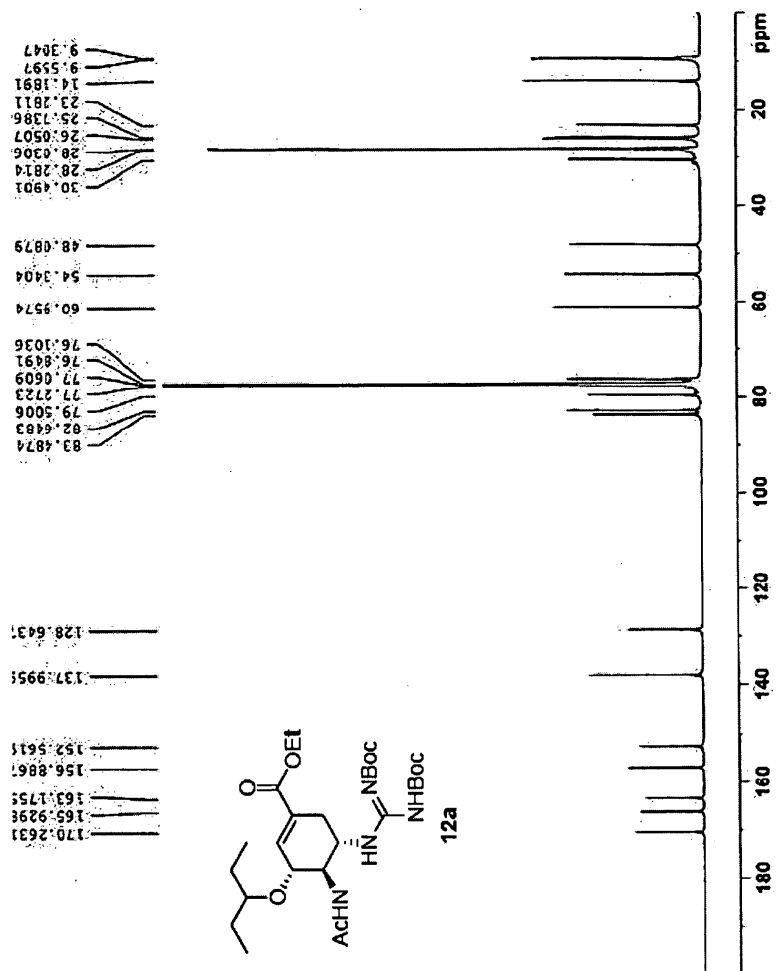
도면48



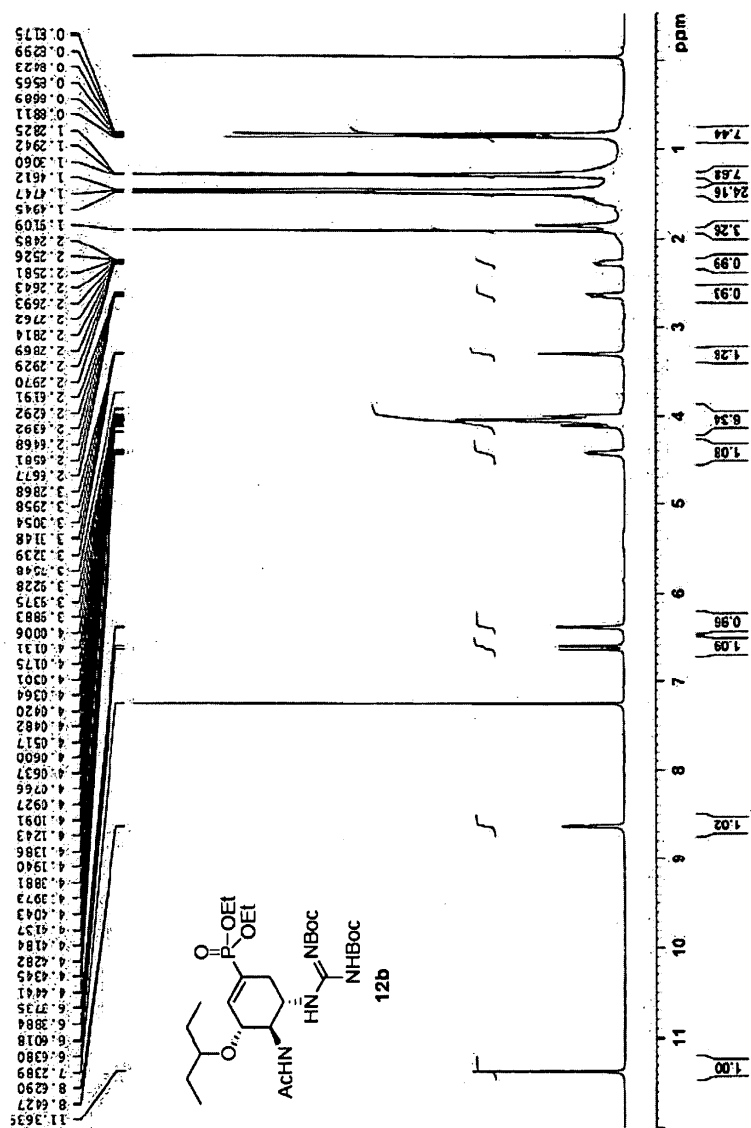
도면49



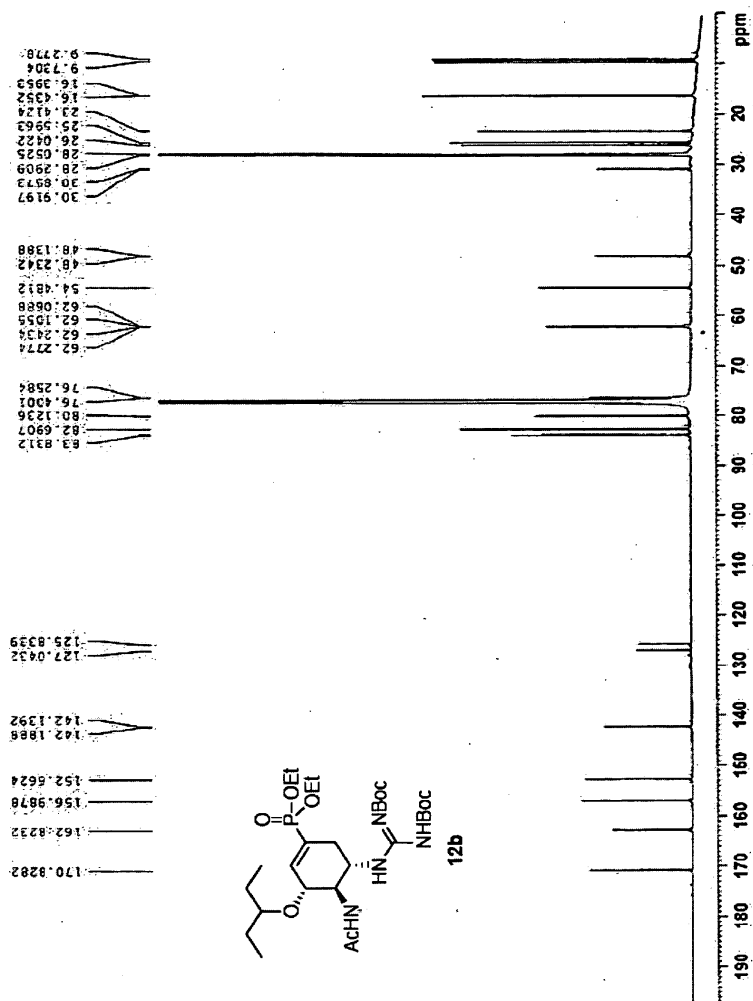
도면50



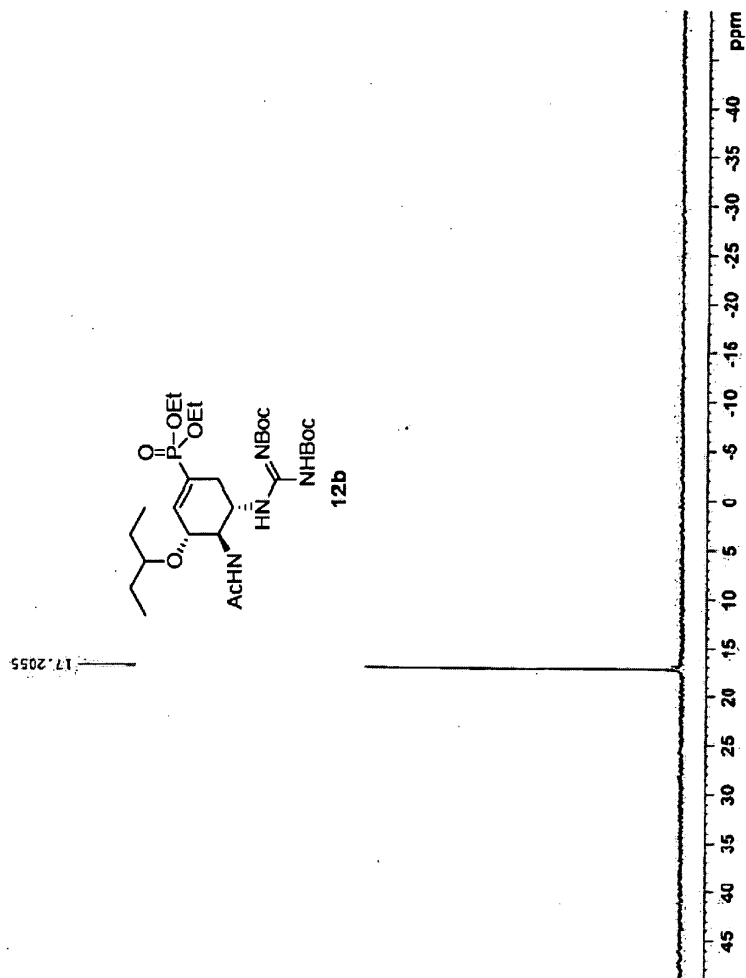
도면51



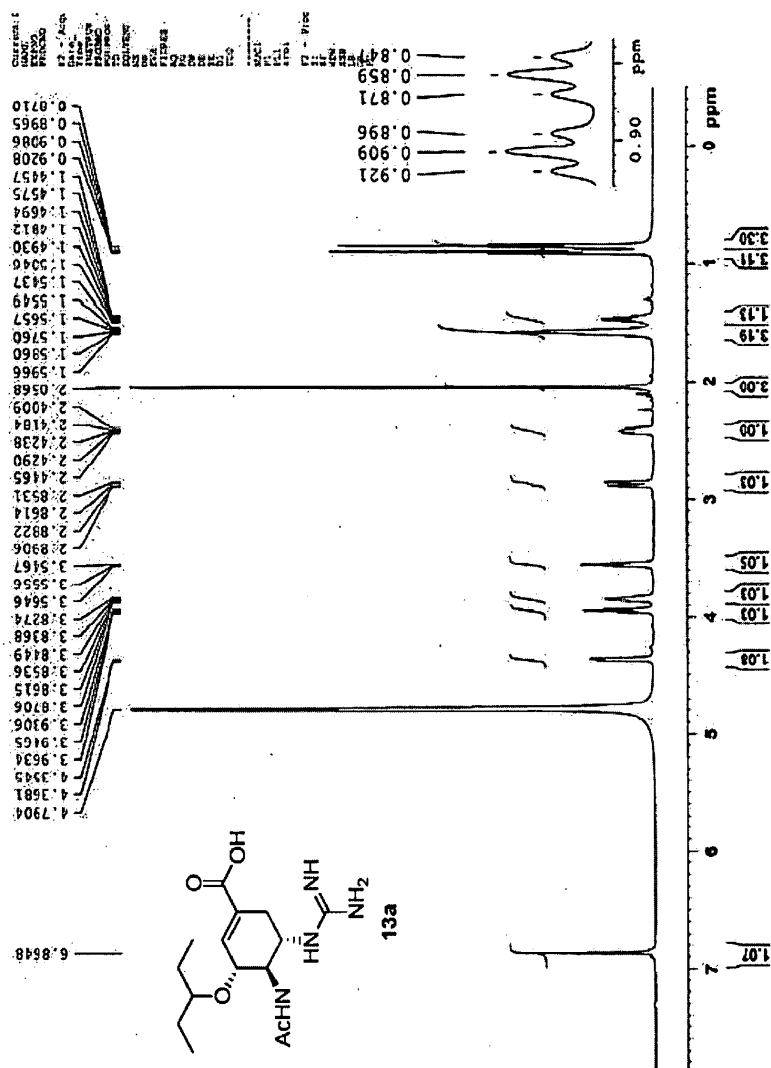
도면52



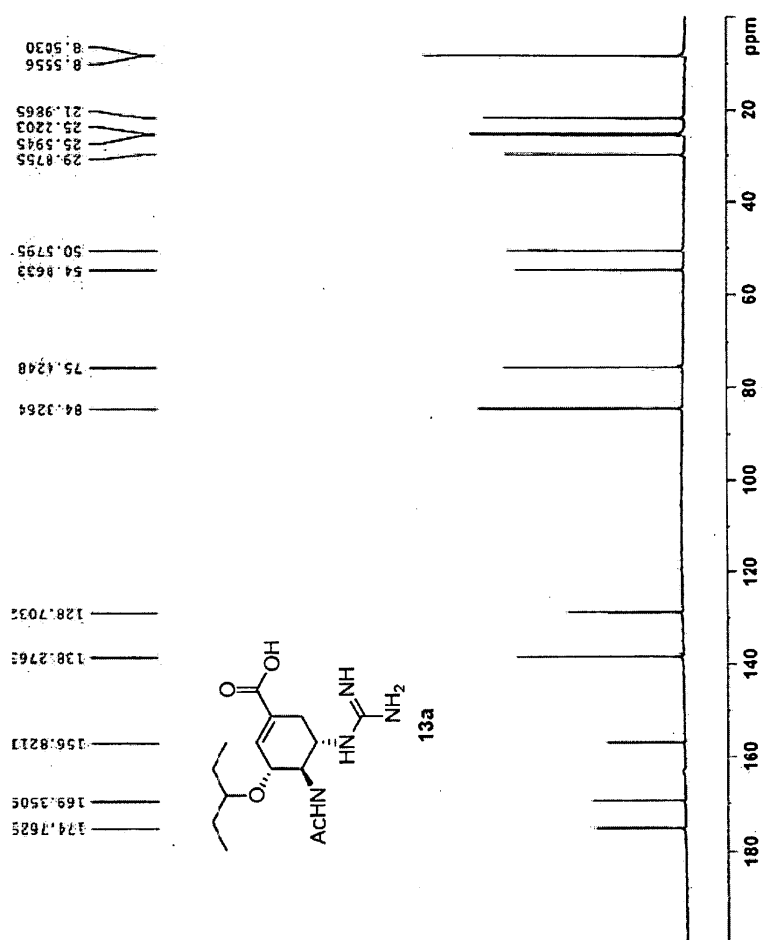
도면53



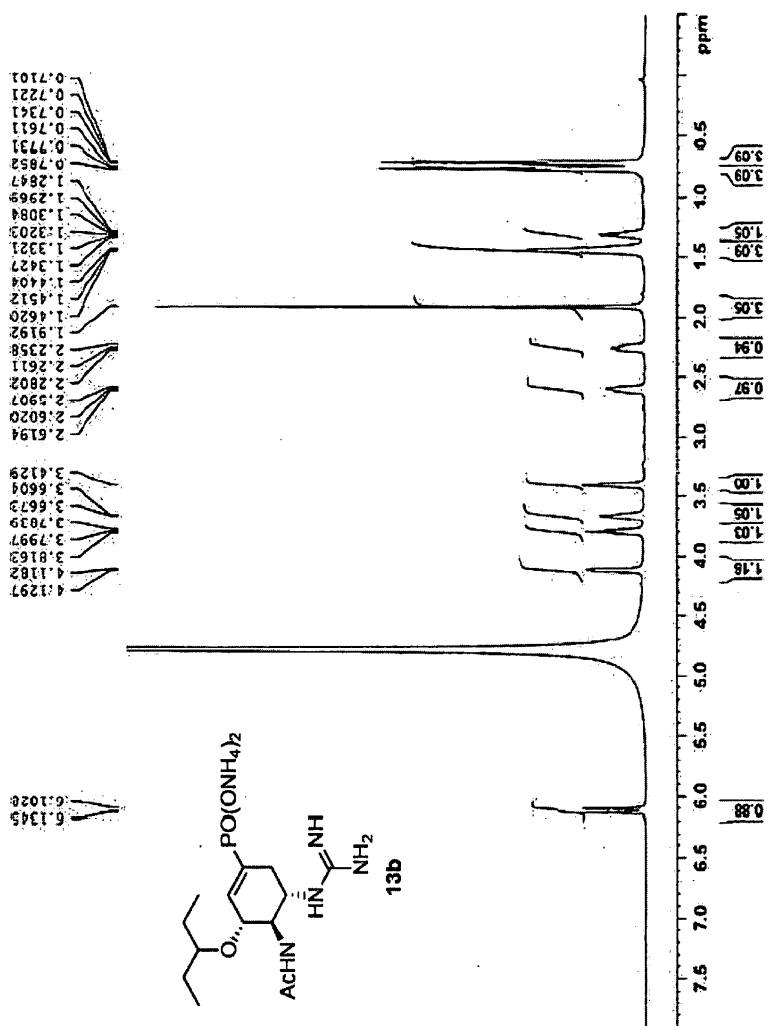
도면54



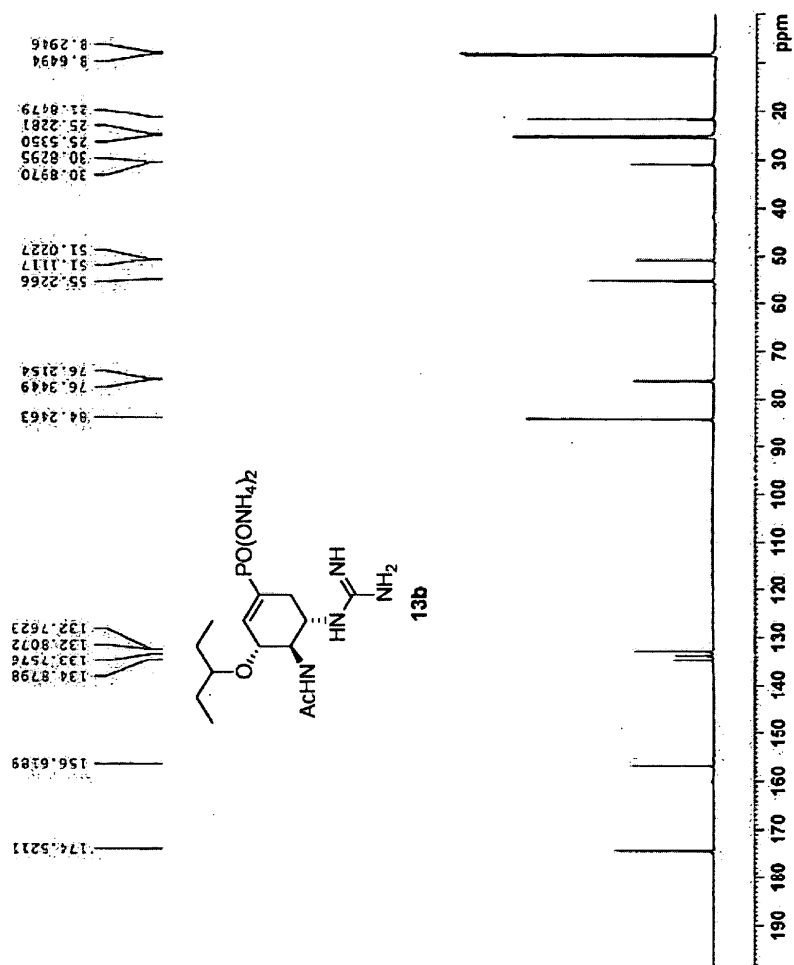
도면55



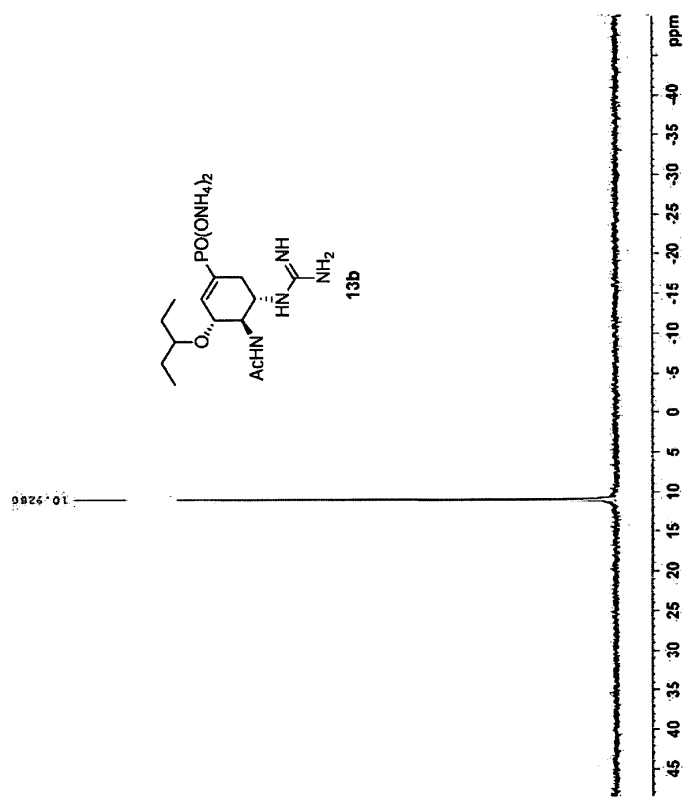
도면56



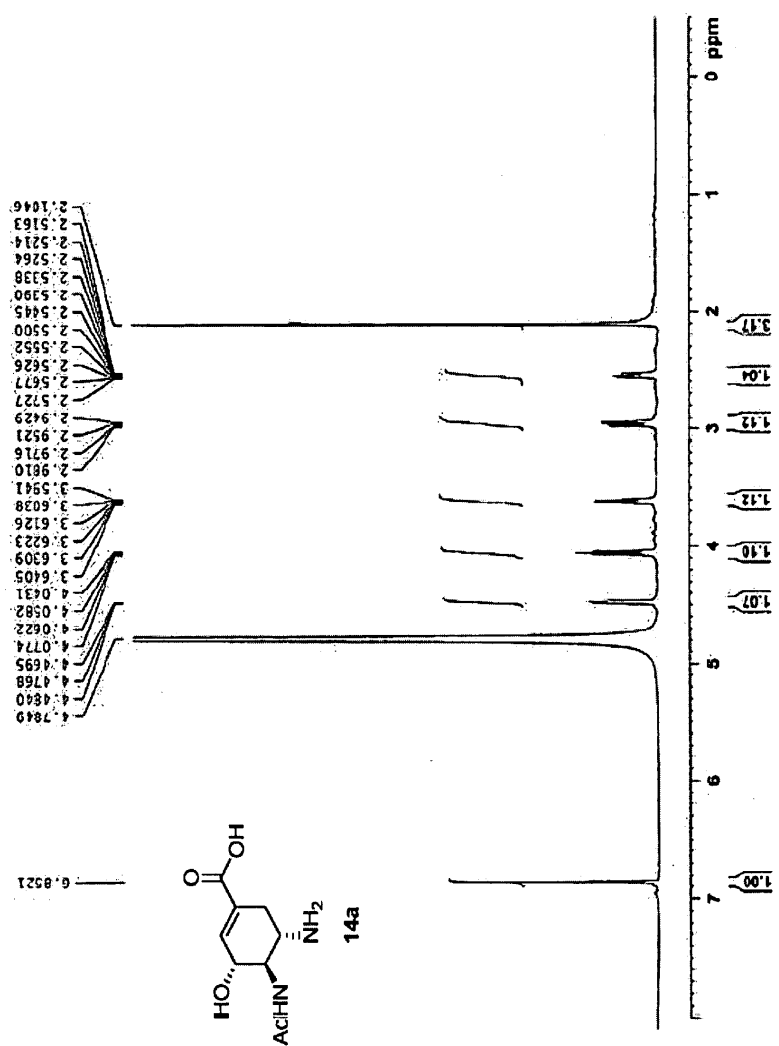
도면57



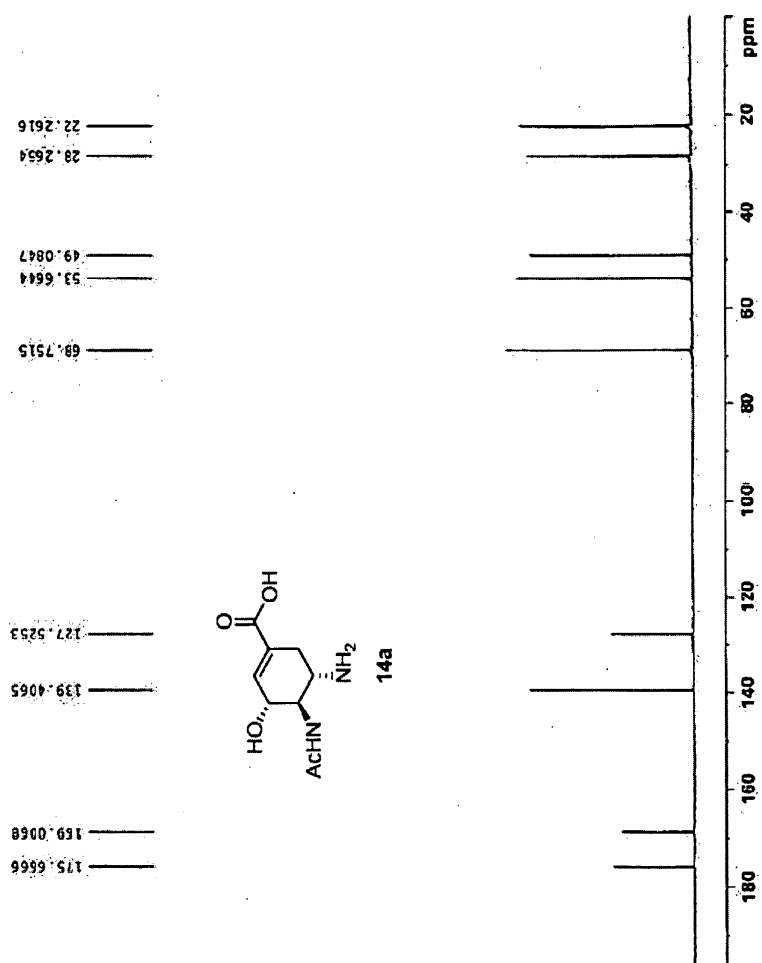
도면58



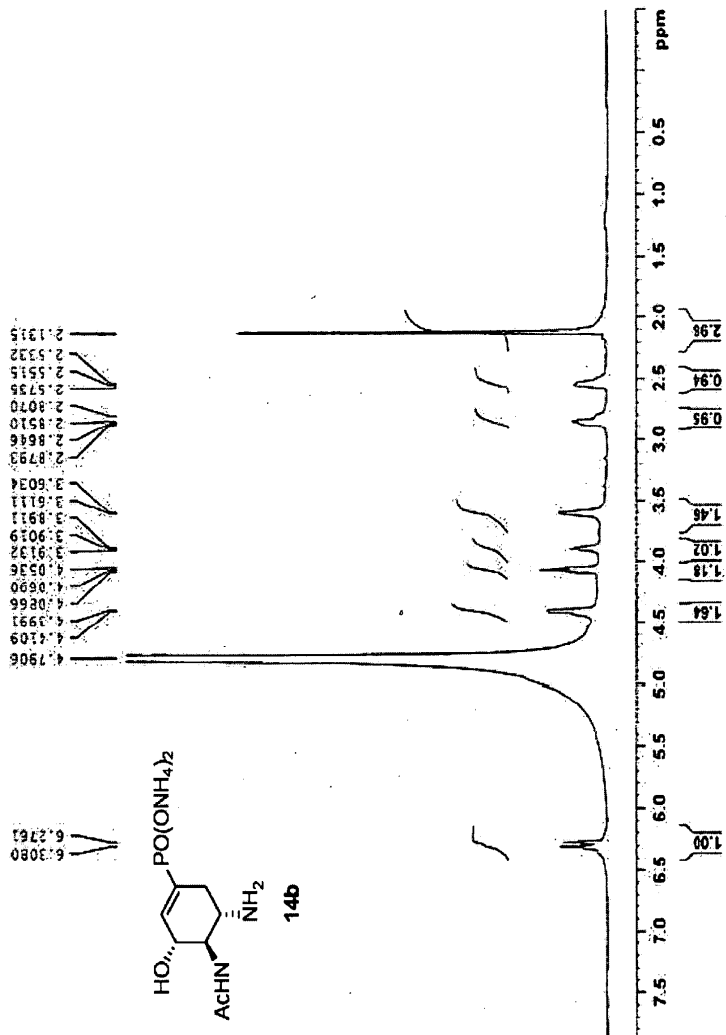
도면59



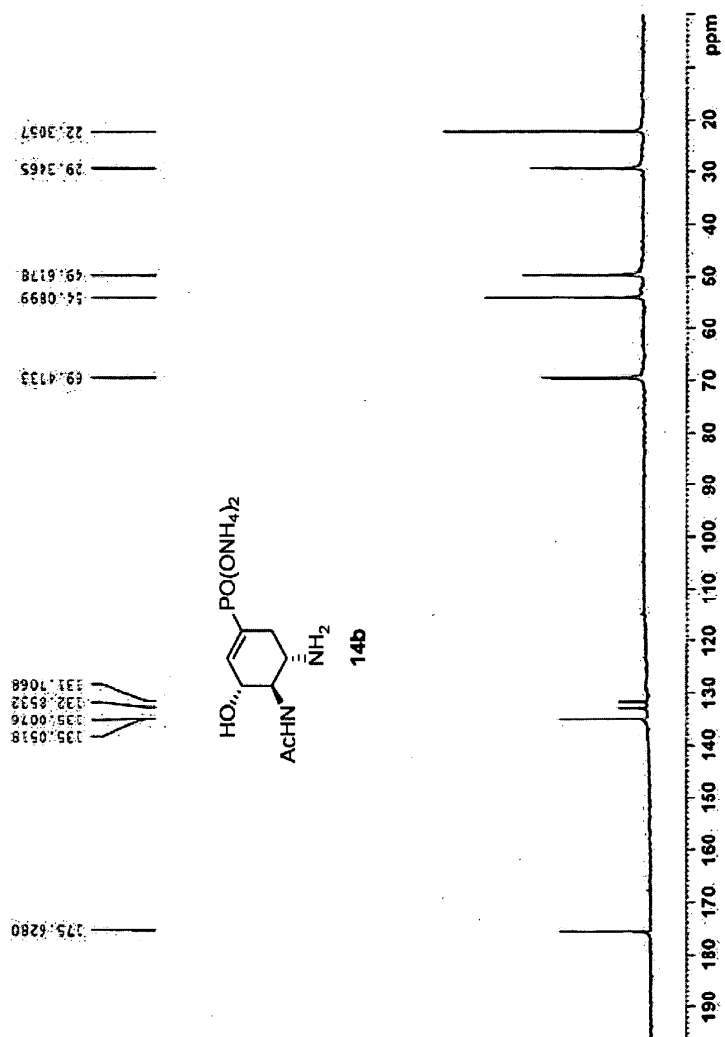
도면60



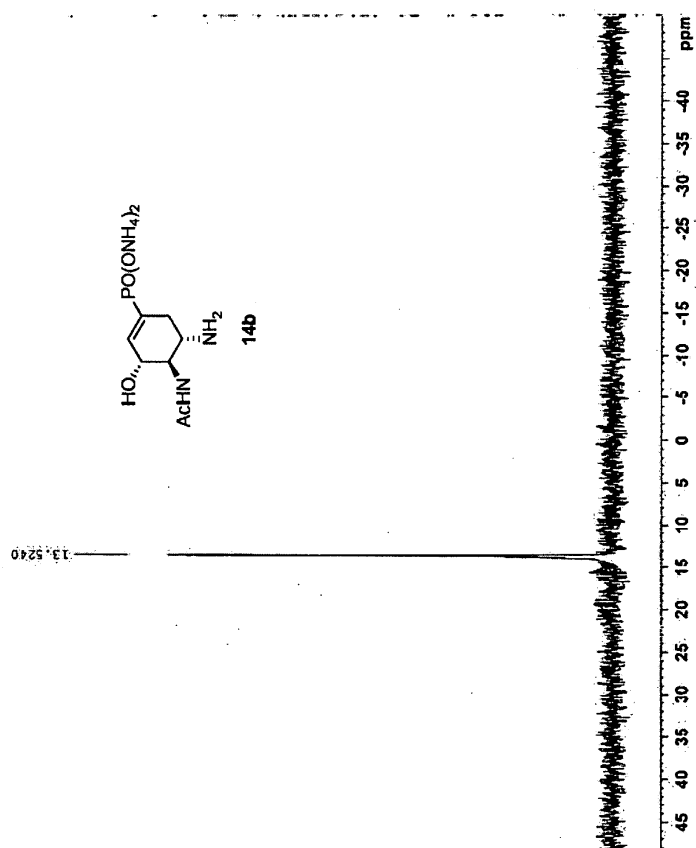
도면61



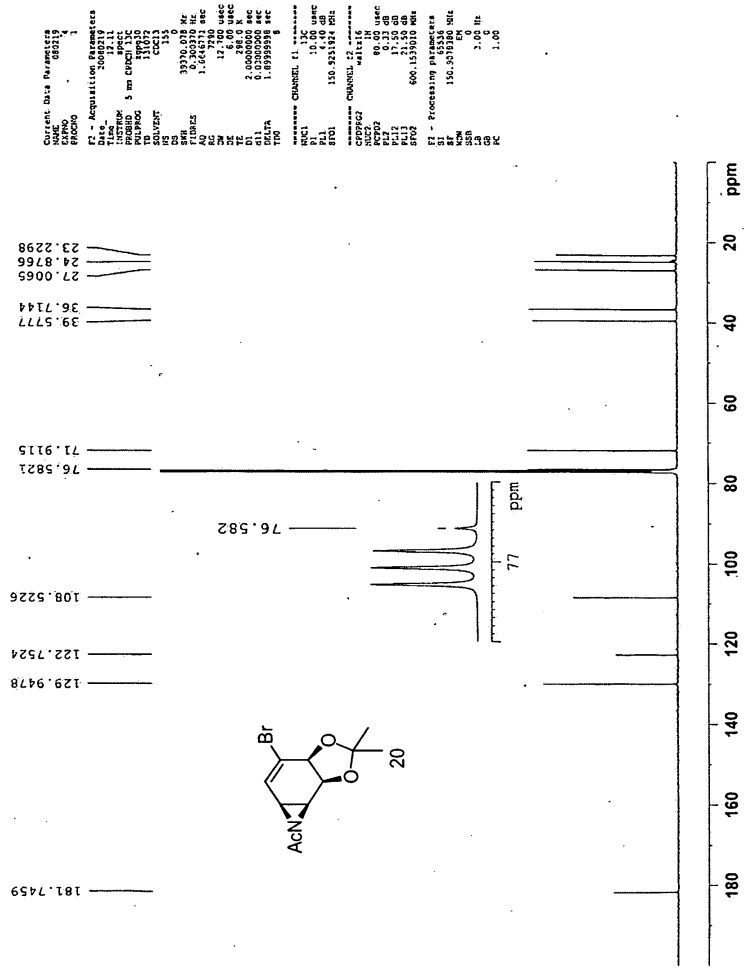
도면62



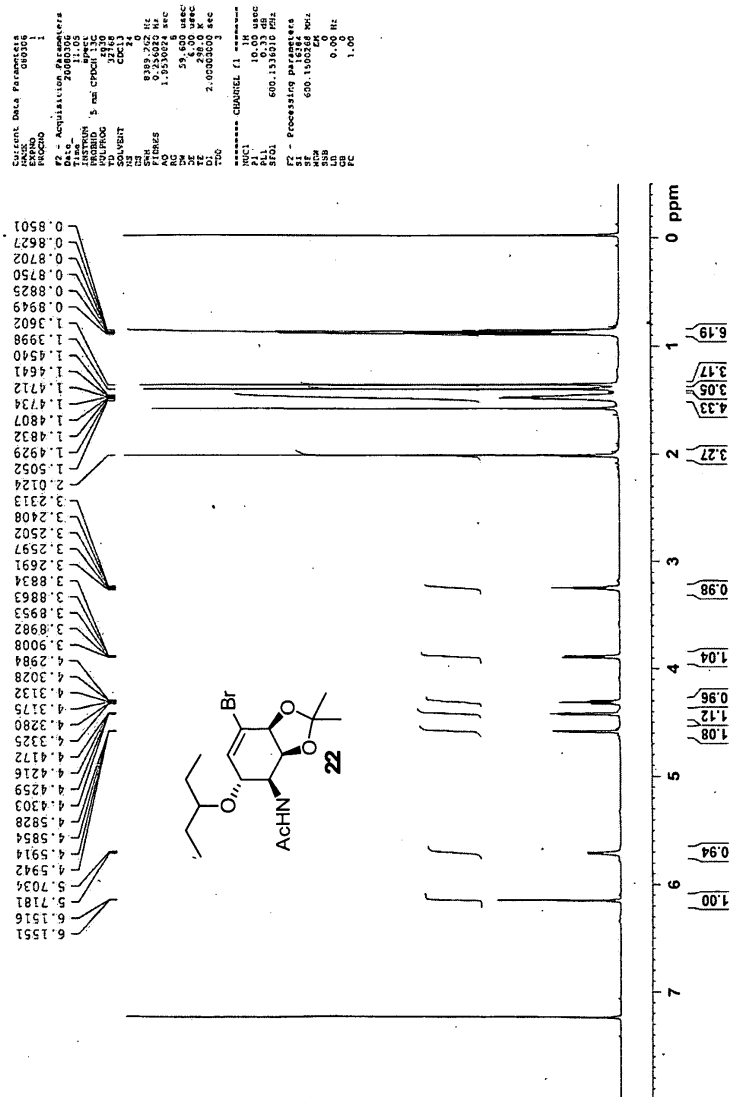
도면63



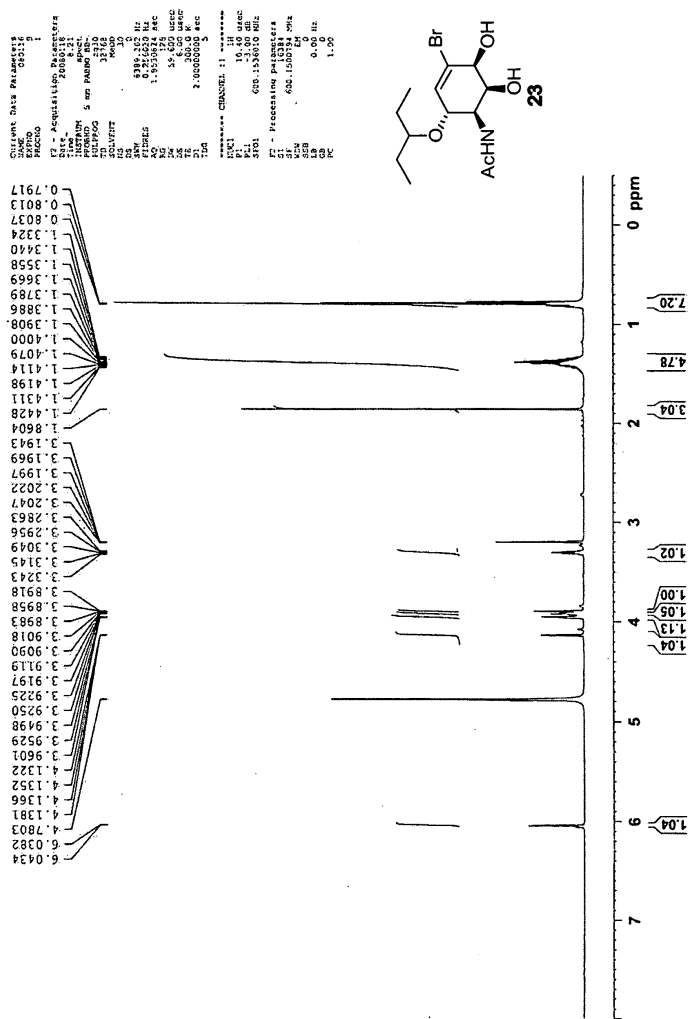
도면65



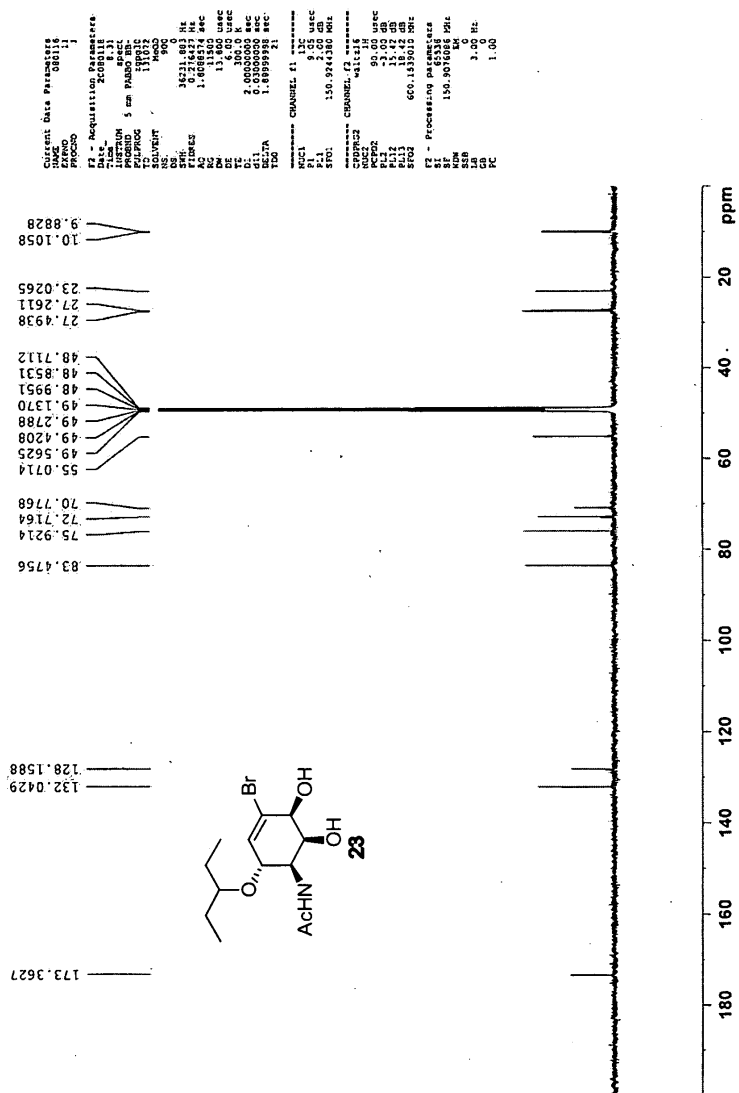
도면66



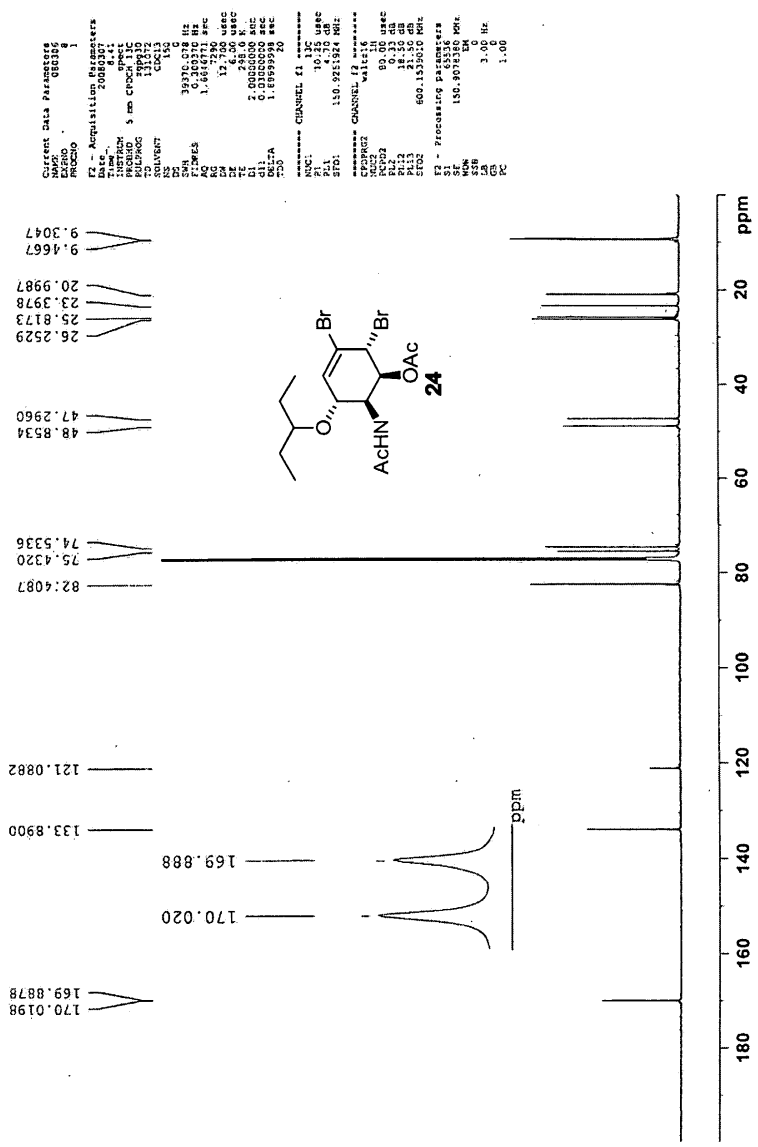
도면68



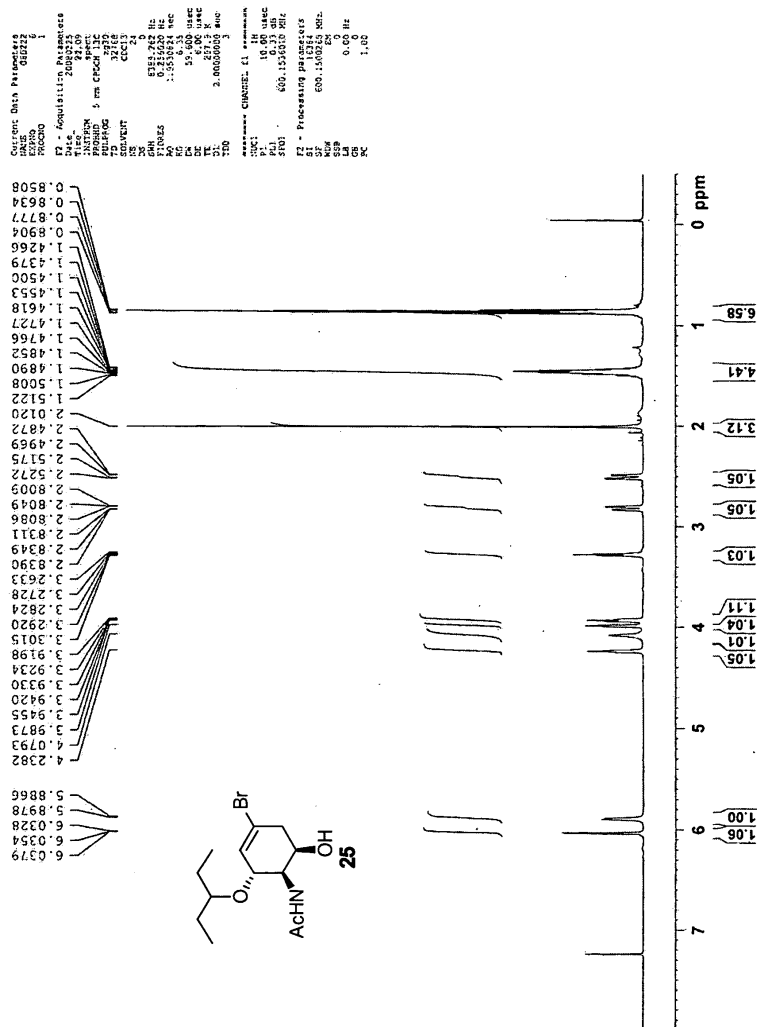
도면69



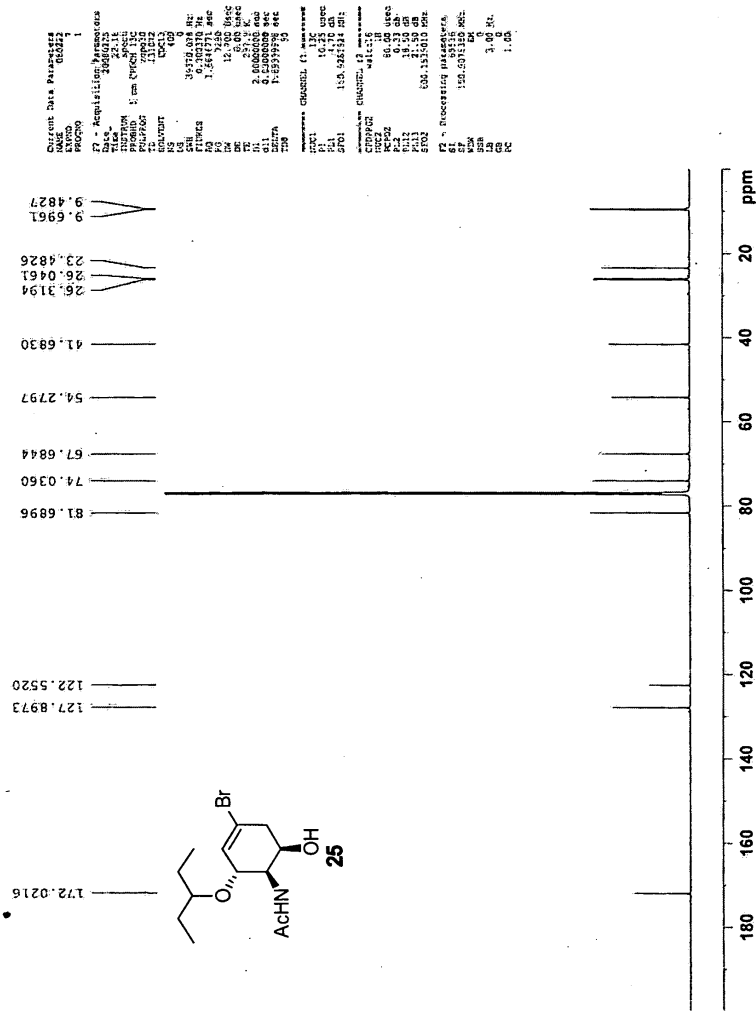
도면기



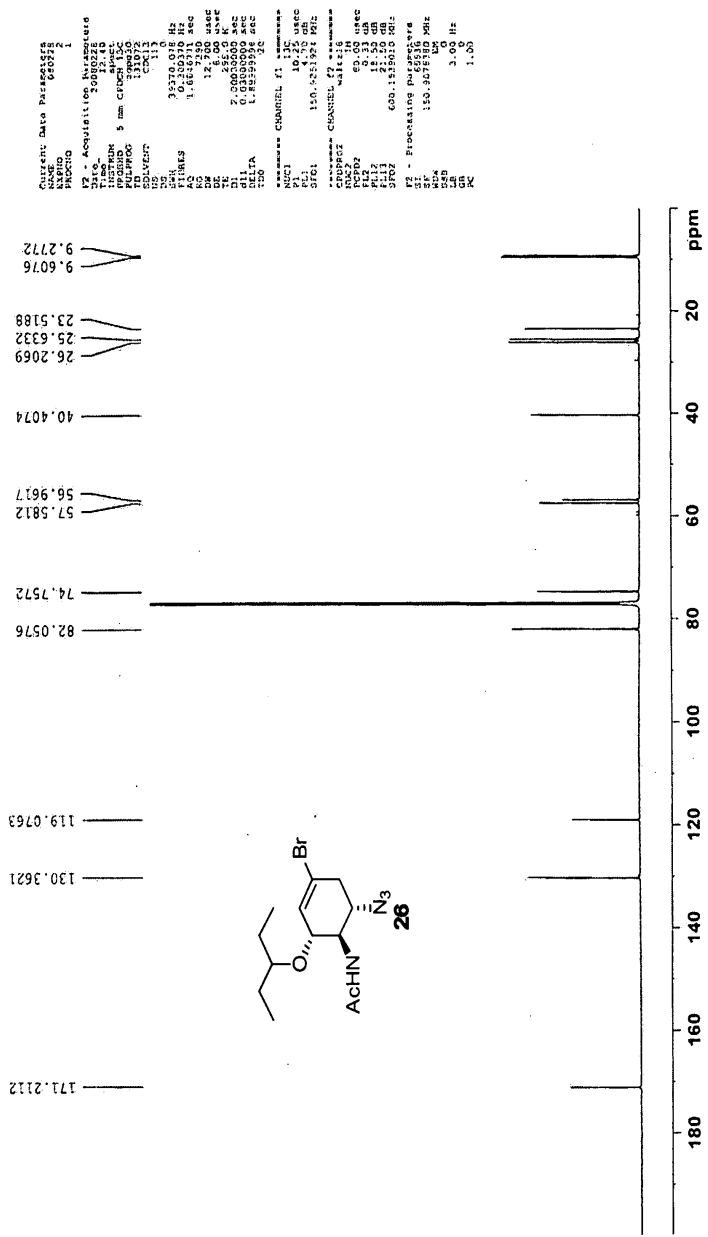
도면72



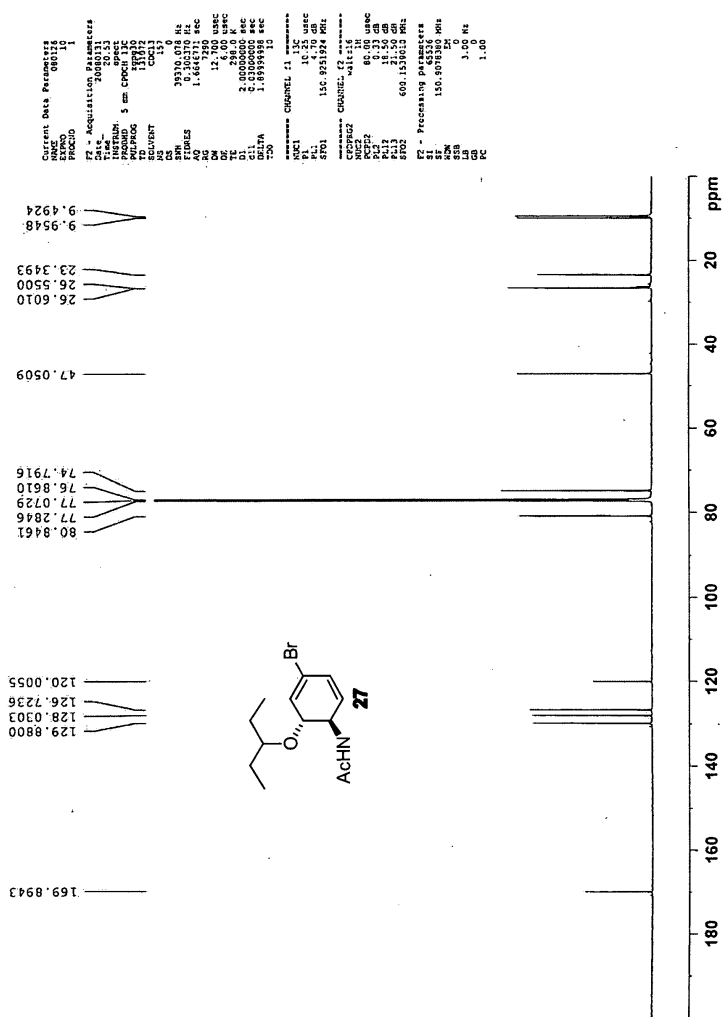
도면73



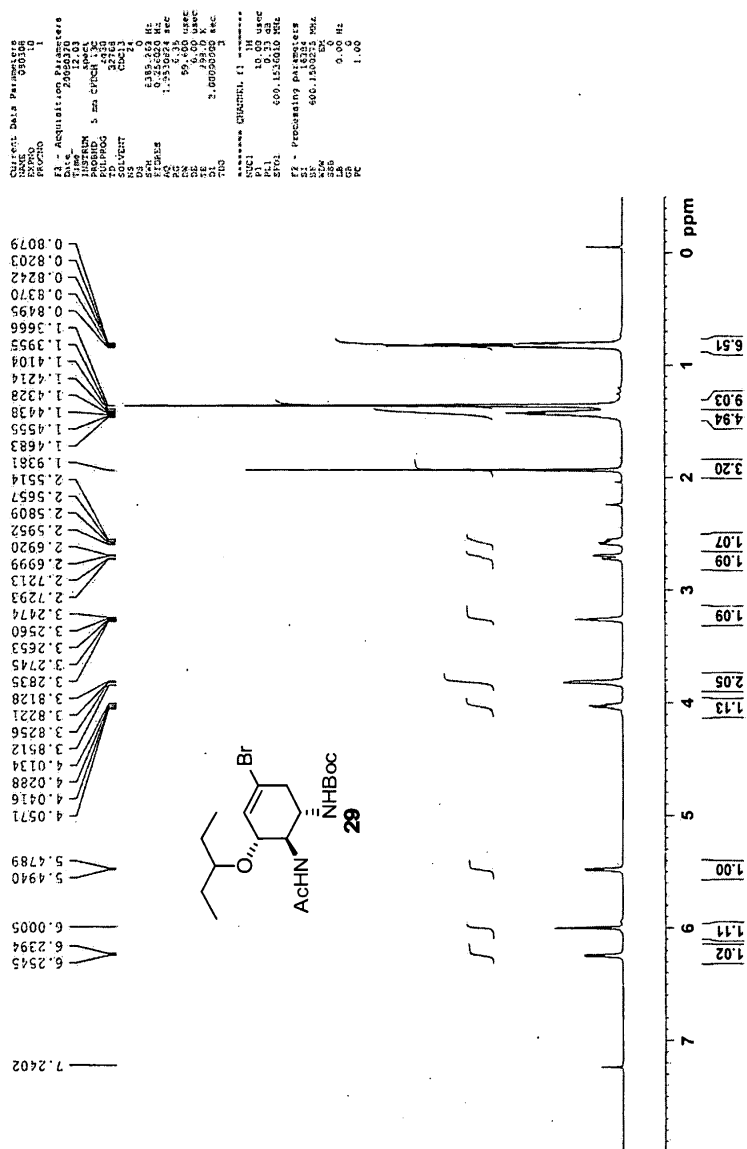
도면75



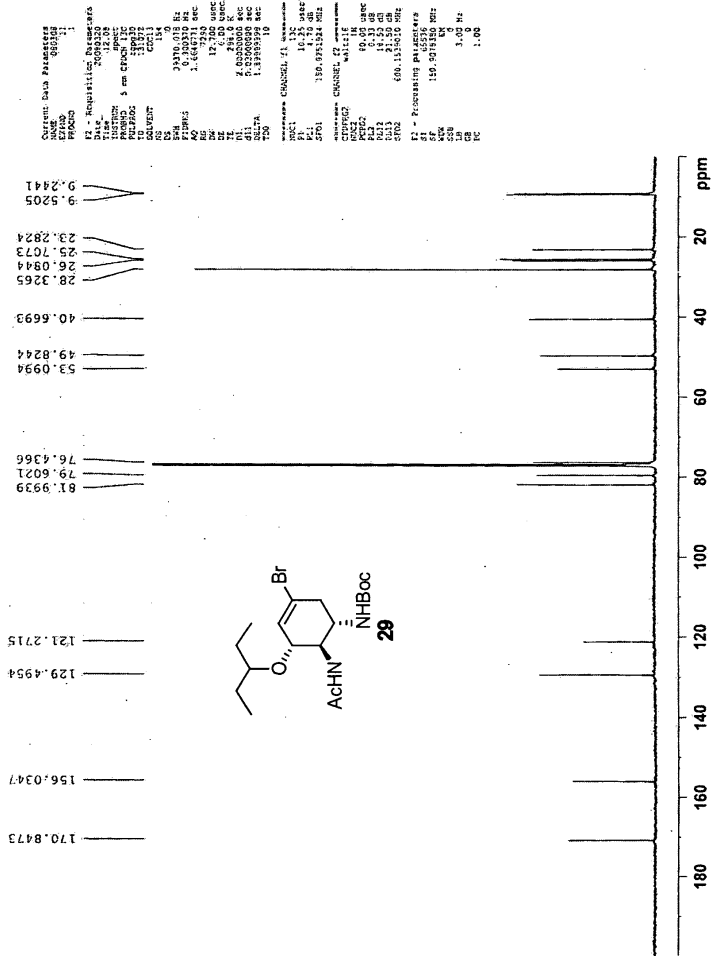
도면77



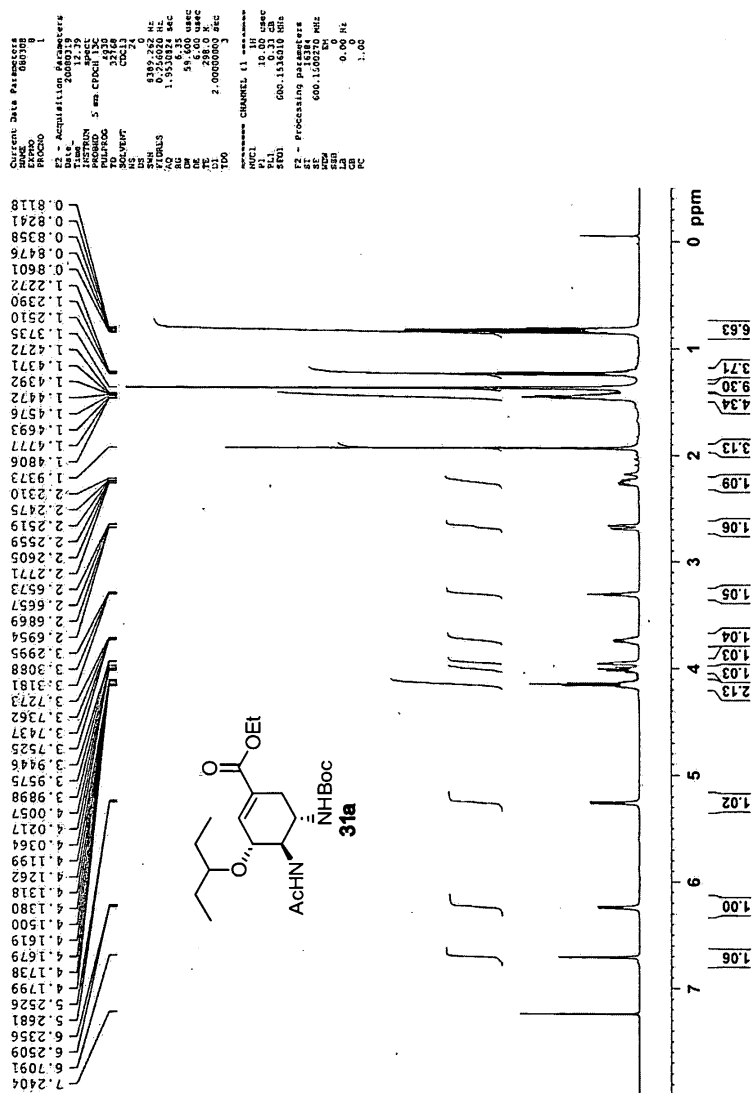
도면78



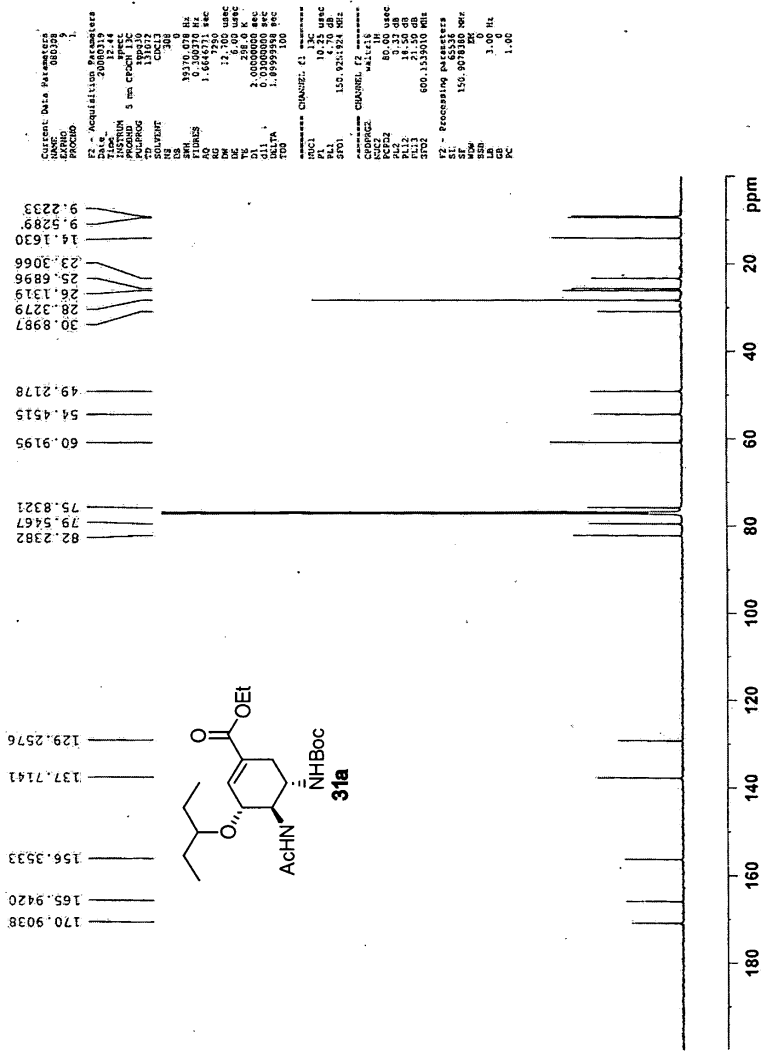
도면79



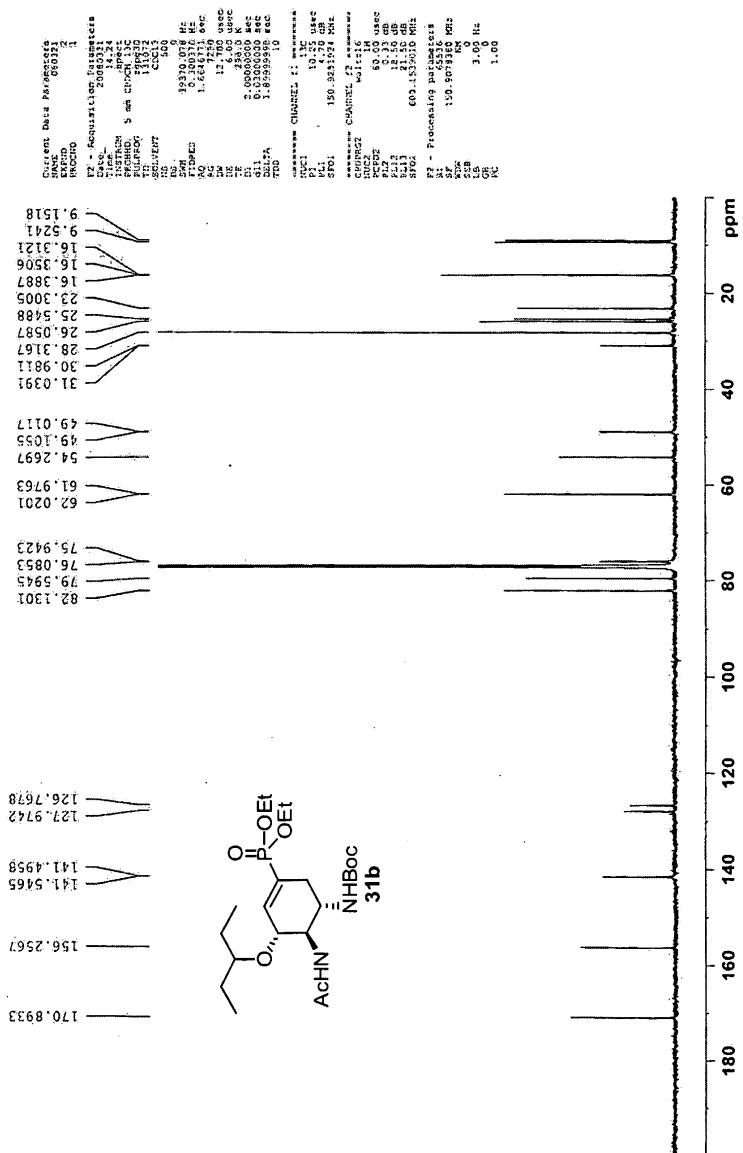
도면80



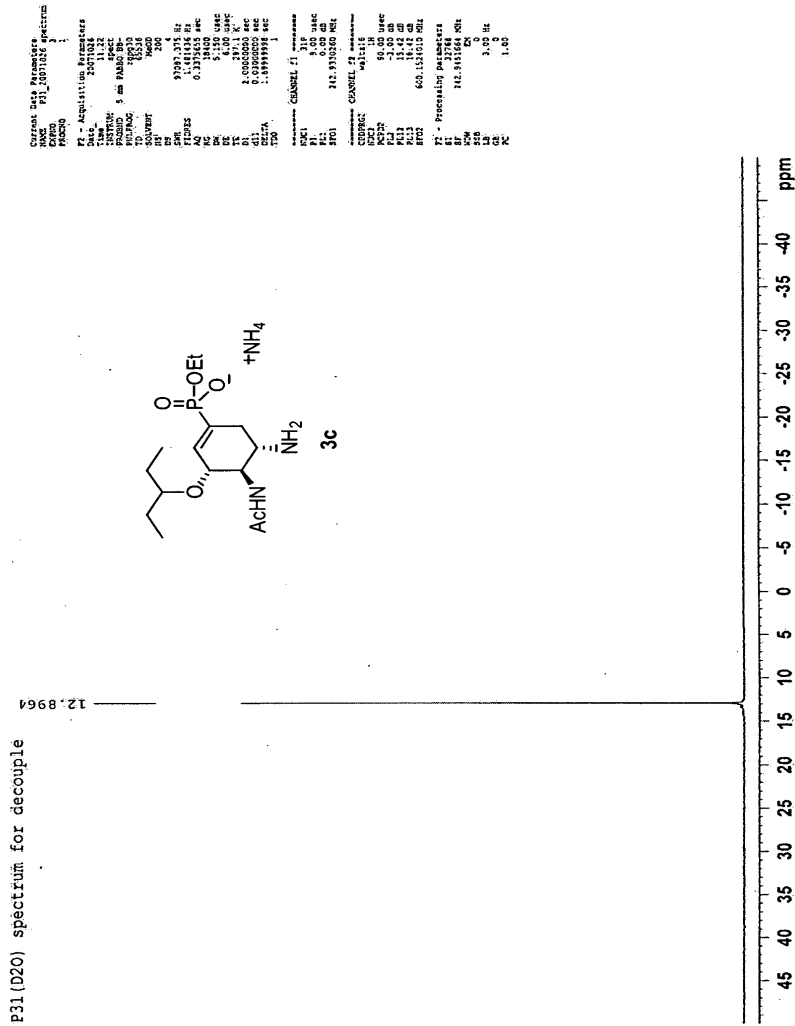
도면81



도면83



도면87

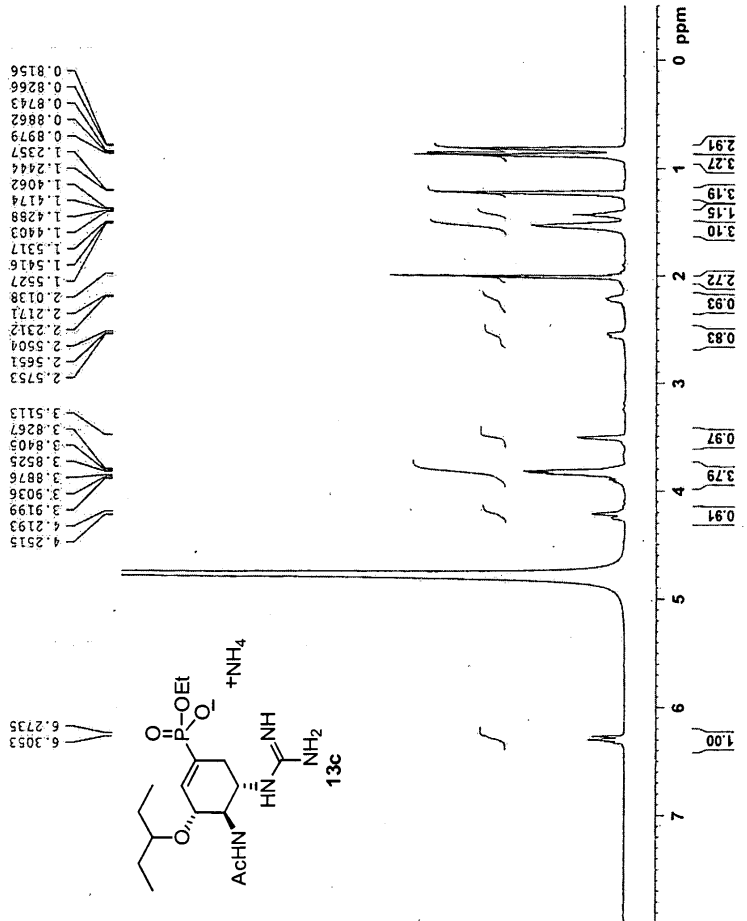


도면88

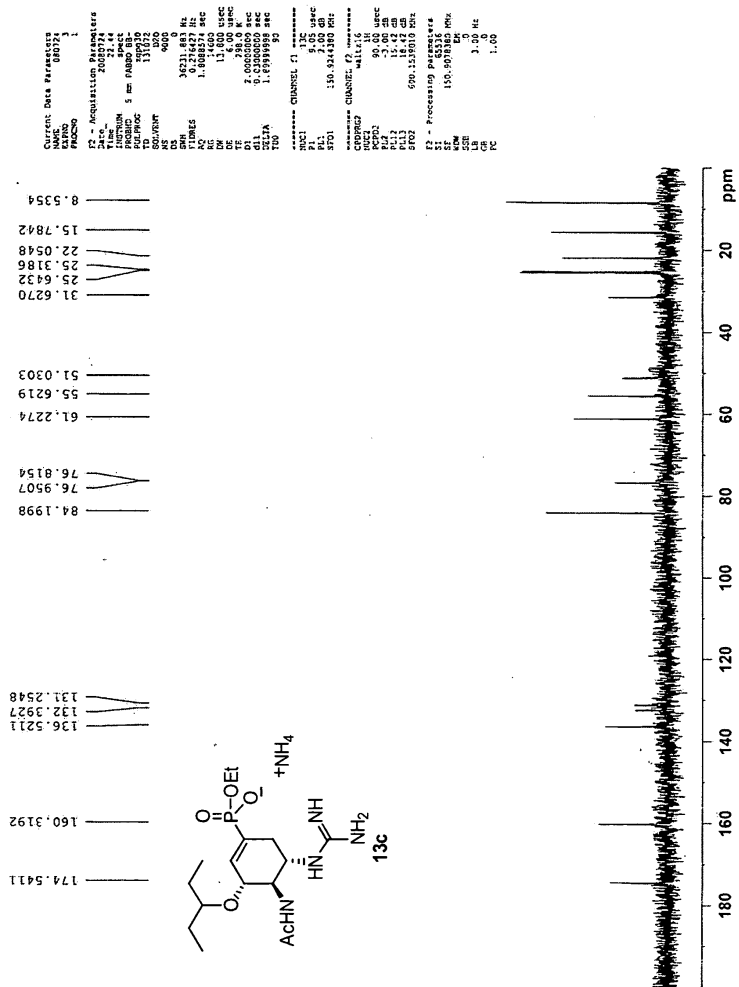
Current Data Parameters
 NAME: 080724
 WBCNO: 1
 P2 - Acquisition Parameters
 Time: 20:27:26
 Date: 20110811
 INSTRUM: spect
 PULPROG: zgpg30
 SOLVENT: CDCl3
 NS: 64
 DS: 4
 SWH: 600.136360 MHz
 FIDRES: 0.274620 Hz
 AQ: 1.5530824 sec
 DE: 50.000 usec
 TE: 298.2 K
 TO: 2.0000000 sec

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1: 1H
 P1: 10.00 usec
 PL1: -1.00 dB
 SFO1: 600.1363610 MHz

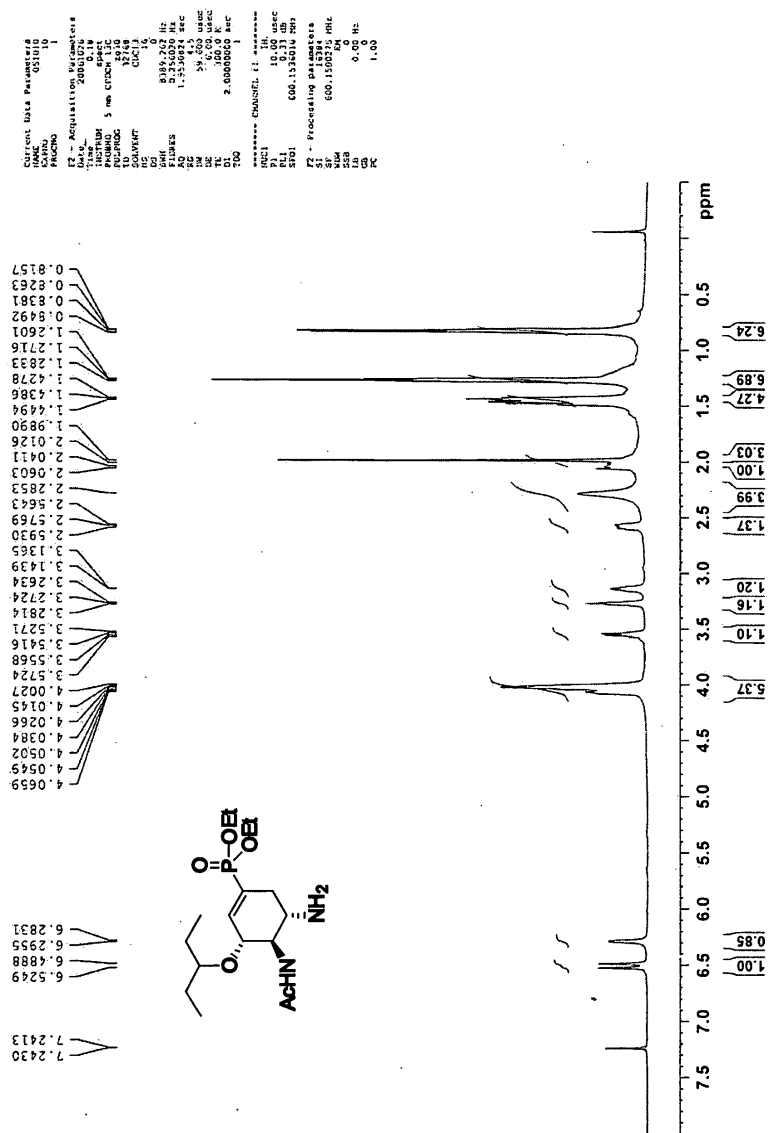
P2 - Processing parameters
 SI: 32768
 SF: 600.1483844 MHz
 DS: 4
 OS: 0
 CB: 0
 GB: 0
 PC: 1.00



도면89



도면90



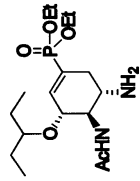
도면92

p167



Current Data Parameters
 NAME 20061027
 EXPNO 4
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20061027
 Time 16.25
 INSTRUM spect
 PROBNM 5 mm HMQB B1-1H
 PULPROG zgpg30
 LG 65516
 LC 0
 NS 64
 DS 0
 SWH 92465.453 Hz
 FWHM 4945.375 Hz
 AQ 1.0943044 sec
 RG 32768
 WF 15.00 usec
 UR 15.00 usec
 TE 300.1 K
 D1 1.5000000 sec
 DELTA 1.3599999 sec
 T10 2



17.6899

***** CHANNEL f1 *****
 NUC1 31P
 P1 10.50 usec
 SFO1 100.625 MHz
 SFO1 161.975999 MHz

***** CHANNEL f2 *****
 NUC2 1H
 P2 90.00 usec
 SFO2 400.1320007 MHz

F2 - Processing Parameters
 SI 161.975999 MHz
 SF 161.975999 MHz
 PM 0
 LB 3.00 Hz
 GB 0
 RC 1.00

45 40 35 30 25 20 15 10 5 0 -5 -10 -15 -20 -25 -30 -35 -40 ppm